

из специфического белка амилина (островковый амилоидный полипептид) [5]. К. Н. Johnson и др. [6] установили, что амилин локализуется в секреторных гранулах В-клеток и высвобождается из них вместе с инсулином в ответ на введение глюкозы или других веществ. Амилоид наблюдается в виде периваскулярных отложений в капиллярах, окружающих островки, а также вокруг капилляров, проникающих в островки. Отложение амилоида сопровождается уменьшением числа В-клеток и ухудшает как кровоснабжение островков, так и проникновение гормонов в кровь, что, возможно, усугубляет течение СД2.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Михалева Л. М., Горшунова Н. К., Андреева Н. В. Диабетическая микроангиопатия в пожилом и старческом возрасте. М.: МИА, 2009.
2. Прощина А. Е., Кривова Ю. С., Барабанов В. М., Савельев С. В. Иммуногистохимическое исследование наиболее крупных островков поджелудочной железы человека при старении и при сахарном диабете 1-го и 2-го типов, перспективы для трансплантации // Сахарный диабет. 2013. № 4. С. 38–43.
3. El-Gohary Y., Sims-Lucas S., Lath N. et al. Three-dimensional analysis of the islet vasculature // Anat. Rec. 2012. Vol. 295. P. 1473–1481.
4. Harris M. I., Eastman R. C. Early detection of undiagnosed diabetes mellitus: a US perspective // Diabetes Metab Res Rev. 2000. Vol. 1. P. 230–236.
5. Höppener J. W., Lips C. J. Islet amyloid and type 2 diabetes mellitus // N. Engl. J. Med. 2000. Vol. 343(6). P. 411–419.
6. Johnson K. H., O'Brien T. D., Betsholtz C., Westermark P. Islet amyloid, islet-amyloid polypeptide, and diabetes mellitus // N. Engl. J. Med. 1989. Vol. 321. P. 513–518.
7. Konstantinova I., Lammert E. Microvascular development: learning from pancreatic islets // BioEssays. 2004. Vol. 26. P. 1069–1075.
8. Marchetti P., Lupi R., Del Guerra S. et al. The beta-cell in human type 2 diabetes // Adv. Exp. Med. Biol. 2010. Vol. 654. P. 501–514.
9. Saito K., Iwama N., Takahashi T. Morphometrical analysis on topographical difference in size distribution, number and volume of islets in the human pancreas // Tohoku J. Exp. Med. 1978. Vol. 124. P. 177–186.

Разенкова В. А.<sup>1, 2</sup>, Коржевский Д. Э.<sup>1, 2</sup>

### МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНОВ КОРЫ ПОЛУШАРИЙ И ЧЕРВЯ МОЗЖЕЧКА КРОЛИКА

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет;

<sup>2</sup>Лаборатория функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург,  
e-mail: valeriya.raz@yandex.ru

---

**Введение.** На протяжении многих лет мозжечок считают органом координации движений. В то время как соматосенсорные центры новой коры определя-

ют двигательную активность, он обеспечивает ее эффективный и непрерывный контроль [1]. Боковые части мозжечка представлены двумя полушариями, между которыми располагается червь мозжечка [2]. Кора мозжечка имеет соматотопическую организацию и состоит из модулей, каждый из которых обслуживает определенную группу мышц [1]. Такая компартментализация — высококонсервативная черта, появляющаяся еще в эмбриогенезе [3], и, вероятно, может проявляться не только в качественных, но и количественных различиях между областями коры. Тем не менее, несмотря на обширный пласт исследований в областях анатомии и гистологии, данные о морфометрии мозжечка, его коры и составляющих ее нейронов на данный момент фрагментарны и сосредоточены вокруг небольшого количества видов [3, 4, 5, 6]. Цель данного исследования состояла в том, чтобы дать количественную характеристику нейронов коры мозжечка кролика, установить их сходство или различие в разных отделах коры мозжечка.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на 5 кроликах породы шиншилла. При содержании и умерщвлении животных соблюдали международные правила Хельсинской декларации и о гуманном обращении с животными и «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ № 755 от 12 августа 1977 года Минздрава СССР). Материал фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде. Обезвоженные объекты заливали в парафин по общепринятой методике. Изготавливали фронтальные серийные срезы толщиной 5 мкм. Изучены следующие области мозжечка: lobus posterior (задняя доля), lobulus ansiformis (петлеобразная долька) полушарий, lobulus 4 (culmen, вершина), lobulus c (центральная долька) червя [1, 7].

Для осуществления морфометрического анализа проводили иммуногистохимическое окрашивание на кальбиндин-D28K. В качестве первичных антител были использованы мышинные антитела к кальбиндину (Sigma-Aldrich, США) в разведении 1:900 для флуоресцентной и 1:1800 для световой микроскопии. Срезы инкубировали в течение недели при 27 °С. Для микроскопии в проходящем свете в качестве вторичных антител использовали реагент EnVision+ /HRP-Anti-Mouse (Dako, Дания). Визуализацию проводили при помощи обработки препаратов раствором 3,3'-диаминобензидинтетрагидрохлорида (DAB+, Dako, Дания). В дальнейшем срезы докрашивали гематоксилином и заключали в перманентную среду Cytoseal 60 (Thermo Scientific, США). Для флуоресцентной микроскопии использовали вторичные биотинилированные антитела Link из набора LSAB2 System-HRP (Dako, Дания) и моновалентный Fab-фрагмент антимишиного иммуноглобулина осли, меченного биотином (Jackson ImmunoResearch, США), с дальнейшей обработкой препаратов конъюгатом стрептавидина с флуорохромом Brilliant Violet 421 в разведении 1:100 (BioLegend, США). Препараты заключали в водорастворимую среду Fluorescence Mounting-Medium (Dako, Дания).

Препараты изучали с помощью светового микроскопа Leica DM750 и флуоресцентного микроскопа Leica DM2500. Анализ полученных изображений проводили в программе ImageJ. Статистическую обработку осуществляли с использованием программ «Excel 2013» и «Statistica 10».

Различия выборок признавали статистически значимым при  $p > 0,05$ . Для проверки нормальности распределения выборок использовали критерий Шапи-

ро-Уилка (Shapiro-Wilk). Распределения, прошедшие проверку на нормальность, сравнивали с помощью непарного теста Стьюдента (t-test). Не прошедшие проверку на нормальность распределения анализировались с использованием теста Манна-Уитни (Mann-Whitney U Test).

**Результаты.** Проведение иммуногистохимической реакции позволило иммуноселективно выявить клетки Пуркинье. Благодаря преимущественному распределению кальбиндина в цитоплазме и ядре (но не в ядрышке) этих клеток, на препаратах можно четко идентифицировать расположение слоев коры (рис. 1А, Б).

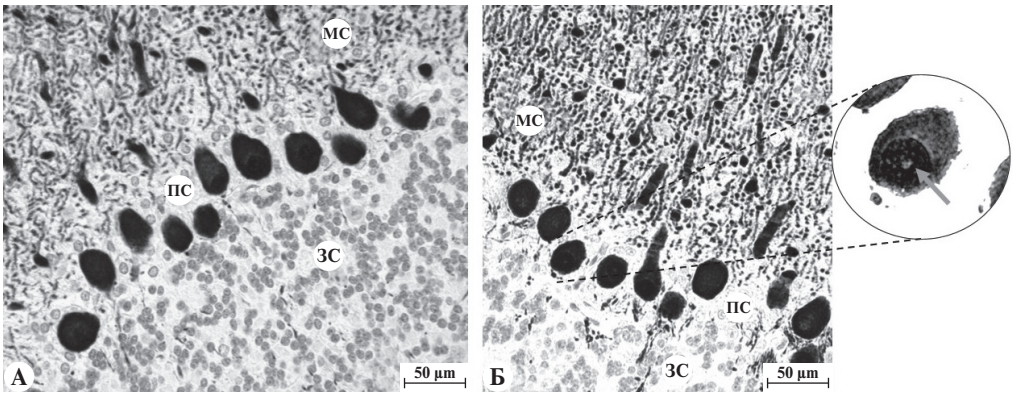


Рис. 1. Кора полушарий (А) и червя (Б) мозжечка кролика: МС – молекулярный слой, ПС – слой клеток Пуркинье, ЗС – зернистый слой. Стрелка указывает на ядрышко клетки Пуркинье

Таблица 1

### МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОРЫ МОЗЖЕЧКА КРОЛИКА

Параметры (M ± SE)		Полушария	Червь
Толщина слоев, мкм	Молекулярный	316,01 ± 4,97	290,19 ± 3,61
	Слой клеток Пуркинье	25,18 ± 0,43	23,83 ± 0,45
	Зернистый	264,19 ± 12,29	251,49 ± 7,28
Толщина главного дендритного ствола клеток Пуркинье, мкм		6,05 ± 0,17	5,79 ± 0,12
Расстояние между клетками Пуркинье, мкм		10,95 ± 0,62	7,93 ± 0,42
Площадь клеток Пуркинье, мкм <sup>2</sup>		472,32 ± 11,42	408,99 ± 14,86
Площадь ядер клеток Пуркинье, мкм <sup>2</sup>		3,29 ± 0,16	99,43 ± 4,45
Ядерно-цитоплазматическое отношение		3,54 ± 0,14	3,29 ± 0,16
Площадь ядер корзинчатых нейронов, мкм <sup>2</sup>		37,65 ± 0,88	39,13 ± 1,27
Площадь ядер звездчатых нейронов, мкм <sup>2</sup>		17,80 ± 0,57	18,88 ± 1,07
Площадь ядер клеток-зерен, мкм <sup>2</sup>		26,15 ± 0,41	25,16 ± 0,46

Толщина молекулярного слоя в полушариях мозжечка составляет  $316,01 \pm 4,97$  мкм, в черве  $290,19 \pm 3,61$  мкм (табл. 1). Корзинчатые и звездчатые нейроны слоя имеют округлые ядра, средняя площадь которых  $37,65 \pm 0,88$  мкм<sup>2</sup> (для полушарий),  $39,13 \pm 1,27$  мкм<sup>2</sup> (для червя),  $17,80 \pm 0,57$  мкм<sup>2</sup> (полушария) и  $18,88 \pm 1,07$  мкм<sup>2</sup> (червь) соответственно. Толщина главных дендритных стволов клеток Пуркинье, также составляющих молекулярный слой, равна  $6,05 \pm 0,17$  мкм (полушария) и  $5,79 \pm 0,12$  мкм (червь). Статистический анализ выявил достоверное различие в толщине слоев. Ниже располагается слой клеток Пуркинье, имеющий толщину  $25,18 \pm 0,43$  мкм в полушариях и  $23,83 \pm 0,45$  мкм в черве. Расстояние между нейронами Пуркинье в полушариях составляет  $10,95 \pm 0,62$  мкм и  $7,93 \pm 0,42$  мкм в черве. Площади клеток в полушариях и черве равны  $472,32 \pm 11,42$  мкм<sup>2</sup> и  $408,99 \pm 14,86$  мкм<sup>2</sup> соответственно. Крупные ядра клеток округлой формы, площадью  $107,35 \pm 3,02$  мкм<sup>2</sup> (в полушариях) и  $99,43 \pm 4,45$  мкм<sup>2</sup> (в черве). Ядерно-цитоплазматическое отношение в полушариях составляет  $3,54 \pm 0,14$ , а в черве  $3,29 \pm 0,16$ . Статистически доказана достоверность различий значений толщины слоя, площадей клеток и расстояний между ними.

Зернистый слой коры мозжечка имеет толщину  $264,19 \pm 12,29$  мкм в полушариях, в черве —  $251,49 \pm 7,28$  мкм. Площадь ядер клеток-зерен, составляющих основу слоя, равна  $26,15 \pm 0,41$  мкм<sup>2</sup>,  $25,16 \pm 0,46$  мкм<sup>2</sup> в полушариях и черве соответственно. Статистические различия морфометрических характеристик слоя в полушариях и черве мозжечка не выявлены.

**Обсуждение результатов.** Иммунореактивность кальбиндина, в отличие от таковой у кальмодулина, наблюдается в ограниченном количестве типов клеток, относящихся к разным тканям. Так, кальбиндин избирательно экспрессируется в нейронах Пуркинье коры мозжечка, что позволяет использовать его в качестве специфического маркера этих клеток [8]. В то же время, ряд исследователей отмечает слабую иммунореактивность этого протеина в других клетках коры мозжечка, в частности, клетках Гольджи [8, 9]. Однако, при использовании данной методики, положительная реакция на антиген кальбиндина в клетках, которые можно было бы идентифицировать как клетки Гольджи, отсутствовала. Помимо цитоплазматической, обнаружена ядерная локализация кальбиндина в нейронах Пуркинье (см. рис. 1Б). Вероятно, функциональная роль такого распределения заключается в кальций-зависимой регуляции экспрессии генов. Наряду с этим, в ядрышке кальбиндин не выявлен [9, 10].

Обнаружены различия в толщине слоев, площади нейронов Пуркинье и расстоянии между ними в полушариях мозжечка и черве. Возможно, такая асимметрия может быть связана с филогенетически более древним происхождением червя и его более ранним развитием в период онтогенеза. Кроме того, может иметь место функциональная асимметрия, возникшая в связи с различиями в системе афферентных и эфферентных проекций этих отделов коры: червь соединен с нижними отделами центральной нервной системы: спинным и продолговатым мозгом, а полушария — с верхними: головным и средним мозгом [7, 11]. Интересно, что подобная асимметрия нейронов Пуркинье нехарактерна для мозжечка другого лабораторного животного — белой крысы, а толщина коры мозжечка крысы, наоборот, увеличивается в более старых отделах органа [9]. Исходя из по-

лученных данных, следует согласиться с постулатами Л. Болка об относительной независимости червя и полушарий [6].

Толщина главного дендритного ствола нейронов Пуркинье, по-видимому, не зависит от области коры мозжечка. Также асимметрия не затрагивает зернистый слой. То же самое можно сказать о различиях в размерах корзинчатых и звездчатых нейронов молекулярного слоя. Тем не менее, не имея данных о площадях самих клеток, нельзя утверждать это с полной уверенностью.

Таким образом, на основании полученных данных можно заключить, что мозжечок кролика характеризуется определенной асимметрией, выражающейся в большей степени в различиях морфометрических характеристик клеток Пуркинье.

**Выводы.** Выяснены средние значения толщины слоев коры мозжечка, площадей клеток и ядер нейронов Пуркинье, их ядерно-цитоплазматическое отношение, расстояние между ними и толщина их главных дендритов, а также площадей ядер корзинчатых, звездчатых нейронов и клеток-зерен.

Нейроны Пуркинье полушарий мозжечка и червя отличаются своими морфометрическими характеристиками.

Экспрессия кальбиндина наблюдается в ядре и цитоплазме клеток Пуркинье.

Функциональное значение ядерной локализации кальбиндина пока не понятно.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Калиниченко С. Г., Мотавкин П. А.* Кора мозжечка. М.: Наука, 2005.
2. *Казакова С. С.* Магнитно-резонансно-томографическая анатомия мозжечка // Российский медико-биологический вестник им. академика И. П. Павлова. 2009. № 2. С. 33–37.
3. *Hawkes R.* An anatomical model of cerebellar modules // *Progress in brain research.* 1997. Vol. 114. P. 39–52.
4. *Инастова И. Д.* Нормальная и патологическая количественная морфология мозжечка белой крысы (обзор литературы) // Ульяновский медико-биологический журнал. 2015. № 2. С. 8–15.
5. *Voogd J., Jaarsma D., Marani E.* Chapter 1 The cerebellum: chemoarchitecture and anatomy // *Handbook of Chemical Neuroanatomy.* 1996. Vol. 12. P. 1–369.
6. *Voogd J., Ruigrok T. J.* Transverse and longitudinal patterns in the mammalian cerebellum // *Progress in brain research.* 1997. Vol. 114. P. 21–37.
7. *Brodal A.* The cerebellum of the rabbit. A topographical atlas of the folia as revealed in transverse sections // *The Journal of Comparative Neurology.* 1940. Vol. 72(1). P. 63–81.
8. *Nag T. C., Wadhwa S.* Calbindin immunoreactivity in the developing and adult human cerebellum // *Journal of chemical neuroanatomy.* 1999. Vol. 17(1). P. 1–12.
9. *Flace P., Lorusso L., Laiso G., Rizzi A., Cagiano R., Nico B., Ribatti D., Ambrosi G., Banagiano V.* Calbindin-D28K immunoreactivity in the human cerebellar cortex // *The Anatomical Record.* 2014. Vol. 297(7). P. 1306–1315.
10. *German D. C., NG M. C., Liang C.-L., McMahon A., Iacopino A. M.* Calbindin-D28k in nerve cell nuclei // *Neuroscience.* 1997. Vol. 81(3). P. 735–43.



11. *Ji Z., Hawkes R.* Developing mossy fiber terminal fields in the rat cerebellar cortex may segregate because of Purkinje cell compartmentation and not competition // *The Journal of Comparative Neurology.* 1995. Vol. 359(2). P. 197–212.

*Русаков Д. Ю., Суворова Г. Н., Кулакова О. В.*

## **ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ В СТЕНКАХ ПОЛЫХ И ЛЕГОЧНЫХ ВЕН И УСТЬЕВЫХ ОТДЕЛОВ ЭТИХ ВЕН У ЧЕЛОВЕКА**

*Кафедра гистологии и эмбриологии (заведующая – профессор Г. Н. Суворова)  
Самарского государственного медицинского университета, Самара,  
e-mail: gsuvmed@yandex.ru*

---

Согласно литературным данным, развитие замыкательного аппарата устьев полых и легочных вен имеет определенные закономерности, которые проявляются следующими особенностями: закладкой элементов замыкательного аппарата (миокардиальных сфинктеров, заслонки нижней полой вены) в эмбриональном периоде (до конца 2-го месяца внутриутробного развития); формированием миокардиальных сфинктеров как основной функциональной структуры замыкательного аппарата из миобластов предсердий, нарастающих на интраперикардальные отделы полых и легочных вен; более ранней закладкой миокардиальных сфинктеров легочных вен по сравнению с полыми венами [1].

На светомикроскопическом уровне изучены интраперикардальные отделы полых и легочных вен зародышей человека на сроке 6–7 недель внутриутробного развития и плодов человека (9–10, 16, 19, 22, 24 недель внутриутробного развития), а также разноудаленные от сердца участки полых и легочных вен мужчин и женщин нормостенического телосложения в возрасте от 21 до 50 лет, не имевших в анамнезе сердечной патологии. Для идентификации сердечной мышечной ткани в стенках полых и легочных вен использовали антитела к кардиальному тропонину-Т.

В работе прослежены этапы развития сердечной мышечной ткани в стенках полых и легочных вен и развитие устьев данных вен. У 6–7-недельного зародыша человека (копчико-теменной размер (КТР) – 1,5 см) определяется общая легочная вена, которая образуется в результате слияния двух частей: предсердной (выrost задней стенки левого предсердия) и легочной (сосуд, отходящий от венозного сплетения закладки легкого). Ее стенка представлена расположенными в два слоя клетками. Устья верхней и нижней полых вен на данном сроке развития открываются в венозный синус, структура стенки полых вен аналогична структуре легочной вены. Применение метода иммуногистохимии с использованием антител к кардиальному тропонину-Т не обнаруживает специфического окрашивания клеток ни в стенках вен, ни в миокарде предсердий, что не позволяет идентифицировать присутствие кардиомиоцитов в стенках вен на данном этапе эмбриогенеза.