



В. П. Невзоров, О. П. Павлова

ГУ «Институт общей
и неотложной хирургии
им В.Т.Зайцева НАМН Украины»

Центральная клиническая
больница № 5, г. Харьков

© Невзоров В. П., Павлова О. П.

НАРУШЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ПРИ ГИПОВОЛЕМИИ

Резюме. Проведенное электронно-микроскопическое исследование пирамидных нейронов и элементов гематоэнцефального барьера головного мозга крыс с моделированной гиповолемией выявило ряд характерных дистрофических и деструктивных изменений органелл, свидетельствующих о нарушении обменных процессов, протекающих между ядром и цитоплазмой, а также развитие митохондриальной дисфункции. Нарушения субмикроскопической архитектоники капилляров являются причиной гипоксических нарушений метаболической активности пирамидных нейронов головного мозга в которых активируются катаболические процессы, структурно подтверждающиеся в появлении аутофагосом в цитоплазме.

Ключевые слова: ультраструктура пирамидных нейронов, митохондриальная дисфункция, ишемия, гиповолемия.

Введение

Известно, что клетки головного мозга обладают высокой чувствительностью к ишемическим повреждениям. Многочисленные клинические и экспериментальные работы свидетельствуют о том, что при массивной кровопотере наблюдаются нарушения различных функций головного мозга.

В результате длительной гиповолемии, как правило, наступают резкие расстройства кровообращения, в основе патогенеза которых, лежат нарушения центральной регуляции сосудистого тонуса и сердечной деятельности, развития сердечной недостаточности, уменьшения периферического сопротивления, патологического депонирования крови, постепенного увеличения участков с резким расстройством микроциркуляции, генерализацией нарушений проницаемости мембран и свертывающей системы крови.

Очевидно, что все функциональные нарушения должны иметь, в конечном счете, свою структурную основу с функциональными и структурными изменениями в субклеточных элементах. Исходя из этих соображений, особое внимание должно быть, в первую очередь направлено на изучение ультраструктурных изменений, вызванных гиповолемией [3].

Широкое распространение и признание получило представление о решающей роли центральной нервной системы в обеспечении целостности организма и взаимосвязи его с окружающей средой. Поэтому не вызывает сомнения, что патогенные раздражители прежде всего оказывают влияние на нервную систему,

что сопровождается активацией приспособительных реакций [1, 2].

Применение электронно-микроскопического метода исследования дает возможность изучить изменения отдельных клеточных органелл и включений в наиболее ранних стадиях развития патологических процессов и обнаружить ультраструктурные изменения в клетках, которые еще не удается уловить светооптическими методами [4].

Исходя из вышеизложенного, представляет определенный интерес с помощью метода электронной микроскопии выявить многообразие тонких морфологических изменений, возникающих при массивной кровопотере и дефиците объема циркулирующей крови у экспериментальных животных.

Цель работы

Выявление особенностей ультраструктурных перестроек пирамидных нейронов коры головного мозга и эндотелиоцитов гематоэнцефалического барьера в условиях массивной кровопотери.

Материал и методы исследований

В эксперименте были использованы крысы самцы линии Вистар весом от 190 до 220 г. Крысам проводили обезболивание внутриперитонеальным введением тиопентала натрия. Крыс, введенных в наркоз, помещали на операционную доску и производили короткий разрез паховой области. Выделяли сосудисто-нервный пучок с последующей канюляцией бедренной артерии полиэтиленовым катетером длиной 20 см. Внутриартериально



животному вводили гепарин из расчета 20 ед. на каждые 100 г массы тела. Свободный конец катетера поднимали вверх на 40 см и соединяли со шприцом, что позволяло удерживать артериальное давление крысы в пределах 30 мм рт. ст. Количество потерянной крови в среднем равнялось 2,5 % от веса тела крысы.

Для электронно-микроскопического исследования тотчас после декапитации иссекались кусочки ткани коры головного мозга, которые помещали в каплю фиксатора. После этого ткань переносили для предварительной фиксации в 2,5 % забуференный раствор глутарового альдегида на 2–3 часа при температуре 4 °С. По окончании предварительной фиксации кусочки ткани промывали в буферном растворе и переносили в 1 % раствор четырехоксида осмия на 2–3 часа при температуре 4 °С. Затем ткань обезживали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне и заключали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит). Полимеризацию блоков осуществляли в термостате при температуре 60 °С в течение двух суток.

Из полученных блоков, на ультрамикротоме УМТП-6, изготавливали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ. Увеличение подбиралось адекватное целям исследования и варьировалось в пределах 20 000–60 000 крат.

Контролем качества гистологической обработки служили кусочки ткани коры головного мозга интактных экспериментальных животных.

Результаты исследований и их обсуждение

Электронно-микроскопическое исследование состояния ультраструктурной архитектуры пирамидных нейронов, эндотелиоцитов гематоэнцефалического барьера головного мозга интактных животных показало адекватность методики фиксации, так как субмикроскопическая организация их соответствовала современным представлениям. Повреждений мембран, вызванных гистологической обработкой ткани не выявлено.

Электронно-микроскопическое исследование пирамидных нейронов коры головного мозга крыс в условиях моделирования массивной кровопотери, выявило ряд дистрофических и деструктивных нарушений органелл и внутриклеточных мембран.

Ядра пирамидных нейронов имели округлую форму и содержали, как конденсированный, так и деконденсированный хроматин. Значительная часть глыбок конденсированного хроматина концентрировалась на внутренней поверхности мембраны ядра. В централь-

ной области матрикса ядра образовывались большие зоны низкой электронной плотности, которые были заполнены единичными гранулами деконденсированного хроматина и рибосомами. Ядерная мембрана утолщена и разрыхлена, а в отдельных нейронах наблюдается очаговый лизис. Существенно расширены перинуклеарные пространства и участки расширения заполнены электронно-прозрачной субстанцией.

В отдельных пирамидных нейронах головного мозга цитоплазма в перинуклеарной области не содержала цитоплазматических органелл и внутриклеточных включений. В ней присутствовали скопления аморфной субстанции с включениями мелко гранулярного вещества.

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума расширены и электронно-прозрачны, на его мембранах обнаруживались единичные рибосомы. Мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума, формирующие тельца Ниссля, значительно разрыхлялись и теряли четко контурированную структуру. Следует отметить существенное уменьшение количества, свободно лежащих в цитоплазме пирамидных нейронов, рибосом и полисом по сравнению с группой интактных экспериментальных животных.

В цитоплазме локализовалось большое количество набухших митохондрий, размеры которых варьировали в широких пределах. Митохондрии, в основном, сохраняли округлую и цилиндрическую формы. Матрикс митохондрий был значительно просветлен и имел грубо комковатую структуру. Кристы были ориентированы параллельно короткой оси. В некоторых пирамидных нейронах можно было наблюдать тотальный лизис наружных мембран и крист митохондрий (рис. 1).



Рис. 1. Ультраструктура пирамидных нейронов головного мозга крыс с моделированной ишемией. Деструкция наружных мембран и крист митохондрии.
× 35 000

Сравнительно редко в цитоплазме пирамидных нейронов можно было наблюдать дегенеративно изменённые митохондрии.

В цитоплазме пирамидных нейронов обнаружены мелкие вторичные лизосомы, в структуре которых визуализировались деструктивно измененные органеллы и фрагменты мембранных структур.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи пирамидных нейронов коры головного мозга крыс был редуцирован и представлял собой скопления беспорядочно ориентированных гладких мембран, окруженных небольшим количеством мелких и крупных электронно-прозрачных вакуолей.

Цитоплазматическая мембрана тела нейронов подвержена высокой степени осмиофилии. Очаговая деструкция цитоплазматической мембраны отсутствовала.

В цитоплазме базального дендрита обнаруживали продольно ориентированные набухшие митохондрии с просветленным матриксом и довольно многочисленными кристами.

В цитоплазме дендритов встречаются расширенные цистерны агранулярного эндоплазматического ретикулаума, заполненные мелкогранулярной субстанцией средней электронной плотности и митохондрии с очагами деструкции наружных мембран и крист. Матрикс митохондрий мелкозернистый и осмиофильный. Синаптические пузырьки, в основном, более или менее равномерно распределены по аксоплазме.

В препаратах встречаются аксоны с электронно-прозрачной аксоплазмой и практически полным отсутствием митохондрий. Аксолема отдельных аксонов очагово разрушена и разрыхлена.

Небольшое количество аксонов содержали осмиофильные митохондрии с очагово разрушенными наружными мембранами и кристами.

Существенным субмикроскопическим перестройкам подвергались элементы капилляров головного мозга под воздействием массивной кровопотери.

Просвет капилляров суживался, приобретая неправильную форму. Цитоплазматическая мембрана, обращенная в просвет капилляра, содержала очаги лизиса и участки разрыхления.

Значительное количество эндотелиоцитов, выстилающих капилляры головного мозга, содержали ядра неправильной формы с глубокими инвагинациями ядерной мембраны, которая приобретала высокую электронную плотность, разрыхлялась и теряла четко контурируемую структуру.

В перинуклеарной области цитоплазмы присутствовали в большом количестве деструктивно измененные митохондрии. Матрикс ми-

тохондрий был очагово просветлен. Кристы укорочены и зачастую разрушены.

Довольно часто в цитоплазме отростков эндотелиоцитов, обнаруживали вторичные лизосомы.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован и обнаруживался в виде отдельных гладких мембран и электронно-прозрачных везикул.

В просвете отдельных капилляров, кроме клеточных элементов крови, часто присутствовали свободно лежащие, деструктивно измененные органеллы, обрывки мембранных структур и бесструктурные аморфные конгломераты вещества средней электронной плотности.

Проведенное электронно-микроскопическое исследование пирамидных нейронов и элементов гематоэнцефального барьера головного мозга крыс с моделированной гиповолемией выявило ряд характерных дистрофических и деструктивных изменений органелл.

Наиболее ярким изменениям подвергалась ультраструктурная организация эндотелиоцитов капилляров гематоэнцефального барьера. В них обнаруживаются полиморфные изменения ядер с локальным просветлением и уплотнением матрикса, лизисом ядерной мембраны, конденсацией хроматина, а также расширением перинуклеарного пространства.

Наблюдаемые при этом деструкции мембран и крист митохондрий указывают на нарушения биоэнергетики эндотелиальных клеток в результате митохондриальной дисфункции.

Практически полное исчезновение в цитоплазме отростков эндотелиоцитов микропиноцитозных пузырьков указывает на нарушение трансцеллюлярного транспорта веществ, воды и электролитов через капиллярную стенку (рис. 2). Разрыхление базальных мембран также вносит свой вклад в нарушение проницаемости сосудов.

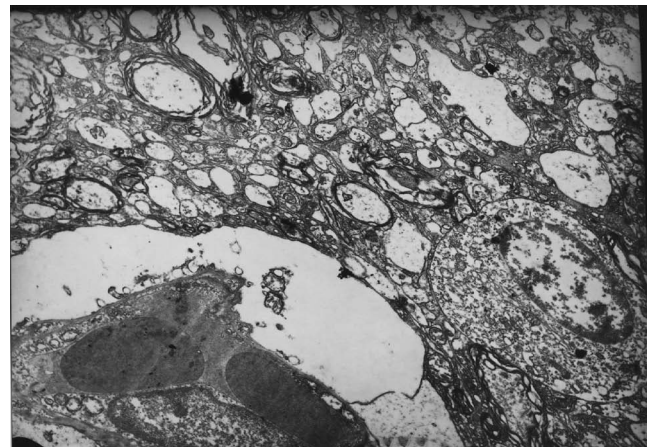


Рис.2. Ультраструктура эндотелиоцитов гематоэнцефального барьера головного мозга крыс с моделированной гиповолемией. Отсутствие микропиноцитозных пузырьков в цитоплазме. $\times 46\ 000$



Описанные нарушения субмикроскопической архитектоники капилляров являются причиной гипоксических нарушений метаболической активности пирамидных нейронов головного мозга.

В ультраструктурной организации пирамидных нейронов головного мозга наблюдаются очаговые деструкции ядерной мембраны и конденсация хроматина. Существенным изменениям подвергаются в первую очередь митохондрии, которые набухают, в них уменьшается количество крист. Деструкция крист и наружных мембран митохондрий свидетельствуют о дефиците биоэнергетического обеспечения метаболических процессов на уровне мембран и макромолекул в нейронах головного мозга.

Структурным подтверждением этого является резкое уменьшение количества рибосом и полисом, вакуолизация цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума, с фрагментацией части его мембран и редукции пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. В результате этого в цитоплазме пирамидных нейронов появляются аутофагосо-

мы, что является признаком повышения активности катаболических внутриклеточных процессов.

Выводы

1. Моделирование гиповолемии вызывает гипоксические изменения в ультраструктурной архитектонике пирамидных нейронов головного мозга и эндотелиоцитах гематоэнцефалического барьера в виде дистрофических и деструктивных изменений органелл.

2. Наиболее ярким изменениям подверглась ультраструктурная организация эндотелиоцитов капилляров гематоэнцефального барьера. В них обнаруживаются полиморфные изменения ядер с локальным просветлением и уплотнением матрикса, лизисом ядерной мембраны, конденсацией хроматина.

3. Деструкции мембран и крист митохондрий указывают на нарушения биоэнергетики и развитие митохондриальной дисфункции.

4. Ультраструктурная организация пирамидных нейронов головного мозга подвергается очаговым деструкциям внутриклеточных органелл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Невзоров В. П. Ультраструктурный информационный анализ динамики восстановления клеток печени после наложения билиодигестивного анастомоза при механической желтухе / В. П. Невзоров, В. Т. Зайцев, О. Ф. Невзорова // Архив анатомии гистологии и эмбриологии. — 1979. — № 7. — С. 52–58.
2. Ультраструктура пирамидных нейронов головного мозга экспериментальных животных с моделированным компрессионным синдромом / В. В. Бойко, В. П. Невзоров, И. А. Тарабан [и др.] // Харківська хірургічна школа. — 2012. — № 4 (55). — С. 32–36.
3. Явление пьезосинтеза в биологических тканях. Материалы заявки на открытие / В. В. Бойко, П. Н. Замятин, В. И. Жуков [и др.] // Диплом № 454. — 2012.
4. Zaizeva S. I. Ultrastructural damages of the cell components of the lung surfactant system in acute pneumonia / S. I. Zaizeva, V. P. Nevzorov // Congress of the European Respiratory Society. Barcelona. — 1995. — P. 38.



ПОРУШЕННЯ
УЛЬСТРАКТУРИ НЕЙРОНІВ
ГОЛОВНОГО МОЗКУ
ТА ЕНДОТЕЛІОЦИТІВ
ГЕМАТОЕНЦЕФАЛІЧНОГО
БАР'ЄРУ ПРИ ГІПОВОЛЕМІЇ

В. П. Невзоров, О. П. Павлова

Резюме. Проведене електронно-мікроскопічне дослідження пірамідних нейронів та елементів гематоенцефалічного бар'єру головного мозку пацюків з модельованою гіповолемією виявлено ряд характерних дистрофічних та деструктивних змін органел, які свідчать про порушення обмінних процесів, що відбуваються між ядром та цитоплазмою, а також розвиток мітохондріальної дисфункції. Порушення субмікроспічної архітекtonіки капілярів є причиною гіпоксичних порушень метаболічної активності пірамідних нейронів головного мозку в яких активуються катаболічні процеси, які структурно підтверджуються в появі аутофагосом у цитоплазмі.

Ключові слова: *ультраструктура пірамідних нейронів, мітохондріальна дисфункція, ішемія, гіповолемія.*

VIOLATIONS OF THE
BRAIN NEURONS
ULTRASTRUCTURE AND
ENDOTHELIAL BLOOD-
BRAIN BARRIER IN
HYPOVOLAEMIA

V. P. Nevzorov, O. P. Pavlova

Summary. The carried out electro-microscopical research of pyramidal neurones and elements of hematoencephalic barrier of rats brain with simulated hypovolemia has revealed a number of characteristic dystrophic and destructive changes of the organellas indicating a violation of metabolic processes occurring between the nucleus and the cytoplasm, as well as the development of mitochondrial dysfunction. Violations of submicroscopic capillaries architectonics are the reason of hypoxic disturbances of metabolic activity of pyramidal brain neurones in which the catabolic processes that are structurally proving to be true in occurrence of autophagosomes in a cytoplasm are activated.

Key words: *ultrastructure of pyramidal neurones, mitochondrial dysfunction, ischemia, hypovolemia.*