

Морфофункциональные особенности структурных изменений эпинеуральных микрососудов седалищных нервов белой крысы при экспериментальной эндотоксемии

Н.Т.Гулиева

Азербайджанский медицинский университет
Баку, Азербайджан

Целью исследования являлось изучение ультраструктурных изменений эпинеуральных микрососудов седалищных нервов 12 самцов белых крыс массой 200-260 г после воздействия внутривенно введенного эндотоксина *E.coli*. Приготовлены эпон-аральдитовые блоки седалищных нервов, обработанных в соответствии с принятыми правилами в электронной микроскопии. Полученные ультратонкие срезы окрашены уранилацетатом и цитратом свинца и исследованы под трансмиссионным электронным микроскопом (Jeol 1200 CX). Результаты исследования выявили резкое сужение просвета капилляров и венул от давления отечной жидкости, сопровождающееся определенными ультраструктурными изменениями в эндотелиоцитах, которые затрагивают как цитоплазматические, так и ядерные элементы. При этом в структурных элементах артериол наблюдаются менее выраженные деструктивные изменения, которые больше характеризуются усилением синтетической активности исследованных клеток при эндотоксемии.

Ключевые слова: эндотоксемия, седалищный нерв, эпинеуральные микрососуды, белая крыса, ультраструктура.

ВВЕДЕНИЕ

Эндотелий сосудов служит в качестве основного барьера между внутрисосудистым компартментом и внесосудистыми тканями и играет важную роль во множественных физиологических и патологических процессах [9]. Так как эн-

дотелий сосудов располагается между кровью и внесосудистой средой, эндотелиальные клетки постоянно подвергаются воздействию циркулирующих медиаторов, которые могут нарушать функции указанного барьера. Одним из таких медиаторов является компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий — липополисахарид или эндотоксин [5, 6, 8]. Анализ литературных данных показывает, что эндотоксин нарушает кровоток седалищных нервов, которое способствует изменению реологических свойств крови и гемостаза и развитию полиневропатии [4, 7]. Несмотря на то, что детально исследована гистотопография и ультраструктура микроциркуляторного русла седалищных нервов крысы в норме [1] и при воздействии гистамина [3], еще подробно не изучено строение указанных структур при острой эндотоксемии.

Целью исследования является изучение ультраструктурных изменений эпинеуральных микрососудов седалищных нервов белой крысы при острой эндотоксемии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Острая экспериментальная эндотоксемия была достигнута внутривенной инъекцией очищенного липополисахарида *E.coli* (серотип 0111: В4, группа №78Н4086). 12 самцам белых крыс массой 200-260 г были внутривенно введены растворы липополисахарида (1 мг/кг) в 0,5 мл 0,9% хлорида натрия, а также чистый 0,9% раствор хлорида натрия. Спустя 2 ч после инъекции животные были декапитированы под общей анестезией, достигнутой хлороформом. Седалищные нервы были извлечены, погружены в раствор фиксатора, состоящего из 2% параформальдегида, 2% глутаральдегида и 0,1%

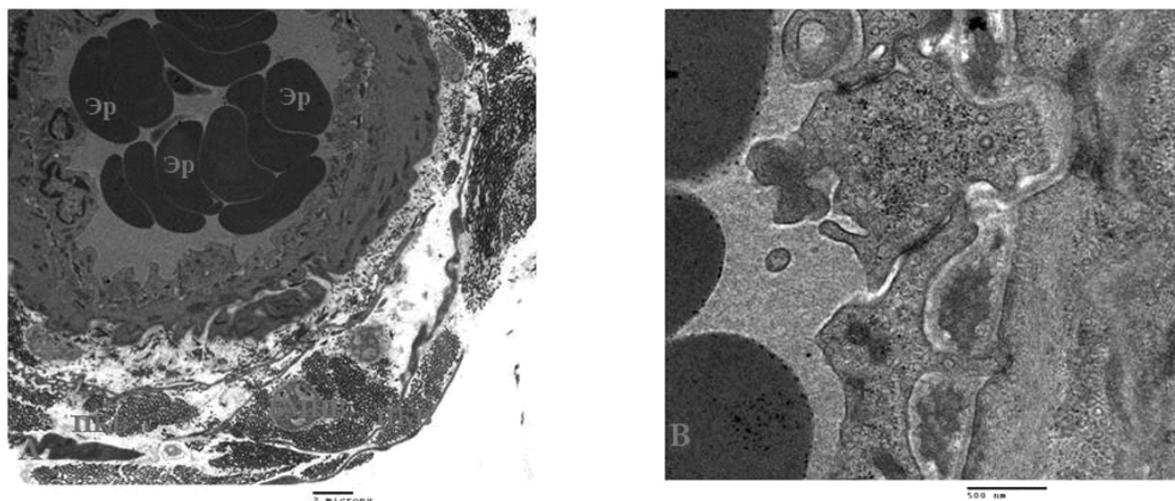


Рис. 1. Ультраструктурная характеристика изменений структур, принимающих участие в строении эпинеуральной артериолы при эндотоксемии. ТЭМ. Обозначение: Эр — эритроцит, Эн — эндотелиоцит, ПКВ — пучок коллагеновых волокон, БНВ — везикулярное нервное волокно. Масштаб 2 мкм.

пикриновой кислоты в растворе фосфатного буфера с pH 7,4 для дальнейшей обработки ткани для электронной микроскопии. Потом ткани были обезвожены и уплотнены в заливочной среде эпон-аральдита. Ультратонкие срезы были окрашены уранилацетатом и цитратом свинца и исследованы под трансмиссионным электронным микроскопом (Jeol 1200 CX).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении ультраструктуры эпинеурия видно, что она состоит из клеточных (фибробластов) и неклеточных (коллагеновые и эластические волокна, основное вещество) элементов (рис. 1). Здесь также наблюдается безмиелиновые нервные волокна. В толще эпинеурия располагаются поперечные срезы всех трех видов микрососудов (артериол, капилляр и венул). Среди изменений стенок артериол при эндотоксемии обращает на себя внимание уменьшение общего диаметра артериолы в результате резкого сокращения эндотелиоцитов и гладкомышечных клеток. Как видно из рис. 1А, не только ядродержащие, а также периферические части эндотелиальных клеток, окружающих просвет артериолы, утолщаются и, образуя пальцевидные выросты, формируют неровности на люминальной поверхности эндотелиального покрова сосуда. В результате резкого сокращения эндотелиальных клеток толщина их периферических частей, расположенных ближе к межклеточным контактам, иногда достигает более чем 3 мкм.

Электронно-микроскопическое изучение межклеточных контактов эндотелиальных клеток показывает, что, несмотря на минимальное увеличение их длины, эти клетки соединяются плотными контактами, характеризующимися 3-4 точками слияния соседних плазмалемм (рис. 1Б). Вместе с этим, несмотря на увеличение числа пиноцитозных пузырьков (кавеол) и расположение их группами, образование ими трансэндотелиальных каналов в некоторых эндотелиоцитах не встречается.

Открытие или близкое расположение некоторых кавеол к аблюминальным поверхностям эндотелиальных клеток указывает на активацию транспортных процессов в данных клетках артериол этой зоны. А также вместе с обычными пиноцитозными пузырьками присутствие клатрин-окаймлённых пузырьков и увеличение числа рибосом в ядродержащих и периферических частях эндотелиальных клеток является признаками усиления синтетической активности указанных клеток при эндотоксемии.

Интересно то, что в результате резкого сокращения эндотелиоцитов на их аблюминальных поверхностях обнаруживаются кавеолы, ставшие в один ряд на уровне плазмалеммы, что характерно для гладкомышечных клеток. Выросты различной высоты встречаются не только в люминальных, а также аблюминальных поверхностях эндотелиальных клеток. Отсутствие резких изменений структуры базальных пластинок как эндотелиальных, так и гладкомышечных клеток можно считать показателем минимальной роли артериоларных микрососудов в образовании отечной жидкости в эпинеуральной оболочке.

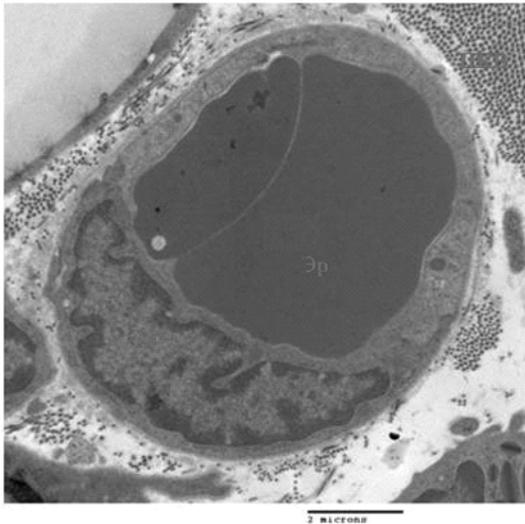


Рис. 2. Электронно-микроскопический рисунок эпинеурального капилляра, просвет которого заполнен деформированными эритроцитами. Обозначение: Эр — эритроцит, Эн — эндотелиоцит, ПКВ — пучок коллагеновых волокон. Масштаб 2 мкм.

К ультраструктурным изменениям эпинеуральных капилляров при острой эндотоксемии относится резкое сужение их просвета от давления отечной жидкости, приближение друг к другу выростов на люминальной поверхности и появление окруженных клеточной мембраной «свободных» срезов различной формы внутри щелевидных просветов эндотелиальных клеток. Внутри цитоплазмы эндотелиальной клетки встречаются уплотненные элементы цитоскелета, некоторые пиноцитозные пузырьки, деформированные митохондрии и рибосомы.

Иногда наблюдаются капилляры, просвет которых заполнен эритроцитами (рис. 2). Как видно из рисунка, просвет капилляра диаметром 8 мкм почти заполнен двумя деформированными эритроцитами. Например, в верхней части рисунка величина расстояния между эритроцитом и эндотелиоцитом составляет не более 70 нм.

В топографии и структуре эндотелиального слоя капилляра значительных изменений не обнаруживается. В ядре эндотелиальной клетки ультраструктурно обнаружены изменения. В периферических частях эндотелиоцитов этого капилляра отмечается резкое увеличение числа органелл и гомогенность цитоплазмы.

Эти признаки показывают слабое непосредственное воздействие внутривенно введенного эндотоксина *E.coli* на эндотелиальную клетку в результате уменьшения скорости кровотока за счет закупорки просвета капилляра форменными элементами крови. С другой стороны, уменьшение числа органелл указывает на подвержен-

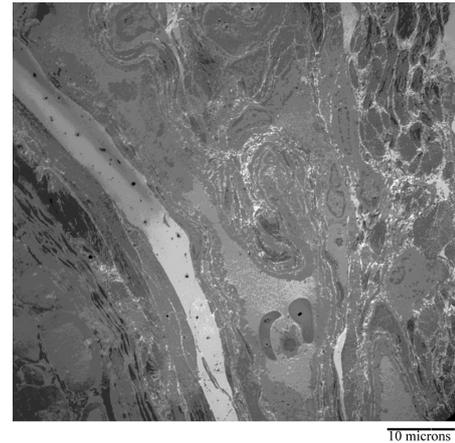


Рис. 3. Гистотопография сосудов, расположенных во внутренней части эпинеуральной оболочки, окружающей нервные пучки. ТЭМ. Масштаб 10 мкм.

ность гипоксии элементов стенок капилляра.

Исследование кровоснабжения седалищного нерва белой крысы показало [2], что посткапиллярные венулы перинеуральной оболочки участвуют в дренаже крови от эндоневрального пространства к эпинеуральным сосудам. При электронно-микроскопическом исследовании таких сосудов при малом увеличении (x2500) выявляется резкое сужение просветов микрососудов, стенки которых сформированы эндотелиальным слоем и неполным перичитарным покровом (рис. 3).

Кроме того, отмечается приобретение эндотелиоцитами неровных контуров в результате их сокращения. Несмотря на присутствие кровяного застоя, в просвете этих сосудов появляются отдельные эритроциты и лимфоциты. Также наблюдается резкая деформация коллагеновых волокон, расположенных между и вне указанных сосудов.

ВЫВОД

Анализ вышеописанных наблюдений позволяет сказать, что капиллярные и венулярные микрососуды эпинеурия седалищных нервов белых крыс подвергаются более сильному воздействию эндотоксина, чем артериоларные микрососуды. У них выявляется резкое сужение просвета капилляров и венул от давления отечной жидкости, сопровождающиеся определенными ультраструктурными изменениями в эндотелиоцитах, которые затрагивают как цитоплазматические, так и ядерные элементы. В эндотелиоцитах артериол в основном встречается образование пиноцитозных пузырьков (кавеол) и увеличение числа рибосом. Наши результаты совпадают с данными E.T.Suttonetal, которые изучали воздействие эндотоксина на

эндотелиальные клетки артериол мышцы-кремстера [10]. В отличие от этого, авторы наблюдали деструктивные изменения в эндотелиальных клетках стенок бедренной артерии в течение короткого промежутка времени. По нашему мнению, менее выраженные деструктивные изменения, наблюдающиеся в структурных элементах артериол, больше характеризуют усиление синтетической активности исследованных клеток при эндотоксемии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гасымов Э.К. Гистопография и состав микроциркуляторного русла седалищного нерва крысы / Э.К.Гасымов // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1989. — Т. 97, №11. — С. 15-20.
 2. Гасымов Э.К. Ультраструктурные особенности строения клеточных и неклеточных элементов эндоневрия у человека. Сборник научных статей Международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения проф. К.А.Балакишиевой / Э.К.Гасымов. — Баку, 2006. — С. 236-240.
 3. Гасымов Э.К. Изменение структурных элементов стенки обменных микрососудов седалищного нерва при воздействии гистамина. Мат. научно-практ. конф., посвященной 70-летию кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии АМУ им. Н.Нариманова. — Баку, 1991. — С. 45-49.
 4. Спирин Н.Н. Синдромы поражения периферической нервной системы и механизмы их формирования при болезнях соединительной ткани / Н.Н.Спирин, В.А.Буланова, Н.В.Пизова и др. // Журнал неврологии и психиатрии. — 2005. — №12. — С. 4-8.
 5. Abbott N.J. Inflammatory mediators and modulation of blood-brain barrier permeability / N.J.Abbott // Cell. Mol. Neurobiol. — 2000. — Vol. 20, №2. — P. 131-147.
 6. Bannerman D.D. Mechanisms of bacterial lipopolysaccharide-induced endothelial apoptosis / D.D.Bannerman, S.E.Goldblum // Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol. — 2003. — Vol. 284, №6. — P. 899-914.
 7. Hino H. Delayed effect of endotoxin on rat sciatic nerve blood flow in vivo — the most likely candidate for pathophysiology of critically illness polyneuropathy / H.Hino, G.Lu, V.Kvetan et al. // Microcirc. Ann. — 1997. — Vol. 13. — P. 143-144.
 8. Mehta D. Signaling mechanisms regulating endothelial permeability / Mehta D., A.B.Malik // Physiol. Rev. — 2006. — Vol. 86. — P. 279-367.
 9. Sano Y. Endothelial cells constituting blood-nerve barrier have highly specialized characteristics as barrier-forming cells / Y.Sano, F.Shimizu, H.Nakayama et al. // Cell. Struct. Funct. — 2007. — Vol. 32, №2. — P. 139-147.
 10. Sutton E.T. Differences in arterial and arteriolar endothelial structure during endotoxin shock / E.T.Sutton, Z.Zhou, C.H.Baker et al. — CircShock. — 1993. — Vol. 41, №2. — P. 71-76.
- Н.Т.Гулиева. Морфофункциональні особливості структурних змін епіневральних мікросудин сідничних нервів білого щура при експериментальній ендотоксемії. Баку, Азербайджан.**
- Ключові слова:** ендотоксемія, сідничний нерв, епіневральні мікросудини, білий щур, ультраструктура.
- Метою дослідження було вивчення ультраструктурних змін епіневральних мікросудин сідничних нервів 12 самців білих щурів масою 200-260 г після впливу внутрішньовенно введеного ендотоксину *E.coli*. Приготовлені епон-аральдітові блоки сідничних нервів, оброблених відповідно до прийнятих правил в електронній мікроскопії. Отримані ультратонкі зрізи пофарбовані уранілацетатом і цитратом свинцю і досліджені під трансмісійним електронним мікроскопом (Jeol 1200 CX). Результати дослідження виявили різке звуження просвіту капілярів і венул від тиску набряклої рідини, що супроводжується певними ультраструктурними змінами в ендотеліоцитах, які зачіпають як цитоплазматичні, так і ядерні елементи. При цьому в структурних елементах артеріол спостерігаються менш виражені деструктивні зміни, які більше характеризуються посиленням синтетичної активності досліджених клітин при ендотоксемії.
- N.T.Guliyeva. Morphofunctional features of ultrastructural changes of epineurial microvessels of white rat sciatic nerve at experimental endotoxemia. Baku, Azerbaijan.**
- Key words:** endotoxemia, sciatic nerve, epineurial microvessels, white rat, ultrastructure.
- The aim of investigation is the study of epineurial microvessels of 12 white rat sciatic nerve at influence of endotoxin *E. coli*. Acute experimental endotoxemia has been achieved by intravenous injection of purified lipopolysaccharide *E.coli* in the solution of sodium chloride (dosage of *E.coli* - 1,0 mg/kg). The sciatic nerves were fixed using the mixed solution of 2% paraformaldehyde, 2% glutaraldehyde and 0,1% picric acid in 0,1 M phosphate buffer (pH-7.4). Then specimens were embedded in Epon-Araldite; ultrathin sections from these resin blocs were examined in transmission electron microscope Jeol 1200 CX. The results of research show prominent distinct narrowing of lumen of capillaries and venules after from pressure of the oedematous fluid, being accompanied certain ultrastructural changes in endothelial cells which affect both cytoplasmatic, and nuclear elements. Thus in structural elements of arterioles less expressed destructive changes are observed, which are more characterized by intensifying of synthetic activity of the studied cells at an endotoxemia.

Надійшла до редакції 20.06.2013 р.