

УДК 616.831-005.1-005.4

Макаренко О. М., Чорна С. І.

МОРФОЛОГІЧНО-СТРУКТУРНІ ЗМІНИ В КЛІТИНАХ ЦЕРЕБРОКОРТЕКСУ, ЩО РОЗВИВАЮТЬСЯ ПРИ ІНСУЛЬТІ У ГОСТРИЙ ТА ВІДДАЛЕНИЙ ПЕРІОДИ ЗАХВОРЮВАННЯ

Механізми розвитку гострого інсульту активно досліджуються протягом десятиріч, але останні 10-15 років, у зв'язку із високою смертністю хворих, зростає інтерес до досліджень в першу чергу геморагічного інсульту. У 80-ті роки ХХ століття вперше було описано реакцію тканини мозку на гостре порушення мозкового кровообігу і важливим аспектом вивчення їх розвитку стало дослідження структурно-функціональних порушень, що розвиваються в нервових клітинах.

Ключові слова: гострий інсульт, церебральна ішемія, гематоецефалічний бар'єр, матриксна металопротеїназа.

Вступ

Деструктивні зміни при ГНМК спостерігаються в різних клітинах - нейронах, глії, ендотеліальних клітинах судин та сполучній тканині. Гістологічні дослідження стану нервових клітин при гострому інсульті свідчать про поліморфний характер змін в клітинах в цілому та в їх окремих структурах.

Встановлено, що в зоні із найбільш вираженим зниженням мозкового кровообігу структурні порушення набувають необоротного характеру впродовж перших 6-8 хвилин. Ця зона дістала назву «ядерної» зони ішемії. Ядерну зону оточує ішемізована, але жива тканина – т.зв. зона ішемічної «напівтіні», або пенумбри, якій притаманні активні метаболічні процеси і яка розповсюджується від ядерної зони до периферійної, оточуючої вогнище, тканини [1].

Структурні порушення в органах нейронів

В умовах гіпоксії в нейронах дуже швидко реагує базofilна субстанція Ніссля, структурні зміни в якій проявляються у вигляді часткового, субтотального або центрального хроматолізу. В інших клітинах спостерігається повна деструкція тигроїду із виникненням гіперхромії протоплазми та зморщенням нейронів. Встановлено, що процес периферійного хроматолізу відбувається вже через 3-4 години після моделювання ішемії та ішемічного інсульту [2]. В той же час наявність в пікнозно змінених ядрах скупчень гетерохроматину із розташованими між глибками гранулярних рибонуклеопротеїдів вказує на часткове збереження в цих клітинах синтезу РНК. Перикаріони таких нейронів витягнуті, ядра клітин характеризуються неправильною формою [3].

Встановлено, що на першу добу після розвитку інсульту нейрони та їх відростки перебувають в стані набряку, а на 8-10 день експерименту помітні гістоструктурні зміни незворотного, тобто дистрофічного характеру. Максимально виражені процеси дегенерації спостерігаються на 12-14 день. Клітини характеризуються тотальним хроматолізом, різким набряком перикаріону, в ядрах нейронів розвивається каріоцитоліз. Для таких клітин характерні ектопія ядер і ядерцець, різка вакуолізація цитоплазми, фрагментація і, в подальшому, демієлінізація нервових волокон (в неокортексі-головним чином радіальних), поява клітин-тіней [4].

В корі великих півкуль відзначають наявність значної кількості перичелюлярних та периваскулярних набряків – т.зв. «губчастість». Ці зміни носять дифузний характер і часто супроводжуються зморщенням значних груп нейронів та гіпертрофією інших, появою поодиноких колб, в тому числі в плексиморфному шарі цереброкортексу [5].

Формування губчастої структури цього відділу мозку додатково спричиняється різким порушенням гемодинаміки. Результатом цих порушень стають циркуляторна гіпоксія, порушення іонного балансу нервових клітин, підвищення проникності судин. Морфологічно це проявляється у вигляді розширень матриксу і структурних порушень міжклітинного простору, при цьому розвиток периваскулярного набряку пояснюється астроцитарним гідропсом відростків, що прилягають до стінок судин. Спостерігається одночасний набряк білої речовини мозку в результаті інтраламелярного набряку і набухання мієлінових оболонки. В механізмі їх розвитку істотну роль відіграє механічне порушення ГЕБ, зокрема при ішемічній травмі мозку та інсульті. У стані гідропсу дендрити нейронів характеризуються розвитком варикозних розширень із одночасним ушкодженням просторової структурної організації мікротрубочкового апарату та деструкцією цитоскелету і дендритів в цілому [6,7].

При виконанні ультраструктурних досліджень в пірамідних нейронах реєструються численні темні осміофільні гранули, спостерігаються розширення гранулярного ЕПР, набряк мітохондрій та різка деструкція крист в них. Вакуолізація клітин характеризується збільшенням кількості лізосом, локалізованих в перикаріоні та нейритах, але особливо значна їх кількість спостерігається в цих зонах. В ряді клітин зустрічаються аутофагосоми, кількість яких суттєво зростає на третю-четверту добу розвитку інсульту, що свідчить про суттєве ушкодження клітин. Іншим проявом апоптозу нейронів вважається поява апоптичних тілець, проте останні виявляються не завжди [8, 9].

Ультраструктурні зміни в мітохондріях спостерігаються в клітинах усіх шарів цереброкортексу, характерним проявом яких є набряк. Органели різко збільшуються в розмірах, їх матрикс стає електроннопрозорим. Ці мітохондрії практично повністю втрачають кристи і перетворюю-

ються на збільшені ультраструктури, обмежені подвійною або одинарною мембраною. При гострому інсульті ці порушення досягають критичного рівня, стають незворотними, що супроводжується повним руйнуванням органел. Зрідка в мітохондріях нейронів цереброкортексу виникають електроннощільні гранули з підвищеним вмістом кальцію. При цьому мітохондрії деформуються, їх матрикс стає електроннощільним, а перимітохондріальний простір суттєво збільшується. Спостерігається швидке руйнування внутрішньої та зовнішньої мембран (протягом 24 год з моменту розвитку ішемії), що доводить провідну роль пошкодження мітохондрій в розвитку апоптозу, а саме значення вивільнення в цитоплазму клітин молекул цитохрому С та ензимів (зокрема, ендонуклеази G) [10, 11].

Функціональні та біохімічні порушення, що розвиваються в нейронах

Структурні порушення нейронів при гіпоксії характеризуються превалюючими змінами будови міжнейрональних контактів. При цьому спостерігається значна кількість дезорганізованих синапсів, а найістотніші зміни відбуваються та візуалізуються в пресинаптичних аксональних закінченнях. Змінені аксональні закінчення набрякають, частково збільшуються в розмірах. Кількість синаптичних пухирців зменшується, порушується їх розподіл. У більшості аксодендритичних закінчень синаптичні везикули формують компактні групи, або групи по типу «виноградних грон» в області пресинаптичної мембрани. Конгломерати таких везикул, розташованих в центрі пресинаптичного закінчення, формуються значно рідше. В таких же пресинаптичних відростках спостерігаються і патологічно змінені мітохондрії [12].

Одночасно в нейронах спостерігаються ознаки окислення протеїнів та ліпідів із одночасним порушенням структурних компонентів. Ці процеси характеризуються накопиченням в перикаріонах ліпідних гранул, ліпофусцину, що може заповнювати значний об'єм цитоплазми, ексцентрично зміщуючи ядро до нейролеми. Накопичення ліпідів вважається відносно пізньою реакцією нейронів при розвитку інсульту. За умов ефективного перебігу репаративних процесів зазначені процеси суттєво гальмуються, а кількість гранул зменшується [13].

Зміни в клітинах судинної системи головного мозку

За умов розвитку гіпоксії та інсульту відбуваються суттєві зміни і в судинній системі головного мозку. Спостерігається підвищення проникності гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) до компонентів плазми та формених елементів крові. Зростання проникності ГЕБ пов'язано із розвитком структурних порушень в клітинах судин (і капілярах), руйнуванням елементів базальної мембрани та позаклітинного матриксу (колагену) активованими ензимами, наприклад матриксною металопротеїназою-9 (ММР-9) та іншими [14].

Встановлено, що синтез мРНК, яка кодує ММР-9 в периферійних моноцитах крові, прямо пропорційно корелює зі ступенем ушкодження головного мозку [15].

В цитоплазмі ендотеліальних клітин крім порушення цілісності внутрішньої мітохондріальної мембрани, відбувається руйнування крист. Збільшується кількість пухирців різного об'єму, відбувається розширення цистерн комплексу Гольджі та агранулярного ендоплазматичного ретикулу (ЕПР). В той же час, кількість фіксованих на ЕПР рибосом зменшується.

В ядрах ендотеліальних клітин спостерігаються процеси конденсації хроматину та збільшення перинуклеарного простору (блеббінг). Різко збільшується і число мікроворсинок на апікальній поверхні активованих ендотеліоцитів. Товщина базальної мембрани клітин стає нерівномірною із супутніми проявами розшарування, про що свідчать різкі зміни її контуру. Збільшення перикапілярного простору свідчить про виникнення периваскулярного набряку. Вираженої некротичної зміни навколо судин не спостерігається. Розвиток зазначених порушень вважається одним із чинників розвитку геморагічного інсульту [16].

При ішемічному інсульті в ділянках некротичних змін в ядерній зоні часто відзначається геморагічна трансформація вогнища. Наявність таких змін зумовлена виділенням значної кількості ензимів ушкодженими ендотеліоцитами в міжклітинний простір. В першу чергу це стосується групи матриксних металопротеїназ (ММР), висока активність яких спостерігається саме при моделюванні експериментального геморагічного інсульту. Ферменти руйнують молекули позаклітинного матриксу, що сприяє розвитку геморагічної трансформації в зонах гіпоксії, тобто є провідними в розвитку вторинного інсульту [15].

Було показано, що плазмін, що приймає участь у формуванні тромбу при ішемічному інсульті, одночасно руйнує білкові молекули стінки судин (колаген IV, ламінін, фібронектин) та основний білок мієліну. Це, в свою чергу, також сприяє розвитку геморагічної трансформації та ушкодженню судинної стінки та нервової тканини в зоні ішемічного інсульту.

При церебральній ішемії спостерігаються також суттєві зміни в цитоплазмі клітин сполучної тканини (перицитів). В цитоплазмі різко зростає кількість лізосом та фагосом, місцями спостерігається виражена деструкція мітохондрій, вакуолізація клітин. Навколо капілярів зростає кількість гліальних клітин - астроцитів, мікроглії, макрофагів [17]. Одночасно спостерігається відшарування ендотелію, вздовж судин реєструється виражена лімфоцитарна інфільтрація та діapedез формених елементів в нервову тканину. Збільшення кількості лейкоцитів в зоні інсульту підвищує вірогідність розвитку інфаркту та формування «завершеного» інсульту. Активна експе-

сія та виділення в міжклітинний простір прозапальних цитокінів (IL-1 β , IL-8, IL-17, MIP-1) астроцитами, ендотеліальними клітинами і макрофагами індукують розвиток процесів запалення та нейродегенерації безпосередньо в вогнищі інсульту, у ділянках мозку [18, 19].

У деяких випадках в зонах значних крововиливів у стінках судин відзначалось утворення кальцифікатів. У віддалені періоди розвитку інсульту це явище спостерігалось у хворих всіх вікових груп. Разом з тим, механізм розвитку кальцифікації залишається мало дослідженим. Також відзначається гіперплазія судин.

Висновки

Отже, зміни, що розвиваються в судинах при інсульті, мають поліморфний характер. Це викликає порушення обмінних процесів в ділянках ішемізації та спричиняє розвиток вторинного або повторного інсульту.

Описані зміни морфологічних та ультраструктурних порушень в нервових клітинах при гіпоксії та інсульті носять виражений нейродегенеративний характер, а розвиток цитопатології міжнейрональних контактів свідчить про пошкодження клітинних систем різних відділів мозку, чутливих до дії оксидативного стресу. Вони лежать в основі розвитку динамічних структурно-функціональних порушень, що має місце у пацієнтів з гострим інсультом.

Література

1. Jankowitz B. Manual Aspiration Thrombectomy: Adjunctive Endovascular Recanalization Technique in Acute Stroke Interventions / B. Jankowitz, A. Aghaebrahim, A. Zirra // *Stroke*. – 2012. – V. 2, № 3. – P. 234-245.
2. Srinivasan K. Augmentation of endoplasmic reticulum stress in cerebral ischemia/reperfusion injury associated with comorbid type 2 diabetes / K. Srinivasan, S.S. Sharma // *Neurol Res*. – 2011. – V. 33(8). – P. 858-865.
3. Химион Л.В. Атеросклероз: современные подходы к ведению пациентов / Л.В.Химион, Г.И.Лысенко, О.Б.Ященко [и др.] // *Радиационная Фармакотерапия*. – 2008. – № 1 (06). – С. 77-83.
4. Rapp J.H. Microemboli composed of cholesterol crystals disrupt the blood-brain barrier and reduce cognition / J.H.Rapp, X.M.Pan, M., Neumann [et al.] // *Stroke*. – 2008. – V. 39, № 8. – P. 2354-2361.
5. Ulrich N. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinase-9 predict lesion volume in acute stroke / N. Ulrich // *Neurol. Sci*. – 2012. – [Epub ahead of print]
6. Косицин Н. С. Специфика структурных перестроек и их коррекция при моделировании гипоксических состояний головного мозга / Н. С. Косицин, М. М. Свинов, Е. И. Захарова [и др.] // *Мат. VI Росс. конф. с междунар. участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция»*. – М., 2011.
7. Косицин Н. С. Микроструктура дендритов и аксодендритических связей в центральной нервной системе / Косицин Н. С. – М.: Наука, 1976. – 198 с.
8. Makarenko A.N. Development of encephalitis in modeling of acute hemorrhagic stroke—a new variant of a somatic complication / A.N. Makarenko, A.E. Kul'chikov, T.I. Grigor'eva // *Patol Fiziol Eksp Ter*. – 2007. – V. 4. – P. 25-27.
9. Makarenko A.N. Simulation of local cerebral hemorrhage in different brain structures of experimental animals / A.N. Makarenko, N.S. Kositsyn, N.V. Pasikova, M.M. Svinov // *Zh Vyssh Nerv Deiat Im IP Pavlova*. – 2002. – V. 52 (6). – P. 765-768.
10. Stroeve S. Preconditioning Enhances the Expression of Mitochondrial Antioxidant Thioredoxin-2 in the Forebrain of Rats Exposed to Severe Hypobaric Hypoxia / S.Stroeve, T.Glushchenko // *Journal of Neuroscience*. – 2004. – V. 1, № 2. – P. 563-569.
11. Jeremy D. Marks. Mitochondrial Nitric Oxide Mediates Decreased Vulnerability of Hippocampal Neurons from Immature Animals to NMDA / D. Marks Jeremy, B. Chan, W.Janice // *J Neurosc*. – 2005. – V. 5, №1. – P. 236-248.
12. Fullerton H.J. Recurrent hemorrhagic stroke in children: a population-based cohort study / H.J. Fullerton, Y.W. Wu, S. Sidney, S.C. Johnston // *Stroke*. – 2007. – V. 38, № 10. – P. 2658-2662.
13. Adibhatla Rao Muralikrishna Lipids and Lipidomics in Brain Injury and Diseases / Rao Muralikrishna Adibhatla, J.F. Hatcher // *The AAPS Journal*. – 2006. – V. 8(2). – P. 314-321.
14. Виленский Б.С. Инсульт: профилактика, диагностика и лечение / Виленский Б.С. – СПб.: Фолиант, 2002. – 397 с.
15. Ulrich N. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinase-9 predict lesion volume in acute stroke / N. Ulrich // *Neurol. Sci*. – 2012. – [Epub ahead of print]
16. Fullerton H.J. Recurrent hemorrhagic stroke in children: a population-based cohort study / H.J. Fullerton, Y.W. Wu, S. Sidney, S.C. Johnston // *Stroke*. – 2007. – V. 38, № 10. – P. 2658-2662.
17. Prabhakaran S. Acute brain infarcts after spontaneous intracerebral hemorrhage. A diffusion-weighted imaging study / S.Prabhakaran, R.Gupta, B.Ouyang [et al.] // *Stroke*. – 2010. – V. 41. – P. 89-94.
18. Chen S.T. Brain abscess as a complication of stroke / S.T. Chen, L.M. Tang, L.S. Ro // *Stroke*. – 1995. – V. 26, №4. – P.696-698.
19. Coulborne F. Electron microscopic evidence against apoptosis as the Mechanism of neuronal death in global icaemia / F. Coulborne, G. R. Sutherland // *J Neurosc*. – 1999. – V. 19. – P. 4200-4210.

Реферат

МОРФОЛОГИЧЕСКИ-СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТКАХ ЦЕРЕБРОКОРТЕКСА, РАЗВИВАЮЩИХСЯ ПРИ ИНСУЛЬТЕ В ОСТРЫЙ И ОТДАЛЕННЫЙ ПЕРИОДЫ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Макаренко О. М., Чорна С. И.

Ключевые слова: острый инсульт, церебральная ишемия, гематоэнцефалический барьер, матриксная металлопротеиназа.

Механизмы развития острого инсульта активно исследуются на протяжении десятилетий, но в связи с высокой летальностью больных увеличивается интерес к исследованиям в первую очередь геморрагического инсульта. В 80-е годы XX века впервые описана реакция ткани мозга на острое нарушение мозгового кровообращения и важным аспектом изучения их развития стало исследование структурно-функциональных нарушений, которые развиваются в нервных клетках.

Summary

MORPHOLOGICAL AND STRUCTURAL CHANGES IN CEREBROCORTEX CELLS WHICH DEVELOP IN ACUTE AND REMOTE PERIODS OF STROKE

Makarenko O.M., Tchorna S.I.

Key words: acute stroke, cerebral ischemia, hematoencephalic barrier, matrix metalloproteinase.

The mechanisms leading to acute stroke have being studied for decades but because of high lethality it is hemorrhagic stroke that draws much attention. In the eighties of XX century the response of brain tissues on acute cerebral circulation disturbance was first described and much attention was paid to the study of structural and functional impairments which occur in neurons.