



В.А. Шаврін

Ультроструктурные особенности тканевой трофики и элиминации при ишемии головного мозга в эксперименте

Запорожский государственный медицинский университет

Ключевые слова: ишемия мозга, ультроструктура мозга.

При двухсторонней перевязке сонных артерий у крыс и кошек в корковых зонах смежного кровоснабжения, вслед за деструктивными изменениями, с середины первых суток мобилизуются резервные механизмы межклеточных трофических взаимодействий, транспорта и элиминации (увеличение числа сателлитов у нейронов, появление плотных контактов их оболочек, увеличение числа субповерхностных цистерн, микрофагоцитоз, формирование многочисленных многопузырчатых вакуолей – резервных короткоживущих органелл транспорта и элиминации – «органелл-эфмерид» и др.), которые значительно интенсифицируются в условиях одновременного с операцией внутрибрюшинного введения терапевтических доз церебролизина. Аналогичное по времени введение оксипутирата натрия не приводит к усилению их интенсивности, активируя иные, пассивные формы приспособления (гелификация гиало- и кариеплазмы, снижение интенсивности внутриклеточного хроматолиза, снижение отека и др.).

Ультроструктурні особливості тканинної трофіки та елімінації при ішемії головного мозку в експерименті

В.О. Шаврін

При двобічній перев'язці сонних артерій у щурів і кішок в кіркових зонах суміжного кровопостачання, услід за деструктивними змінами, з середини першої доби мобілізуються резервні механізми міжклітинних трофічних взаємодій, транспорту та елімінації (збільшення кількості сателітів у нейронів, поява щільних контактів їх оболонок, збільшення числа субповерхневих цистерн, мікрофагоцитоз, формування численних багатопузірчастих вакуолей – резервних короткоживучих органелл транспорту та елімінації – «органелл-ефмерид» та ін.), які значно інтенсифікуються в умовах одночасного з операцією внутрішньочеревинного введення терапевтичних доз церебролізину. Аналогічне за часом введення оксипутирату натрію не призводить до посилення їх інтенсивності, але активує інші, пасивні форми пристосування (геліфікація гіало- і каріоплазми, зниження інтенсивності внутрішньоклітинного хроматолізу, зниження набряку та ін.).

Ключові слова: ішемія мозку, ультроструктура мозку.

Патологія. – 2010. – Т.7., №2. – С. 22–26

Ultrastructure features of tissue trophicity and elimination in brain ischemia in the experiment

V.A.Shavrin

From the middle of the first twenty-four hours after two-sided bandaging of carotids in rats and cats after destructive changes reserve mechanisms of intercellular trophic interaction, transport and elimination (increase the number of perineuronal satellites, dense junctions of neuronal shells appearance, increase the number of subsuperficial cisterns, microphagocytosis, forming of numerous multivesicular vacuoles – reserve short-living transport and elimination organoids – «ephemeral organoids», etc.) are mobilized in cortex areas of adjacent blood supply. These reserve mechanisms are significantly intensified in the conditions of cerebrolysin therapeutic doses intraperitoneal introduction simultaneously with operation. The same time sodium hydroxybutyrate introduction does not increase their intensity but activates other passive adaptation forms (gelification of hyaloplasm and karyoplasm, reducing the intensity of intracellular chromatolysis, edema reducing, etc.).

Key words: brain ischemia, brain ultrastructure.

Pathologia. 2010; 7(2): 22–26

Патоморфології ішемічної патології мозку посвящено більше число досліджень. Вони, в основному, посвящені динаміці розвитку деструкції і некроза, а також захисних механізмів, реалізуються в відповідь на некроз. В той же час залишаються слабо вивченими тонкі морфогенетичні механізми пристосування нервової тканини до дефіциту кровотоку. Пошук і вивчення таких механізмів, а також можливостей їх ініціювання і стимуляції, надзвичайно необхідні – вони відкривають перспективи більш ефективного лікування хворих. Особливо важливими в цьому плані є тонкі морфогенетичні механізми тканинної трофіки, транспорту і елімінації, забезпечуючі виживання нервової тканини в умовах дефіциту субстратів енергетичного і пластичного обміну.

© В.А. Шаврін, 2010

Цель работы

Изучить на ультроструктурном уровне динамику деструктивных и компенсаторно-приспособительных реакций при ишемии головного мозга, отражающих процессы трофических внутри- и межклеточных взаимодействий, тканевого транспорта и элиминации в различных условиях – без фармакологического влияния и при разнонаправленной фармакологической коррекции.

Материалы и методы исследования

Ишемия мозга моделировалась двухсторонней одномоментной перевязкой сонных артерий у 39 крыс линии Вистар и 25 беспородных кошек, проводимой по стандартизированной методике под внутрибрюшинным нембуталовым наркозом (0,005 г на 100 г веса). У части

из них (12 крыс и 6 кошек) при явлениях децеребрационной ригидности наступила смерть – у крыс в сроки от 0,5 до 72 часов после операции, у кошек – от 2 до 72 часов. Материал от умерших животных брался сразу же после остановки сердцебиения (через 1–5 минут). Остальные животные забивались в аналогичные сроки, а также через 7, 14 и 20 дней после операции в условиях нембуталового наркоза (повторного в том случае, если к моменту забоя они уже бодрствовали). В качестве контроля использованы 5 крыс и 5 кошек.

Кроме того, еще двум группам (по 10 крыс) производилось дополнительное разнонаправленное фармакологическое воздействие: одной группе сразу же после двухсторонней перевязки сонных артерий (первые 1–3 минуты) внутрибрюшинно вводилась терапевтическая доза оксибутирата натрия (15 мг на 100 г веса) с повторными инъекциями через каждые 24 часа, другой – по аналогичной схеме вводилась терапевтическая доза церебролизина (0,25 мг на 100 г веса). В первой группе умерло 3 крысы, во второй смертельных исходов не было.

Материал для электронномикроскопического исследования брался из корковых зон смежного кровоснабжения передней и средней мозговых артерий (где наиболее выражен дефицит кровотока), для светооптического исследования вырезались фронтальные полоски мозга на этом же уровне. Образцы для электронномикроскопического исследования фиксировались в глутаральдегидном, затем в осмиевом фиксаторах, приготовленных на фосфатном буфере, заливались в аралдит или эпонаралдит. Полутонкие срезы окрашивались метиленовым синим и основным фуксином. Ультратонкие срезы изготавливались на ультратоме OmU3 («Reichert»), контрастировались водным раствором уранилацетата и лимоннокислым свинцом по Рейнольдсу, изучались в электронном микроскопе ПЭМ-100. Для световой микроскопии использованы методики Ниселя, окраски гематоксилином и эозином (или азур-эозином), а у кошек, кроме того, – методики Кахала для выявления астроглии и методики Ортега для выявления микроглии и олигодендроглии.

Результаты и их обсуждение

В первые минуты и часы ишемии преобладающими в ультраструктурных сдвигах выступают проявления усиленной утилизации имеющихся в клетках субстанциальных ресурсов, в первую очередь, субстратов энергетического и пластического обменов, находящихся в гиалоплазме, за счет чего последняя просветляется и разжижается. Эти процессы изначально сопряжены с дезорганизацией, дезинтеграцией и дисконкомплексацией ядерных и цитоплазматических структур, а также межклеточных взаимодействий и, в меньшей степени, с парциальной (поверхностной) деструкцией органелл. В качественном отношении эти изменения не выходят за пределы обычного гомеостатического диапазона структурно-метаболических превращений. В отдельных клетках и их группах они могут встречаться и у интакт-

ных животных, но как начальная реакция на ишемию они постоянны и носят распространенный характер [6].

Интенсификация процессов активных межклеточных взаимодействий и усиленного внутри- и межклеточного транспорта становится очевидной с середины первых суток послеоперационного периода, когда на территории редуцированного кровотока появляются первые признаки некроза отдельных нейронов, их групп, а также небольших участков ткани. В последующие сроки они последовательно нарастают и к 7–20 суткам приобретают повсеместную распространенность в зонах смежного кровоснабжения, придавая особый, своеобразный характер общей ультраструктурной картине ишемизированной коры.

В массовом порядке изменяются соотношения между нейронами и их глиальными сателлитами – как количественно, так и качественно. У животных, удовлетворительно переживающих ишемию, нарастает число нейронов (прежде всего пирамидных), имеющих одного, двух и более сателлитов. В сателлитах нарастает тенденция к смещению ядра в сторону плазмолеммы нейрона, в связи с чем в последних сроках эксперимента большинство сателлитов контактирует с нейронами самым узким полюсом цитоплазмы. В участках контакта интенсифицируются проявления глио-нейрональных взаимоотношений необычного характера. Так, иногда обнаруживаются тесные контакты ядерной оболочки сателлита с плазмолеммой нейрона. На внутренней поверхности последней часто образуются мелкие участки уплотнения протяженностью до 100–1000 нм. Становится правилом сосредоточение вблизи контакта расширенных цистерн гранулярной и гладкой эндоплазматической сети нейрона с образованием деформированных субповерхностных цистерн, а также внутрицистернальных вакуолей (рис. 1).

Нередко здесь наблюдаются надрывы плазмолеммы нейрона и (или) глиоцита, что приводит к прямому сообщению расширенных цистерн эндоплазматической сети с образующимися межклеточными кавеолами (рис. 2). Характерно также формирование кратчайших связей кариотеки с плазмолеммой за счет цистерн эндоплазматической сети.

Контакты расширенных цистерн эндоплазматической сети с плазмолеммой и образование за счет них поверхностных выпячиваний в виде пузырей становится от срока к сроку все более частым явлением, характерным прежде всего для нейронов, сохраняющих признаки интенсивной внутриклеточной жизнедеятельности. Выпячиваясь, пузыри внедряются в цитоплазму сателлита, еще чаще – в отростки нейропиля или между ними, а также в расширенные межклеточные пространства. Нередко выявляются ультраструктурные свидетельства фагоцитирования пузырей фагоцитами.

Распространенный характер приобретают процессы нейронального и глиального микрофагоцитоза.

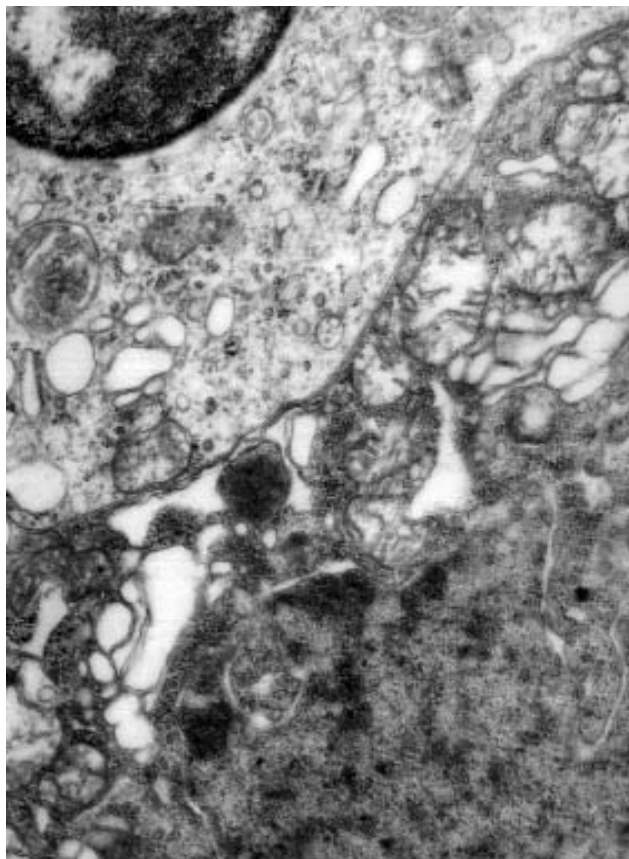


Рис. 1. Тесный контакт нейрона и олигодендроцита в области расширенных субповерхностных цистерн в коре головного мозга кошки через 20 суток после двухсторонней перевязки сонных артерий. Ув. х 8000.

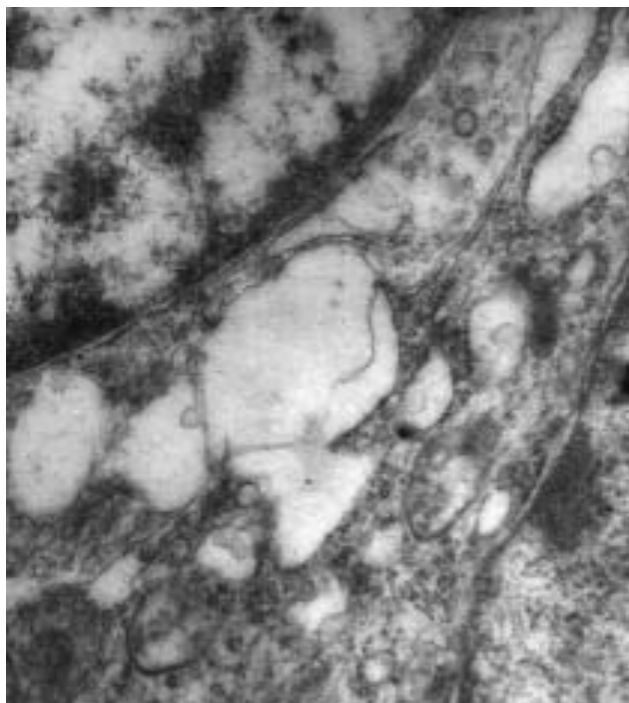


Рис. 2. Нарушение целостности плазмолеммы нейрона и олигодендроцита в области контакта с образованием межклеточной кавеолы и прямого сообщения между их цистернальными системами в коре головного мозга крысы через 7 суток после двухсторонней перевязки сонных артерий. Ув. х 22000.

Основным ультраструктурным его выражением является формирование сложных вакуолярных образований, обозначенных в данной работе как «многопузырчатые вакуоли» (МПВ). Они представляют собой довольно крупные вакуоли округлой или неправильной формы диаметром от 0,5 до 1,2 микрон, содержащие в себе множественные (от нескольких штук до двух-трех десятков) разнокалиберные везикулы диаметром 50–500 нм и более, чаще всего свободные от электронноплотного содержимого (рис. 3).

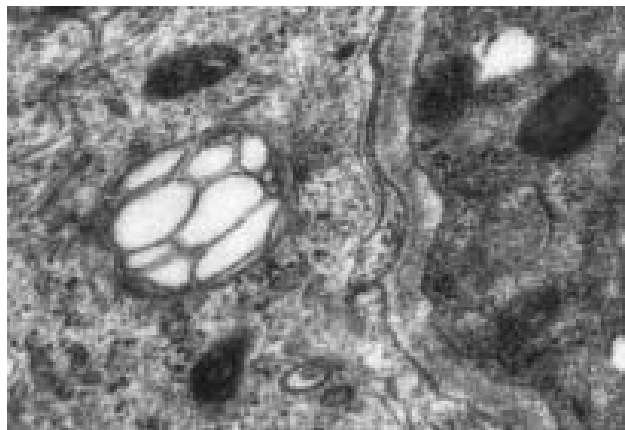


Рис. 3. Многопузырчатая вакуоль в дендрите вблизи стенки капилляра в коре головного мозга кошки через 14 суток после двухсторонней перевязки сонных артерий. Ув. х 30000.

Чаще всего они обнаруживаются в постсинаптических терминалах, дендритах, а также в отростках и перикарионах астроцитов. Несколько реже они выявляются в аксонах, в том числе миелинизированных, а также в перикарионах нейронов. Наиболее частым местом их первичного формирования являются постсинаптические терминалы и отростки астроцитов. В первом случае они образуются рядом с активными зонами синапсов путем захвата постсинаптической терминальной части пресинаптической вместе с синаптическими везикулами и более крупными пузырьками (рис. 4). Обратные взаимоотношения между синаптическими терминалами в этом плане не наблюдаются и в пресинаптических окончаниях многопузырчатые вакуоли не обнаруживаются.

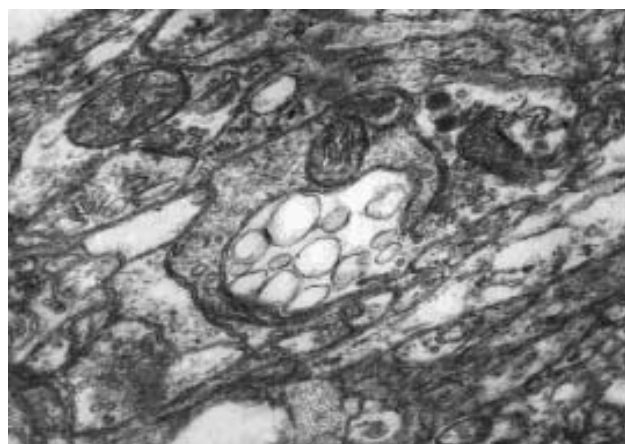


Рис. 4. Формирование многопузырчатой вакуоли в постсинаптической терминали в коре головного мозга крысы через 3 суток после двухсторонней перевязки сонных артерий. Ув. х 30000.

Столь же часто наблюдается их формирование за счет плазмолемм астроцитов, как в области их перикарионов, так и в отростках. Они образуются путем эндоцитоза мелких вакуолизированных отростков окружающего нейропиля.

Независимо от локализации и места своего образования, многопузырчатые вакуоли характеризуются высоким полиморфизмом. Одни из них содержат сравнительно плотно упакованные везикулы, в других остаются обширные свободные пространства, изредка содержащие рыхлый электронноплотный материал. Иногда наряду с везикулами в них появляются разнообразные ламеллярные образования, в том числе миелоподобные тельца.

Обнаружены признаки, свидетельствующие об элиминации многопузырчатых вакуолей в сосудистое русло. Косвенно об этом говорит сосредоточение их в большом количестве в периваскулярных астроцитах и их терминалах. Прямым свидетельством является довольно частое обнаружение их в просвете сосудов, где они, как правило, находятся в полуразрушенном состоянии, с истонченными мембранами, что, вероятно, свидетельствует о быстром их разрушении в плазме крови. Обнаружить их на ультратонких срезах в момент прохождения через сосудистую стенку не удалось.

Очевидна также возможность их элиминации в ликвор: большое их количество обнаруживается в толще мягкой мозговой оболочки над корковой зоной смежного кровоснабжения.

Особенности формирования и последующей локализации многопузырчатых вакуолей свидетельствуют о возможности их транснейрональной и трансastroцитарной миграции, а также о возможности их перемещения в сосудистое русло и ликвор. Это дает основание предположить, что многопузырчатые вакуоли могут выполнять роль «резервных» короткоживущих органелл транспорта и элиминации («органелл-эфмерид» по А.П. Авцуну и В.А. Шахламову [1]). Известно, что ишемизированная ткань страдает не только от дефицита притока, но и от следственного снижения оттока, а значит, выведения продуктов катаболизма. Многопузырчатые вакуоли могут быть выражением активного компенсаторно-приспособительного механизма транспорта и элиминации ненужных или вредных для клеток (для ткани в целом) растворимых элементов цитозоля. Не исключены и другие механизмы их участия в процессах нервной трофики.

Элиминация погибших клеток и их субструктур, а также тканевого детрита в очагах распада осуществляется гематогенными мононуклеарами, массовая эмиграция которых заметна уже на вторые-третье сутки после операции. Наиболее интенсивно они осуществляют фагоцитоз у животных, забитых на 7 и 14 сутки.

Вне зон некроза фагоцитоз осуществляют астроциты и микроглиоциты (не исключено, что последние частично представлены гематогенными клетками). Астроциты фагоцитируют разрушенные или деструктивно измененные фрагменты клеточных отростков, в том числе миелинизированных, синаптические терминалы. Микроглиоциты

фагоцитируют преимущественно своими отростками. Как правило, они окружены расширенными межклеточными пространствами, что, вероятно, свидетельствует об их двигательной активности. Осуществляя захват фагоцитируемых структур, они образуют длинные выросты цитоплазмы, окутывающие их с одной или двух сторон. Астроциты таких выростов не образуют, фагоцитируемый материал вглубь их цитоплазмы внедряется за счет инвагинаций плазмолеммы.

В интенсивности трофических коммуникаций и процессов элиминации заметна отчетливая разница между забитыми и умершими животными. У животных, удовлетворительно переживающих ишемию мозга, они выражены в значительно большей степени. У умерших, независимо от срока смерти, в зонах сниженного кровотока всегда более выражены признаки межклеточного отека, сопряженного с разрушением астроцитов. Мелкие очаги некроза и распада клеток не сопровождаются выраженной сосудистоклеточной и тканевой макрофагальной реакцией. Распад нейронов осуществляется преимущественно путем автолиза без участия макрофагов. Распадающийся материал слабо элиминируется. Вне очагов некроза у умерших животных резко выражены процессы внутриклеточной вакуолизации, но формирование многопузырчатых вакуолей наблюдается значительно реже.

Оксибутират натрия (гамма-оксимасляная кислота – ГОМК) относится к так называемым «противогипоксическим» средствам. Он представляет собой структурный аналог ГАМК, содержащий вместо аминогруппы гидроксильный радикал и является эндогенным метаболитом мозга. Суть его противогипоксического действия заключается, с одной стороны, в транквилизирующем эффекте, в усилении процессов центрального торможения, а значит – в предохранении нервных клеток от напряженной функциональной деятельности [2], а с другой стороны – в его способности к непосредственной стимуляции окислительного фосфорилирования в митохондриях [4]. Считается также, что важным звеном противогипоксического действия является его депримирующее влияние на нервную регуляцию мозгового кровотока (угнетение рефлекторных констрикторных сосудистых реакций), за счет чего улучшается мозговое кровообращение [5].

Церебролизин представляет собой освобожденный от белка гидролизат нервной ткани, содержащий 18 основных аминокислот, необходимых мозгу для его нормальной жизнедеятельности, и в основе его действия лежит корректирующее и стимулирующее влияние на внутриклеточный метаболизм [3].

Разница в характере влияния этих препаратов на тканевые изменения оказалась весьма значительной.

Оксибутират натрия существенно снижает интенсивность деструктивных изменений на всех этапах патологического процесса, в том числе (хотя и в меньшей степени) у умерших животных, а также заметно инициирует «пассивные» формы приспособления – в большей части нейронов и их сателлитов наблюдается уплотнение (гелификация) гиало- и кариоплазмы (что

снижает интенсивность катаболических процессов), снижается интенсивность хроматолитических изменений, внутриклеточного (в том числе астроцитарного) и межклеточного отека, уменьшается распространенность гипоксических изменений митохондрий – большинство из них имеет вид ортодоксальных или умеренно набухших с кристоллизом или без него. Характерна большая распространенность нарушений межнейрональных связей – во многих аксосоматических и аксодендритных синапсах просветляются и утрачиваются активные зоны, слипаются в конгломераты или утрачиваются синаптические пузырьки. Вокруг многих нейронов, особенно сморщенных, синаптические терминалы оттесняются от плазмолеммы за счет расширений межклеточных пространств. Все это можно расценить как результат предохранительного снижения функционально-зависимого напряжения тканевого метаболизма. Вместе с тем, это не сопровождается усилением включения резервных программ клеточной и тканевой трофики, транспорта и элиминации.

Значительно более эффективное коррегирующее влияние на морфогенез тканевых изменений оказывает церебролизин. Ведущим звеном его позитивного действия является интенсификация внутриклеточной синтетической деятельности. Она начинается в самом начале ишемического процесса, а в ходе развития деструктивных изменений, разворачивающихся преимущественно на субклеточном уровне, становится все более выраженной и распространенной, приобретая характер интенсивной внутриклеточной репарации, вплоть до регенерационной гипертрофии отдельных клеток. Таким образом, в течение ишемического процесса привносится признак, для него не характерный.

В противоположность оксибутирату натрия церебролизин препятствует переходу клеток на экономные пути метаболической деятельности и, с другой стороны, ускоряет включение вышеописанных активных резервных приспособительных программ трофики, транспорта и элиминации, причем это не сопровождается преобладанием процессов распада над процессами синтеза, что говорит об отсутствии выраженного дефицита метаболических ресурсов. Очевидно, что в какой-то мере они восполняются за счет аминокислот, содержащихся в препарате, а также за счет улучшения кровоснабжения зон редуцированного кровотока.

Нельзя, однако, сказать, что церебролизин полностью «нормализует» структуру ишемизированных территорий ткани. Общая динамика патологического процесса сохраняется, а это говорит о том, что до нормального уровня кровотока не восстанавливается и дефицит – по меньшей мере кислорода и энергетических субстратов (о чем говорит характер изменения части митохондрий) – если и устраняется, то лишь частично, оставаясь на патологически значимом уровне.

Сведения об авторе:

Шаврин В.А., д. мед. наук, профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.

Адрес для переписки:

Шаврин Владимир Александрович. 69035, г. Запорожье, пр. Маяковского, 26, ЗГМУ, каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права. Тел.: (061) 2890719.

Выводы

1. При ишемии головного мозга, наряду с процессами деструкции и некроза отдельных нервных клеток, их групп, а также участков нервной ткани, с середины первых суток после перевязки сонных артерий включаются резервные механизмы внутри- и межклеточных трофических коммуникаций, заключающиеся, прежде всего, в перестройке глио-нейрональных взаимоотношений и интенсификации нейроно-нейронального, нейроно-глиального и глио-нейронального микрофагоцитоза.

2. Ультраструктурным выражением мобилизации резервных механизмов межклеточных трофических взаимодействий, транспорта и элиминации являются: увеличение числа сателлитов у нейронов, появление плотных контактов их оболочек, увеличение числа субповерхностных цистерн, микропузырчатых вакуолей – резервных короткоживущих органелл транспорта и элиминации – «органелл-эфмерид».

3. Применение в эксперименте с первых минут ишемии терапевтических доз оксибутирата натрия удлиняет этап экстренной мобилизации клеточных ресурсов, снижает интенсивность деструкции, инициирует пассивные формы приспособления (гелификацию внутриклеточных сред, замедление хроматолитических процессов, снижение внутри- и межклеточного отека, уменьшение распространенности гипоксических изменений митохондрий), но не обеспечивает усиленного включения резервных программ трофики, транспорта и элиминации.

4. Применение в эксперименте с первых минут ишемии терапевтических доз церебролизина приводит к интенсификации внутриклеточного синтеза и репарации, ускоренному включению резервных программ клеточной и тканевой трофики, транспорта и элиминации.

Литература

1. *Авцын А.П.* Ультраструктурные основы патологии клетки / А.П. Авцын, В.А. Шахламов. – М.: Медицина, 1979. – 320 с.
2. *Закусов В.В.* Оксибутират натрия. Нейрофармакологическое и клиническое исследование / В.В. Закусов. – М.: Медицина, 1988. – 134 с.
3. *Зоммер Х.* О действии гидролизата мозга на структуры центральной нервной системы / Х. Зоммер, И. Квандт // Журн. невропатол. и психиат. – 1975. – Т.75. – Вып.7. – С.1021–1025.
4. *Кораблев М.В.* Противогипоксические средства / М.В. Кораблев, П.И. Лукиенко. – Минск: Беларусь, 1976. – 128 с.
5. *Мирзоян Р.С.* Фармакологическая коррекция нейрогенных расстройств мозгового кровообращения / Р.С. Мирзоян // Фармакол. и токсикол. – 1984. – Т.47. – № 4. – С. 5–14.
6. *Шаврин В.А.* Морфогенез «ишемически-гомогенизирующих» изменений нейронов и их значение в патогистологической диагностике ишемических заболеваний головного мозга / Т.В. Шулятникова, Ю.Ф. Полковников // Патология. – 2008. – Т.5, № 4. – С. 40–43.