

УДК 611.819.2–616.005.4–612.086.3

## УЛЬТРАСТРУКТУРА ГЕМАТОЛИКВОРНОГО БАРЬЕРА В СОСУДИСТОМ СПЛЕТЕНИИ БОКОВЫХ ЖЕЛУДОЧКОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРОЛИКА ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ

Л.Н. Новикова, аспирант

ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси», Минск

*Изучена ультраструктура структурных компонентов гематоликворного барьера (ГЛБ) в сосудистом сплетении боковых желудочков головного мозга кролика при острой экспериментальной ишемии. Установлено, что у взрослых кроликов острая ишемия, вызванная 30-минутной и 3-часовой билатеральной окклюзией общих сонных артерий, вызывает морфологические изменения в ГЛБ сосудистого сплетения боковых желудочков. Ультраструктурные повреждения ГЛБ сосудистого сплетения более значимы при 3-часовой острой ишемии. Предполагается, что выявленные ультраструктурные изменения в большинстве случаев обратимы.*

**Ключевые слова:** *сосудистое сплетение, гематоликворный барьер, ультраструктура, эпителиоциты, острая ишемия.*

*The ultrastructure of structural components of the blood-cerebrospinal fluid barrier (BCSFB) in adult rabbit brain lateral ventricle choroids plexus in acute experimental ischemia has been studied. Extensive ultrastructural analysis revealed that acute ischemia in adult rabbits, induced by 30-min and 3-hour bilateral common carotid occlusion, caused morphological changes in BCSFB of lateral ventricle choroids plexus. Ultrastructural damage of the BCSFB in choroids plexus was more evident in 3-hour acute ischemia. It is suggested that revealed ultrastructural damage is reversible in most cases.*

**Key words:** *blood-cerebrospinal fluid barrier, choroid plexus, ultrastructure, endothelium, acute ischemia.*

### Введение

В формировании гематоликворного барьера (ГЛБ) в сосудистом сплетении и в регуляции его проницаемости принимают участие все тканевые составляющие сосудистого сплетения: эпителий с его базальной мембраной, эндотелий капилляров ворсин и компоненты стромы сплетения. Эпителий сосудистого сплетения с наличием плотных контактов между эпителиоцитами является важнейшим компонентом ГЛБ [1, 3, 5] и обеспечивает секрецию цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), а также активный транспорт веществ в ЦСЖ против градиента концентрации. Эпителий сосудистого сплетения – разновидность нейроэпителия, более специализирован и морфологически дифференцирован, нежели слой эндотелиоцитов. Эпителиальные клетки синтезируют ряд белков (главным из которых является белок трансиретин, который содержится в ЦСЖ, в плазме крови и участвует в транспорте витамина А и тироксина), гормоны (вазопрессин, станниокальцин и др.), нейротрофические факторы и факторы роста фибробластов и эндотелия [3-8]. Эпителиоциты имеют множество рецепторов к различным нейромедиаторам, гормонам и биологически активным веществам, вследствие чего являются мишенью различных нервных и гуморальных воздействий [4, 10]. Кровеносные капилляры ворсин также являются важным компонентом ГЛБ и состоят из фенестрированного эндотелия, перицитов, базальной мембраны и рядом расположенных гладкомышечных клеток. Наличие вблизи капилляров ворсин гладкомышечных клеток, преимущественно корзинчатой формы, имеет важное функциональное значение. Данное обстоятельство свидетельствует о возможности регуля-

ции кровотока через сосуды ворсин при помощи известных способов воздействия на гладкомышечные клетки [3].

Исследования последних лет указывают на тесную связь между дисфункцией ГЛБ, вызванной патоморфологическими изменениями в структурных компонентах ГЛБ, и тяжелыми заболеваниями центральной нервной системы [3-10]. Ишемические поражения мозга продолжают оставаться одной из актуальных и значимых проблем современной биологии и медицины. В последние годы отмечается значительный рост распространенности сосудистых заболеваний головного мозга. В механизме нарушений функций мозга при ишемии большую роль играют дисфункция и патология сосудов [2]. Не все проявления ишемического повреждения мозга могут быть объяснены чувствительностью нейронов к недостатку кровоснабжения и активации метаболических и тканевых реакций нейронов при их напряжении, во многом судьбу нейронов в зоне ишемии определяет состояние гематоэнцефалического и гематоликворного барьеров и их дисфункция. Имеется ряд экспериментальных работ, которые указывают на неоднородный характер повреждения ткани сосудистого сплетения при ишемии [5-7]. Влияние ишемии на структурно – функциональную организацию ГЛБ изучено недостаточно полно, лишь в единичных работах имеются сведения о продолжительности ишемии, которая вызывает необратимые изменения в ультраструктурной организации ГЛБ. Создание хорошо воспроизводимых адекватных экспериментальных моделей ишемического повреждения головного мозга в целях разработки и испытания новых лечебных и профилактических подходов

является актуальной задачей современной экспериментальной медицины.

Цель настоящего исследования – изучить влияние острой 30-минутной и 3-часовой ишемии на ультраструктурную организацию компонентов ГЛБ в сосудистом сплетении боковых желудочков головного мозга кроликов – эпителия ворсин, стенки капилляров и стромы ворсин, дать оценку зависимости степени выраженности ишемического повреждения ГЛБ от длительности ишемии.

#### Материал и методы

Исследования проведены на 12 кроликах породы шиншилла, массой 2,3-2,8 кг, выращенных в виварии в стандартных условиях содержания. Эксперимент заключался во временном нарушении мозгового кровообращения в обоих полушариях головного мозга путем наложения лигатур на обе общие сонные артерии [5-7]. Оперативный доступ к артериям осуществлялся под тиопенталовым наркозом (50-70 мг/кг). Животные были разделены на три группы: 1, 2 – опытные; 3 – контрольная. В каждую группу входило по 4 животных. Животным контрольной группы лигатуры на сонные артерии не накладывали. Объектом исследования служило сосудистое сплетение боковых желудочков головного мозга. У животных первой группы декапитация производилась через 30 мин после наложения лигатур; у животных второй группы декапитация производилась через 3 ч после наложения лигатур; у животных третьей группы декапитация производилась после обнажения артерий. После декапитации извлекали головной мозг и выделяли из него исследуемый материал. Для трансмиссионной электронной микроскопии материал фиксировали в растворе, состоящем из 4%-го глютарового альдегида и 1%-го параформа. Исследуемый материал измельчали в том же фиксирующем растворе на льду, промывали 0,1 М фосфатным буфером и подвергали дополнительной фиксации в 1%-м растворе четырехоксида осмия при температуре 4°C в течение 2 ч. Материал обезвоживали в спиртах возрастающей крепости и заключали в араалдит. Срезы готовили на микротоме LKB (Швеция), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу, просматривали и фотографировали на электронном микроскопе JEM – 100 CX (Япония).

#### Результаты и их обсуждение

В отдельных экспериментальных работах показано, что острая 10-минутная ишемия, вызванная окклюзией обеих общих сонных артерий и гипотензией до 40 мм рт. ст., не вызывает значительных ультраструктурных изменений в организации сосудистого сплетения [6]. Окклюзия средней мозговой артерии в течение 1,5 ч вызывает обратимые ультраструктурные изменения в клетках сосудистого сплетения, но окклюзия в течение 6 ч вызывает гибель клеток по типу апоптоза с распадом ядра [5, 7].

В наших экспериментах в контрольных опытах

цитоплазма эпителиоцитов содержит органеллы общего значения, хорошо развитую гранулярную эндоплазматическую сеть, обилие митохондрий, небольшое количество пиноцитозных пузырьков, которые в основном сосредоточены вблизи апикальной части внешней клеточной мембраны. При острой переднемозговой 30-минутной ишемии в ультраструктурной организации ГЛБ сосудистого сплетения выявлен ряд патоморфологических изменений. На апикальной поверхности эпителиальных клеток в большинстве случаев микроворсинки и реснички приобретают вид везикулоподобных образований. На единичных электронограммах микроворсинки значительно расширены. Количество пиноцитозных пузырьков снижается, параллельно формируются цитоплазматические вакуоли небольших размеров в базальной и апикальной части клетки. Количество митохондрий в большинстве случаев остается неизменным. Часть митохондрий реагирует набуханием, часть не изменяется и остается сохранной. В некоторых случаях отмечается повышение электронной плотности митохондрий, их кристы имеют волнистые очертания. Отмечается перераспределение хроматина в ядрах эпителиоцитов с образованием плотных осмиофильных глыбок разнообразной формы и размеров. Оболочка ядра образует глубокие инвагинации, за счет чего ядро приобретает неправильную форму. Характерно уменьшение размеров ядер эпителиоцитов, что свидетельствует об ослаблении их синтетической и секреторной функции [1, 5]. В большинстве случаев базальная мембрана эпителиоцитов неравномерно утолщена. В остальных органеллах значительных ультраструктурных изменений не наблюдается. Увеличивается количество темных эпителиоцитов. Светлые и темные эпителиоциты в составе сосудистого сплетения дифференцированы G.B. Wislocki и A.J. Ladman [1, 3], которые допускают, что различия в их электронной плотности обусловлены неодинаковым состоянием секреторного цикла, а также степенью развития гранулярной эндоплазматической сети. Вопрос о различиях их функциональной активности остается спорным. Просвет большей части капилляров ворсин расширен, в редких случаях заполнен эритроцитами. Данные ультраструктурные изменения свидетельствуют о снижении скорости кровотока в капиллярах ворсин.

При 3-часовой ишемии в ультраструктурной организации ГЛБ наблюдаются более выраженные морфологические изменения. Следует указать на неоднородность повреждения слоя эпителиальных клеток. В ряде случаев у нескольких рядом расположенных клеток определяются ишемические повреждения различной степени. Учитывая неоднородный характер повреждения эпителиальных клеток, важно установить, какие именно факторы определяют степень ишемического повреждения, и дать оценку обратимости повреждения для каждой

эпителиальной клетки. Ряд авторов указывают на то, что степень выраженности ишемического повреждения связана с особенностями местного клеточного метаболизма и вазоспазмом [5, 6]. В большинстве случаев микроворсинки эпителиоцитов имеют вид вакуолеподобных образований, значительно расширены и дегенерированы, количество их уменьшено. В цитоплазме большинства эпителиоцитов в базальной и апикальной их части имеются вакуоли различных размеров, отмечается тенденция к слиянию мелких вакуолей с образованием более крупных. В отдельных случаях вакуоли могут выбухать в просвет желудочков, местами имеются вакуоли, связанные с ядром. Набухание митохондрий наблюдается независимо от их локализации и сопровождается структурными перестройками. Большая часть митохондрий представлена раздутыми и округлыми органеллами, в части из них определяются электронно-прозрачные зоны различной формы и размеров, что свидетельствует о деструкции крист. Среди атипичных форм встречаются темные митохондрии, лишенные крист, но имеющие двойную наружную мембрану, весь их объем заполнен электронно-плотными гранулами. У некоторых митохондрий отмечается полная деградация крист, их внутреннее содержимое состоит из гранулярного компонента различной плотности. Встречаются небольшие митохондрии с максимально сжатым электронно-плотным матриксом и увеличенным электронно-прозрачным межмембранным пространством. Степень повреждения митохондрий варьирует не только в разных клетках, но и в пределах одной клетки. Характер деструкции митохондрий является одним из существенных показателей степени патологических изменений в клетках, а также определяет обратимость повреждения [2]. В ядрах эпителиоцитов отмечаются выраженный глыбчатый распад хроматина, примыкающего к внутренней ядерной мембране, конденсация хроматина, фрагментация ядер. В части эпителиоцитов околядерное пространство имеет значительные зоны запустевания с единичными митохондриями, которые подверглись деструкции. В других клетках, наоборот, вплотную к ядру прилегают обширные скопления митохондрий. В ряде случаев имеются эпителиоциты с фрагментацией и разрывами апикальной части наружной мембраны, через которые осуществляется отторжение участков цитоплазмы в полости желудочков, что является характерной особенностью повреждения ГЛБ при данной модели ишемии. Просвет большей части капилляров ворсин расширен и заполнен эритроцитами. Базальная мембрана сосудов разволокнена, имеет неравномерную толщину и очаговые изменения.

#### Заключение

В результате проведенного ультраструктурного анализа установлено, что при острой экспериментальной ишемии длительностью 30 мин и 3 ч воз-

никают распространенные морфологические изменения во всех структурных компонентах ГЛБ. Степень выраженности патологических изменений прямо пропорциональна длительности ишемии. Острая 30-минутная ишемия вызывает вакуолеподобные изменения структуры микроворсинок и ресничек эпителия сосудистого сплетения, снижение скорости кровотока в капиллярной сети ворсин и расширение их просвета, набухание митохондрий, уменьшение размеров ядер эпителиоцитов и перераспределение в них хроматина. Ишемия длительностью 3 ч вызывает более глубокие морфологические изменения в ультраструктурной организации ГЛБ: расширение и дегенерирование микроворсинок и вакуолизацию цитоплазмы эпителиоцитов, выраженную деструкцию митохондрий, разрывы клеточной мембраны эпителиоцитов с выходом их содержимого в просвет желудочков мозга, выраженную деструкцию ядер эпителиоцитов и эндотелиальных клеток капилляров ворсин. Отмечается четко выраженная неоднородность повреждения эпителиальных клеток сосудистого сплетения независимо от их локализации. Указанные ультраструктурные изменения ведут к дисфункции ГЛБ, что служит пусковым фактором к повреждению нейрональной массы мозга. Полученные нами данные позволяют полагать, что глубокие ультраструктурные изменения в организации ГЛБ, вызванные острой 3-часовой ишемией, в большинстве случаев обратимы. Исследование возможности медикаментозной коррекции патоморфологических изменений в ГЛБ при ишемическом повреждении головного мозга является задачей наших дальнейших исследований.

#### Литература

1. Бабик, Т.М. Морфометрическая характеристика эпителиоцитов сосудистых сплетений желудочков головного мозга человека при старении / Т.М. Бабик // Морфология. – 2005. – Т. 129, № 1. – С. 39-41.
2. Гусев, Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
3. Коржевский, Д.Э. Структурные основы становления гематоликворного барьера у человека / Д.Э. Коржевский // Успехи физиол. наук. – 2002. – Т. 33, № 4. – С. 43-52.
4. Chodobski, A. Choroid plexus: target for polypeptides and site of their synthesis / A. Chodobski, J. Szmydynger-Chodobska // Microsc. Res. Tech. – 2001. – Vol. 52. – P.865-882.
5. Ennis, S.R. Forebrain ischemia and the blood - cerebrospinal fluid barrier / S.R. Ennis, R.F. Keep // Acta Neurochir. [Suppl]. – 2006. – Vol. 96. – P.276-278.
6. Choroid plexus recovery after transient forebrain ischemia: role of growth factors and other repair mechanisms / Johanson C.E. [et al.] // Cell. Mol. Neurobiol. J. – 2000. – Vol. 20, N 2. – P. 197-216.
7. Evidence for apoptotic cell death in the choroid plexus following focal cerebral ischemia / Gillardon F. [et al.] // Neurosci. Lett. J. – 1996. – Vol. 29. – P.113-116.
8. Mathew, T.C. Diversity in the surface morphology of adjacent epithelial cell of the choroid plexus: an ultrastructural analysis / T.C. Mathew // Mol Cell Biochem. – 2007. – Vol. 301. – P. 235-239.
9. Skipor, J. The choroid plexus – cerebrospinal fluid system: Undervaluated pathway of neuroendocrine signaling into the brain / J. Skipor, J. Thiery // Acta Neurobiol. Exp. – 2008. – Vol. 68, N 3. – P. 414-428.
10. Mechanisms of CSF secretion by the choroid plexus / T. Speake [et al.] // Microsc. Res. Tech. – 2001. – Vol. 52. – P.49-59.

Поступила 08.04.09