

5. Жемайтис Д. Вегетативная регуляция синусового ритма сердца у здоровых и больных // Анализ сердечного ритма.— Вильнюс, 1982.— С. 5—22.
6. Карпман В. Л. Фазовый анализ сердечной деятельности.— М.: Медицина, 1963.— 274 с.
7. Лоога Р. Ю. Изменения кровообращения при опыте Вальсальвы // Усп. физиол. наук.— 1974.— 4, № 3.— С. 134—151.
8. Data P. G., Gerboni S., Di Tano G. Impegno cardiovascolare in attivita subacquea // Medicina subacquea ed iperbarica. 3. Fisiopatologia e diagnostica cardiovascolare applicate.— Chieti: Edizioni stud., 1984.— P. 151—160.
9. Lin Y. C. Circulatory functions during immersion and breath-hold in human // Undersea Biomed. Res.— 1984.— 11, N 2.— P. 123—138.
10. Lin Y. C., Kato E. N. Effects of helium gas on heart rate and oxygen consumption in unanesthetized rats // Ibid.— 1974.— 1, N 3.— P. 281—290.
11. Reeben V., Epler M. Indirect continuous measurement of mean arterial pressure // Adv. Cardiovasc. Phys.— 1983.— Suppl. p. 11.— P. 90—118.
12. Stegemann J., Baer F. M., Hoffman U. The Valsalva maneuver as an indirect, non-invasive indicator of central blood volume shift // Aviat. Spase Environ. Med.— 1988.— 59, N 5.— P. 422—427.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев
Тарт. ун-т

Материал поступил
в редакцию 12.01.91

УДК 576.8.097:611.81:616—076.4

Э. А. Бардахчян, Н. Г. Харланова

Ультраструктурные изменения в тканях головного мозга крыс при прямом действии эндотоксина кишечной палочки

В опытах на крысах показано, что при внутрицистернальном введении эндотоксина кишечной палочки в нейронах центрального серого вещества ствола мозга, прилежащих к сильвиевому водопроводу, через 30 мин появляются многочисленные окаймленные везикулы, а спустя 5 ч регистрируются дистрофические изменения. В эпендимоцитах к инициальным повреждениям митохондрий, микроворсинок и ресничек в последующем присоединяются отек цитоплазмы, расширение межклеточных промежутков и слущивание клеток. В эпителии сосудистого сплетения эндоцитоз, интенсивный в первые 30 мин после действия эндотоксина, сменяется через 5 ч деструктивными изменениями. Обсуждаются возможные механизмы проникновения эндотоксина через ликворозноцефалический и гематоликворный барьеры.

Введение

При одномоментном попадании больших доз эндотоксина (липополисахарида — ЛПС) в кровоток развивается эндотоксиновый шок (ЭШ), который рассматривается как периферический сосудистый коллапс, приводящий к тяжелым системным расстройствам вследствие неадекватной перфузии тканей оксигенированной кровью [3, 5, 7, 10]. Возникновение ЭШ сопровождается уменьшением церебрального кровотока и возросшей потребностью ткани мозга в кислороде [14]. Региональное снижение кровотока в различных структурах центральной нервной системы колеблется в пределах 23—52 %: оно минимально в гипоталамусе и наиболее выражено в гипофизе [12], при этом обнаруживаются ультраструктурные и электрофизиологические нарушения в разных отделах головного мозга [1, 2, 10, 11]. Наблюдаемые изменения являются результатом непосредственного действия эндотоксина на эти

© Э. А. БАРДАХЧЯН, Н. Г. ХАРЛАНОВА, 1991

ISSN 0201-8489. Физиол. журн. 1991. Т. 37. № 5

структуры и следствием снижения в них кровотока. Основной целью нашей работы было изучение прямого действия эндотоксина на ультраструктуру нервных элементов головного мозга после внутрицистернального введения ЛПС. Была также поставлена и другая цель: выяснить влияние ЛПС на клетки эпендимной выстилки и другой эпителий сосудистых сплетений боковых желудочков мозга при прохождении токсина через ликворэпенцефалический и гематоликворный барьеры.

Методика

Опыты выполнены на 14 крысах-самцах массой 180—200 г, которым внутрицистернально вводили около 10 мкл физиологического раствора с эндотоксином кишечной палочки (ЛПС, 4, 5 мг/кг) под кратковременным эфирным наркозом. Четверым животным было введено эквивалентное количество физиологического раствора. Кусочки ткани мозга для электронно-микроскопического исследования (центральное серое вещество ствола, прилежащее к силвиевому водопроводу, участки эпендимы и сосудистых сплетений боковых желудочков), взятые в различные промежутки времени (через 30 мин и 5 ч) у крыс после внутрицистернального введения ЛПС и у контрольных крыс, обрабатывали по общепринятой методике и заливали в эпон 812. В ряде случаев блоки ориентировали, после чего полутонкие срезы толщиной 1 мкм, окрашенные толудиновым синим и азуром II, изучали в световом микроскопе. Ультратонкие срезы, полученные на ультрамикротоме LKB 8800, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца и просматривали в электронном микроскопе JEM-100 S.

Результаты и их обсуждение

В контрольных экспериментах альтераций эпендимной выстилки и структур сосудистого сплетения не обнаружено. Контакт молекул эндотоксина с эпендимоцитами уже через 30 мин вызывает весьма отчетливые изменения в виде отека клеток с поляризацией органелл и ядра, которые оттесняются к апикальной плазмалемме. Отмечается повреждение митохондрий: в большей части этих органелл на фоне конденсированного матрикса выявляются очаги разрушения крист. Контакт ЛПС с апикальной плазмалеммой приводит к разрушению микроворсинок и ресничек и последующей лабильзации плазмалеммы. В результате образуются довольно крупные выпячивания, подвергающиеся клатратозу (рис. 1, а, ув. 3500). Через 5 ч вышеописанные ультраструктурные изменения более отчетливы и носят необратимый характер. Базальная часть клеток выглядит совершенно опустошенной, все органеллы концентрируются у апикальной плазмалеммы. В некоторых эпендимоцитах отек настолько значителен, что происходит деструкция клеточных мембран и слияние цитоплазмы нескольких клеток в базальной части. Отмечаются выраженные признаки повышения проницаемости ликворэпенцефалического барьера: многократные расширения интерцеллюлярных пространств (на рис. 1, б показано стрелкой), причем десмосомальные соединения не повреждаются (рис. 1, б, ув. 4200). В случае повреждения последних происходят десквамация эпендимоцитов и обнажение субэпендимного нейропиля.

Проникновение эндотоксина через ликворэпенцефалический барьер способствует взаимодействию его молекул с плазмалеммой нейронов центрального серого вещества. Уже через 30 мин после внутрицистернального введения ЛПС в цитоплазме нейронов выявляются многочисленные окаймленные везикулы, локализующиеся преимущественно в зоне пластинчатого комплекса (рис. 1, в, ув. 21 000). Необходимо подчеркнуть, что окаймленные везикулы не характерны для ультраструктуры нейронов и в норме встречаются лишь в пресинаптических окончаниях [9]. Пятичасовое воздействие эндотоксином на структуры

Рис. 1. Ультраструктура вещества ствола

нейронов центрального серого вещества. Что касается 30 мин они представлены в области апикальной цитоплазмы. На рис. 1, а показаны этапы интеркального расширения интерцеллюлярных пространств. На рис. 1, б показаны этапы интеркального расширения интерцеллюлярных пространств. На рис. 1, в показаны этапы интеркального расширения интерцеллюлярных пространств.

Основной целью оксина на ультра-
внутрицистерналь-
я цель: выяснить
эпителий сосуди-
кождении токсина
еры.

—200 г, которым
ического раствора
под кратковремен-
едено эквивалент-
ткани мозга для
альное серое ве-
ду, участки эпен-
взятые в различ-
ыс после внутри-
обработывали по
де случаев блоки
1 мкм, окрашен-
овом микроскопе.
оме LKB 8800,
и просматривали

иной выстилки и
акт молекул эндо-
ает весьма отчет-
органелл и ядра,
ечается поврежде-
а фоне конденса-
и крист. Контакт
ению микроворси-
еммы. В результа-
ергающиеся клас-
е ультраструктур-
тимый характер.
шенной, все орга-
ы. В некоторых
ходит деструкция
клеток в базаль-
ышения проника-
тные расширения
о стрелкой), при-
ис. 1, б, ув. 4200).

ация эпнديمочи-
алический барьер
леммой нейронов
сле внутрицистер-
ляются многочис-
еимущественно в
Необходимо под-
для ультраструк-
наптических окон-
ом на структуры

н. 1991. Т. 37. № 5

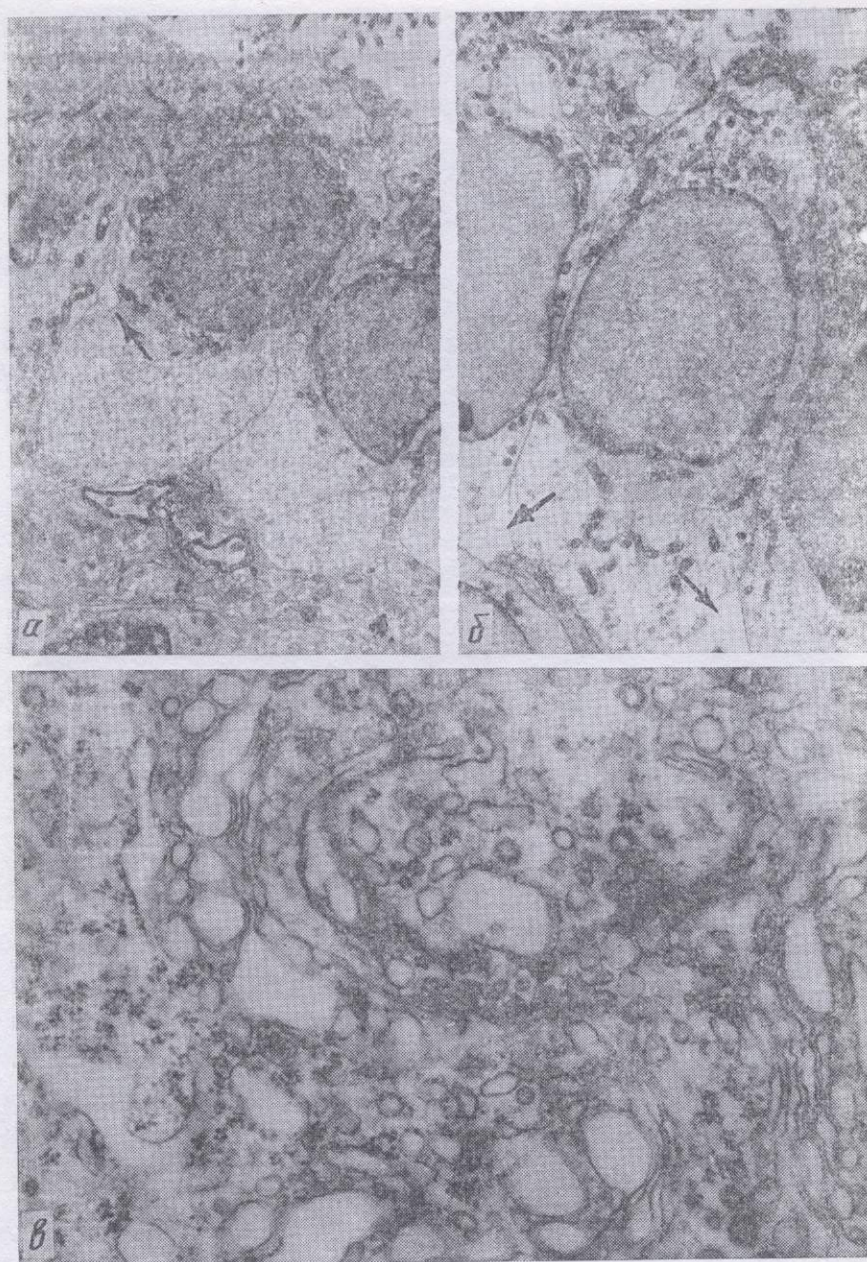


Рис. 1. Ультраструктура клеток эпндимы боковых желудочков и центрального серого вещества ствола мозга при внутрицистернальном введении эндотоксина.

нейронов центрального серого вещества приводит к развитию в них глубоких дистрофических изменений.

Что касается клеток эпителия сосудистого сплетения, то через 30 мин они поглощают молекулы ЛПС из цереброспинальной жидкости в области апикальных отростков путем опосредованного рецепторами эндоцитоза. На электронограммах удается проследить практически все этапы интернализации введенного лиганда от момента образования окаймленного углубления до миграции окаймленных везикул в цитоплазме и слияния их с мембранами базального лабиринта (рис. 2, а, б, ув. 18 000 и 14 000 соответственно). Далее молекулы ЛПС проникают в строму, а затем в сосуды сплетения. Эндоцитоз особенно интенсивен в первые 30 мин и ослабевает к 5-му часу, когда на первый план высту-



Рис. 2. Ультраструктура эпителиальных клеток сосудистого сплетения через 30 мин после внутрисистерального введения эндотоксина.

паяют необратимые деструктивные изменения, вызванные эндотоксином. Проникновение молекул ЛПС в кровь приводит к выраженному стазу через 30 мин, а затем и к сладж-синдрому. Значительно увеличивается число лейкоцитов и тромбоцитов, отмечается их краевое расположение. Мембраны базального лабиринта, выполняющего насосную функцию, фрагментируются и образуют многочисленные пузырьки, напоминающие микропиноцитозные. Цитоплазма клеток вакуолизирована и просветлена. Уже через 30 мин отмечается десквамация щеточной каемки. Через 5 ч происходит сферуляция обнаженной апикальной плазмалеммы, образовавшиеся пузыреподобные структуры подвергаются клазматозу. В просвете желудочков наблюдаются отложения клеточного детрита, состоящего из обломков эпителиоцитов, щеточной каймы, форменных элементов крови и фибрина, который здесь обнаруживается уже через 30 мин после введения ЛПС.



Рис. 3. Схема трансмембранного и сосудистого сплетения.

Результаты исследования механизмов действия эндотоксина, эпителиальных элементов к эндотоксину, м



етения через 30 мин

ные эндотоксином. т к выраженному начительно увели- их краевое распо- яющего насосную ленные пузырьки, ок вакуолизирова- замация щеточной нной апикальной сттуры подвергаю- я отложения кле- оцитов, щеточной ый здесь обнару-

и. 1991. Т. 37. № 5

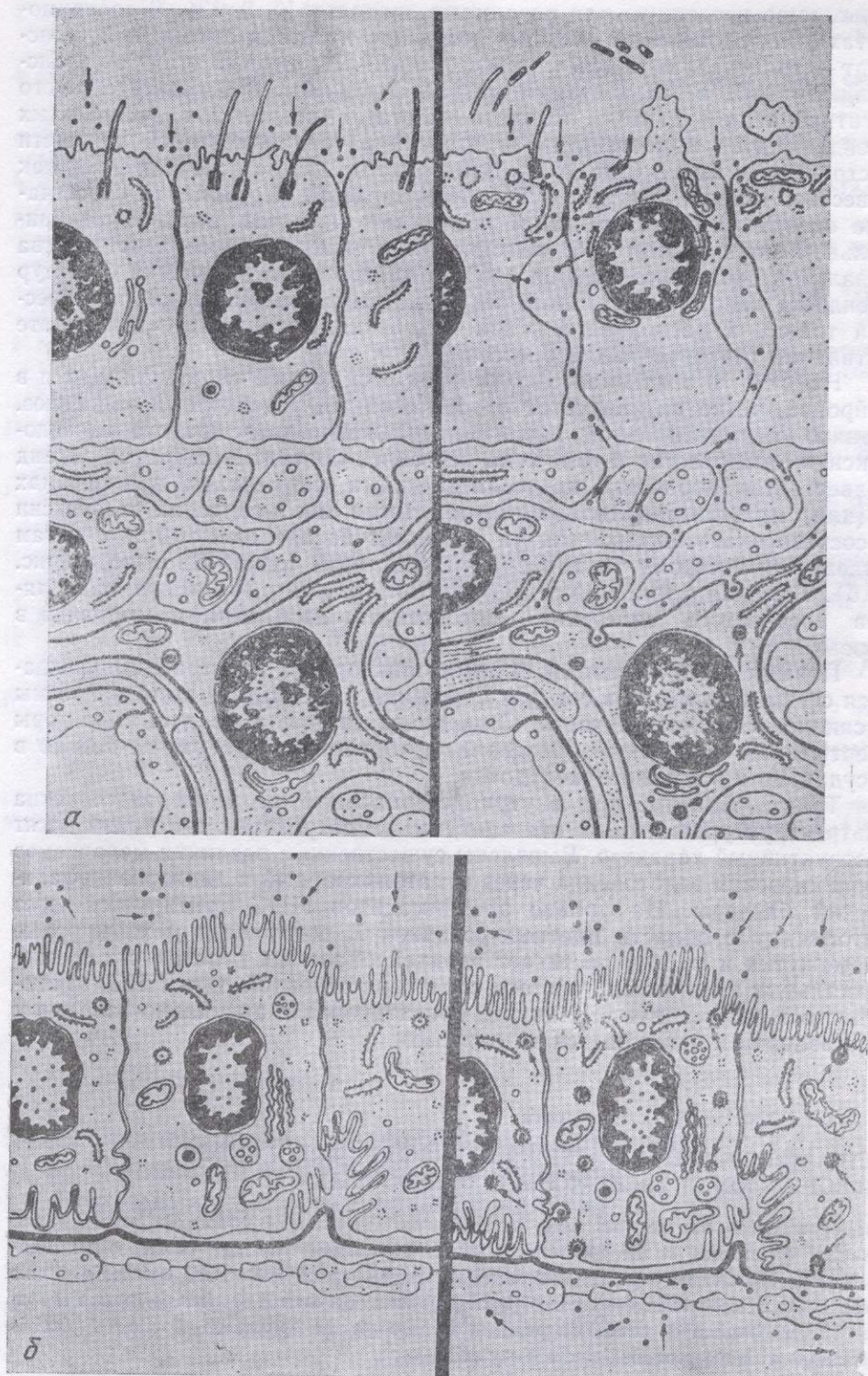


Рис. 3. Схема транспорта молекул эндотоксина (показано стрелками) в эпендиме (а) и сосудистом сплетении (б).

Результаты проведенных исследований показывают, что транспортные механизмы зависят от типа изученных клеток (нервные, эпендимные, эпителиальные). Так, в нейронах, при наличии в них рецепторов к эндотоксину, можно наблюдать соответствующую кинетику эндоцито-

за, хорошо изученную для различных лигандов [6, 8, 13]. В эпендимоцитах для эндотоксина наиболее реальным является смешанный транспорт — трансцеллюлярный и межклеточный. На первом этапе он трансцеллюлярный, а затем становится межклеточным. В результате такого шунтирования удается обходить плотные соединения реснитчатых эпендимоцитов и доставлять эндотоксин из спинномозговой жидкости к структурам мозга (рис. 3, а). Этот факт не лишен оснований, так как известно, что при внутрижелудочковом введении пероксидазы отростчатые эпендимоциты (танициты) поглощают частички маркера на апикальном полюсе клеток и выводят их в межклеточные пространства базальной части перикариона [15]. Интересно, что изменения структур эпендимы напоминает те, которые ранее выявлены нами при термической травме и расценивались как изменения, возникшие в результате активации транспортных процессов [4].

Наконец, в эпителиальных клетках сосудистого сплетения, как и в нейронах, резко активируется опосредованный рецепторами эндоцитоз. Однако принципиальное различие специфического транспорта эндотоксина заключается в том, куда доставлен лиганд. В нейронах лиганд подвергается обработке протеолитическими ферментами в лизосомах и (или) мультивезикулярных тельцах, тогда как в эпителии эндотоксин в составе окаймленных везикул достигает базальной мембраны и там выделяется в строуму (и далее — в капилляры) путем экзоцитоза (рис. 3, б). Высокая проницаемость фенестрированного эндотелия капилляров сосудистого сплетения способствует попаданию эндотоксина в кровь.

Повышение проницаемости гематоликторного барьера сопровождается сгущением крови в сосудах сплетений в результате выхода плазмы в спинномозговую жидкость. Содержащиеся в плазме крови факторы свертывания вызывают образование фибриновых сгустков не только в сосудах, но и в просвете желудочка.

Таким образом, при внутрицистернальном введении эндотоксина ультраструктурные изменения эпендимы и сосудистых сплетений носят деструктивный характер. Выявлены существенные различия механизмов проникновения эндотоксина через гематоликторный и ликвороэнцефалический барьеры. На уровне эпендимоцитов ЛПС шунтируется через цитоплазму в области плотных соединений, попадает в межклеточные промежутки и по ним достигает перинейрональных пространств. В эпителиальных клетках сосудистого сплетения основной путь ЛПС, заключенного в окаймленные везикулы, ориентирован в апикально-базальном направлении и завершается экзоцитозом.

E. A. Bardakhchian, N. G. Kharlanova

ULTRASTRUCTURAL ALTERATIONS IN THE RATS' BRAIN UNDER DIRECT ACTION OF ESCHERICHIA COLI ENDOTOXIN

The experiments on the rats with intracisternal injection of endotoxin have revealed essential differences in the mechanisms of its permeability through cerebrospinal fluid-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. As for ependymal cells, endotoxin shunts through the cytoplasm in the areas of tight junctions and then it reaches perineuronal spaces. The mechanism of endotoxin penetration through the epithelium of choroid plexi is associated with receptor-mediated endocytosis.

Medical Institute, Ministry of Public Health of the RSFSR, Rostov-on-Don

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бардахчян Э. А., Гордеева-Гаврикова Т. В. Изменения гемато-энцефалического барьера и цитоархитектоники клеток коры больших полушарий при эндотоксиновом шоке // Цитология и генетика. — 1978. — 12, № 3. — С. 225—228.

2. Бардахчян вызванные № 11. — С. 6
3. Бардахчян тем в патог реаниматоло
4. Боцков Н. И рии // Цито
5. Велков З. стую систем
6. Каркищенко разований м
7. Квочина Л. дицины. — 19
8. Михайлов В. дно- и гем № 3. — С. 43
9. Морозов Г. тоза и их ис
10. Полянин К. динений // Б
11. Bardakhchian ty disorders (Leipzig, 5—
12. Bryan W. J., x in shock in
13. Dautry-Varsa Sci. Amer.—
14. Larsson L. E. roxemia on c Anesthesiolog
15. Nakai Y., Na blood and ce endocrine int 1975. — P. 94.

Ростов, оп. Дру:
М-ва здравоохра

УДК 51—76:612.1/2

В. О. Волощенко

Компенсато
систем орга
(исследован

С помощью пр
нии результат
транспортных
при острой и
определен отн
гипоксического
ческого» (связ
крови) и «ток
действия нитри

© В. О. Волощенко

2. Бардахчян Э. А., Сааков Б. А. Изменения ультраструктурной синаптоархитектоники, вызванные эндотоксином // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1978.— 86, № 11.— С. 610—613.
3. Бардахчян Э. А., Харланова Н. Г. Роль клеточных и гуморальных медиаторных систем в патогенезе шокового легкого, вызванного эндотоксином // Анестезиология и реаниматология.— 1990.— № 5.— С. 51—54.
4. Бочков Н. И., Бардахчян Э. А. Ультраструктурные эквиваленты послеожоговой анурии // Цитология и генетика.— 1979.— 13, № 5.— С. 392—394.
5. Белков З. А., Лолов Р. В., Николов Н. А. Влияние эндотоксина на сердечно-сосудистую систему // Патол. физиология.— 1989.— № 1.— С. 49—51.
6. Каркищенко Н. Н., Бардахчян Э. А. Ультраструктурные изменения различных образований мозга, вызванные действием уридина // Бюл. эксперим. биологии и медицины.— 1990.— 109, № 1.— С. 86—89.
7. Квочина Л. И., Коцюруба В. Н., Мойбенко А. А., Грабовский Л. А. Нарушения кардио- и гемодинамики при эндотоксическом шоке // Физиол. журн.— 1989.— 35, № 3.— С. 43—49.
8. Михайлов В. И. Молекулярные механизмы опосредованного рецепторами эндоцитоза и их использование для направленного транспорта биологически активных соединений // Биохимия.— 1989.— 23, № 3.— С. 639—651.
9. Морозов Г. В., Боголепов Н. Н. Морфинизм.— М.: Медицина, 1984.— 176 с.
10. Полянин К. И., Бардахчян Э. А. Ультраструктура звеньев функционального элемента сенсорной коры при эндотоксическом шоке // Арх. анатомии.— 1980.— 79, № 7.— С. 5—12.
11. Bardakhchian E. A., Saakov B. A. Ultrastructural basis of the brain integrative activity disorders induced by endotoxin // Proc. IV Intern. Congr. Path. Clin. Physiol. (Leipzig, 5—11 August, 1984).— Leipzig: 1984.— P. 67—67.
12. Bryan W. J., Emerson T. E. Blood flow in seven regions of the brain during endotoxin shock in the dog // Proc. Soc. Exp. Biol. Med.— 1977.— 156, N 2.— P. 205—208.
13. Dautry-Varsat A., Lodish H. F. How receptor bring proteins and particles into cells // Sci. Amer.— 1984.— 250, N 5.— P. 48—54.
14. Larsson L. E., Westerlind A., Häggendal J., Ekström-Jodal B. Effects of moderate hypoxemia on cerebral blood flow and oxygen uptake in experimental endotoxic shock // Anesthesiology.— 1983.— 59, N 3.— P. 102—102.
15. Nakai Y., Naito N. Uptake and bidirectional transport of peroxidase injected into the blood and cerebrospinal fluid by ependymal cells of the median eminence // Brain-endocrine interaction. II. The ventricular system (Ed. by Knigge K. M.).— Basel: 1975.— P. 94—108.

Ростов, оп. Дружбы народов мед. ин-т
М-ва здравоохранения РСФСР

Материал поступил
в редакцию 28.11.90

УДК 51—76:612.1/2

В. О. Волощенко, М. М. Середенко

Компенсаторные реакции кислородтранспортных систем организма при гемической гипоксии (исследование на математической модели)

С помощью предложенной авторами математической модели на основании результатов экспериментов исследована роль основных кислородтранспортных систем в регулировании кислородного режима организма при острой и хронической гемической гипоксии различной тяжести, определен относительный вклад каждой из них в компенсацию данного гипоксического состояния, оценен удельный вес собственно «гипоксического» (связанного с влиянием на кислородтранспортную функцию крови) и «токсического» (связанного с общетоксическим эффектом) действия нитрита натрия в развитии гемической гипоксии.

© В. О. ВОЛОЩЕНКО, М. М. СЕРЕДЕНКО, 1991

ISSN 0201-8489. Физиол. журн. 1991. Т. 37. № 5