

УДК 616.831—076.4

Э. А. БАРДАХЧЬЯН, Т. А. ХОРУЖАЯ

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ
СИСТЕМЫ СОБАК, ИММУНИЗИРОВАННЫХ
СТИМУЛЯТОРОМ ФРЕЙНДА

В опытах на собаках изучались электронно-микроскопические изменения в головном и спинном мозге после иммунизации стимулятором Фрейнда. Принципиально важным является то, что во всех случаях выявилось повышение проницаемости капилляров, о чем свидетельствуют усиленный пиноцитоз и экстравазация эритроцитов. Периваскулярные лейкоцитарные инфильтраты отсутствовали. В альтерациях гематоэнцефалического барьера участвуют протеолитические ферменты лизосом, а также кристаллические структуры. Тесный контакт глиофибрилл с поврежденными волокнами, по-видимому, следует рассматривать как первичную реакцию, направленную на восстановление поврежденных миелиновых оболочек.

Несмотря на то, что стимулятор Фрейнда используется в настоящее время для получения ряда экспериментальных аутоаллергических процессов [5, 16, 19, 20, 28], механизм его действия все еще не может считаться окончательно выясненным. Важная роль его в воспроизведении экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ) придает особый интерес вопросам влияния его на центральную нервную систему [3, 6, 13, 21]. В настоящей работе ставилась задача с помощью электронно-микроскопического метода изучить изменения в головном и спинном мозге собак после иммунизации стимулятором Фрейнда.

Материал и методика

Стимулятор Фрейнда готовили по прописи, используемой для воспроизведения ЭАЭ у собак [2]: $1/3$ ланолина, $2/3$ вазелинового масла, убитые микобактерии БЦЖ в конечной дозе 20 мг/мл. Вводили внутрикожно в подушечки задних конечностей и в кожу спины. Материал для электронной микроскопии брали на 6- и 9-е сутки, что соответствует времени формирования и расцвета поражений при воспроизведении ЭАЭ [15]. Кусочки коры, белого вещества больших полушарий и спинного мозга фиксировали в 2% растворе четырехоксида осмия и заливали в смесь эпон с аралдитом. Срезы, контрастированные уранилацетатом и цитратом свинца, изучали в электронном микроскопе УЭМВ-100К.

Результаты и обсуждение

Уже на шестые сутки после введения собакам стимулятора Фрейнда в коре больших полушарий выявляются изменения ультраструкту-

ры. В некоторых нейронах регистрируются расширенные цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума, слегка набухшие митохондрии, число которых возрастает за счет деления уже существующих органелл. В цитоплазме отдельных нейроцитов повышено содержание лизосом (рис. 1а); этот признак нередко сочетается с гипертрофией аппарата Гольджи, что указывает на источник их образования. Обращает внимание широко варьирующая осмиофилия лизосомального матрикса, отражающая степень «зрелости» этих органелл.

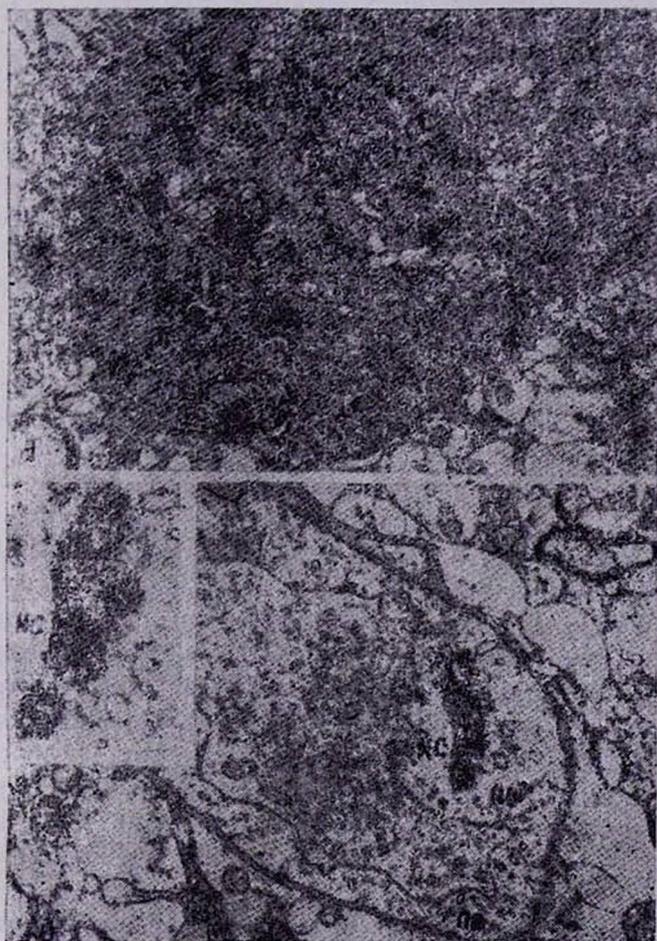


Рис. 1. Кора больших полушарий (через 6 суток после введения стимулятора Фрейнда). а—фрагмент цитоплазмы нейроцита, содержащий большое количество лизосом (л). Увел. 14000; б—отек эндотелия, в цитоплазме видны пиноцитотические везикулы (пв) и кристаллическая структура (кс). Увел. 19000 (вверху фрагмент рис. 16. Увел. 57000).

Синаптический аппарат, как правило, не изменяется. Если в динамике ЭАЭ нередко наблюдается дегенерация синаптических структур [15], в условиях действия одного адьюванта многие синапсы нахо-

дятся в неактивном состоянии: синаптические везикулы локализируются вдали от контактных мембран, число митохондрий уменьшено и т. д. Клетки глии выглядят интактными, лишь единичные олигодендроциты содержат значительное число вторичных лизосом. В астроцитах иногда выявляются слегка отечные митохондрии и редкие капли липофусцина. В то же время повышение проницаемости капилляров в коре больших полушарий отчетливо выявляется уже на шестые сутки и существенно возрастает к девятым. В эндотелиальных клетках—отек, большое количество пиноцитозных пузырьков; в околососудистых пространствах регистрируются эритроциты и плазма. Интересно, что в эндотелии некоторых капилляров выявлены кристаллические структуры неправильной формы (рис. 16), сходные с теми, которые были описаны при ЭАЭ [15].

Миелинизированные волокна в белом веществе больших полушарий не имеют существенных отклонений от нормы. Лишь в некоторых из них наблюдается незначительное сморщивание осевого цилиндра и умеренное набухание митохондрий, регистрирующееся независимо от сроков наблюдения. Глиальные клетки белого вещества по сравнению с корой подвержены большим повреждениям, в них значительно чаще встречаются отечные митохондрии, в большом количестве появляются лизосомы. Последние имеют самую разнообразную форму и обладают признаками высокой ферментной активности. Часто наблюдается расширение перинуклеарного пространства, характерное для ЭАЭ [12, 15], но выраженное при иммунизации стимулятором в меньшей степени. Оболочка ядер нередко инвагинирует в кариоплазму, где образует бухтообразные углубления, в которых находятся цитоплазматические органеллы и фибриллярной материал.

Капилляры белого вещества характеризуются полнокровием, в эндотелии появляются крупные вакуоли, резко набухшие митохондрии и дилатированные элементы эргастоплазмы. Особенно многочисленными становятся пиноцитозные пузырьки. Так же, как и в капиллярах коры больших полушарий, выявляются кристаллические структуры, близость которых с митохондриями наводит на мысль об их повреждающем эффекте в отношении последних. В пользу высокой дигестивной способности кристаллических структур эндотелия свидетельствуют очаги расплавления цитоплазмы и альтерации базальной мембраны (рис. 2). Таким образом, можно предполагать, что эти структуры причастны к нарушению сосудистой проницаемости.

В спинном мозгу прослеживается та же тенденция, что и в выше лежащих отделах центральной нервной системы. Обращает внимание факт деления митохондрий, что, по-видимому, сопряжено с возросшими энергетическими потребностями или является компенсаторной реакцией. Следует упомянуть, что, по данным биохимических исследований, интенсивность окислительного фосфорилирования мозга после введения стимулятора Фрейнда собакам несколько повышается [7]. Содержание лизосом в цитоплазме нейроцитов также увеличивается.

Расположенные вокруг них митохондрии выглядят набухшими, матрикс их просветлен. Некоторые лизосомы содержат различной величины включения и превращаются таким образом во вторичные. Не менее многочисленны они и в олигодендрocyтах, откуда наблюдается вы



Рис. 2. Фрагмент капилляра коры больших полушарий (через 9 суток после введения стимулятора Фрейнда). Расплавление цитоплазмы эндотелиальной клетки и повреждение базальной мембраны (бм) капилляра кристаллической структуры. Увел. 28000.

ход их в близлежащую паренхиму. Полученные данные дают основание рассматривать лизосомальные протеолитические ферменты как главную причину повышения сосудистой проницаемости в динамике иммунизации.

Повреждения отдельных миелинизированных волокон в спинном мозге оказались, в отличие от головного, весьма выраженными. Чаще всего имело место разволокнение ламелл миелина, хотя иногда наблюдался лизис, и осевой цилиндр выглядел полностью обнаженным (рис. 3а). На девятые сутки после введения адьюванта был зарегистрирован интересный феномен: теснейший контакт глиофибрилл с поврежденными нервными проводниками (рис. 3б), что, вероятно, представляет собой реакцию, направленную на восстановление целостности миелиновой оболочки как в случае незначительного повреждения, так и при миелолизисе. Таким образом, глиальные клетки выполняют в отношении миелина двойственную функцию—они содержат в себе элементы повреждения (лизосомы) и элементы защиты (фибриллы). Наблюдаемые процессы репарации, однако, не являются истинной ремиелинизацией. Высказано мнение, что ремиелинизация при ЭАЭ осуществляется глиальными клетками, содержащими в цитоплазме филаменты [17]. Эти клетки были идентифицированы как пролиферирующие астроциты, однако, поскольку участие их в миелогенезе не подтверждено, считается, что ведущая роль принадлежит отросткам олигоден-

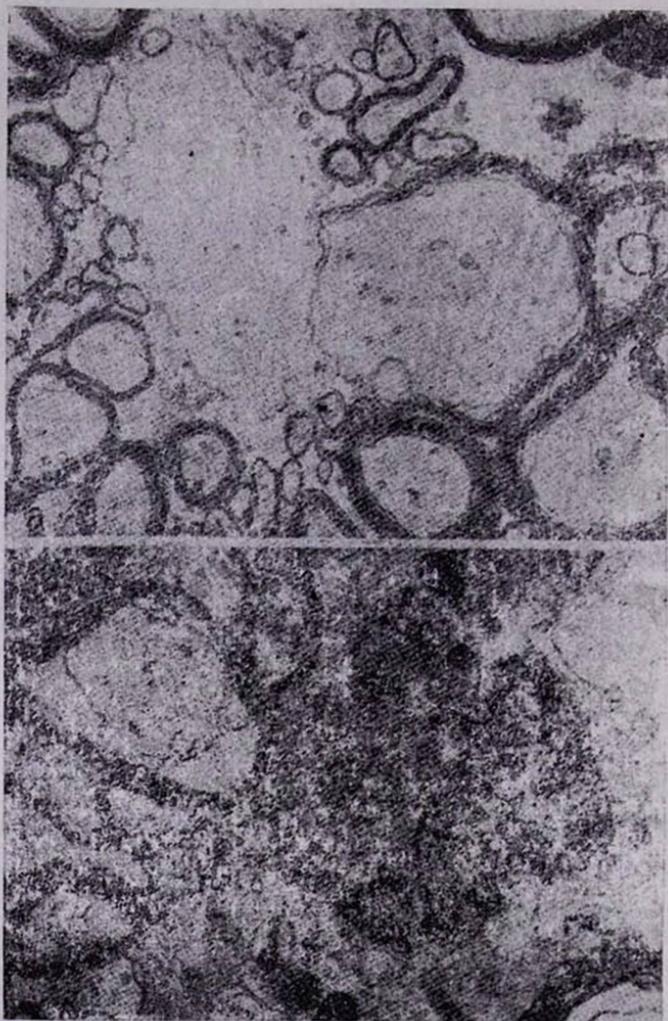


Рис. 3. Белое вещество спинного мозга (через 9 суток после введения стимулятора Фрейнда). а—полный лизис миелина. Увел. 8000; б—активация лизосом (л) в цитоплазме олигодендроцита и теснейший контакт глиофибрилл (гф) с демиелинизированными волокнами. Увел. 14000.

дрочитов, спиральные витки которых постепенно наращивают миелин вокруг денудированных аксонов. В дальнейшем они, по-видимому, растут в длину и ширину, восстанавливая таким способом поврежденное волокно [25]. Ремиелинизация в центральной нервной системе протекает медленно и начинается лишь спустя 1—3 месяца после поражения [22, 23]. Так, в спинномозговых корешках демиелинизированные аксоны лишь через 10 месяцев после сенсibilизации на 50% восстанавливали толщину ламелл [23, 24]. Естественно, мы не могли наблюдать процесс восстановления аксонов, хотя контакт глиофибрилл с альтерированными волокнами, по всей вероятности, является первичной реакцией защитного характера.

Обобщая в целом фактический материал, необходимо отметить, что одним из наиболее важных аспектов влияния стимулятора Фрейнда на центральную нервную систему является генерализованная активация клеточных протеолитических ферментов, агрессивных в отношении мембранных структур. В результате альтерации эндотелия и повреждения базальной мембраны капилляров происходит повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера, что определяет условия для экстрavasации форменных элементов крови.

Применение световой микроскопии не позволяет обнаружить существенных изменений в центральной нервной системе после введения стимулятора Фрейнда собакам [2]. Незначительные сдвиги наблюдались лишь в мукополисахаридном комплексе и касались увеличения содержания кислых несulfатированных мукополисахаридов и снижения нейтральных в стенках сосудов [3]. Тем не менее у собак достоверно повышается активность калликреина в сыворотке и спинномозговой жидкости [11], комплементарная активность сыворотки [10], что говорит о нарушении проницаемости гематоэнцефалического барьера и влияния стимулятора на протеазы. Использование стимулированных собак в качестве контрольной группы при изучении различных аспектов патогенеза ЭАЭ в нашей лаборатории показало, что в этой группе меняются не только показатели иммунобиологической реактивности [3, 10], но и метаболизм мозга [1, 7, 14]. Электронно-микроскопические данные, представленные в настоящей работе, дают возможность установить, на какие структуры действует стимулятор Фрейнда, что позволяет использовать этот материал для трактовки патогенетических механизмов формирования нейроаллергии. Вывод о возможности влияния стимулятора Фрейнда на проницаемость гематоэнцефалического барьера как условия воспроизведения ЭАЭ сделан также на основании результатов, полученных при использовании других методических подходов [4, 8, 9].

После введения стимулятора нам не удалось выявить каких-либо воспалительных изменений в головном и спинном мозге, как это описано некоторыми авторами [18, 27, 28]; появление клеточных воспалительных инфильтратов в структурах центральной нервной системы, несомненно, связано с состоянием сенсибилизации к антигенам мозга и является постоянным признаком ЭАЭ у собак.

Выводы

1. В коре больших полушарий головного мозга после иммунизации стимулятором Фрейнда регистрируются признаки повышения сосудистой проницаемости. В нейронах и глии, за исключением некоторой активации лизосомального аппарата, существенных изменений не выявилось.

2. В белом веществе больших полушарий повышена проницаемость сосудов, в глии — нарушения дегенеративного характера. В миелиновых оболочках отклонений от нормы не наблюдалось.

3. В спинном мозге нарушения ультраструктуры выражены в большей степени. В отличие от вышележащих отделов имеют место значительные повреждения миелинизированных волокон.

ЦНИИЛ Ростовского
медицинского института

Поступила 17/XI 1976 г.

Է. Ա. ԲԱՐԴԱԽՅԱՆ, Տ. Ա. ԽՈՐՈՋՅԱՆ

ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԿԱԿԱՆ ԻՄՈՒՆԻԶԱՑՎԱԾ ՇՆՆԵՐԻ ԿԵՆՏՐՈՆԱԿԱՆ
ՆՅԱՐԴԱՅԻՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳԻ ՈՒՏՐԱԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԻ
ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Շնների վրա փորձում ուսումնասիրվել է գլխուղեղում և ողնուղեղում էլեկտրոնամանրադիտակային փոփոխությունները Ֆրեյնդի խթանիչով իմունիզացնելուց հետո: Սկզբունքորեն կարևորը այն է, որ բոլոր դեպքերում բացահայտվել է մազանոթների բարձր թափանցելիություն, որի մասին է խոսում նաև ուժեղացված պինոցիտոզը և էրիթրոցիտների էքստրավազացիան:

Գլխոֆիրրիլների սերտ կապը վնասված մանրաթելերի հետ ըստ երևույթին պետք է դիտել որպես վնասված միելինային թաղանթների վերականգնմանը ուղղված առաջնային ռեակցիա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Алимova С. Ф. Автореф. дисс. канд. Ростов-на-Дону, 1973.
2. Вилков Г. А. Автореф. дисс. канд. Ростов-на-Дону, 1966.
3. Вилков Г. А. Автореф. дисс. докт. Ростов-на-Дону, 1974.
4. Горбань В. А. В кн.: Гистогематические барьеры. М., 1966, стр. 38.
5. Жаботинский Ю. М., Иоффе В. И. Экспериментальные аллергические демиелинизирующие заболевания нервной системы. Л., 1975.
6. Канчуриh А. X., Полковникова Т. Ф. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 1971, 5, стр. 48.
7. Колесова О. Е. В кн.: Механизмы некоторых патологических процессов, вып. 1, ч. 2. Ростов-на-Дону, 1967, стр. 134.
8. Кривохарченко С. П. Проблемы гистогематических барьеров. М., 1965, стр. 200.
9. Леонович А. Л. В кн.: Острый энцефаломиелит в эксперименте и клинике. Минск, 1969, стр. 131.
10. Межова Л. И. Автореф. дисс. канд. Ростов-на-Дону, 1974.
11. Милотин Л. В., Вилков Г. А., Трапезонцева Р. А. Вопросы мед. химии, 1975, 21, 3, стр. 254.
12. Пашковская М. И. В кн.: Острый энцефаломиелит в эксперименте и клинике. Минск, 1969, стр. 52.
13. Резник С. Р. Автореф. дисс. канд. Киев, 1963.
14. Трапезонцева Р. А. Автореф. дисс. докт. Ростов-на-Дону, 1969.
15. Хоружая Т. А. Дисс. докт. Ростов-на-Дону, 1975.
16. Andrada J., Andrada E., Witebsky E. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1969, 130, 1103.
17. Bunge M. B., Bunge R. P., Rits H. Biochem. Cytol., 1961, 10, 67.
18. Constantinescu M., Hornst T. et al. Ann. Inst. Past., 1959, 96, 79.

19. *Federlin H.* In: Immunol. and Autoimmun. Diabet Mellitus. Amsterdam, New-York. 1974, 183.
20. *Hoentig E. M., Hirano A., Levine S., Ghatak N. R.* Lab. Invest., 1970, 22, 198.
21. *Hoentig E. M., Levine S. J.* Neuropath. and Exp. Neurol., 1973, 33, 251.
22. *Lampert P. J.* Neuropath. and Exp. Neurol., 1965, 24, 371.
23. *Prineas J., Raine C. S., Wisniewski H.* Lab. Invest., 1969, 21, 472.
24. *Raine C. S., Wisniewski H., Prineas J.* Lab. Invest., 1969, 21, 316.
25. *Rosenbluth J. J.* Cell. Biol., 1966, 23, 73.
26. *Tal Ch., Bechar A. J.* Pathol and Bact., 1958, 76, 492.
27. *Vialler J., Girard P., Augagheur J.* C. R. Soc. Biol. (Paris), 1963.
28. *Wisniewski H., Brostoff S. W., Carter H., Eylar E.* Arch. Neurol., 1974, 30, 347.