

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ГЕМОКАПІЛЯРІВ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ, СПРИЧИНЕНИХ ТЕРМІЧНИМ ОПІКОМ**¹Національний університет фізичного виховання і спорту України (м. Київ, Україна)****²ННЦ «Інститут біології та медицини» КНУ імені Тараса Шевченка (м. Київ, Україна)**

lukjantseva@gmail.com

В статті висвітлені питання вивчення змін субмікроскопічного стану гемокапілярів півкуль великого мозку на тлі експериментально змодельованого термічного опіку. Означена наукова проблематика наразі є дуже актуальною тому, що у структурі загального травматизму серед людської популяції третина пошкоджень припадає на опіки різної етіології, які характеризуються виникненням низки несприятливих змін та порушень органів і систем, включаючи структури головного мозку. Метою дослідження було визначити ультраструктурні зміни гемокапілярів великих півкуль головного мозку після змодельованого термічного опіку шкіри піддослідних тварин. В експерименті на статевозрілих щурах-самцях було проведено дослідження змін субмікроскопічного стану гемокапілярів півкуль великого мозку у динаміці після нанесення термічного опіку. Проведені ультрамікроскопічні дослідження встановили, що через 1 годину після нанесення термічного опіку у тварин відзначаються початкові, незначні зміни структурних компонентів гемокапілярів півкуль великого мозку із збереженням морфофункціонального стану як клітин нейроглії, так і капілярів, з їх помірним кровонаповненням. Ступінь альтеративних змін тканин мозку через 24 години після опіку виявлявся більш значним порівняно зі такими через 1 годину, і характеризувався пошкодженням морфологічної ультраструктури ендотеліоцитів і базальної мембрани, а також порушенням трансендотеліального транспорту.

Ключові слова: опік, гемокапіляри, головний мозок, субмікроскопічні зміни.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є частиною науково-дослідної роботи «Вплив екзогенних та ендогенних факторів на перебіг адаптаційних реакцій організму до фізичних навантажень різної інтенсивності», (№ державної реєстрації 012U108187).

Вступ. Нервова система посідає важливе значення у механізмах виникнення реакції на екзогенні чинники, бере активну участь у мобілізації захисних сил організму для протидії на різноманітні негативні чинники тощо [1]. Виникаючий на цьому тлі потужний потік нервових імпульсів зумовлює зміну взаємовідношень процесів збудження і гальмування, а також регуляторних функцій центральної нервової системи. Не дивлячись на той факт, що дія термічного фактору є короткочасною, наслідки його впливу призводять до важких порушень нейрорегуляції [2, 3, 4]. Слід зазначити, що одночасно зі змінами у нейронах, дослідники відзначають порушення мікроциркуляції [5, 6, 7]. Відбувається дестабілізація структурних компонентів гемокапілярів, порушується трансендотеліальний транспорт, а також відзначаються зміни у

взаємодії нейронів, нейрогліоцитів та гемокапілярів нервової системи [8, 9, 10]. Важливим є вивчення напрямку цих порушень, перебіг регенераторних процесів, це підкреслює необхідність використання для вивчення структур нервової системи електронномікроскопічного методу дослідження.

Мета дослідження – визначити ультраструктурні зміни гемокапілярів великих півкуль головного мозку після змодельованого термічного опіку шкіри піддослідних тварин.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальне дослідження проведено на 30 безпородних статевозрілих білих щурах-самцях із масою тіла 200 ± 10 г. Утримання піддослідних тварин та маніпуляції проводили відповідно до правил, встановлених «Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей», а також у відповідності до положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Експеримент проводили у відповідності до міжнародних принципів Гельсінської декларації «Про гуманне ставлення до тварин» і «Спільними етичними принципами експериментів над тваринами» (Страсбург, 1986) [11]. Моделювання термічного опіку здійснювали шляхом занурення задніх лап наркотизованих тварин до рівня надп'яtkово-гомількового суглобу у водяну баню, температура води всередині якої становила 55°C упродовж 30 секунд. Об'єм лапи оцінювали під ефірним наркозом до опіку, а також через 1 і 24 години після опіку. Лабораторні тварини були розподілені на дві групи – контрольна (отримували внутрішньочеревинно 1 мл фізіологічного розчину) і основна група (отримували амлілін в дозі 0,5 мкг/кг).

Збір матеріалу для електронномікроскопічних досліджень проводили відповідно до загальноприйнятої методики. Маленькі шматочки органу фіксували у 2,5 % розчині глутаральдегіду, який приготуваний на основі фосфатного буферу із рН середовищем 7,2–7,4. Постфіксацію здійснювали у 1% розчині тетраоксиду осмію, після проводили його дегідратацію у пропіленоксиді та заливали в суміш епоксидних смол. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромомі LKB-3 контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю відповідно до методу Рейнольдса і вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ – 125 К [12].

Результати дослідження та їх обговорення. Проведені субмікроскопічні дослідження гемокапілярів півкуль великого мозку через 1 годину після нанесення термічного опіку встановили, що виявляються початкові, реактивні зміни структурних компонентів мікросудин. Кровонаповнення кровоносних капілярів помірно, просвіт нерозширений, у ньому визна-



Рисунок 1 – Ультраструктурні зміни гемокапіляра півкуль великого мозку через 1 годину після нанесення термічного опіку. Зб.: x7000. Позначення: 1 – просвіт капіляра; 2 – ядро ендотеліоцита; 3 – електронноосвітла цитоплазма ендотеліоцита; 4 – потовщена базальна мембрана; 5 – набряклий нейропіль.

чаються формені елементи крові. Ендотелій, який вистилає стінку гемокапілярів характеризується видовженою формою ендотеліоцитів із збереженою структурою, які щільно з'єднані між собою міжклітинними контактами (рис. 1).

Цитоплазма електронноосвітла багата на органели, дрібні мітохондрії мають округло-овальну форму із чітко контурованими зовнішньою та внутрішньою мембранами, кристи незначно фрагментовані, мітохондріальний матрикс відносно ущільнений. У електронноосвітлій цитоплазмі наявні каналці гранулярної ендоплазматичної сітки, зменшена кількість рибосом. Спостерігаються піноцитозні пухирці та кавеоли, наявність яких вказує про те, що відбувається активний трансендотеліальний транспорт речовин. Осміофільна базальна мембрана у даний термін експерименту на деяких ділянках набрякла, потовщена.

У деяких гемокапілярів через 1 годину після експериментальної термічної травми спостерігається звуження просвіту, за рахунок набряку клітин ендотелію. Для ендотеліоцитів характерні гіпертрофовані ядра (рис. 2). Осміофільна каріолема чітко контурована, утворює інвагінації. В каріоплазмі переважає електроннощільний гетерохроматин, який роз-

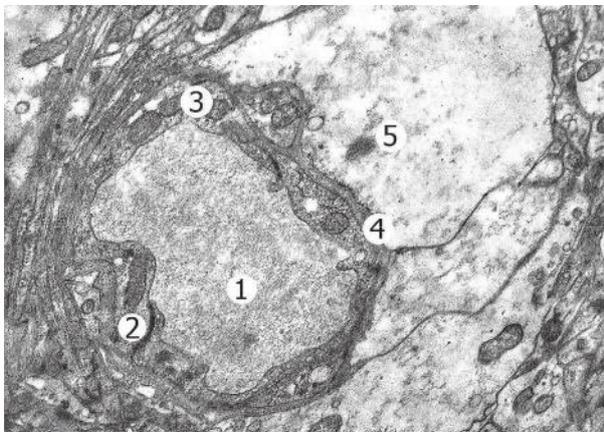


Рисунок 3 – Ультраструктурні зміни гемокапіляра великих півкуль головного мозку через 24 години після нанесення термічного опіку. Зб.: x8000. Позначення: 1 – просвіт капіляра; 2 – щільні контакти між ендотеліоцитами; 3 – мітохондрії; 4 – потовщена базальна мембрана; 5 – периваскулярний набряк.

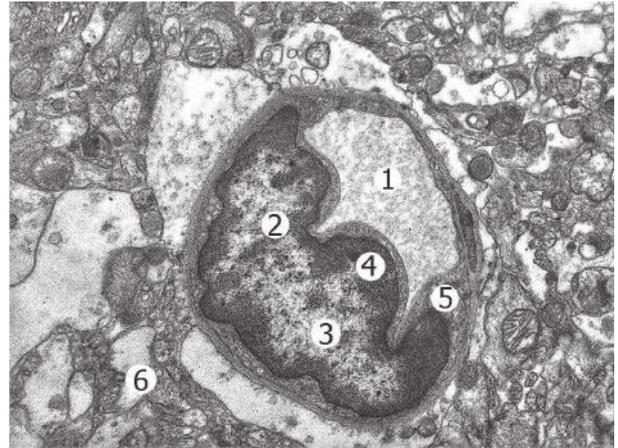


Рисунок 2 – Субмікроскопічні зміни гемокапіляра півкуль великого мозку через 1 годину після нанесення термічного опіку. Зб.: x8000. Позначення: 1 – просвіт капіляра; 2 – ядро ендотеліоцита; 3- цитоплазма ендотеліоцита; 4 – гетерохроматин у каріоплазмі; 5 – еухроматин у каріоплазмі; 6 – нейропіль.

ташований маргінально. Цитоплазма таких ендотеліоцитів небагата на органели, наявні поодинокі, округлі мітохондрії із контурованою зовнішньою та складчастою внутрішньою мембранами.

Через 24 години на ультраструктурному рівні після нанесення опіку встановлено наростання деструктивних змін у гемокапілярах півкуль великого мозку. Вказані порушення пов'язані із пасивним трансендотеліальним транспортом, що підтверджуються даними електронної мікроскопії, а саме майже повна відсутність мікроворсинок на люменальній поверхні ендотеліоцитів та зменшення кількості піноцитозних пухирців та кавеол в цитоплазмі (рис. 3).

У даний термін досліду між ендотеліальними клітинами зберігаються щільні замикальні контакти. Цитоплазма помірно електронноосвітла, у зв'язку із частковим набряком на окремих ділянках, в ній спостерігаються змінені набряклі мітохондрії, що мають витягнуту або округлу форму, характеризуються збереженою зовнішньою мембраною та фрагментованими кристами, проміжки між якими заповнює електроннощільний мітохондріальний матрикс. Також наявні непротяжні каналці гранулярної ендоплаз-

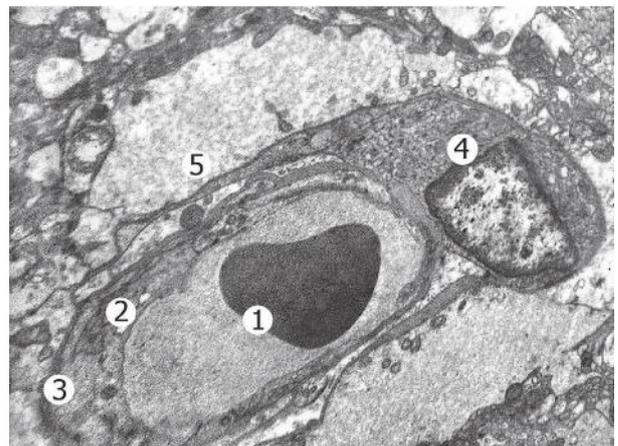


Рисунок 4 – Субмікроскопічні зміни гемокапіляра півкуль великого мозку через 24 годин після нанесення термічного опіку. Зб.: x7000. Позначення: 1 – еритроцит в просвіті; 2 – цитоплазма ендотеліоцита; 3 – змінена базальна мембрана; 4 – перицит; 5 – периваскулярний простір.

матичної сітки, виявляється невелика кількість вільних рибосом та полісом. В даний термін виявляється значний периваскулярний набряк. Спостерігається порушення будови базальної мембрани, вона локально значно потовщена, або стоншена, проте чітко контурована, помірно осміофільна (рис. 4).

Кровонаповнення гемікапілярів у даний термін досліду помірно, у їх просвіті розташовані еритроцити.

Висновки. Проведені субмікроскопічні дослідження встановили, що через 1 годину після моделювання термічного опіку відзначаються початкові, незначні ультраструктурні зміни структурних компонентів гемокапілярів півкуль великого мозку

і збереження морфо-функціонального стану нейрогліально-капілярного комплексу. Через 24 години виявляються альтеративні зміни, які полягають у пошкодженні ультраструктури ендотеліоцитів і базальної мембрани в складі стінки мікросудини, що призводить до порушення трансендотеліального транспорту, визначається значний периваскулярний набряк.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати досліджень слугують для проведення морфометрії структурних компонентів мікроциркуляторного русла при термічних опіках шкіри.

Література

1. Lytvynuk SO. Histologichni zminy hemokapilyariv hipokampa pry eksperymental'nyy termichnyy travmi. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2012;1:134-137. [in Ukrainian].
2. Shaw P, Sharma AK, Kalonia A, Shukla SK. Vascular perfusion: A predictive tool for thermal burn injury. Journal of Tissue Viability. 2020;29(1):48-50. DOI: 10.1016/j.jtv.2019.12.002.
3. Lukyantseva HV, Pastukhova VA, Krasnova SP, Oliinyk TM, Luts YuP. Osoblyvosti vplyvu amilinu na intensyvniyt' zapal'nykh protsesiv, sprychynenykh termichnym ta khimichnym opikom. Visnyk problem biolohiyi i medytsyny. 2021;2(160):71-3. DOI: 10.29254/2077-4214-2021-2-160-71-73. [in Ukrainian].
4. Jeschke MG, van Baar ME, Choudhry MA, Chung KK, Gibran NS, Logsetty S. Burn injury. Nat Rev Dis Primers. 2020 Feb 13;6(1):11. DOI: 10.1038/s41572-020-0145-5.
5. Yilmaz ER, Gurer B, Kertmen H, Hasturk AE, Evirgen O, Hayirli N, et al. The histopathological and ultrastructural effects of the topical application of bacitracin on the cerebral cortex in rats. Turk Neurosurg. 2015;25(1):78-84. DOI: 10.1021/acsami.8b00135
6. Dries DJ, Marini JJ. Management of Critical Burn Injuries: Recent Developments. Korean Journal of Critical Care Medicine. 2017;32(1):9-21. DOI: 10.4266/kjccm.2016.00969.
7. Pronina OM, Koptev MM, Bilash SM, Yeroshenko GA. Response of hemomicrocirculatory bed of internal organs on various external factors exposure based on the morphological research data. Svit medytsyny ta biolohiyi. 2018;1(63):153-7. DOI: 10.26.724/2079-8334-2018-1-63-153-157.
8. Zuo KJ, Medina A, Tredget EE. Important Developments in Burn Care. Plast Reconstr Surg. 2017;139(1):120-138.
9. Kramar SB, Volkov KS, Ly'tvy'nyuk SO. Mikroskopichni ta histokhimichni zminy shkiry pisl'ya eksperymental'noyi termichnoyi travmy pry zastosuvanni kriolofilizovanoho ksenodermal'noho substratu. Visnyk morfologiyi. 2015;1(1):6-9. [in Ukrainian].
10. Coert JH. Pathophysiology of nerve regeneration and nerve reconstruction in burned patients. Burns. 2010;36(5):593-8. DOI: 10.1016/j.burns.2009.10.007.
11. Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 52 p.
12. Horalskiy LP, Homich VT, Kononskiy OL. Osnovy histologichnoi tekhniki imorfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohii. Zhitomir: ZhNAEY; 2019. 286 s. [in Ukrainian].

СУБМІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ ГЕМОКАПІЛЯРІВ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ, СПРИЧИНЕНИХ ТЕРМІЧНИМ ОПІКОМ

Лук'янцева Г. В., Пастухова В. А., Ковальчук О. І.

Резюме. Нервова система посідає важливе значення у механізмах виникнення реакції організму на екзогенні чинники, приймає активну участь в процесах мобілізації захисних сил організму з метою протидії на несприятливі чинники, травматичні пошкодження різної етіології тощо. Метою нашого дослідження було вивчення ультраструктурних змін гемокапілярів півкуль великого мозку після змодельованого термічного опіку шкіри піддослідних тварин. В експерименті на білих статевозрілих щурах-самцях проведено вивчення змін субмікроскопічного стану гемокапілярів півкуль великого мозку у динаміці після нанесення термічного опіку. Моделювання термічної травми здійснювали шляхом занурення задніх лап наркотизованих тварин до рівня надп'яtkово-гомілкового суглобу у водяну баню з температурою води 55 °С, тривалість термічного впливу – 30 секунд.

Проведені субмікроскопічні дослідження встановили, що через 1 годину після нанесення термічного опіку у тварин відзначаються початкові, незначні ультраструктурні зміни структурних компонентів гемокапілярів великих півкуль головного мозку зі збереженням морфофункціонального стану нейрогліально-капілярного комплексу. Відзначається помірно кровонаповнення мікросудин, їх просвіти нерозширені. Через 24 години після моделювання термічної опікової травми у нервовій тканині виявляються альтеративні зміни, що проявлялися пошкодженням ультраструктури ендотеліоцитів, ядра стають набрякли, зміненої форми із переважанням гетерохроматину. Базальна мембрана в складі стінки мікросудини потовщена, на люменальній поверхні відсутні мікроворсинки, а також небагато мікропухирців і кавеол, що призводить до порушення трансендотеліального транспорту, визначається значний периваскулярний набряк.

Ступінь пошкодження тканин через 24 години після нанесення опіку виявлявся більш значним порівняно зі змінами, виявленими через 1 годину.

Ключові слова: опік, гемокапіляри, головний мозок, субмікроскопічні зміни.

SUBMICROSCOPIC CHANGES IN THE HEMOCAPILLARIES OF THE CEREBRAL HEMISCLE CAUSES CAUSED BY THERMAL BURN

Lukyantseva H. V., Pastukhova V. A., Kovalchuk O. I.

Abstract. The nervous system is important in the mechanisms of the body's response to exogenous factors, takes an active part in the mobilization of the body's defenses to counteract adverse factors, traumatic injuries of various etiologies and more. The aim of our study was to study the ultrastructural changes in the hemocapillaries of the cerebral hemispheres after simulated thermal burns of the skin of experimental animals.

In an experiment on white adult male rats, a study of changes in the submicroscopic state of the hemocapillaries of the cerebral hemispheres in the dynamics after thermal burns was performed. Simulation of thermal injury was performed by immersing the hind legs of anesthetized animals to the level of the ankle joint in a water bath with a water temperature of 55°C, the duration of thermal exposure – 30 seconds. Submicroscopic studies have shown that 1 hour after thermal burns in animals, there are initial, minor ultrastructural changes in the structural components of the hemocapillaries of the cerebral hemispheres while maintaining the morphofunctional state of the neuro-glial-capillary complex. There is a moderate blood supply to the microvessels, their lumens are not dilated. 24 hours after the simulation of thermal burn injury in the nervous tissue of animals, destructive alternative changes are detected, manifested by damage to the ultrastructure of endothelial cells, the nuclei become swollen, altered in shape with a predominance of heterochromatin. The basement membrane in the wall of the microvessel is thickened, there are no microvilli on the luminal surface, as well as a few microbubbles and caveolae, which leads to disruption of transendothelial transport, significant perivascular edema is determined.

The degree of tissue damage of the nervous system 24 hours after the burn was more significant compared with the changes detected 1 hour after the of the burn.

Key words: burn, hemocapillaries, brain, submicroscopic changes.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Lukyantseva H. V.: 0000-0002-8054-0108 ^{ACDF}

Pastukhova V. A.: 0000-0002-4091-913X ^{ABDE}

Kovalchuk O. I.: 0000-0002-6311-3518 ^{BE}

Конфлікт інтересів:

Автори повідомляють, що конфлікт інтересів відсутній.

Адреса для кореспонденції

Лук'янцева Галина Володимирівна

Національний університет фізичного виховання і спорту України

Адреса: Україна, 01033, м. Київ, вул. Фізкультури, 1

Тел.: 0975777765

E-mail: lukjantseva@gmail.com

А – концепція роботи та дизайн, В – збір та аналіз даних, С – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, Е – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 04.02.2021 року
Стаття прийнята до друку 08.08.2021 року