

УДК 616.831.71-092-076.4

Лобанов С.А.

УЛЬТРАСТРУКТУРА МОЗЖЕЧКА ПРИ ГИПОКСИИ

Уфимский университет науки и технологий, Уфа

В работе приводятся данные ультраструктурных исследований мозжечка крыс после гипоксии. Показаны особенности изменений внутриклеточных элементов нейронов мозжечка. Прослежены функциональные и морфологические особенности митохондрий и аппарата синтеза для обновления клетки в условиях гипоксии. Данные морфометрических исследований позволяют отметить разный характер реагирования внутриклеточных элементов при действии гипоксии.

Ключевые слова: мозжечок, гипоксия, ультраструктура.

Lobanov S.A.

ULTRASTRUCTURE OF THE CEREBELLUM IN HYPOXIA

Ufa University of Science and Technology, Ufa

The paper presents data from ultrastructural studies of the cerebellum of rats after hypoxia. The peculiarities of changes in intracellular elements of cerebellar neurons are shown. The functional and morphological features of mitochondria and the synthesis apparatus for cell renewal under hypoxia conditions have been traced. The data of morphometric studies allow us to note the different nature of the response of intracellular elements under the action of hypoxia.

Key words: cerebellum, hypoxia, ultrastructure.

Гипоксия оказывает существенные влияния на нервную систему в том числе и мозжечок. При действии гипоксии нарушаются тонкие механизмы регуляции работы нейронов мозга. В этих условиях развивается дефицит кислорода, что усугубляет течение восстановительных процессов. В нейронах и клетках глии происходят нарушения процессов метаболизма, что приводит к изменению энергогенеза и синтеза соединений необходимых для полноценного функционирования [1, 2].

В условиях гипоксии образуется большое количество промежуточных продуктов, влияющих на состав и содержание компонентов межклеточного матрикса, обладающих при этом высокой реакционной способностью [3,4,5]. В этих условиях нарушается работа тонких мембранных структур, что приводит к развитию нарушений компенсаторно-адаптивных процессов в клетке [6,7]. В мембранах клеток и внутриклеточных структур изменяется состав и оптимальное содержание компонентов, обеспечивающих полноценное функционирование. При гипоксии нарушаются взаимоотношения между клетками и межклеточным матриксом. В первую очередь это проявляется на уровне гликокаликса, что приводит к формированию дезадаптивных процессов.

Цель работы

Является выявление особенностей ультраструктурных изменений мозжечка при гипоксии.

Материал и методы

Крысы VISTAR массой тела $217 \pm 5,9$ г. находились в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде.

Гипоксия моделировалась (7 крыс) в барокамере при давлении около 100 мм.рт.ст. Они были в барокамере в течение 10 минут, затем 5 минут вентиляция для удаления избытка CO_2 и так по этой схеме 4 раза (в течение часа). Затем крыс выводили из эксперимента, забирали мозжечок для электронно-микроскопических исследований.

Группу контроля (5 крыс) составляли животные, содержащиеся в этих же условиях. При работе с крысами учитывались положения Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1986), Хельсинкской декларации (1964–2013), Приказ № 199н Минздрава России от 1 апреля 2016 г.

Фрагмент мозжечка объемом 1^3 мм забирали в первые 5-7 минут и помещали в 2,5% раствор глутарового альдегида с последующей дофиксацией в четырехокиси осмия (по общепринятой методике). Далее обезживали в спиртах и ацетоне, заливали смолой ЭПОН-812. Материал готовили на ультратоме LKB – III, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу. Срезы изучали на электронном микроскопе JEM - 100S.

Результаты проведенных исследований подвергались статистической и графической обработке в операционной системе Windows 7 с помощью пакета офисных приложений Microsoft Office 2013.

Результаты и обсуждение:

Изучение ультраструктуры клеток мозжечка показывает, что нейроны и клетки глии имеют неодинаковую электронную плотность. Среди нейронов, расположенных в мозжечке, выявляются клетки с высокой и низкой осмиофильностью. Это свидетельствует о разной их функциональной активности. Форма и размеры этих клеток имеют различия. Среди этих нейронов располагаются клетки с полигональной формой, близко расположенные друг к другу, с выростами цитоплазмы, клеточными контактами.

Мембраны клеток имеют достаточно четкие контуры и относительно хорошо прорисованы. Однако внутриклеточные элементы мембранных структур местами имеют размытые контуры и низкую осмиофильность.

Ядро имеет достаточно хорошо контурированные мембраны, в которых наблюдаются ядерные поры. Перинуклеарные пространства неравномерные, с содержимым низкой электронной плотности. В нуклеоплазме гетерохроматин имеет низкую осмиофильность и располагается в одних клетках относительно равномерно, в других по периферии.

В цитоплазме нейронов увеличивается содержание лизосом по сравнению с контролем.

Митохондрии в этот период разной формы и величины, с разной электронной

плотностью матрикса. В некоторых нейронах митохондрии набухают, а у части наблюдается разрушение внутренней мембраны и просветление матрикса (рис 1.).

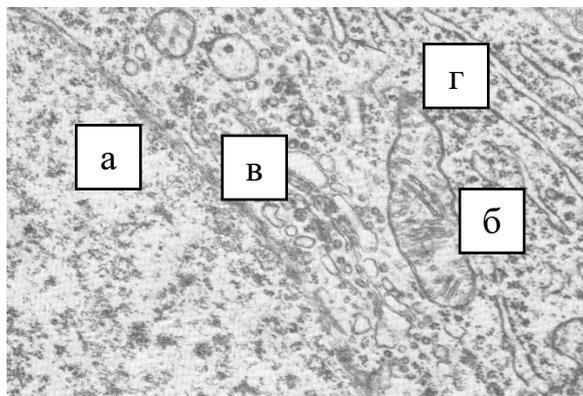


Рис. 1. Нейрон мозжечка. Взаимоотношения ядра и цитоплазмы. Эксперимент. а – ядро, видны поры, б - митохондрии, в – комплекс Гольджи, г – эндоплазматический ретикулум. ЭМФ x 35000.

При гипоксии наблюдаются изменения со стороны эндоплазматического ретикулума, в виде фрагментарных расширений в просвете которых выявляется материал, различающийся по характеру и электронной плотности. Среди этого материала наблюдаются компоненты, имеющие хлопьевидный, мелкозернистый и тонкофибрилярный вид. На его поверхности и рядом отмечается увеличение везикулярных структур, разной электронной плотности с гетерогенным содержимым.

Комплекс Гольджи имел достаточно хорошо выраженную мембранную структуру, относительно компактно расположенную. Рядом в достаточно большом количестве наблюдаются везикулы, различающиеся по форме, размерам и содержимым. Около этих образований выявляются лизосомы. В отростках нейронов прослеживаются микротрубочки и микрофиламенты в разных соотношениях.

Клетки глиии имели более устойчивый характер к действию гипоксии и его последствиям. Среди них явления набухания были слабо выражены в сравнении с нейронами, расположенными рядом. Вокруг нейронов располагались астроциты содержащие в ядре гетерохроматин в виде локальных фрагментов в разных участках.

Кровеносные капилляры находились в состоянии дилатации. В просвете располагались форменные элементы крови. Эндотелиальные клетки в своей цитоплазме содержали большое количество пиноцитозных пузырьков.

Гипоксия как фактор стресса оказывает неоднородное влияние на внутриклеточные структуры, которые прослеживаются при морфометрическом изучении (таблица 1.).

Таблица. 1.

Соотношение (%) внутриклеточных элементов нейронов мозжечка при гипоксии.

Элементы клетки крысы	Митохондрии	Комплекс Гольджи	Эндоплазматический ретикулум	Везикулы	Рибосомы
Контроль (5 крыс)	15,8±2,7	23,4±5,3	27,7±8,6	17,9±7,8	9,9±3,2
Эксперимент (7 крыс)	11,7±3,9	19,7±6,2	26,3±7,7	27,5±5,9	17,6±4,3

Анализ показывает, что содержание активных митохондрий имеет тенденцию к снижению до 0,7 раза, а комплекса Гольджи до 0,8 раза по сравнению с контролем. Существенных различий со стороны эндоплазматического ретикулума не выявлено. Однако в этих условиях значительно увеличилось содержание везикул (в 1,5 раза) и рибосом (в 1,8 раза).

Заключение и выводы

Таким образом, ультраструктурные исследования клеток мозжечка в условиях гипоксии показывают морфофизиологические изменения, которые затрагивают все ее элементы. Функциональные перенапряжения в клетках ведут к изменению активности энергообразующих структур и аппарата синтеза для обновления. При этом выявляются компенсаторные явления, направленные на активацию процессов адаптации способных функционировать в этих условиях. В клетках прослеживаются явления активации со стороны увеличения везикулярных структур и рибосом, в тоже время наблюдается тенденция к снижению активности со стороны митохондрий и комплекса Гольджи

ЛИТЕРАТУРА

1. Гундарова, О.П. Возрастная структурно-функциональная перестройка коры мозжечка лабораторных крыс / О.П. Гундарева, Н. Маслов // Журнал анатомии и гистопатологии. - 2013. - Т. 2. - № 3(7). - С. 32-36.
2. Гусев, Д.В. Морфометрическая характеристика мозжечка и его отделов в раннем плодном периоде онтогенеза человека / Д.В. Гусев // Вестник новых медицинских технологий. - 2013. - Т. 20. - № 2. – С. 44-47.
3. Лобанов, С.А. Мозжечок и стресс (экспериментальное исследование), монография / С.А. Лобанов, Т.Ф. Емелева. – Уфа: Вагант, 2005. – С. 112.
4. Лобанов, С.А. Мозжечок и внешние факторы / С.А. Лобанов, Т.Ф. Емелёва, А.В. Данилов [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. - 2006. - № 1. - С. 75-77.

6. Отдаленные последствия воздействия гипоксии в перинатальный период развития на структурно-функциональные характеристики мозга крыс / В.А. Отеллин, Л.И. Хожай, Л.А. Ватаева, Т.Т. Шишко // Российский физиологический журнал. – 2011. – №10. – С. 1092-1100.
7. Саморукова, И.В. Динамика изменения клеток Пуркинье мозжечка в пострениационном периоде: морфометрический и ультраструктурный анализ / И.В. Саморукова, О.В. Захарова, В.П. Туманов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2000. - Т. 129. - № 1. - С. 103-108.
8. Thykadavil V.G. Биохимические, морфологические и ультраструктурные изменения в мозге крыс под влиянием гипоксии / V.G. Thykadavil, K. Rameshkumar, T. Venkatesh // Нур. Med. J. 2002. – Т. 10, №1-2. – P. 1517.

Сведения об авторах статьи:

Лобанов Сергей Александрович – д.м.н., профессор ФГБОУ ВО Уфимский университет науки и технологий, г. Уфа, e-mail: lobanovprof@yandex.ru.