

© Коллектив авторов, 2009
УДК 611.819.1:616.12-008.331.1

В.М. Черток, А.Е. Коцюба и Е.В. Бабич

УЛЬТРАСТРУКТУРА ИНТИМЫ АРТЕРИЙ МЯГКОЙ ОБОЛОЧКИ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Кафедра анатомии человека (зав. — проф. В.М. Черток) Владивостокского государственного медицинского университета

Методами сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии исследована ультраструктура внутренней оболочки артерий мягкой оболочки головного мозга, взятой от 5 трупов практически здоровых людей мужского пола и 8 — с диагностированной при жизни артериальной гипертензией (АГ) I степени. Установлено, что АГ сопровождается ремоделированием структурных элементов интимы артерий мягкой оболочки мозга. В большинстве артерий наблюдаются изменения микрорельефа люминальной поверхности и проницаемости эндотелиальной выстилки сосудов, эндотелиоцитов и субэндотелиального слоя. При этом одни эндотелиоциты находятся в состоянии структурно-функциональной адаптации к повышенному артериальному давлению, другие — претерпевают дистрофические изменения. К последним относятся клетки, содержащие жировые включения, а также эндотелиоциты, находящиеся, по-видимому, в состоянии апоптоза. Деструкция межклеточных контактов, нарушение проницаемости эндотелия способствуют развитию отека субэндотелиального слоя, в результате чего значительно увеличивается его толщина. Он разрушается, в нем определяется большое количество коллагеновых фибрилл.

Ключевые слова: мягкая оболочка головного мозга, артерии, ультраструктура, артериальная гипертензия, ремоделирование.

Гемодинамические изменения при артериальной гипертензии (АГ) сопровождаются повышением общего периферического сопротивления резистивных сосудов. Поскольку тонус артериальных сосудов определяется сократительной способностью гладкой мускулатуры, то при изучении данной патологии внимание ученых, начиная с В. Folcow [10], в первую очередь привлекали процессы ремоделирования сократительных элементов средней — мышечной оболочки [9, 12, 14]. Судя по растущему потоку публикаций, важное значение эндотелия в развитии данной патологии также сомнений не вызывает [2, 7, 9, 10]. Однако работ, направленных на изучение ультраструктурных преобразований интимы артерий мягкой оболочки мозга человека при АГ, мы не встретили.

Цель настоящего исследования — изучение ультраструктуры интимы артерий мягкой оболочки головного мозга у практически здоровых людей и людей, страдавших АГ.

Материал и методы. Исследован материал, полученный из государственного учреждения здравоохранения Приморского края «Бюро судебно-медицинской экспертизы» при вскрытиях людей в возрасте 35–48 лет, погибших в результате дорожно-транспортных происшествий. Методами сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии изучали артерии мягкой оболочки головного мозга диаметром 450–300 мкм, полученные от 5 мужчин, не страдавших сердечно-сосудистыми заболеваниями («практически здоровые»), и 8 мужчин соответствующего возраста с диагнозом АГ I степени. Группы «практически здоровых» и «больных с АГ» формировали на основании результатов медицинских осмотров, приведенных в амбулаторных картах поликлиник по месту жительства погибших. Критериями

включения в 1-ю группу явилось отсутствие жалоб на состояние здоровья, показатели артериального давления (систолического — 110–120 мм рт. ст.; диастолического — 70–80 мм рт. ст.), а также результаты других методов объективного исследования. Во 2-ю группу отобраны люди с гипертонической болезнью I–II стадии с АГ I степени без хронической сердечно-сосудистой недостаточности и продолжительностью заболевания 3–5 лет. Верификацию диагноза проводили на основании анализа специалистами субъективных и объективных данных обследования. В группу были включены больные со средними показателями систолического давления 130–145 мм рт. ст., диастолического — 90–105 мм рт. ст., которые не имели ассоциированных состояний в виде цереброваскулярных заболеваний, заболеваний сердца, почек, периферических артерий, сахарного диабета. Материал обрабатывали не позднее 3 ч после наступления смерти, когда посмертные изменения сосудов минимальны [4]. Для электронно-микроскопических исследований фрагменты мягкой оболочки мозга, содержащей артериальные сосуды, фиксировали 2,5% раствором глутаральдегида (Sigma, США) на 0,1 М фосфатном буфере (pH 7,2) в течение 2,5–4 ч. После промывки в Трис-HCl-буфере (Sigma, США) кусочки дофиксировали 1% раствором OsO_4 (Serva, Германия), обезжизняли и заливали в эпон (Serva, Германия). Ультратонкие срезы контрастировали 7% раствором уранилацетата в течение 10 мин и исследовали с помощью электронного микроскопа JEM-100B (Япония). В качестве контроля использовали неокрашенные срезы.

Для сканирующей электронной микроскопии материал после аналогичной фиксации обезжизняли в этаноле и ацетоне возрастающих концентраций и высушивали с помощью лиофилизации при температуре 30 °C при давлении 10^{-4} мм рт. ст. в течение 24 ч [1]. Образцы напыляли золотом в аппарате Jeol JEE (Япония) (при 4 °C). Препараты изучали в сканирующем электронном микроскопе JSM-25S II (Япония) при ускоряющем напряжении 75 кВ.

На фотографиях, полученных при помощи сканирующего электронного микроскопа, измеряли высоту и ширину складок эндотелия и расстояние между ними. На электронно-микроскопических фотографиях, полученных при трансмиссионной электронной микроскопии, вычисляли размеры клеточных и волокнистых образований стенки сосудов, микропиноцитозных пузырьков в эндотелиоцитах. Морфометрический анализ полученных данных проводили в соответствии с алгоритмом, представленным ранее [4, 6]. Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с применением пакета статистических программ Statistica 5.0. Значимость различий средних значений оценивали по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования. При сканирующей микроскопии на внутренней поверхности артерий мягкой оболочки мозга практически здоровых людей определяются крупные складки, расположенные параллельно друг другу и ориентированные вдоль длинной оси сосудов (рис. 1, а, б). Ширина складок составляет 9–14 мкм ($11,6 \pm 1,4$ мкм), высота — 12–16 мкм ($13,7 \pm 2,3$ мкм). Расстояния между ними весьма постоянны и примерно равны ширине складок. В складках артерий видны мелкие округлые отверстия, представляющие собой просветы ответвляющихся сосудов. В этих участках определяются некрупные возвышения — «валики», по-видимому, участвующие в регуляции поступления крови из артериального ствола в сосудистые ветви.

При трансмиссионной электронной микроскопии артерий эндотелиоциты представляют собой уплощенные клетки с крупным, хорошо структурированным ядром (см. рис. 1, в). Высота ядродержащей зоны эндотелиоцитов составляет от 2,5 до 4,5 мкм ($3,4 \pm 0,6$ мкм). В их цитоплазме находится умеренное количество оргanelл. Чаше других здесь встречаются элементы гранулярной эндоплазматической сети, митохондрии, лизосомы, полисомы и свободные рибосомы, иногда небольшие (0,02–0,09 мкм) капли жира. Внутриклеточные мембранные структуры концентрируются, главным образом, вокруг ядра и в смежных с ним участках цитоплазмы. В периферической зоне клеток постоянно наблюдаются в основном пиноцитозные пузырьки, округлые образования диаметром 50–70 нм, и более крупные (100–300 нм) — вакуоли. Люминальная поверхность эндотелиоцитов относительно ровная: складки и выпячивания цитоплазмы встречаются редко, лишь в околоконтактной зоне более или менее часто видны тонкие пальцевидные микровыросты цитоплазмы. На базальной поверхности эндотелиоцитов, кроме того, образуются крупные выпячивания цитоплазмы, участвующие в формировании миоэндотелиальных контактов (см. рис. 1, г, д). Взаимодействие между соседними эндотелиоцитами осуществля-

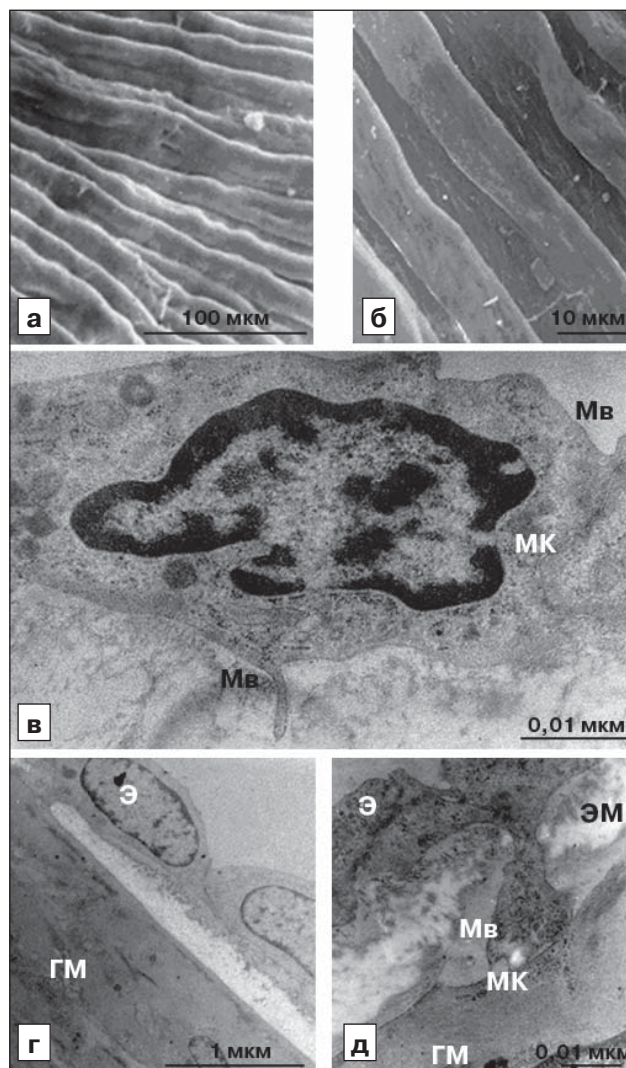


Рис. 1. Интима артерий мягкой оболочки головного мозга практически здорового человека.

а, б — микрорельеф люминальной поверхности артерии; в — эндотелиоцит; г — структурные элементы интимы; д — миоэндотелиальный контакт. Э — эндотелий; ЭМ — эластическая мембрана; МК — миоэндотелиальный контакт; Мв — микровырост; ГМ — гладкий миоцит средней оболочки.

ется при помощи контактов, различающихся между собой формой линии стыка, протяженностью и плотностью образуемых связей. Отростки клеток могут черепицеобразно накладываться друг на друга или стыковаться противоположными боковыми поверхностями, при этом линия стыка имеет вид прямой или плавно изогнутой линии (см. рис. 1, в–д). Ширина межклеточных промежутков в эндотелии зависит от плотности образуемых связей, но не превышает 10–15 нм.

Между эндотелием и гладкими миоцитами средней оболочки артерий располагается материал, имеющий неоднородное строение (см. рис. 1, г, д). К основанию эндотелиоцитов примыкает субэндотелиальный слой, в умеренно осмиофильном

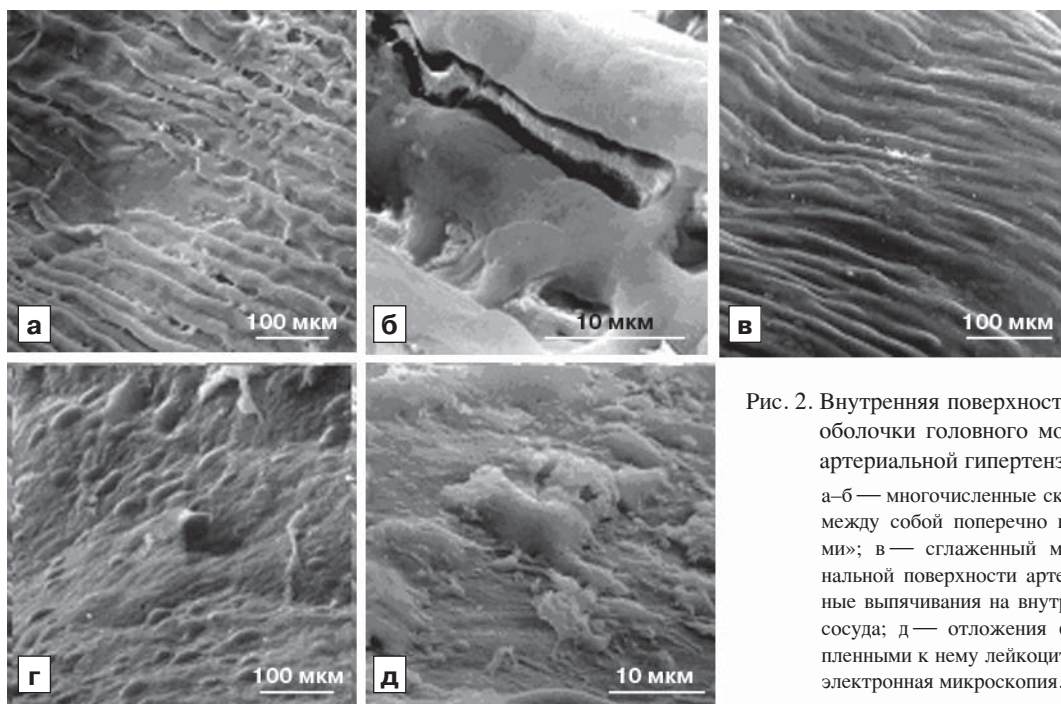


Рис. 2. Внутренняя поверхность артерий мягкой оболочки головного мозга человека при артериальной гипертензии.

а–б — многочисленные складки, соединенные между собой поперечно идущими «мостиками»; в — сглаженный микрорельеф люминальной поверхности артерии; г — шаровидные выпячивания на внутренней поверхности сосуда; д — отложения фибрина с прикрепленными к нему лейкоцитами. Сканирующая электронная микроскопия.

матриксе которого находится ограниченное количество тонких коллагеновых фибрилл. Толщина этого слоя даже на протяжении одной клетки сильно колеблется, но обычно не превышает 0,6–0,7 мкм ($0,40 \pm 0,05$ мкм). Субэндотелиальный слой граничит с компактной эластической пластинкой, поперечник которой варьирует от 1,1 до 2,6 мкм ($1,71 \pm 0,20$ мкм).

При АГ в большинстве артерий наблюдаются изменения структуры интимы, проявляющиеся разной степенью дезорганизации микрорельефа люминальной поверхности сосудов, нарушениями структурно-функциональной организации эндотелия и субэндотелиального слоя. Впрочем, и в расположенных рядом сосудах структурные изменения интимы могут не определяться или могут быть выражены очень слабо. Больше того, по ходу одной и той же артерии встречаются участки с существенными изменениями микрорельефа внутренней оболочки, а рядом могут находиться поля с практически неизменной интимой.

С помощью сканирующей микроскопии на внутренней поверхности артерий мягкой оболочки мозга при АГ выявляются участки, в которых вместо складок, типичных для сосудов здоровых людей, имеются многочисленные узкие и высокие складки, соединенные между собой поперечно идущими «мостиками» (рис. 2, а, б). Ширина складок колеблется от 6 до 10 мкм ($7,6 \pm 1,8$ мкм), высота — 18–26 мкм (23 ± 3 мкм). Расстояния между ними непостоянны: складки либо тесно прилегают друг к другу, либо удаляются друг от друга. Иногда они расходятся или прерываются,

образуя «плато» неправильной формы с плоской поверхностью (см. рис. 2, а). В других случаях на внутренней поверхности артерий видны многочисленные мелкие складки высотой не более 1,5–3 мкм и шириной 2–3 мкм (см. рис. 2, в). Размеры и количество таких участков со сглаженным микрорельефом значительно колеблются, но, как правило, занимаемая ими суммарная площадь не превышает 3–5% люминальной поверхности артерий. На измененной таким образом внутренней поверхности сосудов нередко наблюдаются шаровидные выпячивания (см. рис. 2, г). Там же, независимо от степени дезорганизации микрорельефа, выявляются массивные отложения фибрина с прикрепленными к нему лейкоцитами (см. рис. 2, д).

Трансмиссионная электронная микроскопия позволяет уточнить характер изменений структурных элементов интимы, наблюдаемых при АГ. В цитоплазме эндотелиоцитов артерий мягкой оболочки мозга определяется повышенное количество митохондрий, свободных рибосом, полисом, элементов гранулярной эндоплазматической сети, пиноцитозных пузырьков (рис. 3, а). В цитоплазме отдельных клеток располагаются крупные (до 1,5–2 мкм) жировые включения. Почти в 2 раза увеличивается ширина эндотелиоцитов, которая в ряде случаев достигает 12–16 мкм (средняя — $7,3 \pm 1,9$ мкм). Часто нарушается структура межэндотелиоцитарных контактов. Межклеточные щели расширяются, образуя крупные полости, а линия стыка становится извилистой (см. рис. 3, б). На базальной и особенно люминальной поверхно-

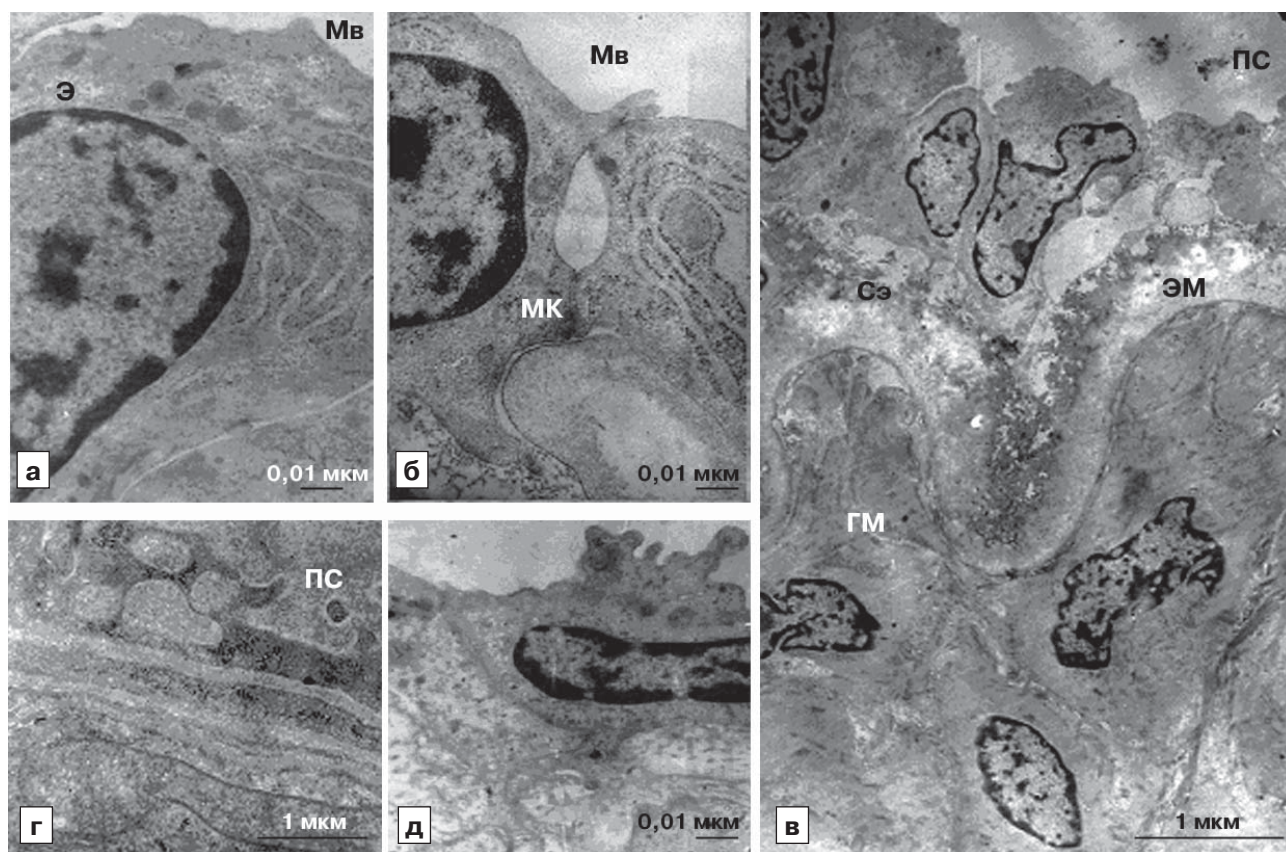


Рис. 3. Изменения ультраструктуры интимы артерий мягкой оболочки головного мозга человека при артериальной гипертензии.

а — эндотелиоцит с хорошо развитыми элементами гранулярной эндоплазматической сети и митохондриями; б — нарушение структуры межэндотелиоцитарных контактов; в — «активные» эндотелиоциты с многочисленными цитоплазматическими микровыростами; г — эндотелиоцит с признаками апоптоза; д — выпячивания цитоплазмы сложной формы. МК — межклеточный контакт; Сэ — субэндотелий; ПС — просвет сосуда. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

сти таких «активных» клеток выявляется большое количество цитоплазматических микровыростов (см. рис. 3, в).

В других случаях цитоплазма эндотелиоцитов приобретает пузырчатый вид, содержит небольшое число органелл, представленных в основном агрегатами рибосом, короткими и расширенными канальцами гладкой эндоплазматической сети, мелкими округлыми митохондриями с уплотненным матриксом (см. рис. 3, г). Ядро с многочисленными инвагинациями содержит хроматин, который образует большие компактные агрегаты, обычно примыкающие к внутренней ядерной мембране. Микроворсинки на поверхности клеток исчезают, а на их месте образуются выпячивания цитоплазмы сложной формы, имеющие вид протуберанцев (см. рис. 3, д).

Деструкция межклеточных контактов, нарушение проницаемости эндотелия способствуют развитию отека субэндотелиального слоя, в результате чего значительно увеличивается его толщина ($2,8 \pm 0,4$ мкм). Он разрыхляется, в нем определяется большое количество коллагеновых

фибрилл (см. рис. 3, а — в). Эластическая пластинка, примыкающая к внутреннему слою гладких миоцитов средней оболочки сосудов, напротив, истончается до $0,5\text{--}1$ мкм ($0,80 \pm 0,06$ мкм).

Обсуждение полученных данных. В настоящей работе методом сканирующей электронной микроскопии показано, что при любой степени дезорганизации микрорельефа на люминальной поверхности артерий откладывается в большом количестве фибрин с прикрепленными к нему лейкоцитами. Не исключено, что такие изменения могут явиться одной из причин последующего тромбообразования [1]. Схожие изменения микрорельефа интимы аорты описаны в начальном периоде развития экспериментального атеросклероза у животных, при этом уплощение микрорельефа люминальной поверхности сосудов является типичным для долипидной стадии заболевания [12]. Указанные изменения интимы предшествуют появлению на внутренней поверхности артерий шаровидных вздутий, обнаруженных нами при АГ, которые приводят к своеобразному

изменению микрорельефа, известному под названием «булыжная мостовая» [1, 6].

Исследование показало, что АГ сопровождается ремоделированием структурных элементов интимы артерий мягкой оболочки мозга. При этом наблюдаются изменения микрорельефа люминальной поверхности и проницаемости эндотелиальной выстилки сосудов, эндотелиоцитов и субэндотелиального слоя. Некоторые эндотелиоциты («активные») находятся в состоянии структурно-функциональной адаптации к повышенному артериальному давлению, другие — претерпевают дистрофические изменения.

К последним относятся клетки, содержащие жировые включения, а также находящиеся, по-видимому, в состоянии апоптоза. Имеются данные, что в процессе программируемой гибели цитоплазма эндотелиоцитов приобретает пузырчатый вид, в ней сокращается число органелл, а на поверхности образуются выпячивания цитоплазмы сложной формы [5, 8, 15]. Механизмы запрограммированной гибели эндотелиоцитов при АГ окончательно не определены, но есть основания полагать, что апоптоз — одна из причин уменьшения числа функционирующих мелких артерий и артериол — явления, характерного для гипертонической болезни [3, 11, 14]. Повышение гидростатического давления и вязкости крови провоцируют увеличение напряжения сдвига на эндотелий и отек субэндотелиального слоя. Эти факторы приводят к потере контакта эндотелия с базальной мембраной и являются дополнительным звеном в инициации программируемой гибели клеток [13]. При АГ нарушаются естественные механизмы функционирования эндотелия, проявляющиеся изменением вазомоторики и уменьшением просвета сосудов, активацией тромбоцитарного звена гемостаза и свертывающей системы, подавлением фибринолиза, активацией и адгезией лейкоцитов [7]. Повышение проницаемости эндотелия под влиянием протеолитических ферментов лейкоцитов приводит к воспалительным процессам в интиме, развитию фиброза, ведущего к снижению эластических свойств сосудов, ускорению атерогенеза, а следовательно, к усугублению течения болезни.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крымский Л.Д., Нестайко Г.В. и Рыбалов А.Г. Растровая электронная микроскопия сосудов и крови. М., 1976.
2. Лупинская З.А. Эндотелий сосудов — основной регулятор местного кровотока. Вестн. Кыргызск.-Российск. Славянск. ун-та, 2003, т. 3, № 7, с. 88–91.
3. Матвеева Н.Ю. Апоптоз и оксид азота в развитии нейронов сетчатки. Владивосток, Медицина ДВ, 2006.
4. Мотавкин П.А. и Черток В.М. Гистофизиология сосудистых механизмов мозгового кровообращения. М., Медицина ДВ, 1980.
5. Цыпенкова В.Г. Апоптоз. Арх. пат., 1996, т. 58, с. 71–74.
6. Черток В.М. Структурные преобразования интимы артерий мягкой мозговой оболочки человека при атеросклерозе. Журн. невропатол. и психиатр., 1987, т. 87, № 7, с. 992–995.
7. Becker B.F., Heindl B., Kupatt C. and Zahler S. Endothelial function and hemostasis. Clin. Res. in Cardiol., 2000, v. 89, № 3, p. 160–167.
8. Bowen I.D. and Bowen S.M. Programmed cell death in tumours and tissues. London, Charman and Hall, 1990.
9. Dzau V. and Gibbon G. Endothelium and growth factors in vascular remodeling of hypertension. Hypertension, 1991, v. 18, № 10, p. 115–121.
10. Folkow B. Structural factor in primary and secondary hypertension. Hypertension, 1990, v. 16, p. 89–101.
11. Gobe G., Browning J., Howard T. et al. Apoptosis occurs in endothelial cells during hypertension-induced microvascular rarefaction. J. Struct. Biol., 1997, v. 118, p. 63–72.
12. Maiorana A., O'Driscoll G., Dembo L. et al. Effect of aerobic and resistance exercise training on vascular function in heart failure. Am. J. Physiol., 2000, v. 279, p. 1999–2005.
13. Meredith J.E., Fazeli B. and Schwartz M.A. The extracellular matrix as a mediator of apoptosis. Mol. Biol. Cell, 1993, v. 9, № 4, p. 953–961.
14. Schiffrin E.L., Deng L.Y. and Laroche P. Morphology of resistance arteries and comparison of effects of vasoconstrictors in mild essential hypertensive patients. Clin. Invest. Med., 1993, v. 16, № 3, p. 177–186.
15. Stefanec T. Endothelial apoptosis: could it have a role in the pathogenesis and treatment of disease. Chest, 2000, v. 117, p. 841–854.

Поступила в редакцию 24.06.08
Получена после доработки 15.02.09

ULTRASTRUCTURE OF THE INTIMA OF HUMAN PIAL ARTERIES IN ARTERIAL HYPERTENSION

V.M. Chertok, A.Ye. Kotsyuba and Ye.V. Babich

Ultrastructure of the intima of human pial arteries obtained from 5 male cadavers of practically healthy individuals and from 8 cadavers of the patients with the intravitaly diagnosed grade I arterial hypertension (AH) was studied by scanning and transmission electron microscopy. AH was found to be associated with the remodeling of the intimal structural elements in the pial arteries. In most arteries, the changes were detected in the microrelief of the luminal surface and in the permeability of the vascular endothelial lining and of the subendothelial layer. During this remodeling, some endothelial cells were found in the state of structural and functional adaptation to the elevated arterial pressure, while the others were undergoing the dystrophic changes. The latter include the cells containing lipid inclusions, as well as the endothelial cells presumably in the state of apoptosis. The destruction of the intercellular junctions, the disturbances in the endothelium permeability contributed to the development of subendothelial layer edema, resulting in its significant thickening. This layer became looser and contained abundant collagen fibrils.

Key words: *pia mater, arteries, ultrastructure, arterial hypertension, remodeling.*

Department of Human Anatomy, Vladivostok State Medical University