

УДК 616-092.9:[611.1+611.81/.82]

## Влияние введения ксеногенного ликвора на ультраструктуру сосудистых сплетений желудочков головного мозга новорожденных крыс

Гасанова Илаха Халис, кандидат медицинских наук, доцент  
Девятова Нина Викторовна, старший лаборант  
Куница Виктор Николаевич, кандидат медицинских наук, доцент  
Гасанли Заргул Халис, ассистент  
Медицинская академия им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»,  
Симферополь

**Аннотация.** Это исследование проиллюстрировало влияние парентерального введения ксеногенной спинномозговой жидкости на ультраструктурную организацию сосудистых сплетений желудочков головного мозга новорожденных белых крыс. Спинномозговую жидкость вводили из расчета 2 мл / кг веса животного один раз в день каждые 3 дня. Контрольную группу составили новорожденные крысы, которым вводили физиологический раствор в той же дозе и кратности. Животных выводили из эксперимента на 7-е и 30-е сутки. Извлеченные структуры головного мозга были подвергнуты стандартной гистологической обработке. Основное внимание при электронно-микроскопическом исследовании было сосредоточено на основной функциональной единице сосудистого сплетения - эпителиоците, а также на ультраструктурных особенностях его взаимодействия с микроциркуляторными сосудами. Было показано, что введение ликвора приводит к увеличению функциональной активности, в первую очередь эпителиальных клеток, что проявляется усилением секреции спинномозговой жидкости и активацией ультраструктурных изменений эндотелиоцитов, что особенно ярко проявилось на 30-е сутки эксперимента. Эндотелиоциты капилляров увеличены, имеют овальную форму с широкими периферическими отростками, крупные зухромные ядра с ядрышками и глубокими инвагинациями кариолеммы, электронно-прозрачный цитоплазматический матрикс с многочисленными пузырьками пиноцитоза, свободные рибосомы, полисомы, мелкие митохондрии, контуры гранулярной цитоплазматической сети и аппарат Гольджи. Увеличивалось количество секреторных гранул с разной электронной плотностью, которые располагались не только в апикальной части клетки, но и вдоль латеральной части цитоплазмы. Полученные данные об организации сосудистых сплетений помогают понять общие механизмы созревания сосудистых сплетений желудочков головного мозга и являются отправной точкой для проведения исследований по ликворологии и физиологии нервной системы.

**Ключевые слова:** сосудистое сплетение, головной мозг, спинномозговая жидкость, период новорожденности.

Одним з наукових напрямків кафедри нормальної анатомії Кримської медичної академії ім. С.І. Георгіївського є доклінічне дослідження *in vivo* властивостей ксеногенної цереброспінальної рідини (КЦР), що розглядається як можливу перспективну сировину для випуску нового імунобіологічного препарату [10]. Попереднє вивчення складу і біологічних властивостей аллогенної, а потім і ксеногенної цереброспінальної рідини, парентеральне її введення експериментальним тваринам переконливо довели високу ступінь корекції різних патологічних станів.

Серії проведених експериментів виявили відсутність тератогенних, ембріотоксичних властивостей КЦР, а також імунопатологічних реакцій після її введення [1, 3]. При парентеральному введенні КЦР виявлено її вплив на зростання і дозрівання тварин, стан шкіри і її трофіки, насінників, яєчників, і репродуктивну функцію. Досліджено вплив на ендокринні органи і органи імунітету, дихальну систему, опорно-руховий апарат, мікроциркуляцію, гемодинаміку, обмін ліпідів, епілептичну активність головного мозку, перебіг променевої хвороби [5; 8].

В ході досліджень було доведено неоднозначність ефекту КЦР в різні вікові періоди. Доведено «омолоджуючий» ефект на органи дихання, селезінку, наднирники, тімус, периферичні лімфовузли [6]. Особливий інтерес представляє вивчення впливу парентерального введення КЦР на судинні сплетення шлуночків головного мозку, що представляють собою морфологічний субстрат, відповідальний за продукцію 70-80% ендогенного ликвору.

Раніше нами було встановлено, що парентеральне введення ксеногенного ликвору впливає на морфогенез судинних сплетень шлуночків головного мозку щурів статевозрілого і передстаречого віку [2, 4]. Ми поставили собі за мету

вивчити вплив КЦР на ультраструктурну будову судинних сплетень шлуночків головного мозку новонароджених щурів при парентеральному введенні.

**Матеріал і методи дослідження.** Експеримент проведено на 20 білих щурах лінії Вістар періоду новонародженості (перша доба після народження, середня маса - 6-8 г). Тварини розподілені на дві рівні серії по 10 особин у кожній: 1 – контрольну (введення фізіологічного розчину), 2 – експериментальну (введення КЦР). В обох серіях препарати вводили десятикратно з розрахунку 2 мл / кг маси тварини один раз в 3 дні. Підбір дози і кратності введення КЦР ґрунтується на численних експериментальних даних Кримської лікворологічної школи анатомів [7].

Тварин утримували в стандартних умовах віварію при постійній температурі і вологості повітря з вільним доступом до води та їжі. Виведення з досвіду проводили на 7-у і 30 добу (по 5 особин на кожен термін) шляхом декапітації тварин під ефірним наркозом.

Дослідження проводилися відповідно до Женевської конвенції International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals [9].

З досліджуваної частини органу вирізали шматочки розміром близько 1 мм<sup>3</sup> і поміщали їх в фіксуючий 2,5% розчин глутарового альдегіду на 0,1 М фосфатному буфері з рН 7,2-7,4. Фіксацію проводили протягом 12 годин при температурі -4° С, після чого матеріал промивали в 0,1 М фосфатному буфері 3 рази по 10, 20, 30 хвилин і дофіксували протягом однієї години 1% розчином Тетраоксид осмію на 0,1% фосфатному буфері 1,5-2 години. Шматочки заливали в капсули сумішшю епоксидних смол. З отриманих капсул на ультрамікромомі ULTRACUT виготовляли ультратонкі зрізи з наступним

забарвленням ураніацетатом і цитратом свинцю. Зрізи пелюдали і фотографували на трансмісивному мікроскопі РЕМ106.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Незалежно від терміну експерименту основну увагу при проведенні електронно-мікроскопічного дослідження приділяли головній функціональній одиниці судинного сплетення – епітеліоциту, а також ультраструктурним особливостям його взаємодії з судинами мікроциркуляторного русла (переважно гемокапілярами). В цілому досліджувані структурні компоненти судинного сплетення зберігали свою типову будову. У першій групі дослідження до 7-го дня відзначалася наступна картина.

У центрі ворсинки знаходиться гемокапіляр, вистелений ендотеліальними клітинами. В просвіті виявляються еритроцити. Гемокапіляр оточують пухко розташовані фрагменти колагенових волокон, які утворюють базальну мембрану. За ультрамікроскопічними даними капіляри відносяться переважно до фенестрового типу. Зовні на базальній мембрані розташовуються епітеліоцити кубічної і / або циліндричної форми з щільними міжклітинними контактами. На базальній поверхні клітин утворюються хаотично розташовані випинання цитоплазми і десмосоми помірної електронної щільності, що формують так званий базальний лабіринт. На апікальній мембрані епітеліоцита знаходяться нерівномірно розташовані множинні мікроворсинки і поодинокі її помірної електронної щільності, що мають різний кут нахилу і різну висоту, що є характерною особливістю для цієї групи дослідження. Ядра епендімоцитів судинних сплетінь частіше еліпсоїдної форми і займають центральну частину клітини. У епендімоцитів, розташованих в області верхівок ворсинок, локалізація ядер центрально-базальна або базальна. Більш витягнуті, які мають полігональну форму ядра визначаються у епендімоцитів на основі ворсинок з незначними випинаннями каріолеми. По периферії каріолеми знаходиться переривчасто конденсований електронно-щільний гетерохроматин; в каріоплазмі дифузно розташовується у вигляді дрібних грудочок електронно-щільний еухроматин, серед якого відзначається овальної форми ядерце також з високою електронною щільністю. В апікальній частині цитоплазми епендімоцита виявляються множинні дрібні електронно-щільні (осміофільні) гранули – рибосоми, які вільно лежать у вигляді вогнищевих скупчень, що локалізуються між мітохондріями та секреторними гранулами, а також, поодинокі лізосоми. Утворення гранул в клітинах епендими вказує на те, що клітина знаходиться в процесі підготовки до секреції цереброспінальної рідини.

У експериментальних щурів другої групи на 7-му добу ультраструктурна картина судинного сплетення в цілому відповідала першій. У центрі ворсинки знаходиться гемокапіляр, оточений пухко розташованими фрагментами колагенових волокон, які утворюють базальну мембрану. Епендімоцити мають уплощену форму. На апікальній мембрані епендімоцита знаходяться нерівномірно розташовані множинні мікроворсинки і поодинокі її помірної електронної щільності, що мають різний кут нахилу і різну висоту. В апікальній частині цитоплазми епендімоцитів виявляються множинні дрібні електронно-щільні (осміофільні) гранули – рибосоми, які вільно лежать у вигляді вогнищевих скупчень, що локалізуються між мітохондріями та секреторними гранулами, поодинокі лізосоми. Утворення гранул в клітинах епендими вказує на те, що клітина знаходиться в процесі підготовки до секреції спинномозкової рідини. На активність клітини вказують і множинні мітохондрії з чіткою візуалізацією крист. Ядра епендімоцитів судинних сплетінь частіше еліпсоїдної форми і займають центральну частину клітини. У епендімоцитів, розташованих в місці верхівок ворсинок, локалізація ядер

центрально-базальна або базальна. Більш витягнуті, мають полігональну форму, ядра визначаються у епендімоцитів на основі ворсинок з незначними випинаннями каріолеми. По периферії каріолеми знаходиться переривчасто конденсований електронно-щільний гетерохроматин; в каріоплазмі дифузно розташовується у вигляді дрібних грудочок електронно-щільний еухроматин, серед якого відзначається овальної форми ядерце також з високою електронною щільністю. У перинуклеарній зоні розташовується пластинчастий комплекс Гольджі, сформований мембранами, що лежать паралельно. На каналцях ендоплазматичної мережі розташовуються рибосоми. У капілярах судинного сплетення ендотеліоцити вистилають внутрішню поверхню. Цитоплазма ендотеліоцитів має більш високу електронну щільність, в якій присутня невелика кількість органел. Мітохондрії ендотеліоцитів середньої електронної щільності з паралельними кристами; цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулума незначно розширені, на їх мембранах практично відсутні рибосоми. Комплекс Гольджі редукований і представлений безладно орієнтованими гладкими мембранами, що лежать окремо. Ядро ендотеліоцита овальної форми з наявністю інвагінацій і конденсацією електроннощільним кільцем гетерохроматина по периферії. Цитоплазматична мембрана, звернена до току крові, утворює дрібні парусоподібні вирости. У цитоплазмі відростків ендотеліоцита знаходиться невелика кількість мікропіноцитозних бульбашок, заповнених електронно-прозорою субстанцією. На 30-ту добу дослідження при електронно-мікроскопічному дослідженні спостерігається підвищення функціональної активності епендімоцитів у 2-й групі експерименту в порівнянні з 1-й. Вони мають циліндричну форму з великою кількістю органел. При цьому ядра займають базально-центральні відділи клітин, збільшуються в розмірах і набувають численні інвагінації каріолеми в порівнянні з попереднім терміном дослідження. Конденсація електронно-щільного гетерохроматина спостерігається більше поблизу каріолеми. Центральна каріоплазма стає розцяцькованою з вогнищами слабкої електронної щільності. На апікальній поверхні епендімоцитів визначаються секреторні маси і нерівномірно розташовані мікроворсинки і збільшена кількість війок різних розмірів, що відходять від базальних тілець. Форма мікроворсинок і вій більш різноманітна: пальцевидна, булавоподібна, роздвоєна. Слід відзначити збільшення в другій групі кількості секреторних гранул з різною електронною щільністю, які розташовуються не тільки на апікальній частині клітини, але і уздовж бічної частини цитоплазми. Мітохондрії різних розмірів, овальної форми з осередковою гомогенізацією крист. Відзначається набухання цистерн комплекс Гольджі, що локалізується в перинуклеарній зоні. Канальці гранулярної ендоплазматичної мережі містять невелику кількість рибосом. Кількість вільно розташованих дрібних осміофільних рибосом в апікальній частині клітини зменшується. Десмосомальні міжклітинні контакти більш щільні в порівнянні з попереднім терміном дослідження. Також ущільнюється і базальний лабіринт, за допомогою якого хороїдний епендімоцит щільно контактує з базальною мембраною капіляра. Ендотеліоцити капілярів збільшені, мають овальну форму з широкими периферичними відростками, великі еухромні ядра з ядерцями і глибокими інвагінаціями каріолеми, електронно-прозорий цитоплазматичний матрикс з численними піноцитозними везикулами, вільними рибосомами, полісомами, дрібними мітохондріями, профілями гранулярної цитоплазматичної мережі і апарату Гольджі. Незважаючи на існуючі дотепер розбіжності, більшістю дослідників визнано, що цереброспінальна рідина є результатом секреторної діяльності судинних сплетінь. Виробляється рідина постійно і циркулює в шлуночках головного мозку, субарахноїдальному просторі мозкових

структур, лікворопровідних шляхах. При цьому основною функцією ліквору є захист головного і спинного мозку від механічних і гравітаційних впливів, забезпечення підтримки стабільного внутрішньочерепного тиску і водно-електролітної рівноваги, а також участь в трофічних і обмінних процесах між кров'ю і мозком. Порушення секреції і відтоку ліквору, особливо у внутрішньоутробному і післяпологовому періодах, призводить до різноманітних порушень, добре відомим в неврологічній практиці. Введення КЦР призводить до зростання функціональної активності судинних сплетінь, в першу

чергу епітеліоцитів, що виявляється посиленням секреції цереброспинальної рідини і активацією ультраструктур ендотеліоцитів, і очікувано призведе до гальмування вікової інволюції органу, що проявляється потовщенням строми за рахунок огрубіння волокон і збільшення їх кількості. **Висновок.** В цілому виявлені структурні зміни у щурів періоду новонародженості свідчать про стимулюючий ефект парентерального введення КЦР на секреторну активність судинних сплетінь протягом усього терміну експерименту.

#### Литература:

1. Бессалова Е.Ю. Регуляторные эффекты ксеногенной цереброспинальной жидкости // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16. № 1-2. – С. 15-19.
2. Верченко И.А. Возрастная анатомия сосудистого компонента сплетений желудочков головного мозга / / И.А. Верченко, Н.А. Новосельская, Н.В. Кирсанова [и др.] // Евразийское Научное Объединение. – 2018. – № 7-1 (41). – С. 45-47.
3. Гасанова И.Х. Цитоморфометрия эпителиоцитов хороидных сплетений головного мозга белых крыс при парентеральном введении ксеногенного ликвора / И.Х. Гасанова, Э.А. Гафарова, Н.В. Кирсанова // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2015. – Т. 5, № 1 (17). – С. 14-17.
4. Гасанова И.Х. Инволютивные изменения сосудистых сплетений желудочков головного мозга / И.Х. Гасанова, В.Н. Куница, Э.А. Гафарова [и др.] // Морфология. – 2020. – Т. 157, № 2-3. – С. 56.
5. Девятова Н.В. Ультраструктурные изменения слепой кишки после облучения и воздействия цереброспинальной жидкости // Морфологические науки и клиническая медицина: мат. Всеросс. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посв. 100-летию со дня рождения доц. Бриллиантовой А.Н. – Чебоксары, 2015. – С. 62-65.
6. Кривенцов М.А. Динамика прироста массы крыс при парентеральном введении спинномозговой жидкости Украинский журнал экстремальной медицины имени Г. А. Можяева. – 2013. – Т. 14, № 3. – С. 81-85.
7. Кривенцов М.А. Изменение абсолютной и относительной массы тимуса крыс при парентеральном введении спинномозговой жидкости в онтогенетическом аспекте // Український морфологічний альманах. – 2013. – Т. 11, № 2. – С. 55-57.
8. Кривенцов М.А. Пролиферативный потенциал тимуса в постлучевом периоде при введении ксеногенной спинномозговой жидкости // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2016. – Т. 6, № 3. – С. 63-68.
9. Новосельская Н.А. Морфо-функциональная перестройка сосудистого русла нижних конечностей крыс после перерезки спинного мозга / / Н.А. Новосельская, Н.В. Кирсанова, В.Н. Куница [и др.] // Научное обозрение. Международный научно-практический журнал. – 2018. – № 3. – С. 14.
10. Пикалюк В.С. Крымская анатомическая научная школа / В.С. Пикалюк, С.А. Кутя // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2016. – Т. 6, № 3. – С. 205-211.