

обладает противовоспалительным действием, способствует регенерации костной ткани в области дефекта.

Ключевые слова: паста для временного пломбирования корневых каналов, постоянные зубы у детей, эксперимент, крысы.

Стаття надійшла 24.04.2012 р.

operation as well as maximizes the anti-inflammatory treatment and bone regeneration.

Key words: root canal filling material for temporary obturation, rats.

УДК 615.07.9: 616.831:547.963.4

С.А. Крижиа, Ю.Б. Дарьяновская
Национальный фармацевтический университет, м. Харьков

МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПОРФІРИНОПАТІЇ

Вивчено морфологічні зміни різних відділів головного мозку (кори великих півкуль, кори мозочку, середньому мозку) в умовах порушеного порфіринового обміну. Показано, що за даних умов порушується структурно-функціональний стан нейронів різних відділів головного мозку щурів. Нейротоксичний ефект підтверджується не тільки якісними, а й кількісними показниками (індекс альтерації, гліо-нейрональний індекс, перинейрональний сателітний індекс) пошкодження. Дистрофічні зміни нейронів, формування нейродегенеративних процесів за даних умов відбуваються на тлі мікроциркуляторних змін всіх зон мозку, і пов'язані з периваскулярним набряком та гіпоксією, що призводить до порушення трофіки нейронів. За морфологічними змінами кора великих півкуль є найбільш ушкодженою зоною, а кора мозочка – найменш ушкодженою зоною головного мозку в умовах експериментальної порфірії.

Ключові слова: порфірія, головний мозок, нейрони, морфологія.

Робота виконана у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету на базі ЦНДЛ “Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці (№ держ. реєстр. 010300909418).

Останнім часом гематологами всього світу все частіше піднімається питання щодо порфіриногенної дії багатьох лікарських засобів, які спричиняють порушення синтезу гема та обумовлюють прояви з боку центральної нервової системи [11, 13]. Клінічними ознаками ураження головного мозку, так само як при класичних формах різних видів порфірій, є занепокоєння, дратівливість, енцефалопатія, епілептиформні випадки, геміплегія, інтелектуальні порушення, галюцинації, психози та інші [5, 8]. Але, нажаль, які саме відділи головного мозку найбільш вражаються проміжними продуктами біосинтезу гему, є морфологічно зміненими та обумовлюють вищевказані ознаки, в літературі ми не зустріли. Найбільш прийнятною для експериментального відтворення порушення синтезу гему вважається модель бензолної інтоксикації тварин (як правило щурів) [7, 14].

Метою роботи було дослідження морфологічного стану різних відділів головного мозку в умовах порушеного синтезу гему.

Матеріал і методи дослідження. Використані самці білих нелінійних щурів вагою 160-180 г, які вирощувалися у віварії Національного фармацевтичного університету. Щури були розділені на 2 групи: 1-ша – щури, яким підшкірно вводили оливкове масло в дозі 0,1 мл/ кг маси тіла один раз кожні дві доби (контрольна група). 2-га – щури, яким підшкірно вводили бензол в дозі 0,5 мл/кг маси тіла один раз кожні дві доби. Тварин декапітували через 24 г після 5-ої ін'єкції бензола. Виведення щурів з експерименту проведено під легким наркозом шляхом перерізки сонної артерії на другий день після останнього введення бензолу. Об'єктом дослідження були головний мозок щурів. Після декапітації тварини розкривали черепну коробку і витягували головний мозок. Мозок відмивали від крові холодним фізіологічним розчином і фіксували у 96° етанолі. Потім під мікроскопом відокремлювали кору великих півкуль, мозочок і середній мозок. Досліджено морфологічний стан деяких відділів кінцевого, середнього та заднього мозку щурів у порівнянні з аналогічними частинами головного мозку інтактних тварин. В кінцевому мозку досліджували кору обох півкуль, а також судинні сплетіння. У середньому мозку досліджували деякі ядра. У задньому мозку досліджували кору мозочка. Весь тканинний матеріал заливали у целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксилином та еозином. Для визначення функціональної активності нейронів зрізи головного мозку додатково фарбували тіоніном по методиці Ніссля [1]. У якості морфологічних критеріїв оцінки нейротоксичної дії окрім якісного аналізу стану структурних елементів тканин різних областей головного мозку використовували і кількісні показники [2]. У СМК у 3-5-тому шарі підраховували кількість нормальних нейронів та нейронів з змінами різного типу: гіпер – та гіпохромні, різної виразності хроматолізація, набряк, вакуолізація, зміни у стані ядер та нейроплазми, тощо; визначали індекс альтерації (співвідношення нейронів з змінами до інтактних клітин), гліо-нейрональний індекс (співвідношення числа гліальних елементів та нейронів), перинейрональний сателітний індекс (кількість сателітної глії на 1 нейрон). У корі мозочку у 2-му шарі підраховували кількість нормальних та пошкоджених клітин Пуркін'є, визначали індекс альтерації. За допомогою окуляр-мікрометра вимірювали в умовних

одиницях товщину 3-го шару. Всі показники визначали у полі зору мікроскопу у 5-ти повтореннях [3]. Статистичний аналіз проводився з використанням статистичної програми Past, version 1.34. Достовірність відмінностей між групами даних розраховували з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента [6]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon View 5.

Результати дослідження та їх обговорення. На першому етапі проведено дослідження морфологічного стану кінцевого мозку щурів за умов експериментального порушення порфіринового обміну, у порівнянні з аналогічними частинами головного мозку інтактних тварин. Кора мозку – нервовий центр, діяльність якого забезпечує регуляцію різноманітних функцій організму та складні форми поведінки, куди поступають сигнали від усіх головних сенсорних утворень. Після порушення порфіринового обміну спостерігали певні морфологічні порушення. Так, кровоносні судини м'якої мозкової оболонки сенсомоторної кори (СМК) місцями були більш повнокровними, в них видно застій крові. У мозковій тканині лапідарність (чіткість) та вертикальне упорядкування шарів нейронів в цілому зберігалось. Простежувався периваскулярний (навколо капілярів) та перицелюлярний (більш виразний у зонах поблизу капілярів) набряк. Частина капілярів знаходилася у стані спазму. Цілісність окремих судинних стінок було порушено, про що свідчать діapedезні мікрогеморагії поблизу судини (рис. 1).

Збільшилась чисельність нейронів з ознаками пошкодження – від різного ступеню дистрофії до незворотних змін (таблиця 1). Чисельність нормальних нейронів зменшилася на 17,17%. У дистрофічно змінених нейронах спостерігався різної виразності хроматоліз (лізис тигроїду), вакуолізація нейроплазми. Деякі клітини містили пікноморфні ядра, виразно гіперхромні, у деяких, навпаки, виразно знижено вміст тигроїду у нейроплазмі. Все це є ознаками виснаження функціональної активності [4]. У необоротно пошкоджених нейронах клітинне тіло частково або повністю було розплавлено, ядро лізовано чи пікнотично, іноді лише блідо пофарбовані залишки нейроплазми – клітини-тіні. Спостерігали проникнення гліальних елементів у критично змінену клітину – нейронофагія (рис. 2, рис. 3). Як наслідок, у 3,46 рази зростав індекс альтерації. Окрім різних морфологічних змін у стані нейронів місцями спостерігали збільшення гомотипового (нейрон-нейрон) попарного розташування клітин, що є непрямою ознакою гіпоксії [9, 12]. При гетеротиповому (нейрон-глія) розташуванні клітин нерідко збільшувалась кількість клітин глії, що оточували один нейрон. Відповідно перинейрональний сателітний індекс збільшився у 2,34 рази. Втім, треба відмітити, що наявність самих нейронів, оточених гліальними елементами, зменшувалася. Посилення сателітозу та збільшення перинейронального сателітного індексу відбиває високий рівень напруги нейронів, при якій виникає потужна втрата їх пластичних та біоенергетичних запасів. Поповнення останніх здійснюється за рахунок та через контакти з гліальними клітинами-сателітами. Якщо при цьому збільшуються і ознаки нейронофагії – це вже є свідомством виснаження нейронів, загибелі їх [4, 10]. Ознак гліозу не виявлено не було, гліо-нейрональний індекс вірогідно не змінювався (таблиця 1).

У відростках судинного сплетіння бокового шлуночка (утворення, що створилися у місцях проникнення м'якої мозкової оболонки у порожнину мозкових шлуночків та приймають участь у секреції та обміну цереброспінальної рідини) в умовах порушеного порфіринового обміну звивисті кровоносні капіляри були виразно розширені та повнокровні, епітелій, що вистеляє вільну поверхню ворсинок відростків ставав від низького кубічного до дещо сплющеного.

Таблиця 1

Морфометричний аналіз стану СМК великих півкуль щурів в умовах порушеного порфіринового обміну

Група тварин	Показники				
	Індекс альтерації	Гліо-нейрональний індекс	Перинейрональний індекс	Нормальні нейрони	Пошкоджені нейрони
Контрольна	0,0349±0,003	0,610±0,16	1,504±0,036	78,76±1,140	2,64±0,117
Дослідна	0,121±0,002*	0,776±0,020	3,488±0,107*	65,234±0,591*	7,92±0,102*

Примітка: * – вірогідно стосовно контролю.

Таблиця 2

Морфометричний аналіз стану кори мозочка щурів в умовах порушеного порфіринового обміну

Група тварин	Показники			
	Індекс альтерації	Товщина зернистого шару (у.о)	Нормальні клітини Пуркіньє	Пошкоджені клітини Пуркіньє
Контрольна	0,0317±0,04	21,6±0,283	22,480±0,174*	0,72±0,08
Дослідна	0,0411±0,003	21,16±0,417	17,12±0,350	0,76±0,04

Примітка: * – вірогідно стосовно контролю.

У задньому мозку досліджено кору мозочка, який є центром рівноваги, підтримки м'язового тону, координації руху, контролю складних актів, що автоматично виконуються. Зміни, що спостерігали у корі мозочка експериментальних щурів (таблиця 2), в певній мірі повторюють картину змін у неокортексу. Кровоносні судини м'якої мозкової оболонки місцями були повнокровними, сама оболонка часто розширена. У деяких щурів під м'якою мозковою оболонкою у молекулярному шарі видні дрібні поодинокі крововиливи (рис. 4). У гангліонарному шарі (як на відкритій поверхні звивини, так і у глибині борозни) чітко було видно

зменшення вмісту клітин Пуркіньє (рис. 5). При цьому серед залишених клітин збільшувалась кількість клітин з ознаками дистрофічного характеру (в основному гіперхроматоз, різної виразності хроматоліз), виявлені деструктивно змінені клітини (рис.6, 7). На погляд сам гангліонарний шар дещо розпушений.

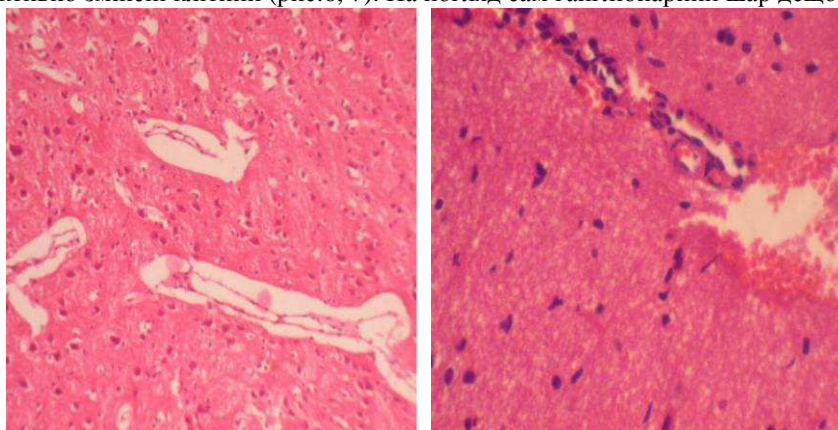


Рис. 1. СМК великої півкулі головного мозку щура при експериментальній порфірінопації: а – периваскулярний та перичелюлярний набряк (x200) б – діapedезний крововилив біля судини (x250). Заб. г.- е.

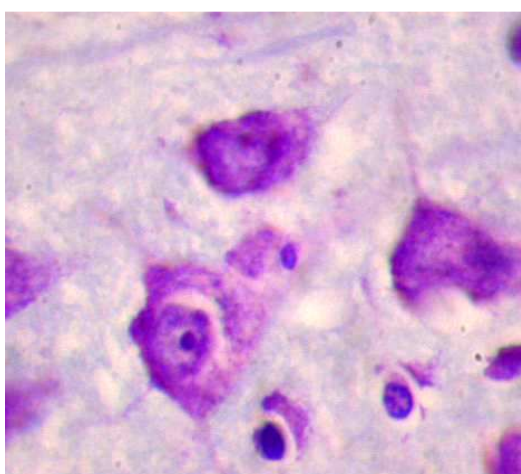


Рис. 2. СМК великої півкулі головного мозку щура при експериментальній порфірінопації. Хроматоліз приядерний. Зб.: x250. Заб.: тіонин за Нісслем.

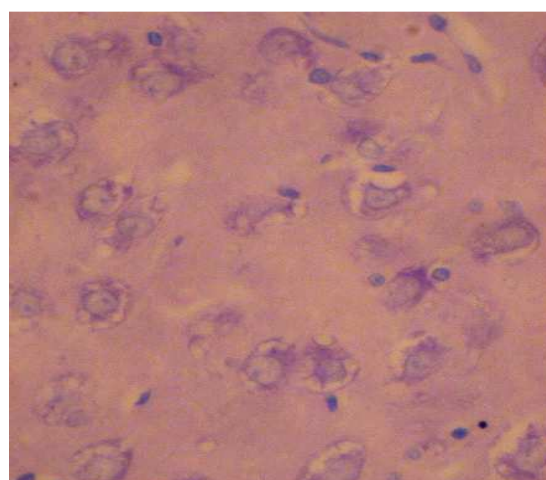


Рис. 3. СМК великої півкулі головного мозку щура при експериментальній порфірінопації: вакуолізація нейроплазми нейронів нейрофагія Зб.: x200. Заб.: тіонин за Нісслем.

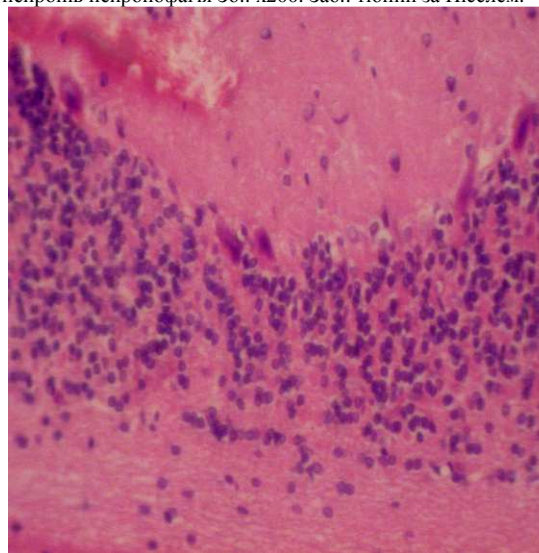
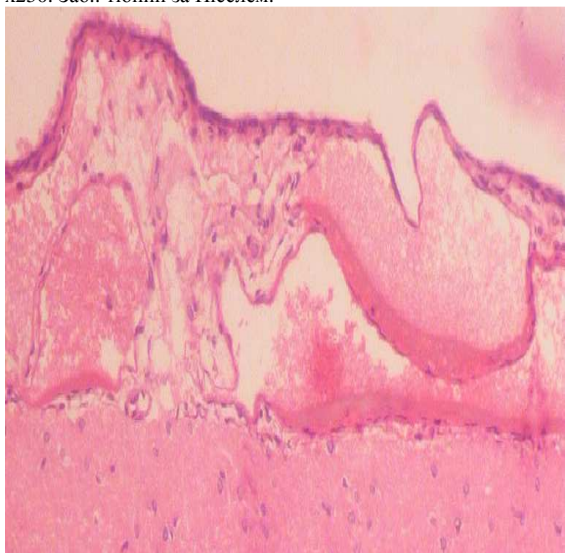


Рис. 4. Кора мозочка щура при експериментальній порфірінопації: розширені, повнокровні судини м'якої мозкової оболонки (а - x200), дрібний крововилив у молекулярному шарі (б - x250). Заб.: г.-е.

Результати морфометрії показали, що кількість клітин Пуркіньє зменшилася на 23,84% порівняно з інтактними щурами. В той же час частина клітин зі зміненими морфологічними характеристиками вірогідно не збільшилася, можливо, за рахунок потужної руйнації пошкоджених клітин і, як наслідок, зниження їх загальної кількості у тканині. Відповідно не змінювалися і індекс альтерації і товщина зернистого шару. У середньому мозку досліджували деякі ядра (на рівні середнього мозку розташовано цілий ряд утворень, що приймають участь у організації складних координуваних реакцій, які виникають у відповідь на зовнішній вплив: світловий

або звуковий). Стан нейронів у різних ядрах середнього мозку у дослідних тварин був неоднозначним. У одних ядрах стан нейронів практично не змінювався, у інших виявлені нейрони з ознаками дистрофії та деструкції, збільшився перичелюлярний набряк (рис. 7).

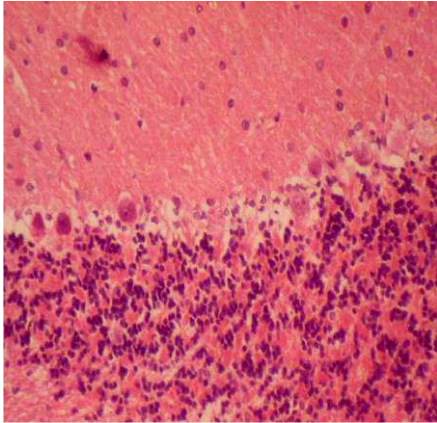


Рис. 5. Кора мозочка щура експериментальної порфіринопатії. Зменшення вмісту клітин Пуркінє на відкритій поверхні звивини. Заб.: г.- е. Зб.: x200.

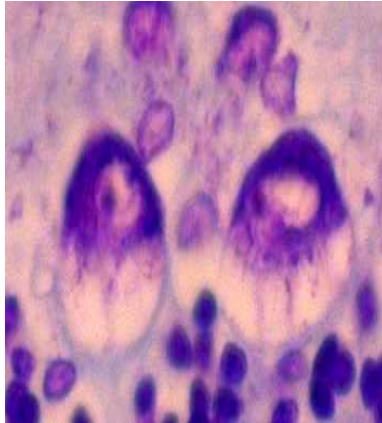


Рис. 6. Кора мозочка щура при експериментальній порфіринопатії: виразний хромоліз клітин Пуркінє. Заб.: тіонин за Нісслем. Зб.: x400.

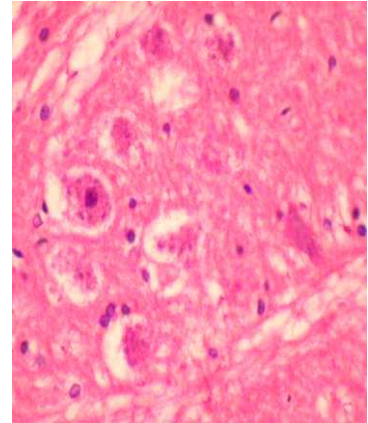


Рис. 7. Середній мозок щура при експериментальній порфіринопатії. Нейрони різних ядер: деструкція клітин. Заб.: г.- е. Зб.: x250.

Отримані дані корелюють з попередньо отриманими нами даними про те, що в умовах експериментально порушеного порфіринового обміну різні відділи головного мозку по різному страждають від порушеного метаболізму гему, що і обумовлює складну неврологічну симптоматику порфірій. Так, саме кора (СМК), що накопичує внаслідок підвищеної проникливості гематоенцефалічного бар'єру АЛК та ПБГ, має максимально виражені морфологічні пошкодження. І навпроти, кора мозочку є менш пошкодженою структурою за даних умов, що підтверджується експериментальними попередніми даними стосовно активності ферментів метаболізму гему. Таке явище можна пояснити, тим, що мозочок є більш еволюційно древньою структурою мозку, і його глибоке пошкодження приведе до загибелі організму.

Висновки

1. Експериментальне порушення порфіринового обміну викликає нейротоксичний ефект, що характеризується подібними (але різного ступеню) порушеннями структурно-функціонального стану нейронів різних відділів головного мозку щурів, що підтверджується не тільки якісними, а й кількісними показниками (індекс альтерації, гліо-нейрональний індекс, перинейрональний сателітний індекс).
2. Дистрофічні зміни нейронів, формування нейродегенеративних процесів в умовах експериментального порушення порфіринового обміну, відбуваються на тлі мікроциркуляторних змін, і можуть бути пов'язані з периваскулярним набряком, який призводить до порушення трофіки нейронів, внаслідок зниження надходження поживних речовин у клітини.
3. Кора мозочка є найменш ушкодженою зоною серед різних відділів головного мозку за умов експериментальної порфірії.
4. Експериментальна порфірія викликає в центральній нервовій системі процеси гіпоксії та запалення в різних відділах головного мозку.

Перспективи подальших розробок в даному напрямку. Подальше вивчення особливостей пошкодження різних відділів мозку та клінічного перебігу експериментальної порфірії допоможе більш глибоко розкрити механізми даної патології, і як наслідок, проводити відповідну терапію.

Література

1. Бонашевская Т. И., Беляева Н.Н., Кумпан Н.Б., Панасик Л.В. Морфофункциональные исследования в гигиене. М.: Медицина, 1984. – 190с.
2. Войно-Ясенецкий М. В., Жаботинский Ю.М. Источники ошибок при морфологических исследованиях. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1970. – 320с.
3. Гордиенко Ж. П., Ситенко Л. Н. Морфологическая характеристика головного мозга крыс при различных режимах воздействия физических факторов //Медико-техническое обеспечение учебно-научного процесса в морфологии. Тез. докладов обл. научной конференции. – М.: Медицина, 1983. – С.15-17.
4. Гуляев С.М., Убашев И.О., Кожевникова Н.М. Морфологическая оценка церебропротекторного действия лантана ацетата при хронической ишемии головного мозга у крыс // Морфология.– 2007.–Т.132,№4. – С.24-27.
5. Крижна С.І. Проникливість гематоенцефалічного бар'єру в умовах хронічної інтоксикації бензолом. Медицина сьогодні і завтра. - 2000. – Т. 72, № 2. – С.77-81.
6. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н.Лапач, А.В.Чубенко, П.Н.Бабич. – К.: «Морион», 2000. – 320с.
7. Музыка В.И., Боговский Л.А. Изучение взаимосвязи Δ-аминолевулиновой кислоты с белками миеллина головного мозга при действии бензола и свинца на организм // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1985.- Т.100. -№ 10. – С.447 – 449.

8. Сафаров М.И. Влияние паров бензола низкой концентрации на обмен γ -аминоасляной кислоты в митохондриальных фракциях мозга // Укр. біохім. журн. - 2000. - Т. 72, № 2. - С.77-81
9. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: Руководство/АМН СССР; Л.И. Аруин, А. Г, Бабаев, В. Б. Гельфанд и др. - М.: Медицина, 1987. - 448с.
10. Adhikari A, Penatti C.A, Resende R.R, Ulrich H, Britto L.R, Bechara E.J. 5-Aminolevulinic acid and 4, 5-dioxovalerate ions decrease GABA(A) receptor density in neuronal cells, synaptosomes and rat brain // Brain Res. - 2006. - Vol.1093, N 1. - P. 95-104.
11. Bonkovsky H.L. Neurovisceral porphyrias: what a hematologist needs to know // Hematology Am Soc Hematol Educ Program. - 2005. - P.24-30.
12. Demasi M, Penatti C.A, DeLucia R, Bechara E.J. The prooxidant effect of 5-aminolevulinic acid in the brain tissue of rats: implications in neuropsychiatric manifestations in porphyrias // Free Radic Biol Med. - 1996. - Vol. 20, N 3. - P. 291-299.
13. De Matters F., Ray D. E. Studies on Cerebellar Haem Metabolism in the Rat In Vivo // Journal of Neurochemistry. - 1982. - Vol. 39, N 2. - P. 551-556.
14. Princ F.G, Maxit A.G, Cardalda C, Batlle A, Juknat A.A. In vivo protection by melatonin against delta-aminolevulinic acid-induced oxidative damage and its antioxidant effect on the activity of haem enzymes // J Pineal Res. - 1998. - Vol. 24, N 1. - P.1-8.

Реферати

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОРФИРИНОПАТИИ

Крыжняя С.И., Ларьяновская Ю.Б.

Изучены морфологические изменения различных отделов головного мозга (коры больших полушарий, коры мозжечка, среднего мозга) в условиях нарушенного порфиринового обмена. Показано, что при данных условиях нарушается структурно-функциональное состояние нейронов различных отделов головного мозга крыс. Нейротоксический эффект подтверждается не только качественными, но и количественными показателями (индекс альтерации, глио-нейрональный индекс, перинейрональный сателлитный индекс) повреждения. Дистрофические изменения нейронов, формирование нейронадегенеративных процессов при данных условиях происходят на фоне микроциркуляторных изменений всех зон мозга, и связаны с периваскулярным отеком и гипоксией, что приводит к нарушению трофики нейронов. По морфологическим изменениям кора больших полушарий является наиболее поврежденной зоной, а кора мозжечка - наименее поврежденной зоной головного мозга в условиях экспериментальной порфирии.

Ключевые слова: порфирия, головной мозг, нейроны, морфология.

Стаття надійшла 15.04.2012 р.

MORPHOLOGICAL STUDY OF RAT'S BRAIN DUE TO EXPERIMENTAL PORPHYRINOPATHY

Kryzhnaya S.I., Laryanovskaya J.B.

There are shown the results of changed morphological parameters in the different brain regions (cerebral cortex, cerebellar cortex, midbrain) due to disturbed porphyrine metabolism. It is shown that under these conditions there are structural and functional changes of neurons in the different brain regions of rats. Neurotoxic effect is provided not only qualitative but also quantitative indices (index of alteration, glio-neuronal index, perineuronal satellite index) damage. Degenerative changes of neurons, forming neuron degenerative processes due to such conditions occur in the context of microcirculatory changes in all areas of the brain and are associated with perivascular edema and hypoxia, which leads to disruption of neuronal trophism. The morphological changes of the cerebral cortex are the most damaged zone and the cerebellar cortex - the least damaged area of the brain due to experimental porphyria.

Key words: porphyria, brain, neurons, morphology.

УДК 504.054:611.061.2:616.716.4:615.036:616-092.9

Ляхтин Ю.В.

Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків

ЗМІНИ ОПТИЧНОЇ ЩІЛЬНОСТІ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ВІДРОСТКА ЩЕЛЕП ЩУРІВ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЯ НА ТЛІ ДІЇ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Проведені дослідження оптичної щільності альвеолярного відростка щелеп щурів на тлі дії солей важких металів. Було встановлено зниження мінеральної щільності кістки під впливом важких металів. Призначення альфа-ліпоевої кислоти сприяло зменшенню негативної дії важких металів на кістку і її ущільненню.

Ключові слова: альвеолярний відросток, щелепи, солі важких металів, альфа-ліпоева кислота.

Робота виконана в рамках НДР кафедри стоматології та терапевтичної стоматології «Клінічний перебіг основних стоматологічних захворювань з урахуванням соматичної патології в умовах екологічно-небезпечних факторів довкілля. Розробка схем профілактики, лікування та реабілітації хворих з використанням вітчизняних матеріалів», номер держреєстрації 0110U002440.

Погіршення екологічної ситуації в світі зумовило проведення низки досліджень з вивчення впливу на організм людини несприятливих факторів навколишнього середовища, серед яких особлива увага приділяється солям важких металів (СВМ). Вітчизняні дослідники вивчали вплив СВМ на виникнення стоматологічної патології [1, 3, 4]. Аналіз робіт свідчить, що на забруднених важкими металами територіях зростає поширеність захворювань пародонту. А однією з складових тканин пародонту є кісткова тканина альвеолярного відростка