

С.І. Савосько¹, Ю.Б. Чайковський¹, О.М. Макаренко²
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, ²ІНЦ “Інститут біології”, м. Київ

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ В КОРИ ВЕЛИКОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОМУ ІНСУЛЬТІ

У роботі описана нова модель гострого інсульту, яка полягає у відтворенні хронічної оклюзії однієї загальної сонної артерії і через 10 днів моделювання інтрацеребральної гематоми в області внутрішньої капсули відповідної півкулі головного мозку щурів. Порівняльний аналіз нової моделі з раніше розробленою моделлю гострого геморагічного інсульту показав перевагу першої відносно патогенезу гострої недостатності мозкового кровообігу. Морфологічний і ультраструктурний аналіз кори великих півкуль головного мозку показали значні порушення у вигляді набряку і деструкції клітинних елементів тканини мозку.

Ключові слова: модель інсульту, набряк мозку, ішемія, ультраструктура.

Найбільш поширеним судинним захворюванням мозку є інсульт, що посідає третє місце серед причин смерті в розвинутих країнах і друге в Україні [2,3,4]. Протягом останнього десятиліття відмічено прогресування цереброваскулярних захворювань у осіб молодого та середнього віку. В сучасній неврології, особливо нейрофармакології підвищений інтерес до вивчення впливу факторів, що визначають наслідки інсульту та чинників, що впливають на ефективність лікування, зменшення ступеня інвалідизації та смертності. Висока смертність серед хворих, особливо при геморагічному інсульті, обумовлює актуальність дослідження структурних змін в клітинах мозку при інсульті та розробки його експериментальних моделей з метою дослідження нових протиінсультних лікарських засобів [6].

Метою роботи було вивчення ультраструктурних змін кори великого мозку щурів при гострому інсульті.

Матеріал та методи дослідження. Експериментальне дослідження проведено на 50 щурах-самках (середня маса $203,1 \pm 7,5$ г), що були розділені на дві великі групи (в залежності від типу інсульту, що відтворювався). В дослідженні використано дві розроблені нами авторські моделі інсульту. Перша з них (модель гострого геморагічного інсульту) полягала у відтворенні локальної посттравматичної гематоми в ділянці внутрішньої капсули (capsula interna) правої півкулі головного мозку щурів.

Моделювання інтрацеребральної гематоми аутокров'ю у наркотизованих тварин (1% розчин тіопентал-натрію, 60 мг/кг, внутрішньочервно) здійснювали шляхом механічного руйнування внутрішньої капсули (capsula internadextra, L=3,5-4,0; H=6,0; AP=0,6-1,0) [Paxinos G., 2008]. В ділянці внутрішньої капсули за допомогою стереотаксичного приладу введено підготовлений мандрен-ніж, а безпосередній процес моделювання здійснювався 4-6 обертовими рухами відхиленого мандрена-ножа і наступним введенням в зону деструкції 0,15-0,2 млаутокрові тварин. Після проведення оперативного втручання і комплексу послідовних інсультомодуючих маніпуляцій рану в ділянці черепа зашивали наглухо поліамідними нитками 2 USP (Олімп, Україна), обробляли 5% спиртовим розчином йоду [5].

Спосіб моделювання повторного інсульту виконували шляхом послідовної реалізації декількох операцій. Перший етап включав проведення перев'язки правої загальної сонної артерії щура (a. carotis communis dextra). Для цього тварин наркотизували (1% розчин тіопентал-натрію, 60 мг/кг, внутрішньочервно), потім щурам в положенні “на спині” в ділянці середньої частини шиї здійснювали надріз довжиною 1,5-2 см. Відділивши підшкірно-жирову тканину та м'язи, здійснювали доступ до правої загальної сонної артерії і підводили під неї дві лігатури. Остаточну перев'язку загальної сонної артерії проводили на рівні 18-20 мм до її біфуркації на зовнішню та внутрішню гілки, використовуючи шовкові нитки 6/0 (Ethicon Ltd., Edinburgh, UK). Рану наглухо зашивали поліамідними нитками 2 USP (Олімп, Україна), а ділянку розрізу і найближчі до неї ділянки шкіри обробляли 5% спиртовим розчином йоду.

Другий (відтермінований) етап моделювання повторного інсульту полягав у відтворенні локальної гематоми в ділянці внутрішньої капсули правої півкулі головного мозку щурів. Через 10 днів після відтворення оклюзії правої загальної сонної артерії тварин наркотизували (1% розчин тіопентал-натрію, 60 мг/кг, внутрішньочервно). Моделювання гематоми здійснювали як наведено вище. Після завершення проведення оперативного втручання рану в ділянці мозкового черепа зашивали наглухо поліамідними нитками 2 USP (Олімп, Україна) і обробляли 5% спиртовим розчином йоду.

Через 10 днів після моделювання локального гострого геморагічного інсульту (в ділянці С.I. dextra) та через 10 днів після моделювання повторного інсульту (тобто відповідно через 20 днів після оклюзії правої загальної сонної артерії) у дослідних щурів проведено забір ділянок кори великого мозку іпсилатеральної та контралатеральної півкулі на рівні ділянки введення канюлі. Зразки кори великого мозку фіксували в 2,5% розчині глутаральдегіду з наступним фіксуванням в 1% розчині осмієвої кислоти на фосфатному буфері (рН 7,4). Матеріал зневоднювали в спиртах висхідної концентрації і заливали в суміш епоксидних смол епон-аралдит. Із епоксидних блоків виготовляли ультратонкі зрізи на ультратомі Рейхарт (Голландія). Для підвищення контрастності ультратонкі зрізи забарвлювали розчином уранілацитата і цитратом свинцю і досліджували в електронному мікроскопі EM-400T фірми Philips (Голландія) [1].

Результати дослідження та їх обговорення. Під час експерименту здійснювався моніторинг загального стану тварин, їх виживання впродовж експерименту і вплив фармакологічних засобів на ці показники. Летальність після гострого геморагічного інсульту впродовж 10 діб становила 10,0%, а після повторного - 60,0%. У всіх дослідних тварин, яким моделювали геморагічний та повторний інсульт в ділянці внутрішньої капсули була локалізована інтрацеребральна гематома (рис. 1).

При ультраструктурному дослідженні кори великого мозку щурів після моделювання геморагічного інсульту встановлено порушення ультраструктурної організації міжнейрональних контактів (синапсів) та нейритів. В неокортексі зустрічали окремі синапси та їх групи, більшість з яких представлена аксондендритичним типом. Дендрити мали характерну форму, проте в них не зустрічалися мікротрубочки, цитоплазма біля активних зон мала електроннощільний матрикс (т.зв. субсинаптична пластинка).

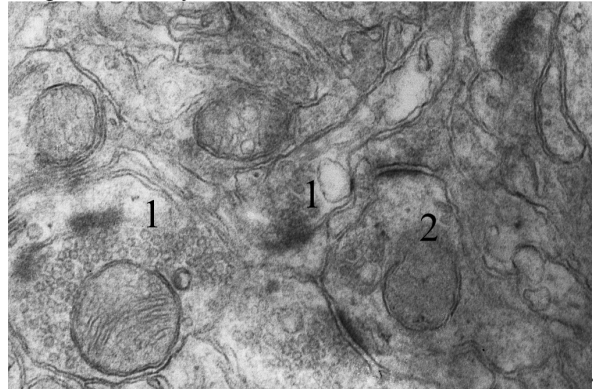
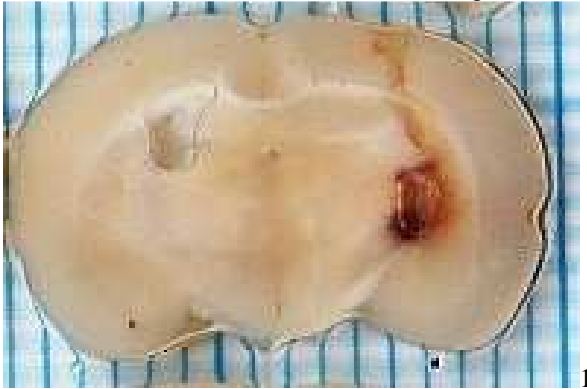


Рис. 1. Фронтальний зріз головного мозку щурів при моделюванні гострого інсульту. В полі зору інтрацеребральна гематома в ділянці внутрішньої капсули. Непофарбований препарат.

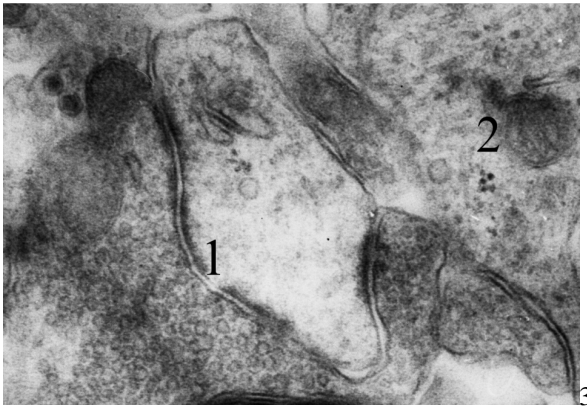


Рис. 2. Ультраструктурні зміни синапсів при геморагічному інсульті. В полі зору чотири синапси. Деструкція мембран активної зони синапсу (1). Деструкція мітохондрії дендриту (2). Електронна мікрофотографія: $\times 90000$.

Рис. 3. Набряк синаптичних закінчень при повторному інсульті. Зменшення активної зони синапсу (1), ушкоджені мітохондрії (2). Електронна мікрофотографія: $\times 90000$.

В аксональних закінченнях реєстрували значну кількість синаптичних везикул, відмічено лише поодинокі мікротрубочки, що свідчить про дезорганізацію цитоскелету нейронів після моделювання геморагічного інсульту. Спостерігали значну кількість синапсів, в яких не реєстрували пре- та постсинаптичну мембрану, а активні зони представлені дисперсним електроннощільним матриксом, що свідчило про деструкцію цих синаптичних утворень (рис. 2). Ширина синаптичної щілини не однакова в межах одного синапсу та між різними синаптичними закінченнями. В дендритах зустрічали ушкоджені мітохондрії, щочасто були позбавлені крист (процес кристолізу), відмічено руйнацію мембран мітохондрій.

Дослідження кори великих півкуль головного мозку при моделюванні повторного інсульту показало, що на фоні деструктивно змінених нейритів зустрічали лише деякі неушкоджені синапси. При цьому відмічено значний набряк цитоплазми нейронів (рис. 3). В постсинаптичних закінченнях реєстрували лише окремі везикули. Більшість синапсів зберігали свою форму, проте елементів цитоскелету в них не спостерігали. Розміри активних зон візуально були меншими, ніж у тварин із первинним геморагічним інсультом. Відмічено ушкоджені мітохондрії з ознаками кристолізу. На поперечно зрізаних окремих апікальних дендритах нейронів зустрічали лише поодинокі мікротрубочки, що свідчило про суттєву дезорганізацію цитоскелету нейритів в наслідок моделювання повторного інсульту. Таким чином, морфологічна картина гострого інсульту має виражений характер і характеризується різними деструктивними змінами в клітинах кори великого мозку. При геморагічному інсульті розвивається набряк мозку, що особливо виражено навколо гематоми, в нейронах кори великого мозку відбуваються значні деструктивні процеси, порушення міжнейрональних контактів та загибель нейронів. При повторному інсульті патологічні процеси були значно більш вираженими, що спричинило деструкцію синаптичних контактів та підвищення летальності дослідних тварин.

Висновки

1. Запропонована модель повторного інсульту, що полягає в моделюванні хронічної оклюзії загальної сонної артерії та наступного відтермінованого відтворення інтрацеребральної гематоми є більш адекватною моделлю гострої недостатності мозкового кровообігу в порівнянні із раніше розробленими варіантами інсульту.

2. На ультраструктурному рівні в корі великого мозку при повторному інсульті спостерігається набряк відростків нейронів та деструкція цитоскелету, що спричинює дезорганізацію міжнейрональних синапсів.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку. Запропонована модель інсульту максимально відповідає патогенетичному розвитку гострої недостатності мозкового кровообігу за геморагічним типом і може бути застосована з метою доклінічного випробування антиінсультних лікарських засобів.

Література

1. Горальський Л.П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. – Житомир: “Полісся”, 2005. – 288с.
2. Зозуля І.С. Сучасний стан проблеми діагностики, перебігу, лікування гострих порушень мозкового кровообігу в поліклінічних умовах (огляд літератури) / Зозуля І.С., Лисенко Г.І., Лагоха І.О. [та ін.] // Укр.Мед.Часопис. – 2011. – Т.6(86). – С.30-38.
3. Коваленко В.М. Медико-соціальні аспекти хвороб системи кровообігу / Коваленко В.М., Корнацький В.М., Манойленко Т.С. [та ін.]. - Київ, 2009, - 145 с.
4. Dzialowski I. Exten to fearly ischemic changes on computer tomography (CT) before thrombolysis: prognostic value of the Alberta Stroke Program Early CTS corein ECASS II / Dzialowski I, Hill M.D., Coutts S.B. [e tal.] // Stroke. - 2006. - № 37. - P. 973-978.
5. Makarenko A.N. Simulation of local cerebral hemorrhage in different brain structures of experimental animals / Makarenko A.N., Kositsyn N.S., Pasikova N.V. // Zh.Vyshh.Nerv.Deiat.Im I.P.Pavlova. – 2002. – Vol.52(6). – P. 765-768.
6. Reid J.M. External validation of a six simple variable model of stroke outcome and verificationin hyper-acute stroke / Reid J.M., Gubitz G.J., Dai D. [et al.] // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. - 2007. - № 78. - P. 1390-1391.

Реферати

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КОРЕ БОЛЬШОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОМ ИНСУЛЬТЕ

Савосько С.И., Чайковский Ю.Б., Макаренко А.Н.

В работе описана новая модель острого инсульта, которая заключается в воспроизведении хронической окклюзии одной общей сонной артерии и через 10 дней моделирования интрацеребральной гематомы в области внутренней капсулы соответствующего полушария головного мозга крыс. Сравнительный анализ новой модели с ранее разработанной моделью острого геморагического инсульта показал преимущество первой в отношении патогенеза острой недостаточности мозгового кровообращения. Морфологический и ультраструктурный анализ коры больших полушарий головного мозга показали значительные нарушения в виде отека и деструкции клеточных образований ткани мозга.

Ключевые слова: модель инсульта, отек мозга, ишемия, ультраструктура.

Стаття надійшла 10.04.2012 р.

ULTRASTRUCTURE CHANGES IN THE RAT BRAIN IN CEREBRAL STROKE

SavoskoS.I., ChaikovskyYu.B., MakarenkoA.N.

In article we propose new model of acute stroke that consists in reproducing of chronic occlusion of one general carotid artery and in 10 days of design of intracerebral hematoma in internal capsule of corresponding hemisphere of cerebrum of rats. The comparative analysis of new model with the previously worked out model of acute hemorrhagic stroke showed advantage of the first model in regard to pathogenesis of acute cerebral blood circulation disturbances. The morphological and ultrastructure analysis of brain cortex showed considerable violations in edema and destruction of brain cellular formations.

Key words: stroke model, cerebral edema, ischemia, ultrastructure.

УДК: 611-018.84: 546.49'131:612.085.2

Л. М. Сокурєнко, Ю. Б. Чайковський

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

ЗАСТОСУВАННЯ ЛЕКТИНОГІСТОХІМІЇ ДЛЯ ОЦІНКИ ЗМІН СПИННОГО МОЗКУ

В статті наведені дані щодо вивчення змін лектиногістохімічної будови структур спинного мозку під впливом малих доз хлориду ртуті та корекції лікарськими засобами. Показано вплив монотерапії унітіолом, тіотриазолоном, мілдронатом та магне-В6. Визначено відмінності дії комбінації цих лікарських засобів спільно з мілдронатом.

Ключові слова: лектини, гістохімія, спинний мозок.

Лектини це – білки неімуноглобулінової природи, здатні до вибіркового і зворотного зв'язування вуглеводів та вуглеводних компонентів глікокон'югатів різної природи. Їх використання для вибіркової ідентифікації окремих клітин та їх структур у фізіологічних умовах та при різних формах патології важливо для сучасної морфології [1]. У тканинах людини розрізняють основні типи глікокон'югатів, які можуть виконувати функції рецепторів лектинів: глікопротеїни, гліколіпіди і протеоглікани. Лектини проявляють виражену спорідненість до сполук чисто молекулярної природи – глікозаміногліканів і глікогенів. У теперішній час наявна велика кількість лектинів, в основному рослинного походження, які адаптовані для вивчення і характеристики клітин та тканин людини. Лектини, що застосовуються, варіюють за вуглеводною специфічністю. У класифікації лектинів за вуглеводною специфічністю виділяють групи, специфічні до N-ацетил-D-глюкозаміну, N-ацетил-D-галактозаміну, N-ацетилнейрамінової (сіалової) кислоти, D-галактози, D-