

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 геморрагического 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, тіотриазололіном, 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-

маннози. За даними літератури найчастіше застосовуються у дослідженні структурних компонентів нервової тканини RCA (DGal, NeuNAc), PNA (β DGal) SNA (Neu5Ac/2-6Gal) і LABA (α LFuc) та інші, тобто для вивчення структурних компонентів нервової тканини лектини специфічні до β DGal, Dman, або NAcDGal [4,5]. Однак лектиногістохімічні дослідження не застосовувались при вивченні дії токсичних металів та їх сполук, зокрема хлориду ртуті. Ртуть є глобальним забруднювачем і найбільш токсичним важким металом [2], з чітко вираженою нейротропною дією [3].

Метою роботи було виявлення особливостей лектиногістохімічних змін у тканинах спинного мозку щурів та оцінка протекторної дії антиоксидантів.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проводились на щурах лінії Вістар вагою 150–200 г., яких утримували у стандартних умовах виварію. Тварини були розподілені на 9-ть груп (усього – 85 тварин). Перша (I) група вивчалась, як контроль. На тваринах другої (II) групи – моделювали ртутну інтоксикацію шляхом внутрішньоочередного введення ртуті у дозі $1/100$ ЛД₅₀ хлориду ртуті впродовж 10 та 50 введень (короткотривала та довготривала експозиція). У третій-шостій групах моделювали мікромеркуріалізм введенням хлориду ртуті в дозі $1/100$ ЛД₅₀, (за такою ж схемою як у II та III групах) та введенням унітіолу (0,1 мл 5% розчину на 1 кг маси), тіотриазоліну (100 мг на 1 кг маси.), магне-В6 (10 мг на 1 кг маси.), мілдронату (50 мг на 1 кг маси.) також внутрішньоочередним шляхом у ті ж самі строки що у групах II та III. У сьомій-дев'ятій групах за такою ж схемою застосовували для фармакологічної корекції комбінацію мілдронату з препаратами унітіол, тіотриазолін та магне-В6. Через 2 тижні після закінчення моделювання мікромеркуріалізму забирався спинний мозок у експериментальних тварин за дотриманням правил біоетики.

Отримані зрізи спинного мозку після депарафінізації занурювали в 96 градусний етанол, а потім для інактивації ендогенної пероксидази інкубували 20 хвилин в метанолі, що містить 0,3% перекису водню. Препарати оброблювали із застосуванням стандартних наборів НПК "Лектинотест" м. Львів в розведенні лектину (Л) 1:50 за рекомендованою методикою [1,4]. Візуалізацію місць зв'язування лектинів проводили в системі діамінобензидин-перекис водню. Лектини виготовлені д. фарм. н. В.О.Антонюком у лабораторії „Лектинотест” із сировини Карпатського регіону. Контроль специфічності реакції здійснювали шляхом виключення із схеми обробки препаратів діамінобензидину. Використані: лектин рицини (RCA), специфічний до D-галактози, екранованої сіаловою кислотою; лектин бобчука анагіролистного (LABA), специфічний до L-фукози, лектин конвалії (ConA), специфічний до манози.

Експресію рецепторів визначали напівкількісно: – відсутність зв'язування, + слабе зв'язування, ++ помірне зв'язування, +++ сильне зв'язування, ++++ дуже сильне зв'язування.

Результати дослідження та обговорення. У досліджуваних препаратах спинного мозку інтактних щурів визначається помірна експресія рецепторів лектину рицини (кліщовини) (RCA) у клітинах нейронів, нейроглії та мієлінових нервових волокнах і судинах. Визначальну роль у забезпеченні вибіркової зв'язування лектинів кліщовини з компонентами нервової тканини належить цитоплазматичним сіалогліканам, а саме глікополімерам з кінцевими дисахаридними залишками (сіалова кислота – D-галактоза і сіалова кислота N-ацетил-D-галактозамін). При дії лектину золотого дощу (LABA) на гістологічні зрізи спостерігалась картина, яка нагадувала попередню, при обробці зрізів лектином кліщовини. При цьому, однак, більшу виражена картина спостерігається у нейронах, а також судинах. Нами також встановлено більш контрастне забарвлення компонентів нервової тканини при використанні Конканаваліна А у порівнянні з лектином кліщовини.

При короткотривалій та довготривалій експозиціях хлоридом ртуті визначається слабкий зв'язок з лектинами конвалії (ConA) та рицину (RCA), з лектином Laba – зв'язок середньої інтенсивності.

За умов застосування препарату «Унітіол» при моделюванні мікромеркуріалізму спостерігається сильний зв'язок з нейронами та нейроглією спинного мозку лектинів Laba та ConA на ранніх строках дослідження, а на пізніх – середній. Лектини Laba мають високу спорідненість до судин гемомікроциркуляторного русла. Для рецепторів RCA характерна низький ступінь зв'язування на обох строках. При моделюванні мікромеркуріалізму за умов застосування препарату «Тіотриазолін» спостерігається сильний зв'язок нейронів та нейроглії лектинів Laba та ConA на ранніх строках дослідження. При довготривалому дослідженні визначається сильний зв'язок з нейронами, середній – з нейроглією. Лектини Laba мають високу спорідненість до судин гемомікроциркуляторного русла, яка нагадує гістохімічну картину при корекції ртутної експозиції унітіолом. Для рецепторів RCA характерний низький ступінь зв'язування при обох строках, що також характерно для дослідження з унітіолом. Спинний мозок щурів при мікромеркуріалізмі за умов впливу препарату «Магне-В6» демонструє високу спорідненість до структури нервової тканини. Лектини кліщовини та конваліну А мають сильний зв'язок з нейронами та нейроглією при короткотерміновій експозиції, середньої інтенсивності зв'язок характерний для лектину золотого дощу. При довготривалій експозиції для нейронів характерний середній ступінь зв'язування нейронів та сильний для нейроглії. За умов застосування препарату „Мілдронат” визначається сильна інтенсивна реакція нейронів та нейроглії з рецепторами усіх лектинів. У той час як при довготривалій визначається середня за інтенсивністю реакція.

Застосування препаратів «Унітіол» та «Мілдронат» визначає середній по інтенсивності зв'язок з нейронами та сильний з нейроглією лектинів Laba, RCA та ConA на ранніх строках дослідження, а на пізніх – слабкий для нейронів та середній для нейроглії. При моделюванні мікромеркуріалізму за умов застосування препаратів «Тіотриазолін» та «Мілдронат» визначається сильний зв'язок нейронів та нейроглії з лектинами Laba, RCA та ConA на ранніх строках дослідження. При довготривалій експозиції визначається середній зв'язок

з нейронами та нейроглією. Вплив комбінації препаратів «Магне-В₆» і «Мілдронат» на спинний мозок шурів при мікромеркуріалізмі позначається на сильному зв'язуванні нейронів та нейроглії до всіх рецепторів лектинів. Для судин та нервових волокон характерний менш інтенсивний зв'язок.

Нідеумок

Для спинного мозку інтактних шурів характерний сильний зв'язок з лектинами Laba, RCA та ConA. Вплив малих доз солей ртуті є токсичним, про що свідчать результати досліджень спинного мозку за допомогою лектинів кліщовини, конвалії та кори золотого дощу: зв'язок лектинів з нейронами та нейроглією спинного мозку ослаблюється.

Дослідження впливу фармакологічних препаратів демонструє хімічні зміни, які полягають у посиленні інтенсивності лектиногістохімічного зв'язку та можуть трактуватись як гістохімічне підтвердження протекторної дії лікарських засобів.

Література

1. Луцик Б.Д. лектинпероксидазные маркеры микроглии в парафиновых срезах. / Луцик Б.Д., А.М.Яценко, А.Д.Луцик. // архив патологии. – 1991, Т.53. – №4. – С. 60-63.
2. Трахтенберг И.М. Морфологічні аспекти патогенезу ртутної інтоксикації / І.М. Трахтенберг, Ю.Б. Чайковський, Л.М. Сокурєнко // Сучасні проблеми токсикології. – 2008, №1. –С.11-17.
3. Чайковський Ю.Б. Морфологічні зміни спинного мозку шурів за умов мікромеркуріалізму / Ю.Б. Чайковський, Л.М. Сокурєнко // Вісник морфології. - Вінниця, 2005. - №2. - С.270-274.
4. Яценко А. М. Рецептори фукозспециф.чних лектинів в структурних компонентах окремих органів / Яценко А. М., Смольникова О. В., Луцик О. Д. // Таврич. мед.-биол. вестник. – 2003. –Т .5, №3. – С .174–176.
5. Devlin R. Changes in synthesis of concanavalin A binding proteins during nerve cell differentiation / R. Devlin, D. Masel // Dev. Brain. Res. – 1985. – V.23, N2. – P.293-296.

Реферати

ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕКТИНОГИСТОХИМИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИЗМЕНЕНИЙ СПИННОГО МОЗГА

Сокурєнко Л. М., Чайковський Ю.Б.

В статье приведены данные относительно изучения изменений лектиногистохимического строения структур спинного мозга под воздействием малых доз хлорида ртути и коррекции лекарственными средствами. Показано влияние монотерапии унитиолом, тиотриазолином, милдронатом и магне-В₆. Определены отличия действия комбинации этих лекарственных средств совместно из милдронатом.

Ключевые слова: лектины, гистохимия, спинной мозг.

Стаття надійшла 2.04.2012 р.

APPLICATION OF LECTINOHISTOCHEMISTRY FOR ESTIMATION OF CHANGES OF SPINAL CORD

Sokurenko L.M., Chaikovskiy Yu.B.

Lectinohistochemical structure changes of spinal cord under the influence of mercury chloride small doses and correction by medications are cited in article. Monotherapy by unithiolum, thiotriazolinum, mildronatum and magne-B₆ is represented. Differences in action of combinations of these medications with mildronatum are defined.

Key words: lectins, histochemistry, spinal cord.

УДК 611.77:611.93:618.39-055.1]-018:547.96

Х.І.Струс., А.М. Яценко

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів

ЛЕКТИНОВИЙ ПРОФІЛЬ ШКІРИ ТА ЇЇ ПОХІДНИХ З ДІЛЯНКИ ШИЇ ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ ПЛОДІВ ЛЮДИНИ ТЕРМІНОМ ГЕСТАЦІЇ 35-36 ТИЖНІВ

Методом лектин-пероксидазної техніки з використанням набору наступних лектинів : Con A, PNA, HPA, WGA, SNA, LABA, SBA вивчали матеріал аутопсії шкіри передчасно народжених трьох плодів людини чоловічої статі з області шиї терміном гестації 35-36 тижнів. Показано, що шкіра плодів людини чоловічої статі, що передчасно народилися, на 35-36 тижні гестації має морфологічну будову подібну до статевозрілих особин, проте окремі волосяні фолікули ще на стадії гістогенезу. Глікополімери DMan, LFuc, DGal, NAcDGal, βDGal і NAcDGlc беруть участь в процесі гістогенезу шкіри і її похідних, що забезпечують процес фібрилогенезу, відіграють важливу роль в синтезі секрету залоз, формуванні міжклітинних контактів епідермісу і в процесах корніфікації - кінцевій стадії диференціації кератиноцитів.

Ключові слова: шкіра плоду, лектини, гістохімія.

Робота проведена відповідно до кафедральної теми: “Пошук нових препаратів лектинів із сировини Карпатського регіону та можливості їх застосування у біології та медицині”, номер держреєстрації 01071001048.

Лектини – група білків неімунного походження, які здатні вибірково і зворотно зв'язуватися з вуглеводами або вуглеводними детермінантами макромолекул без зміни їх ковалентної структури [4,7,14,20]. До рецепторів лектинів відносяться вуглеводвмісні молекули, такі як глікопротеїни, гліколіпіди, глікозаміноглікани і ряд інших біополімерів [3]. Використання наборів лектинів різної вуглеводної специфічності дозволяє отримати інформацію про перерозподіл вуглеводвмісних молекул в процесі розвитку і з віком та при патологічних процесах [8,19].