

УДК 616.831.312-005.4 : 612.822

Т. І. КметьБуковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ЧУТЛИВІСТЬ НЕРВОВИХ ТА ГЛІАЛЬНИХ
КЛІТИН ТІМ'ЯНОЇ ЧАСТКИ КОРИ
ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ДО НЕПОВНОЇ
ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ
ГОЛОВНОГО МОЗКУ****Ключові слова:** головний мозок,
каротидна ішемія-реперфузія,
нейрони, глія, апоптоз.**Резюме.** Встановлено, що в корі тім'яної частки головного мозку каротидна ішемія-реперфузія знижує сумарну щільність нервових і гліальних клітин та підвищує щільність апоптичних клітин як після 20-хвилинної ішемії з одногодинною реперфузією, так і на 12-ту добу спостереження. Відсоткове співвідношення різних класів клітин характеризується зростанням частки клітин з ознаками апоптозу в ранньому терміні спостереження та зниженням частки нейроцитів на фоні підвищення частки клітин з ознаками апоптозу на 12-ту добу експерименту. Ішемічно-реперфузійне ураження порушує також морфометричні характеристики нейро- та гліоцитів, переважно в ранньому постішемічному періоді.**Вступ**

Найбільш чутливим з усіх органів до гіпоксії та ішемії є головний мозок, що пояснюється особливостями енергетичного обміну в ньому, відсутністю запасів глікогену, тканинного депо кисню і резервних капілярів [1]. Тому цереброваскулярна патологія є однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини, що зумовлено зростанням розповсюженості судинних захворювань, високою летальністю, інвалідністю і значними матеріальними витратами на лікування та профілактику [4, 8]. Всесвітньою організацією охорони здоров'я було визнано, що інсульт є глобальною епідемією, яка загрожує життю і здоров'ю населення всього світу [7, 9]. На сьогоднішній день в усьому світі гострі порушення мозкового кровообігу є другою за частотою причиною смертності, поступаючись лише ішемічній хворобі серця та передуючи онкологічним захворюванням [3, 6].

Незважаючи на зусилля світової спільноти в боротьбі з судинною патологією, число порушень мозкового кровообігу продовжує невпинно зростати.

Нами показано особливості динаміки морфофункціонального стану ендотеліоцитів судин різних часток кори великих півкуль при неповній глобальній ішемії-реперфузії головного мозку [2], проте оцінка чутливості до даного втручання нервових та гліальних клітин не проводилася.

Мета дослідження

Оцінити в динаміці чутливість нервових та гліальних клітин тім'яної (соматосенсорної) частки кори великих півкуль головного мозку щурів до неповної глобальної ішемії-реперфузії за морфометричними показниками.

Матеріал і методи

Дослідження проведені на шестимісячних білих нелінійних щурах-самцях наступних експериментальних груп: 1. Контрольні тварини; 2. Щури, яким моделювали 20-хвилинну двобічну каротидну ішемію з одногодинною реперфузією; 3. Щури, яких виводили з експерименту на 12-ту добу після моделювання 20-хвилинної двобічної каротидної ішемії. Неповну глобальну ішемію мозку моделювали 20-хвилинним кліпсуванням загальних сонних артерій [5], після чого кровотік по цих судинах відновлювали. Для вивчення ранніх наслідків ішемії-реперфузії мозку частину тварин виводили з експерименту через 1 годину по завершенні реперфузійного періоду, а відстрочених - на 12-ту добу. Моделювання каротидної ішемії та декапітацію здійснювали під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг маси тіла). Для морфологічних досліджень у лабораторних щурів виділяли праву та ліву півкулі головного мозку, фіксували їх у 10 % розчині Буена впродовж 24 годин і після стандартної гістологічної проводки заливали в парафінові блоки, з яких готували гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Зображення ко-

ри мозку вивчали в спектрі люмінесценції на флуоресцентному мікроскопі AXIOSKOP (Zeiss, Німеччина) та за допомогою високочутливої відеокамери COHU-4722 (COHU Inc., США) уводили в комп'ютерну систему аналізу зображень VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина). Морфометричний аналіз клітин лобової частки неокортексу здійснювали в автоматичному режимі за допомогою програми VIDAS-2,5 (Kontron Elektronik, Німеччина) [10]. Визначали наступні характеристики нервових, гліальних та апоптичних клітин: сумарну (кількість клітин на 1 мм² площі зрізу кори мозку) та відносну (%) щільність розподілу окремих класів клітин, їх

площу (мкм²), коефіцієнти форми та елонгації.

Експериментальні втручання здійснювали відповідно до основних положень GLP (1981 р.) Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.; Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Цифрові результати експериментальних досліджень опрацьовані на персональному комп'ютері у прикладних програмах "Statistica 6.0" та "SPSS 13" із використанням параметричного t-критерію Стьюдента.

Таблиця 1

Щільність розташування (на 1 мм²) та відсоткове співвідношення різних класів клітин у корі тім'яної частки великих півкуль щурів з ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M±m)

Група спостереження	Класи клітин		
	Нервові	Гліальні	Апоптично змінені
Контроль	967,02±22,87	428,67±19,23	39,30±6,85
	67,83±1,23	29,38±1,13	2,79±0,51
Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год	885,49±18,49*	364,74±16,42*	64,45±6,84*
	67,99±1,09	27,17±1,04	4,84±0,50*
Ішемія-реперфузія 12 діб	695,17±15,66*^	365,24±13,91*	79,46±8,15*
	61,82±1,08*^	31,34±1,01^	6,84±0,66*^

Примітка: у чисельнику – сумарна щільність різних класів клітин на 1 мм² тім'яної частки кори; у знаменнику – відсоток різних класів клітин; вірогідність різниці порівняно з: * - контролем; ^ - ішемією-реперфузією (20 хв / 1 год) у контрольних тварин

Таблиця 2

Морфометричні параметри різних класів клітин у корі тім'яної частки великих півкуль щурів з ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку (M±m)

Група спостереження	Площа, мкм ²	Коефіцієнт форми	Коефіцієнт елонгації
Нервові клітини			
Контроль	82,76±1,06	0,781±0,003	0,691±0,003
Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год	63,76±0,83 p ₁ <0,001	0,764±0,004 p ₁ <0,01	0,665±0,004 p ₁ <0,001
Ішемія-реперфузія 12 діб	76,60±1,10 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001	0,783±0,004 p ₂ <0,01	0,763±0,003 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
Гліальні клітини			
Контроль	19,07±0,19	0,709±0,006	0,672±0,006
Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год	19,17±0,27	0,678±0,008 p ₁ <0,05	0,655±0,007
Ішемія-реперфузія 12 діб	19,61±0,25	0,682±0,009 p ₁ <0,05	0,696±0,006 p ₁ <0,05 p ₂ <0,001
Апоптичні клітини			
Контроль	29,67±1,27	0,63±0,01	0,53±0,01
Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год	18,01±1,28 p ₁ <0,001	0,60±0,03	0,50±0,03
Ішемія-реперфузія 12 діб	20,92±1,27 p ₁ <0,001	0,70±0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,05	0,63±0,02 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01

Примітка – вірогідність різниці порівняно з: p₁ - контролем (p<0,05, p<0,01, p<0,001); p₂ - ішемією-реперфузією (20 хв / 1 год) у контрольних тварин (p<0,05, p<0,01, p<0,001)

Обговорення результатів дослідження

За результатами експериментальних досліджень встановлено (таблиці 1, 2), що каротидна ішемія-реперфузія має суттєвий вплив на різні класи клітин кори тім'яної частки півкуль головного мозку. Зокрема, сумарна щільність розташування нервових та гліальних клітин у ранньому постішемичному періоді вірогідно зменшилася на 9 % та 15 % відповідно стосовно показників у контрольних тварин. Ці зміни в даному терміні спостереження пояснюються достовірним зростанням (в 1,6 раза) щільності апоптичних клітин.

Відсоткове співвідношення нейро- та гліоцитів у цей період спотереження достовірно не змінилося, а частка апоптичних клітин зросла в 1,7 раза. Це дозволяє дійти висновку, що в ранньому ішемично-реперфузійному періоді нервові та гліальні клітини зазнають апоптичних змін в однаковій мірі.

У пізньому постішемичному періоді (12-та доба) щільність нервових клітин зменшилася в 1,4 раза стосовно такої в контрольних щурів і в 1,3 раза - стосовно показника в ранньому терміні спостереження. Щільність гліальних клітин у цей термін також зменшилася в 1,2 раза, а апоптично змінених - підвищилась у 2 рази стосовно такої у тварин контрольної групи. Аналіз відсоткового співвідношення різних класів клітин кори тім'яної частки півкуль головного мозку показав достовірне зниження частки нейроцитів щодо показників у контролі та в ранньому постішемичному періоді в 1,1 раза, тоді як відсоток гліальних клітин зріс в 1,2 раза стосовно раннього терміну, а апоптичних клітин - як щодо показників у контролі, так і стосовно раннього терміну (у 2,5 та 1,4 раза відповідно). Таким чином, до 12-ї доби постішемичного періоду апоптоз клітин наростає. У динаміці спостереження співвідношення сумарної щільності та частки нейронів і гліальних клітин має наступний вигляд: контроль - 2,26 та 2,31 відповідно; ранній постішемичний період - 2,43 та 2,5 відповідно; пізній - 1,90 та 1,96 відповідно), що свідчить про досить рівномірну загибель нейронів та гліоцитів в обидва періоди спостереження.

Дослідження морфометричних параметрів даних клітин тім'яної частки кори головного мозку в ранньому постішемичному періоді показало, що площа нервових та апоптичних клітин вірогідно зменшилася в 1,3 та 1,6 раза відповідно відносно показників у контрольних тварин, тоді як за даним показником гліальні клітини змін не зазнали.

У пізньому ішемично-реперфузійному періоді (12-та доба) площа нейронів та апоптично змінених клітин вірогідно знизилася на 8 % та 30 % відповідно стосовно показників у контрольних

щурів; крім того, площа нервових клітин зросла на 20 % стосовно раннього терміну спостереження. Площа гліальних клітин даного відділу кори достовірних змін не зазнала.

У ранньому періоді ішемично-реперфузійного пошкодження головного мозку виявлено вірогідне зниження коефіцієнта форми нервових та гліальних клітин, а також коефіцієнта елонгації нейроцитів щодо показників у контрольних тварин.

В умовах пізнього ішемично-реперфузійного пошкодження мозку коефіцієнт форми гліальних клітин зменшився на 4 % відносно показників у контрольної групи тварин, а апоптичних клітин - підвищився на 11 % стосовно контролю і на 17 % - стосовно раннього терміну спостереження. У даному терміні підвищився також коефіцієнт форми нервових клітин по відношенню до раннього терміну спостереження, а також коефіцієнт елонгації нейроцитів, глії й апоптично змінених клітин на 10 %, 4 % та 19 % відповідно стосовно показників у контрольних тварин і на 15%, 6 % та 26 % - стосовно раннього терміну спостереження.

Висновки

1. У корі тім'яної частки головного мозку двобічна каротидна ішемія-реперфузія знижує сумарну щільність нервових і гліальних клітин та підвищує щільність клітин з ознаками апоптозу як у ранньому, так і в пізньому ішемично-реперфузійному періоді.

2. Після 20-хвилинної ішемії з одногодинною реперфузією має місце зростання частки апоптично змінених клітин при збереженому співвідношенні нейро- та гліоцитів, що свідчить про рівномірний ступінь їх загибелі шляхом апоптозу. На 12-ту добу експерименту щільність та частка клітин з ознаками апоптозу продовжує зростати за рахунок зниження числа нервових клітин.

3. Ішемично-реперфузійне ураження головного мозку спричиняє порушення морфометричних параметрів усіх досліджених типів клітин як у ранньому, так і в пізньому періоді ішемії-реперфузії головного мозку.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується дослідження чутливості клітин кори тім'яної частки головного мозку до ішемично-реперфузійного пошкодження за умов фонового цукрового діабету.

Література. 1. Віничук С. М. Метаболічна терапія ішемичного інсульту: до питання про доцільність її застосування у гострий період / С. М. Віничук // Український медичний часопис. - 2004. - № 1 (39). - С. 52-60. 2. Кметь Т.І. Особливості динаміки морфофункціонального стану ендотеліоцитів в різних ділянках

кори великих півкуль при неповній глобальній ішемії-реперфузії головного мозку / Т. І. Кметь // Клінічна та експериментальна патологія. - 2013. - Т. 12, №3 (45). - С. 79 - 81. 3.Леньков О. М. Особливості перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження структур головного мозку при експериментальному цукровому діабеті в самців-щурів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 "Патологічна фізіологія" / О. М. Леньков. - Чернівці, 2010. - 20 с. 4. Міщенко Т.С. Епідеміологія неврологічних захворювань в Україні / Т. С. Міщенко // НейроNEWS. - 2008. - №4. - С. 77-78. 5. Супрун Е. В. Вивчення антигіпоксичної активності ронколейкіну в умовах експериментального ішемічного інсульту / Е. В. Супрун // Одес. мед. журн. - 2010. - № 6 (122). - С. 22-25. 6. Deb P. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis / P. Deb, S. Sharma, K. M. Hassan // Pathophysiol. - 2010. - Vol. 17, № 3. - P. 197-218. 7. Donnan G. Stroke / G. Donnan, M. Fisher, M. Macleod [et al.] // The Lancet. - 2008. - Vol. 371, №9624. - P. 1612 - 1623. 8. Hachinski V. World Stroke Day: little strokes, big troubles / V. Hachinski // Stroke. - 2008. - № 39. - P. 2407-2408. 9. Kokubo Y. Epidemiology of transient ischemic attack / Y. Kokubo // Frontiers of neurology and neuroscience. - 2013. - Vol. 33. - P. 69-81. 10. Kolesnik Y. M. Image analysis system for quantitative immunofluorescence measurement / Y. M. Kolesnik, A. V. Abramov // Microscopy and Analysis. - 2002. - № 5. - P. 12-16.

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ НЕРВНЫХ И ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ТЕМЕННОЙ ДОЛИ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ К НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Т.И. Кметь

Резюме. Установлено, что в коре теменной доли головного мозга каротидная ишемия-реперфузия снижает суммарную плотность нервных и глиальных клеток и повышает плотность апоптически измененных клеток как после 20-минутной ишемии с односторонней реперфузией, так и на 12-е сутки наблюдения. Процентное соотношение различных классов клеток характеризуется возрастом

доли клеток с признаками апоптоза в раннем сроке наблюдения и снижением доли нейронов на фоне повышения доли клеток с признаками апоптоза на 12-е сутки эксперимента. Ишемически-реперфузионное повреждение нарушает также морфометрические характеристики нейро- и глиоцитов, преимущественно в раннем постischemическом периоде.

Ключевые слова: головной мозг, каротидная ишемия-реперфузия, нейроны, глия, апоптоз.

SUSCEPTIBILITY OF NEURONS AND GLIAL CELLS OF THE PARIETAL LOBE OF CEREBRAL CORTEX TO INCOMPLETE GLOBAL ISCHEMIA- REPERFUSION OF BRAIN

T. I. Kmet

Abstract. Carotid ischemia-reperfusion reduces the total density of neurons and glial cells and increases the density of apoptotic cells in the cortex of the parietal lobe of the brain as after 20 minutes of ischemia and one-hour reperfusion as on the 12th day of observation. Percent ratio of different kinds of cells is characterized by increasing the fraction of cells with signs of apoptosis in the early stage of observation and reduction of fraction of neurons in the background of increase the fraction of cells with signs of apoptosis on the 12th day of the experiment. Ischemic - reperfusion damage also breaks the morphometric characteristics of neurons and glial cells, mostly at an early postischemic period.

Keywords: brain, carotid ischemia-reperfusion, neurons, glia, apoptosis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2014. - Vol. 13, №1 (47). - P. 54-57.

Надійшла до редакції 25.01.2014

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький

© Т.І. Кметь, 2014