

УДК 616-005.4:599.323.4:615.451

*А.І. Семененко<sup>1</sup>, Н.О. Семененко<sup>1</sup>, Б.О. Кондрацький<sup>2</sup>, Ю.Ю. Кобеляцький<sup>3</sup>,  
Ю.О. Зведенюк<sup>4</sup>, Г.І. Хребтій<sup>5</sup>*

## ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ГОСТРІЙ ЦЕРЕБРАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ НА ТЛІ УВЕДЕННЯ ВОЛЮВЕНУ

<sup>1</sup>Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

<sup>2</sup>ДУ «Інститут патології крові та трансфузійної медицини НАМН України», м. Львів

<sup>3</sup>ДУ "Дніпропетровська медична академія МОЗ України

<sup>4</sup>Міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги, м. Вінниця

<sup>5</sup>Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Резюме.** Проведене морфологічне дослідження головного мозку щурів з гострою церебральною ішемією показало, що ішемія-реперфузія головного мозку провокує появу багатьох специфічних патоморфологічних змін у судинній стінці мікроциркуляторного русла сенсомоторної кори великих півкуль. При цьому курсова терапія щурів колоїдно-ізоосмолярним розчином волювен не призводила до повного стабільного віднов-

лення структури кори великих півкуль сенсомоторної зони, але помітно знизила негативний вплив гіпоксії на протязі семи діб спостереження та покращила репаративно-компенсаторні механізми мікроглії та нейронів, переважно за рахунок стабілізації гемодинаміки в судинах мікроциркуляторного русла.

**Ключові слова:** головний мозок, ішемія-реперфузія, волювен.

**Вступ.** На сучасному етапі лікування гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) постійно іде пошук лікарських засобів, що максимально гальмують розвиток патологічних реакцій у зоні ішемії, тобто запобігають розвитку незворотних змін, оптимізують роботу нервових клітин головного мозку як у фізіологічних умовах, так і при розвитку патологічних процесів [3, 4]. Серед лікувальних заходів, що знижують імовірність розвитку ішемії головного мозку при ГПМК, великий інтерес приділяють впливу на центральну гемодинаміку. Серед останніх важливе місце займає інфузійна терапія, вибір якої при захворюваннях і ушкодженнях головного мозку є однією з найбільш складних проблем у комплексі консервативного лікування цих хворих [2, 6].

**Мета дослідження.** У рамках комплексного вивчення впливу різних інфузійних засобів на головний мозок при експериментальному ГПМК, встановити динаміку морфологічної картини ішемізованої сенсомоторної кори головного мозку щурів без лікування та на тлі застосування колоїдно-ізоосмолярного розчину волювену.

**Матеріал і методи.** Досліди проведено на 30 білих щурах-самцях масою 160-170 г, які перебували у стандартних умовах віварію, з дотриманням етичних норм проведення експериментальних досліджень згідно із "Загальними принципами роботи на тваринах", затвердженими І Національним конгресом із біоетики (Київ, Україна, 2001) та Законом України "Про захист тварин від жорстокого поводження" від 26.02.2006 р. Експериментальну модель ішемії-реперфузії (ІР) створювали шляхом накладання кліпс на обидві внутрішні сонні артерії під пропофоловим наркозом (60 мг/кг) упродовж 20 хв [5]. Волювен вводили внутрішньовенно в катетеризовану стегнову вену по 2,5 мл/кг 2 рази/день (5 мл/кг на добу). Перше введення проводили через 30 хв після ІР і далі

щодооби через кожні 12 год впродовж семи діб. Контрольні групи складала інтактні щури та тварини з ІР без лікування.

Головний мозок фіксували в 10 % нейтральному формаліні, промивали в проточній воді, проводили через спирти зростаючої концентрації і заливали в парапласт. На ротаційному мікротомі готували фронтальні зрізи сенсомоторної кори товщиною 3-5 мкм, забарвлювали гематоксиліном і еозином та толуїдиновим-синім і вивчали у світловому мікроскопі. Морфометрію проводили при збільшення  $\times 200$ ,  $\times 400$ . Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою пакета «Microsoft Excel-2007».

**Результати дослідження та їх обговорення.** У сенсомоторній корі великих півкуль інтактних щурів при гістологічному дослідженні були виявлені гістологічно незмінні тіла нейронів, ядра нейронів та клітини мікронейроглії (рис. 1). Нейрони досліджуваної ділянки кори головного мозку були розташовані у вигляді колонок і формували гістологічно шість шарів, які мали чітку структурованість. Вони мали різні розміри. Ті, що розташовувалися в гангліонарному шарі, були найбільші та мали кращу структурованість ядра та більш виражене ядрце. Цитоархітекtonіка обох півкуль інтактних тварин була однаковою. Стінка судинних структур непошкоджена, базальні мембрани незмінні, ендотелій повністю вистилає внутрішню поверхню судин суцільним пластом, однорідний за формою та розмірами. М'яка мозкова оболонка також вистеляє канали, в яких розташовані магістральні кровеносні судини. Артерії та артеріоли в м'якій мозковій оболонці помірно повнокровні, у просвіті наявні еритроцити.

На 4-ту добу спостереження в сенсомоторній корі головного мозку щурів виявили повнокров'я судин, стаз крові та агрегацію еритроцитів у про-

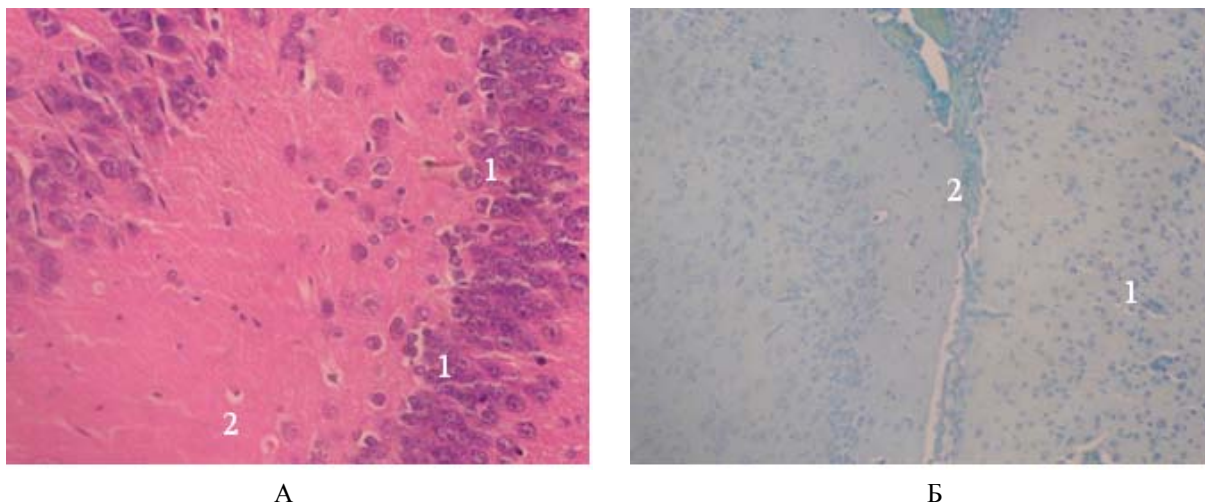


Рис. 1. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль інтактних щурів

А. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об×10 Ок×10. Б. Забарвлення толуїдиновим синім. Об×10 Ок×10. 1 – ділянка сенсомоторної кори; 2 – мікроглія з незначним перичелюлярним набряком

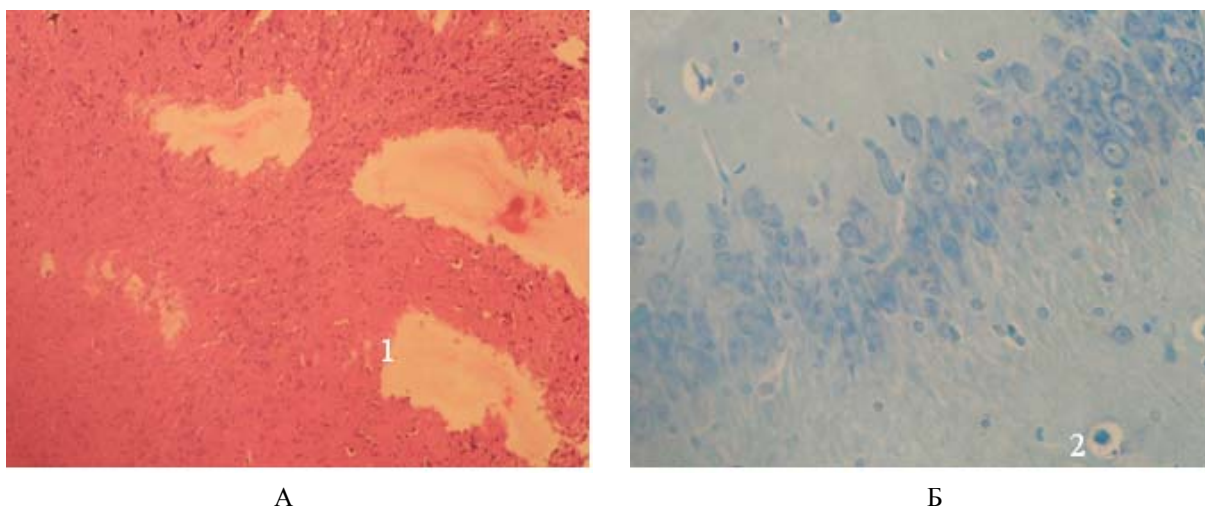


Рис. 2. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щурів із ГПМК без фармакокорекції на 4-ту добу після модельованої ІР

А. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об×20 Ок×10. Б. Забарвлення толуїдиновим синім. Об×40 Ок×10. 1 – поля некрозу; 2 – нейрони з вираженим перичелюлярним набряком

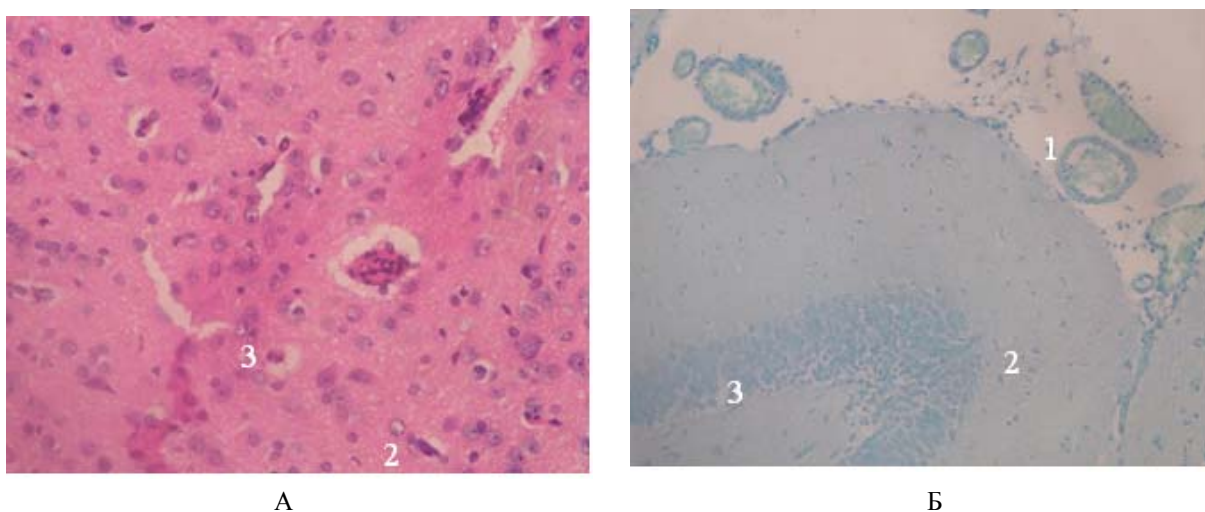
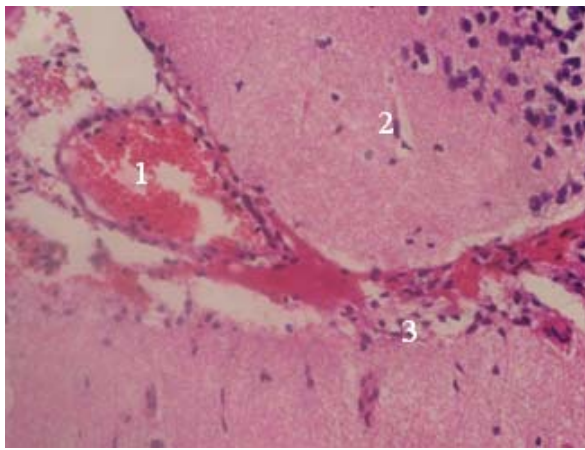
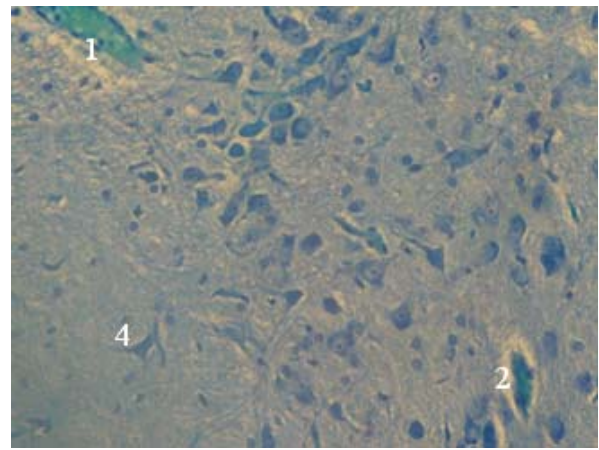


Рис. 3. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль щурів із ГПМК без фармакокорекції на 7-му добу після модельованої ІР

А. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об×40 Ок×10. Б. Забарвлення толуїдиновим синім. Об×20 Ок×10. 1 – повнокров'я судин; 2 – мікроглія з незначним перичелюлярним набряком; 3 – нейрони з перичелюлярним набряком



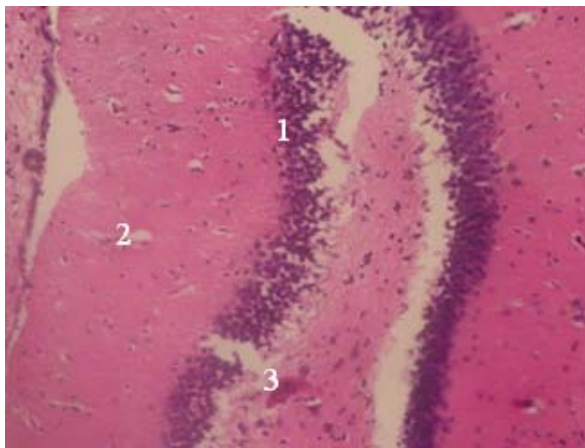
А



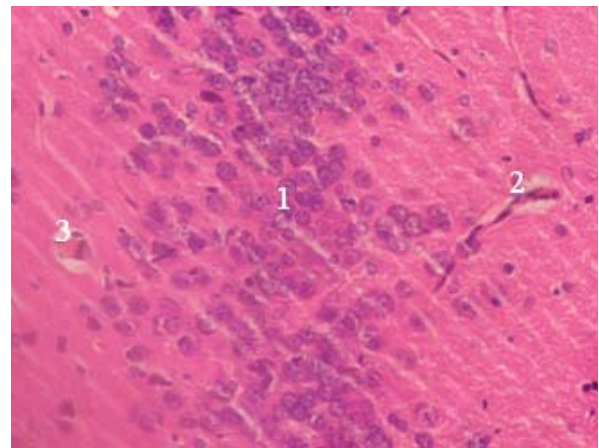
Б

Рис. 4. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль на 4-ту добу у щурів із модельованою ІР, яким вводили волювен

А. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об×40 Ок×10. Б. Забарвлення толуїдиновим синім. Об×40 Ок×10. 1 – виражене повнокров'я судин; 2 – мікроглія з перичелюлярним набряком; 3 – набряк оболонок головного мозку; 4 – нейрони з вираженим перичелюлярним набряком



А



Б

Рис. 5. Фрагмент сенсомоторної ділянки кори великих півкуль на 7-му добу у щурів з модельованою ІР, яким вводили волювен

А. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об×20 Ок×10. Б. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об×40 Ок×10. 1 – нейрони з вираженим перичелюлярним набряком; 2 – мікроглія з перичелюлярним набряком; 3 – повнокров'я судин

світі венул та артеріол, ендотеліоцити з набряком та деструкцією (див. рис. 2).

Відмічалася підвищена проникність судинної стінки для плазми і елементів крові. Судинні стінки потовщені за рахунок набряку, переважно середнього шару. Нейрони атрофічно та деструктивно змінені, порушено співвідношення гіпо-, гіпер- та нормохромних нейронів на користь переважання гіперхромних, тоді як в інтактних тварин переважали нормохромні клітини. Зони загибелі нейронів становили  $33,7 \pm 2,5\%$  і були більше вираженими в 2-му та 3-му шарах сенсомоторної ділянки кори великих півкуль порівняно з 5-м та 6-м шарами. Це свідчить про вибіркоче ураження цих нейроцитів, що є найбільш чутливими до дії гіпоксичного ураження [1].

Дослідження речовини головного мозку щурів на 7-му добу після створення моделі ІР без фармакокорекції показало ще більш виражені порушення будови в судинній стінці мікроцирку-

ляторного русла, у нейронах, у клітинах нейроглії, у структурі нейромікроглії порівняно з 4-ю добою дослідження. Судини мікроциркуляторного русла з вогнищами повнокров'я. Стінки артеріол потовщені за рахунок набряку як середнього, так і внутрішнього шару, спостерігається чітка відмежованість базальної мембрани та ендотеліального покриву, більшість просвітів судин звужені. У стінках артеріол ендотеліоцити деструктивно змінені, з ознаками дистрофії цитоплазми, значно збільшені дефектні ділянки. Ендотеліальна вистілка несучільна, наявні ділянки десквамації і вогнища регенерації ендотеліоцитів. У базальній пластинці спостерігався виражений набряк. У середній оболонці судин, а саме м'язовому шарі, наявна виражена гіпертрофія гладеньком'язової тканини. Часто виявлялися змішані фібриново-еритроцитарні пристінкові тромби, які в більшості випадків призводили до перекриття просвіту судини, у поодиноких випадках із река-

налізацією. Просвіти венул розширені, з великою кількістю повнокровних елементів. Подекуди в просвітах наявний стаз тромбоцитів та еритроцитів. Одночасно відмічалась адгезія та діapedез лейкоцитів, переважно лімфоцитів та гранулоцитів, через стінки судин та скупчення їх у периваскулярній зоні.

Зони загибелі нейронів становили 29,7±2,9 %. Цитоплазма нейронів гомогенізована, наявний коагуляційний некроз у клітинах нейроглії. В ядрах спостерігається каріопікноз та каріолізис, ядерця не візуалізувались. Зони інфаркту нейронів виявляються у всіх шарах сенсомоторної ділянки кори великих півкуль на відміну від 4-ї доби спостереження (рис. 3).

У зоні загибелі нейронів спостерігається периваскулярне розростання тонковолокнистої фіброзної тканини, виражена гіперплазія гліоцитів, помірна вогнищева лейкоцитарна інфільтрація, переважно лімфоцитарного клітинного складу, більше в периваскулярній зоні. У пірамідному шарі переважали гіперхромні нейрони порівняно з інтактними тваринами. Виразений перичелюлярний набряк наявний навколо великої частини нейронів.

Отже, ІР провокує появу специфічних патоморфологічних змін у судинній стінці кровоносного мікроциркуляторного русла кори великих півкуль сенсомоторної зони та безпосередньо в речовині головного мозку щурів.

Гістологічна картина сенсомоторної ділянки кори головного мозку на 4-ту добу модельованої ІР вказувала, що на тлі уведення волювену щурам із ГПМК відбувалося покращання кровообігу в зоні ішемії порівняно з контрольною групою, про що свідчило відсутність великих тромбів у просвітах артеріол та повнокров'я у венулах. Діapedез гранулоцитів та лімфоцитів був значно меншим, проте не зникав повністю. Тромби були менші за розмірами порівняно з контролем та знаходилися в просвіті судини і лише поодинокі мали пристінкове прикріплення. Велика частина ендотеліоцитів судин мікроциркуляторного русла були нормохромними, периваскулярний набряк менш виражений, у периваскулярних просторах наявні лише поодинокі вільні лімфоцити та гранулоцити, тоді як у контрольній групі тварин їхня кількість була більшою. Ендотеліальна вистілка в капілярах, так само як у контрольній групі, не суцільна, ядра ендотеліоцитів коливались від нормохромних до гіперхромних, їх кількість приблизно однакова. Значно зменшена кількість ендотеліоцитів із вакуолізованою цитоплазмою, на відміну від тварин контрольної групи, що вказувало про перичелюлярний набряк клітини (рис. 4).

У щурів із модельованою ІР головного мозку, яким вводили волювен на 4-ту добу, патоморфологічні зміни нейронів та клітин мікронейроглії були значно менше вираженими, порівняно з групою тварин, яким не проводили уведення розчинів. Вогнища некрозу речовини головного мозку

нейронів менші, ніж у тварин без фармакокорекції, і виявлялись не у всіх полях зору.

Зони загибелі нейронів були меншими та становили 18,5±2,8 %, що на 45 % менше, ніж у групі тварин, яким не проводили фармакокорекції ( $p < 0,05$ ). Будова більшої частини нейронів подібна за структурою до інтактних тварин. Відбулися зміни у співвідношенні гіпо-, гіпер- та нормохромних нейронів, переважали гіперхромні нейрони, проте їх кількість була меншою відносно кількості в групі контролю. Однак тут були наявні нормохромні нейрони в достатній кількості. У групі щурів, яким вводили волювен, у всіх шарах сенсомоторної кори наявна гіперплазія нейроглії. Спостерігається зближення мікрогліоцитів з пошкодженими нейронами і оточення їх своїми відростками, в яких наявні ознаки фагоцитарної активності. У перифокальній зоні ішемічної напівтілі поряд із нейронами розташовуються астроцити та клітини нейроглії, які мають збільшену кількість вакуоль і виконують метаболічно-молекулярну підтримку нейронів. Курсове уведення волювену призвело до збільшення кількості клітин нейроглії, а саме астроцитів, що вказувало на включення регенераторних процесів у макроглії на тлі ішемічних процесів (див. рис. 4).

У групі щурів з ІР, яким вводили волювен, на 7-му добу патоморфологічні зміни нейронів та клітин нейроглії були менше вираженими, ніж у групі контролю, проте більш виражені, ніж у групі тварин, яких досліджували на 4-ту добу. У сенсомоторній ділянці кори великих півкуль ділянки нейронів нормохромні, з чітко контурованими ядрами, які вміщували одне, інколи два, ядерця. Також зазнали змін перичелюлярні простори, вони помірно розширені, але просвіт самих кровоносних судин із помірним повнокров'ям, артеріоли дещо розширені. Венозні структури не змінили своєї структури порівняно з контролем. Ендотеліальна вистілка в стінках кровоносних капілярів цілісна, проте є незначні ділянки з поверхневою десквамацією, базальні мембрани рівномірні, з поодинокими ознаками помірного набряку. У зоні пенумбри наявні зони з ділянками новоутворених капілярів. Венули повнокровні, у просвітах наявні чисельні еритроцити та поодинокі лейкоцити. У периваскулярних просторах навколо деяких судин розташовувалися лімфоцити, проте їх кількість була значно меншою порівняно з контрольною групою. При цьому мікронейроглія має дрібнозернисту структуру з ознаками гіпертрофії та активним заміщенням пошкоджених нейронів сенсомоторної кори (рис. 5).

Отримані дані вказують на те, що застосування розчину волювену покращує кровообіг у ділянці ішемії головного мозку при ГПМК за рахунок протекції судин мікроциркуляторного русла та стабілізації гемодинаміки, про що свідчило зменшення деструктивних та дегенеративних змін ендотелію. Курсове уведення волювену призводило до збільшення кількості клітин нейроглії, що

вказує на активацію регенераторно-репаративних процесів у макроглії на тлі ішемії.

### Висновки

1. Проведене дослідження показало, що ішемія-реперфузія головного мозку провокує появу багатьох специфічних патоморфологічних змін у судинній стінці кровососного мікроциркуляторного русла кори великих півкуль сенсомоторної зони та безпосередньо в речовині головного мозку шурів.

2. Курсова терапія шурів на тлі гострого порушення мозкового кровообігу колоїдно-ізоосмолярним розчином волювен не призвела до повного стабільного відновлення структури кори великих півкуль сенсомоторної зони, але помітно знизил негативний вплив гіпоксії на протязі семи діб спостереження та покращила репаративно-компенсаторні механізми мікроглії та нейронів, переважно за рахунок стабілізації гемодинаміки в судинах мікроциркуляторного русла.

**Перспективи подальших досліджень.** Ефект, який був отриманий після застосування волювену, є підставою для вивчення захисної дії інфузійних препаратів інших груп при гострому пору-

шенні мозкового кровотоку в експерименті та клінічній практиці.

### Література

1. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
2. Карзин А.В. Особенности инфузионной терапии при острых заболеваниях и повреждениях головного мозга, сопровождающихся внутримозговыми кровоизлияниями: автореф. дис. канд. мед. наук: 14.00.37; 14.00.28 / Карзин Алексей Владимирович. – М., 2003. – 23 с.
3. Прокопів М.М. Роль нейропротекторної терапії у відновленні неврологічних функцій у хворих з гострим ішемічним інсультом / М.М. Прокопів // Укр. неврол. ж. – 2013. – № 3 (28). – С. 45-54.
4. Трошин В.Д. Неотложная кардионеврология / В.Д. Трошин, Н.Н. Бровков // М: Медицинское информационное агентство, 2010. – 672 с.
5. Ходаковский А.А. Особенности формирования пост-реперфузионного повреждения нейронов – характеристика модели «ишемия-реперфузия». Новые направления и перспективы развития современной церебропротекторной терапии ишемического инсульта / А.А. Ходаковский, Л.И. Маринич, О.В. Багаури // Врач-аспирант. – 2013. – № 3 (58). – С. 69-76.
6. James D. Geyer, Camilo R. Gomez. Stroke. A practical approach. Lippincott Williams & Wilkins, 2009. – 361 p.

## ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИИ НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ВОЛЮВЕНА

*А.И. Семененко<sup>1</sup>, Н.О. Семененко<sup>1</sup>, Б.О. Кондрацкий<sup>2</sup>, Ю.Ю. Кобеляцкий<sup>3</sup>,  
Ю.А. Зведенюк<sup>4</sup>, Г.И. Хребтій<sup>5</sup>*

**Резюме.** Проведенное морфологическое исследование головного мозга крыс с острой церебральной ишемией показало, что ишемия-реперфузия головного мозга провоцирует появление многих специфических патоморфологических изменений в стенке микроциркуляторного русла сенсомоторной коры больших полушарий. При этом курсовая терапия крыс коллоидно-ізоосмолярным раствором волювен не приводила к полному стабильному восстановлению структуры коры больших полушарий сенсомоторной зоны, но заметно снизила негативное влияние гипоксии на протяжении семи суток наблюдения и улучшила репаративно-компенсаторные механизмы микроглии и нейронов, преимущественно за счет стабилизации гемодинамики в сосудах микроциркуляторного русла.

**Ключевые слова:** головной мозг, ишемия-реперфузия, волювен.

## FEATURES OF MORPHOLOGY OF RAT BRAIN WITH ACUTE CEREBRAL ISCHEMIA ON THE BACKGROUND OF VOLUVEN INTRODUCTION

*A.I. Semenenko<sup>1</sup>, N.O. Semenenko<sup>1</sup>, B.A. Kondratskyi<sup>2</sup>, Y.Y. Kobeliatskyi<sup>3</sup>,  
Y.A. Zvedeniuk<sup>4</sup>, H.I. Khrebtii<sup>5</sup>*

**Abstract.** Morphological study of rat brain with acute cerebral ischemia showed that ischemia-reperfusion of the brain provokes the appearance of many specific pathological changes in the wall of a blood vessel microcirculation of the sensorimotor cortex. In this case the course therapy of rats with colloidal and isoosmolar solution Voluven did not lead to a stable full restoration of the structure of the cerebral cortex sensorimotor areas, but significantly reduced the negative impact of hypoxia within 7 days of observation and improved reparative and compensatory mechanisms of microglia and neurons, mainly due to the stabilization of hemodynamics in the vessels of the microcirculation.

**Key words:** brain, ischemia-reperfusion, voluven.

<sup>1</sup>National Pirogov Memorial Medical University (Vinnytsia)

<sup>2</sup>SE «Institute of blood pathology and transfusion medicine of AMS of Ukraine» (Lviv)

<sup>3</sup>SE «Medical academy of Health Ministry of Ukraine» (Dnipropetrovsk)

<sup>4</sup>City Clinical Emergency Hospital (Vinnytsia)

<sup>5</sup>Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)