

Надсумок

Проведення ранньої некректомії та застосування ліофілізованої ксеношкіри вже в стадії ранньої токсемії (7 доба після термічної травми) створюють необхідні умови для покращення мікроциркуляції в міокарді серця. В пізні терміни досліду корекція опіків ксеношкірою сприяє відносній нормалізації ультраструктури гемокапілярів, що позитивно впливає на обмінні процеси в органі.

Перспективи подальших досліджень. Отримані наукові результати можна використати для подальших досліджень стану мікроциркуляторного русла серця в умовах застосування різних корисуючих чинників при експериментальній термічній травмі.

Література

1. Бігуняк В.В. Термічні ураження / В.В. Бігуняк, М.Ю. Повстаний // – Тернопіль: Укрмедкнига, - 2004. – 196 с.
2. Гембицкий Е.В. Патология внутренних органов при травме / Е.В. Гембицкий, Л.М. Клячкин, М.М. Кирилов // – М.: Медицина, - 1994. – 256 с.
3. Парамонов Б. А. Ожоги: Руководство для врачей / - 2000. – 480 с.
4. Щеголев А.И. Патологическая анатомия и патогенез ожоговой болезни / А.И. Щеголев, А.А. Алексеев, Е.М. Чеботкова [и др.] // Материалы международной конференции: Актуальные проблемы термической травмы. – 2002. – С. 231-232.

Реферати

СУБМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕМОКАПИЛЛЯРОВ СЕРДЦА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ЛИОФИЛИЗОВАННОЙ КСЕНОКОЖИ

Ветер В.С., Волков Л.С., Небесная З.М.

В эксперименте на белых крысах - самцах проведены электронномикроскопические исследования кровеносных капилляров миокарда сердца после тяжелой термической травмы в условиях применения лиофилизированной ксенокожи. Установлено, что использование ксенокожи предупреждает развитие деструктивных изменений в гемокапиллярах сердца в ранние сроки опыта и положительно влияет на протекание регенераторных процессов и нормализацию микроциркуляторного русла в поздние сроки эксперимента.

Ключевые слова: гемокапилляр, сердце, ультраструктурные изменения, термическая травма, лиофилизированная ксенокожа.

Стаття надійшла 30.10.2013 р.

SUBMICROSCOPIC CONDITION OF HEMOCAPILLARIES OF HEART IN EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA AND LYOPHILIZED XENOGRAFTS USING

Viter V.S., Volkov K.S., Nebesna Z.M.

In the experiment on white rats electronicmicroscopic changes of blood capillaries of myocardium were researched in severe thermal trauma and lyophilized xenografts usage. It is proved that xenografts using prevents development of destructive changes in the hemocapillaries of the heart in early terms of experiment and causes positive effects on regenerative processes and normalization of microcirculatory bed in late stages of experiment.

Key words: hemocapillary, heart, submicroscopic changes, thermal trauma, lyophilized xenografts.

Рецензент Шепітько В.І.

УДК 616.379-008.64-092.9:616.831.3:577.112

В.А. Гузь, Л.В. Гузь, Г.А. Клопоцький

ІІЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпропетровськ

СТАН НЕРВОВОСПЕЦИФІЧНИХ БІЛКІВ В КОРІ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ТА ГІПОКАМПІ БІЛИХ ШУРІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

В роботі досліджували вплив експериментального цукрового діабету на вміст і поліпептидний склад гліального фібрилярного кислого білка, а також вміст білка S-100 в корі великих півкуль і гіпокампі білих шурів. Експериментальний цукровий діабет моделювали введенням аллоксану (120 мг/кг). Встановлено, що експериментальний цукровий діабет викликав збільшення деградації складу гліального фібрилярного кислого білка, суттєве зростання загальної кількості гліального фібрилярного кислого білка та S-100 у всіх досліджуваних відділах.

Ключові слова: аллоксан, цукровий діабет, шури, гліальний кислий білок, S-100.

Дослідження молекулярних основ інтегративної діяльності мозку є одним з ведучих і перспективних напрямків сучасної нейропатології. Значна увага при цьому приділяється білкам, оскільки вони є об'єктом різноманітних форм регуляції, виконують, в свою чергу, також регуляторну функцію і відіграють, таким чином, важливу роль в інтеграції основних морфологічних процесів мозку. Особливий інтерес викликають білки, що визначають характерні особливості функціонування мозку, тобто нервовоспецифічні білки (НСБ).

Впливи несприятливих чинників навколишнього середовища, порушення гомеостазу організму сприяють розвитку патологічної картини у центральній нервовій системі (ЦНС). Порушення функціонування клітин нервової тканини може супроводжуватися змінами їх внутрішньоклітинної архітектури. Надзвичайно чутливі до змін мікрооточення астроцити [3]. Мобільні перебудови їх морфології відбуваються за рахунок реактивних змін цитоскелетного апарату, що є необхідним для функціонування цих клітин після пошкодження. Зважаючи на те, що в ЦНС хребетних тварин реактивні зміни астроцитів після пошкоджень що спричинені захворюваннями, інтоксикацією, травмою, стан гліальних проміжних філаментів і фізико-хімічні властивості їх білків можна розглядати як показник функціональної активності астроглії.

Найбільш специфічний білок мозкової тканини – S-100 β , відіграє важливу роль в синаптогенезі. Підвищенням його вмісту в мозку шурів супроводжується процес навчання (формування харчового рефлексу). Введення S-100 β в гіпокамп шурів полегшує формування довготривалої пам'яті [2].

Гліальний фібрилярний кислий білок (ГФКБ) – гістоспецифічний компонент проміжних філаментів (ПФ) цитоскелету астроцитів [3]. У складі ПФ відіграє вирішальну роль у модуляції руху астроцитів та забезпеченні стабільної морфології їх відростків в умовах розвитку реактивного астроцитозу [3,4]. Більшість робіт, присвячених

вивченню цього білка, стосуються його філаментної форми, тоді як характер змін співвідношення фібрилізованого та розчинного пулів ГФКБ, їх поліпептидна гетерогенність і досі залишаються нез'ясованими [5-8].

Значне зниження утилізації глюкози, що спостерігається в мозку хворих на цукровий діабет асоційовано з пізнавальним дефіцитом, особливо – змінами пам'яті, зниження здатності до вироблення нових навичок, що супроводжується нейрофізіологічними і структурними змінами в мозку [5].

Метою роботи було встановлення вмісту гліального фібрилярного кислого білка та білка S-100 в корі великих півкуль та гіпокампі при експериментальному цукровому діабеті у щурів.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведено на 10 щурах лінії Вістар 6-7 місяців (далі «щури середнього віку»), які утримувалися в стандартних умовах виварію. Тварини були розподілені на інтактну групу («контроль») та групу з експериментальним ЦД («ЦД»). Експериментальні дослідження проводились із суворим дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребтових тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986).

ЦД моделювали шляхом інтраперитонеального введення розчину алоксану моногідрату (120 мг/кг, "Sigma"). Відтворення ЦД контролювали за вмістом глюкози в крові, який визначали за допомогою портативного глюкометра "Bionime". На 10-й день відбирали тварин, що мали стійку гіперглікемію із показником глюкози периферичної крові вище ніж 28 ммоль/л. По закінченні зазначеного терміну тварин декапітували, виділяли головний мозок, розділяли його на відділи – кора великих півкуль і гіпокамп. Тканину мозку після очищення від оболонок і кровоносних судин поміщали у скляний гомогенізатор з тефлоновим поршнем з додаванням 50 ммоль/л трис-НСІ буфера (рН 7,4) у співвідношенні тканина: буфер – 1:6.

Трис-буферна система (буфер А) була наступного складу (ммоль/л): ЕДТА – 2, меркаптоетанол – 1, фенілметилсульфонілфторид – 0,1 та соєвий інгібітор трипсину – 5. Дослідження проводили при 4°C. Гомогенат центрифугували при 30000 g впродовж 60 хв. Отриманий супернатант (S1) містив розчинні білки мозку. Осад (P1) промивали після його ресуспендування в буфері А з додаванням 4 ммоль/л сечовини (буфер В) і інкубували 12 год. Подальше центрифугування проводили при 30000 g впродовж 60 хв. Супернатант (S2) містив водонерозчинні філаментні білки. Білкові фракції S1 і S2 ділили за молекулярною масою методом електрофорезу у пластині поліакриламідного гелю товщиною 1 мм за методикою Laemmli. Для розділення білків розчинної та сечовинної фракцій головного мозку у гелі створювали градієнт акриламідів T=7-18% при наявності 0,1%-го додецилсульфату натрію. Аналіз поліпептидного складу проводили за допомогою імуноблотингу. Після електрофоретичного розділення білки переносили на нітроцелюлозні мембрани у 12,5 ммоль/л трис-НСІ буфері при наявності 0,2 моль/л в-гліцину, 30% метанолу, 2 моль/л сечовини.

Для імунохімічної ідентифікації використовували поліклональну моноспецифічну кролячу антисироватку у розведенні 1:1500. Кількісний аналіз НСБ проводили порівнянням інтенсивності забарвлення відповідних поліпептидних зон між експериментальними та контрольними пробами. Інтенсивність забарвлення зон поліпептидів ГФКБ та S-100 з мозку щурів контрольних груп приймали за 1 (100%).

Цифрові дані експериментів обробляли методами варіаційної статистики та за допомогою програмного забезпечення Microsoft Excel, Statistica 6.0. Вірогідність отриманих результатів оцінювали за допомогою критерію t-Стьюдента для параметричних методів.

Результати дослідження та їх обговорення. Як наслідок реалізації токсичної дії глюкози, було знайдено суттєве нарощування концентрації S-100 та ГФКБ, з більш інтенсивним збільшенням сечовинної фракції ГФКБ. Визначення кількості нерозчинної фракції ГФКБ в КВП експериментальних тварин показало значне підвищення концентрації даної фракції, що складало 261% відносно контролю (p<0,01) (табл. 1). Окрім цитоскелетної фракції ГФКБ, в неокортексі молодих щурів відмічалось підвищення й розчинної фракції даного поліпептида на 115% відносно інтактних тварин (табл. 1), що вказує на виражену астрогліальну відповідь. Встановлено, що концентрація нерозчинної фракції астрогліального цитоскелетного білка в неокортексі зростала до 83% (p<0,05), а в гіпокампі – до 190% (p<0,01) (табл. 1).

При вивченні поліпептидного складу філаментної фракції ГФКБ на імуноблотингу, окрім основної субодиниці 49 кДа, були виявлені зони, які представляли собою білки з меншою молекулярною масою (Mr).

Таблиця 1

Рівні гліального фібрилярного кислого білка і білка S-100 у структурах головного мозку щурів за умов цукрового діабету

	Інтактні щури, n=10		Тварини з цукровим діабетом, n=10		P	P1
	КВП M±m	Гіпокамп M±m	КВП M±m	Гіпокамп M±m		
S-100	1,00±0,01	1,00±0,01	2,31±0,03	2,49±0,03	<0,01	<0,01
ГФКБ: -розчинна фракція	1,00±0,01	1,00±0,01	2,15±0,03	1,83±0,02	<0,05	<0,05
-сечовинна фракція	1,00±0,01	1,00±0,01	3,61±0,04	2,90±0,03	<0,01	<0,01

Примітки: середнє значення та похибка середнього M±m; КВП – кора великих півкуль, ГФКБ – гліальний фібрилярний кислий білок; P – порівняння даних контрольних і дослідних тварин; P1 – порівняння даних гіпокампа контрольних і дослідних тварин.

В корі великих півкуль спостерігались деградовані поліпептиди 42-47 кДа. В гіпокампі кількість деградованих фракцій була представлена ще більшим спектром. Тут з'явилися, окрім вищевказаних форм, ще й поліпептиди з Mr 35-37 кДа. Аналіз імунофореграми розчинного ГФКБ також показав наявність продуктів деградації основної інтактною субодиниці та в меншому ступені, ніж у сечовинній фракції. Зокрема, в корі і в гіпокампі можна відмітити появу поліпептидів 42-47 кДа. Таке значне збільшення деградованих фракцій, як в складі філаментного, так і розчинного ГФКБ, найімовірніше свідчить про інтенсивні цитоскелетні перебудови

астроглії. Таким чином, суттєве підвищення вмісту ГФКБ в корі і гіпокампі тварин є доказом посилення експресії цитоскелетного білка та (або) проліферації астроцитів. Рівень експресії іншого гліального маркера – білка S-100 – також значно підвищувався за умов експериментального ЦД. Аналізуючи результати визначення вмісту даного НСБ в корі і гіпокампі, можна відмітити значне зростання кількості поліпептида, що складало 131 і 149% відповідно контрольних показників (табл. 1).

Насумок

Значне зростання вмісту філаментного і розчинного ГФКБ та S-100, маркерів активності гліальних клітин, а також поява деградованих фракцій ГФКБ за умов ЦД свідчить про порушення стану проміжних філаментів астроцитів і розвиток гліозу, що вочевидь є результатом посилення експресії даних НСБ, фібрилогенезу та проліферації астроглії. Подальші експериментальні дослідження представляються достатньо сучасними та важливими як з теоретичної, так і з практичної точки зору.

Література

1. Дроздов О.Л. Динаміка вмісту гліального фібрилярного кислого білка і лізосомних протеаз у фронтальній корі щурів при формуванні умовно-рефлекторної пам'яті / О.Л. Дроздов, В.І. Чорна // Медичні перспективи. – 2009. – Т. XIV, № 4. – С. 1 – 4.
2. Никандров В.Н. Протеїн S-100: структурно-функціональні свойства и роль в нервной ткани / В.Н. Никандров, Е.В. Чаплинская // Биополимеры и клетка. – 2005. – Т. 21, № 1. – С. 12 – 27.
3. Чорная В.И. Влияние ионизирующей радиации на содержание белка промежуточных филаментов глии и состояние протеолиза головного мозга / В.И. Черная // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. – 2010. – № 2. – С. 26–29.
4. Чорна В.І. Вплив іонізуючого випромінювання на вміст білка проміжних філаментів глії головного мозку і цистеїнової протеази / В.І. Чорна, О.Л. Лянна // Техногенна безпека. – 2010. – Вип. 126, Т. 139. – С. 64 – 68.
5. Frontczak-Baniewicz M. Ultrastructural and immunochemical studies of glial scar formation in diabetic rats / M. Frontczak-Baniewicz, L. Struzynska, J. Andrychowski [et al.] // Acta. neurochir. suppl. – 2010. – № 106. – P. 51 – 55.
6. Theodosis D. Activity-dependent structural and functional plasticity of astrocyte-neuron interactions / D. Theodosis, D. Poulain, S. Oliet // Physiol. rev. – 2008. – Vol. 88. – P. 983 – 1008.
7. Wu Y. Age related changes of various markers of astrocytes in senescence-accelerated mice hippocampus / Y. Wu, A. Zhang, D. Yew // Neurochem. internat. – 2005. – Vol. 46. – P. 565 – 574.
8. Witcher M. Plasticity of perisynaptic astroglia during synaptogenesis in the mature rat hippocampus / M. Witcher, S. Kirov, K. Harris // Glia. – 2006. – Vol. 55. – P. 13 – 23.

Реферати

СОСТОЯНИЕ НЕРВНОСПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛКОВ В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ И ГИППОКАМПЕ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Гузъ В.А., Гузъ Л.В., Клопоцкий Г.А.

В работе исследовали влияние экспериментального сахарного диабета на содержание и полипептидный состав глиального фибриллярного кислого белка, а также содержание белка S-100 в коре больших полушарий и гиппокампе белых крыс. Экспериментальный сахарный диабет моделировали введением аллоксана (120 мг/кг). Установлено, что экспериментальный сахарный диабет вызвал увеличение деградации состава глиального фибриллярного кислого белка, существенный рост общего количества глиального фибриллярного кислого белка и S-100 во всех исследуемых отделах.

Ключевые слова: аллоксан, сахарный диабет, крысы, глиальный кислый белок, S-100.

STATE OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM PROTEINS IN THE CEREBRAL CORTEX AND HIPPOCAMPUS OF RATS IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS CONDITIONS

Guz V.A., Guz L.V., Klopotsky G.A.

We investigated the effects of experimental diabetes on the content and polypeptide composition of glial fibrillary acid protein (GFAP) and protein S-100 in the cerebral cortex and hippocampus of rats. Experimental diabetes was simulated by alloxan injections (120 mg/kg). A significant increase of filament content and soluble GFAP and S-100, glial cell marker activity, and also the appearance of degraded fractions of GFAP under conditions of diabetes confirms a violation of intermediate filaments of astrocytes and development of gliosis, is clearly the result of increased expression data NSB, fibrylogenesis and proliferation of astroglia.

Key words: alloxan, diabetes mellitus modeling, rats, GFAP, S-100 protein.

Стаття надійшла 01.11.2013 р.

Рецензент Непорада К.С.

УДК 616.831-005.1-005.4-036

В. В. Колтунов, В. М. Бибикова

ІЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпропетровськ

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КОРИ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ПЕРВИННОМУ ТА ПОВТОРНОМУ ГЕМОРАГІЧНОМУ ІНСУЛЬТІ

Досліджено структурно-морфологічні зміни при первинному та повторному геморагічному інсульті. Встановлено, що патогенез первинного і повторного геморагічного інсульту характеризується прогресуючою динамікою розвитку набряку тканини мозку і дистрофічними змінами. Гострий період (до 21 доби) інсульту включає виразну гідропічну дистрофію, загибель 8,4±1,0% (p<0,05) нейронів кори інсультної півкулі після первинного і 15,4±2,0% (p<0,05) після вторинного геморагічного інсульту. В ранньому відновному періоді (3-6 місяців) процеси набряку тканини мозку вже виражені в меншій мірі, а віддалені нейродегенеративні процеси характеризуються ішемічним типом загибелі клітин. Щільність нейронів при первинному інсульті зменшується на 28,1±2,5% (p<0,05), а при повторному на 33,7±3,9% (p<0,05).

Ключові слова: первинний геморагічний інсульт, повторний інсульт, нейродегенерація, кора великого мозку.

Геморагічний інсульт складає близько 20-30% всіх інсультів і є значущою медичною та соціальною проблемою, оскільки найчастіше крововилив у мозок розвивається у хворих працездатного віку - 45-60 років [1]. Первинні внутрішньомозкові крововиливи складають від 70% до 80% від усіх внутрішньочерепних крововиливів, при цьому летальність залишається високою і до теперішнього часу (60-70%) [3, 4]. Повторний