

ВПЛИВ КЛОЗАВЕРМУ А, КЛОЗАНТЕЛУ, АВЕРСЕКТУ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ СЕНСОМОТОРНОЇ КОРИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ

Г. І. Коцюмбас¹, М. І. Гуменецька²

¹Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С. З. Гжицького

²Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок

Подана ультраструктура сенсомоторної кори головного мозку щурів за введення клозаверму А, клозантелу і аверсекту у терапевтичній дозі 14 діб поспіль. Встановлено, найбільш виражені ультраструктурні зміни в нейронах головного мозку, дендритних відростках, порушення двоконтурної мембрани капілярів, зернистий розпад астроцитів та розшарування ламел мієлінових оболонки аксонів, за введення аверсекту. За впливу клозаверму А та клозантелу ультраструктурні зміни характеризуються вогнищевими ураженнями астроцитарних і дендритних відростків, зменшенням вмісту хроматину та органел у пірамідних нейронах щурів.

Дослідження, спрямовані на вивчення структурного стану нервової тканини за дії на організм різноманітних речовин екзогенного походження, посідають особливе місце у ветеринарії. Кожне із структурних утворень мозку має свою специфічну функціональну організацію та характеризується своєрідними метаболічними процесами. Ураження будь-якої анатомічної ділянки мозку, яка відповідальна за ті чи інші реакції, обов'язково відобразиться на функціональному стані організму тварин.

У сучасній літературі відсутні повідомлення про морфологічні дослідження тканини мозку за введення протипаразитарних препаратів. Вивчення морфологічних змін структурних елементів головного мозку за тривалого впливу клозаверму А, клозантелу і аверсекту у терапевтичній дозі, дасть можливість розкрити окремі механізми, які лежать в основі фармакодинаміки досліджуваних протипаразитарних препаратів [1].

Метою нашої роботи було вивчення ультраструктурного стану капілярів, нейронів, аксонів, дендритів кори головного мозку щурів за введення 14 діб поспіль клозаверму А, клозантелу і аверсекту у терапевтичній дозі.

Матеріал і методи. Досліди проводили у віварії ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. Токсичність препарату за багаторазового введення вивчали на 48 білих щурах-самцях, 2-3-місячного віку, масою тіла 170-185 г. Із них було сформовано 4 аналогічні групи по 12 щурів у кожній. Перша група тварин була контрольною. Їм підшкірно вводили розчин із дистильованої води та пропіленгліколю у співвідношенні 1:1. Тваринам інших трьох дослідних груп вводили 14 діб поспіль препарати у терапевтичній дозі — 0,05 мл/кг: II групі — клозаверм А, III групі — клозантел, IV — аверсект. Для вивчення динаміки структурних змін сенсомоторної кори головного мозку за дії препарату, на 7 і 14 доби, щурів зважували, декапітували, за умов легкого ефірного наркозу, відбирали кров для гематологічних досліджень. Проводили патологоанатомічний розтин, визначали макроскопічні зміни та відбирали мозок для ультраструктурних досліджень.

Фронтальні ділянки кори головного мозку фіксували в 1,5 % розчині глютарового альдегіду, приготовленому на 0,2 М кокадилатному буфері (рН – 7,2) упродовж 2 годин. Зразки промивали в двох порціях буфера і переносили в 1,5 % розчин чотирьохокису осмію.

Тканину зневоднювали і заливали в епон. Ультратонкі зрізи контрастували уранілацетатом і цитратом свинцю та розглядали в електронному мікроскопі [2].

Результати й обговорення. Макроскопічно у щурів I групи видимих змін головного мозку і його оболонок не спостерігали, тоді як у щурів II, III і IV груп виявлено помірне кровонаповнення судин мозкових оболонок.

За електронно-мікроскопічного дослідження сенсомоторної кори головного мозку щурів контрольної групи відзначали чітко структуровану двоконтурну мембрану капілярів, з якою тісно контактували відростки гліальних клітин. Цитоплазма ендотеліальної клітини містила велику кількість рибосом, мітохондрій зі щільно розміщеними кристами. Мієлінові оболонки аксональних відростків осміофільні, їх ламели тісно прилягали одна до одної (рис. 1).

У нейронах ендоплазматична сітка займала значну площу, а на її мембранах розміщувалась велика кількість рибосом, що вказувало на високу структурно-функціональну активність клітин. Ядра нервових клітин багаті хроматином, який великими осміофільними грудками розміщувався біля каріолеми. Збудовані із зернистого матеріалу ядерця, проглядались у вигляді щільного, великого утворення округлої форми в каріоплазмі нейронів [3]. Ділянки з найбільшою щільністю органел завжди знаходились у безпосередній близькості до ядер і, частіше за все, ближче до місця ектопічного розміщення ядерця, що свідчило про посилення обмінних процесів між ядром і цитоплазмою (рис. 2).

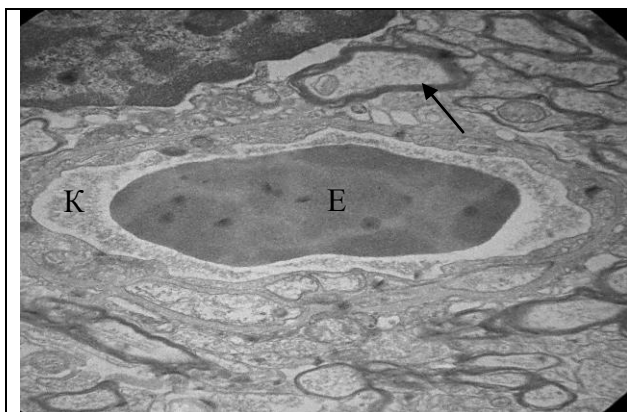


Рис. 1. Електроннограма капіляра кори головного мозку щурів контрольної групи. Ламели (показано стрілкою). Еритроцит (Е). Капіляр (К). Зб. 4000

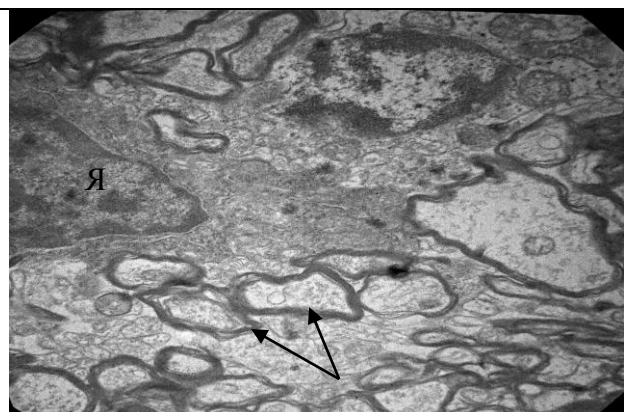


Рис. 2. Електроннограма нейрона кори головного мозку щурів контрольної групи. Ядро (Я). Аксональні відростки (показано стрілками). Зб. 3000

Нейропіль сенсомоторної кори представлений поздовжніми та поперечними переплетеннями аксонів, дендритів і відростків гліальних клітин, серед яких найбільш виразно виділяються мієлінізовані волокна аксонів та світлі дендрити. Відростки гліальних клітин займають порівняно невелику частину нейропіля [4].

Аксони відносно великого діаметру, у межах початкового сегменту на поперечних зрізах проглядались пучки мікротрубочок. Зрізи аксонів за межами початкового сегменту містять органели такі, як і в інших ділянках нейрона (мітохондрії, нейрофіламенти, агранулярний ендоплазматичний ретикулум, міхурці та мультівезикулярні тільця), за винятком гранулярного ендоплазматичного ретикулума і вільних рибосом (рис. 3). Ультраструктура у великих дендритах відрізнялась наявністю мікротрубочок, кількість яких поступово зменшувалась по мірі того, як проходили розгалуження та потоншення відростків. Крім мікротрубочок, у дендритах траплялися нейрофіламенти, цистерни гранулярного й (рідше) агранулярного ендоплазматичного ретикулуму, мітохондрії, невеликі вакуолі, лізосоми. Характерною відмінністю дендритів від аксонів є наявність у перших шипиків із шиповим апаратом та зон постсинаптичної спеціалізації [5] (рис 3).

У щурів II групи, яким 14 днів поспіль парентерально вводили клозаверм А у терапевтичній дозі, на електронограмах сенсомоторної кори навколо капілярів та в нейропілію виявляли поодинокі набряклі і просвітлені відростки астроцитарної глії (рис. 4, 5).

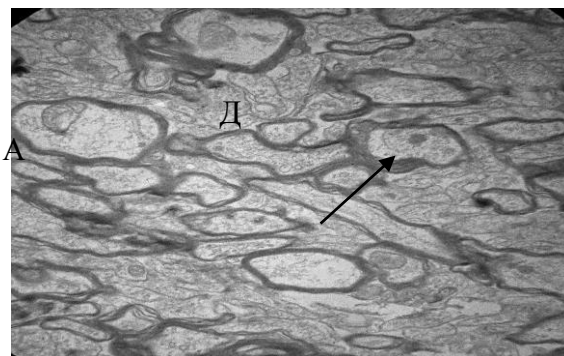


Рис. 3. Електронограма нейропілія кори головного мозку щурів контрольної групи. Аксони (А). Дендрити (Д). Мікротрубочки (показано стрілочкою). Зб. 3000

При цьому цитоплазма ендотеліальних клітин структурована, заповнена мітохондріями, рибосомами, двоконтурна мембрана збережена [6]. Ймовірно, за тривалого впливу клозаверму А, проникність капілярної стінки зростає, що спричиняє периваскулярний набряк астроцитарних відростків. У дендритних відростках спостерігаємо вогнищеві зміни, що супроводжуються не тільки зменшенням кількості органел та зникненням мікротрубочок в цих відділах, але й набряком відростків. У найбільш пошкоджених дендритах майже повністю відсутні органели, набряклі мітохондрії та невелика кількість лізосом, що свідчить про початкову стадію їх фрагментації та руйнування (рис. 5).

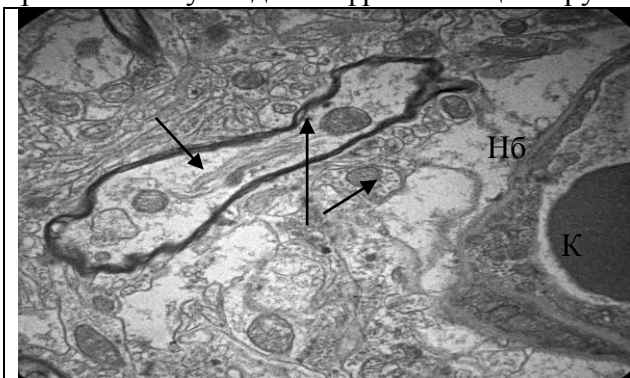


Рис. 4. Електронограма капіляра кори головного мозку щурів II групи. Мітохондрії (показано стрілками). Капіляр (К). Набряк астроцитарних відростків (Нб). Поздовжній зріз аксона (показано стрілкою). Зб. 4000

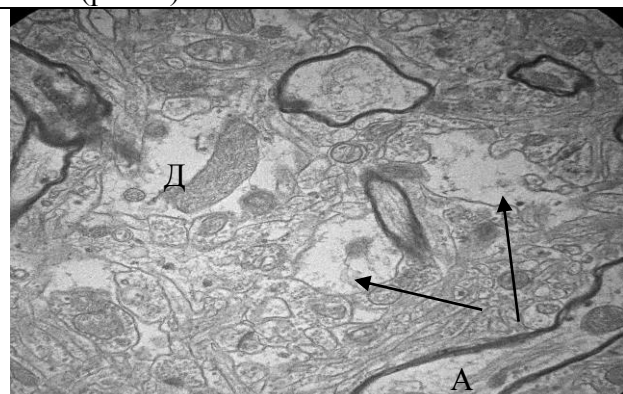


Рис. 5. Електронограма нейропілія кори головного мозку щурів II групи. Розширені дендритні відростки (Д). Набряклі астроцитарні відростки (показано стрілками). Зб. 3000

Структура аксональних відростків не пошкоджена. На поздовжніх зрізах добре видно чітко упаковані осміофільні ламели мієлінових оболонок, незмінений агранулярний ендоплазматичний ретикулум, мікротрубочки, нейрофіламенти, мітохондрії.

У нейронах, щурів II групи на 14 добу досліджування відзначали зменшення вмісту хроматину в ядрі, розширення мембран ендоплазматичного ретикулуму та зниження кількості рибосом, набряк та порушення крист мітохондрій. При цьому відбувалось збільшення кількості пероксисом (рис. 6).

У щурів III групи, яким вводили клозаверм у сенсомоторній корі відзначали набряк астроцитарних відростків навколо капілярів, нерівність контура базальної мембрани, порушення органел (рис. 7). Слід зазначити, що гліальні відростки, які оточують капіляр є збільшені та значно виділяються, в порівнянні з відростками в нейропілію.

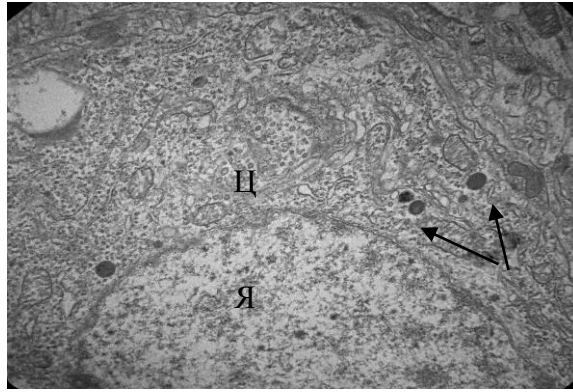


Рис. 6. Електронограма нейрона шурів II групи. Зменшений вміст хроматину в ядрі (Я). Цитоплазма (Ц). Пероксисоми (показано стрілками) Зб. 4000

На електронограмі у нейронах сенсомоторної кори каріоплазма переважно просвітлена, дрібнозернистий хроматин розсіяний по всьому ядрі, а невеличкі гранули рідко розміщуються біля ядерної мембрани. Характерна нерівність контурів та глибокі випинання ядерної мембрани [7]. Цитоплазма містить значну кількість везикул, поодинокі пероксисоми, цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулуму розширені, зменшується кількість рибосом. За межами цитоплазми проглядаються набряклі відростки із зменшеною кількістю і збільшеними розмірами синаптичні міхурці (рис. 8).

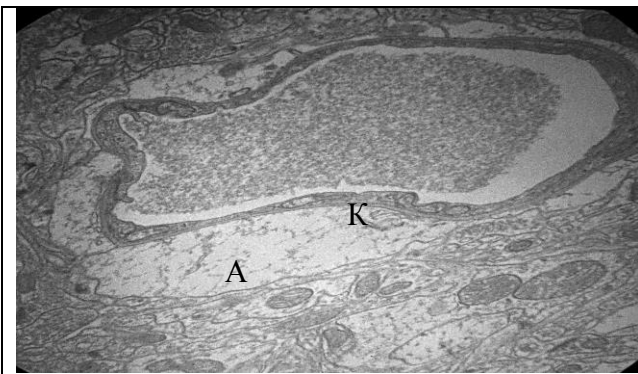


Рис. 7 . Електронограма капіляра кори головного мозку шурів III групи. Набряк астроцитарних відростків (А). Нерівність контуру базальної мембрани капіляра (К). Зб. 4000

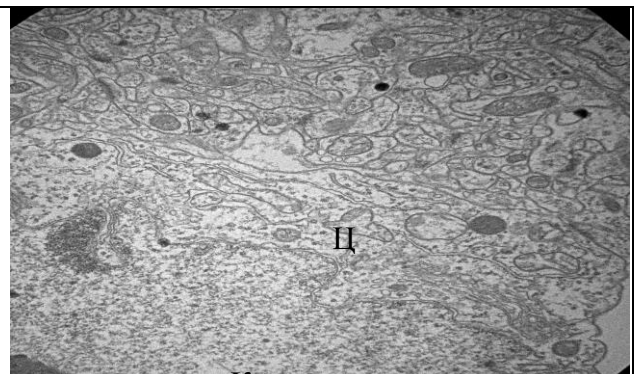


Рис. 8. Електронограма нейрона кори головного мозку шурів III групи. Просвітлена каріоплазма (К). Цитоплазма (Ц). Зб. 3000

При ультраструктурному дослідженні нейропіля виявлено зміни у дендритних відростках, при порівняно збереженій сомі нервових клітин. Дендрити сильно розширені з майже повністю відсутнім умістом органел. Реакція мітохондрій неоднозначна, поруч із зменшеною кількістю і зміненою структурою крист, різко просвітленим матриксом, збереженою подвійною контурністю зовнішньої мембрани, мали місце і порівняно інтактні форми [8] (рис. 9). Руйнування мітохондрій вказує на значне пригнічення енергетичного метаболізму, як у клітинах так і в дендритних відростках. Відомо, що при пошкодженні мітохондрій інгібується поглинання кисню й окиснювальне фосфорилування, порушується потенціал проникності мембран, посилюється вихід іонів Са [9]. Поряд з цим спостерігали поодинокі мікротрубочки. Відбувалось значне розширення терміналей і звивистість термінальних мембран дендритів. Упорядкована ліпопротеїдна система мієлінових оболонок не порушена, ламели щільно упаковані (рис. 10).

Найбільш виражені структурні ушкодження відзначали у нейронах та їх відростках сенсомоторної кори шурів IV групи, яким 14 днів поспіль вводили аверсект. У цитоплазмі нейронів характерним є набряк та розширення цистерн ендоплазматичного ретикулуму та зниження щільності розміщення рибосом, а також зменшення числа вільних полісом, які

концентруються поблизу ядра. Більшість мітохондрій збільшені, кристи зруйновані. Кількість дрібних синаптичних круглих міхурців зростала.

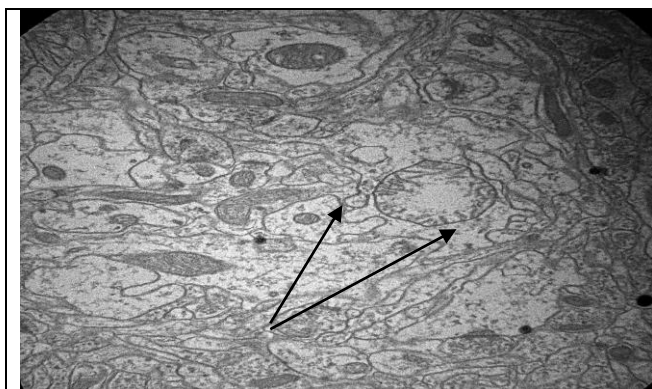


Рис. 9. Електроннограма нейропіля шурів III групи. Набряк дендритних відростків та мітохондрій (показано стрілками). Зб. 3000

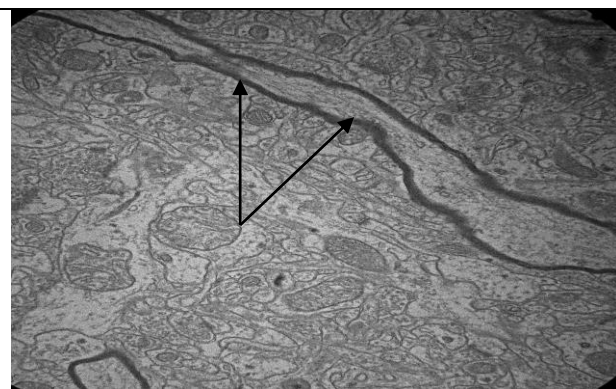


Рис. 10. Електроннограма нейропіля кори головного мозку шурів III групи. Ламели аксональних відростків (показано стрілками). Зб. 3000

Характерним для нервових та гліальних клітин є перерозподіл ядерного хроматину та дрібнозернисте розпошення його по всій каріоплазмі. Ядро набувало нерівних контурів, в ньому різко знижений вміст хроматину. Ядерця в таких клітинах були невеликих розмірів і дуже рідко виявлялись на периферіях клітин. У клітині зростала кількість пероксисом (рис. 11). Внаслідок дії аверсекту, сильно змінена ультраструктура капілярів. Базальна мембрана з вогнищевими змінами, розволоknена, вакуолізована, має нерівну товщину та зруйновані органели.

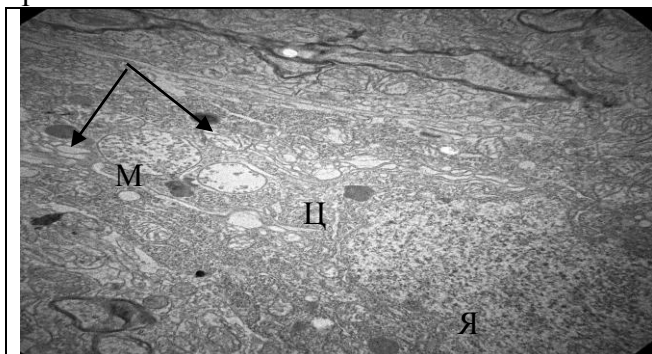


Рис. 11. Електроннограма нейрона кори головного мозку шурів IV групи. Ядро (Я). Цитоплазма (Ц). Пероксисоми (показано стрілками). Зруйновані мітохондрії (М). Зб. 4000

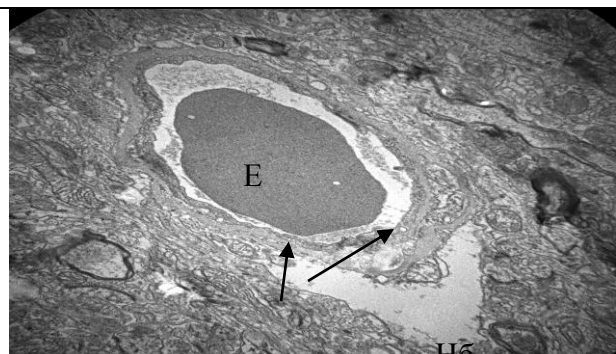


Рис. 12. Електроннограма капіляра кори головного мозку шурів IV групи. Еритроцит (Е). Розволоknена та вакуолізована базальна мембрана (показано стрілками). Набряк астроцитарних відростків (Нб). Зб. 4000

Тривале введення препарату призвело до накопичення його в крові й тканинах, внаслідок чого зросла проникність капілярної стінки, що спричинило її руйнування та розвиток перикапілярної реакції астроцитів [6] (рис. 12).

У нейропілі відзначалось не тільки порушення дендритних відростків, зменшення числа синаптичних міхурців, але й розшарування ламел мієлінових оболонок аксонів (рис. 13). У деяких дендритах зменшувалась кількість мікротрубочок, відбувалось значне розширення терміналей. В більшості синапсів зменшувався вміст синаптичних міхурців або спостерігалось дифузне розпошення їх по всій терміналі без концентрації міхурців біля пресинаптичних мембан. У місцях демієлінізації виявляли групи аксонів з розволоknенням і втратою ламел, просвіт яких заповнений автофагічними вакуолями. Утворення мієліноподібних тілець слід розглядати як продукт розпаду структур органел, зазвичай мітохондрій [10]. Інтенсивне нагромадження мієліноподібних структур і збільшення

кількості лізосом вказувало на інтенсивність катаболічних процесів. Зменшення числа синаптичних міхурців паралельно із збільшенням їх розмірів при пошкодженні аксонів, слід розглядати як початковий етап незворотних змін синапса (рис. 13).

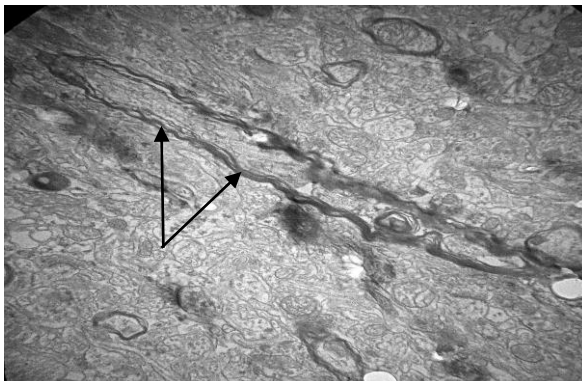


Рис. 13. Електроннограма нейропіля кори головного мозку щурів IV групи. Розшарування ламел аксональних відростків (показано стрілками). Зб. 3000

Відомо, що мієлінові волокна пов'язані із функціональним станом провідних шляхів, виконують функцію захисту, але є ізоляторами, які здатні змінювати провідність нервових волокон [10].

В И С Н О В К И

1. Тривале введення клозаверму А та клозантелу спричинило, в сенсомоторній корі набряк астроцитарних відростків і дендритів, перерозподіл ядерного хроматину та зміни багатьох органел у нервових та гліальних клітинах.

2. Найбільш виражені структурні ушкодження відзначали у сенсомоторній корі щурів IV групи, за введення аверсекту, які супроводжувалися порушенням дендритних та аксональних відростків, розшаруванням ламел мієлінових оболонок у нейропілю, зменшенням вмісту хроматину в ядрах, числа синаптичних міхурців, рибосом і деструкцією крист мітохондрій у цитоплазмі нервових клітин.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення впливу клозаверму А, клозантелу та аверсекту на кору головного мозку продуктивних тварин у рекомендованій дозі.

THE INFLUENCE OF KLOZAVERM A, KLOZANTEL, AVERSEKT ON ULTRASTRUCTURE SENSORIMOTOR CORTEX OF RATS BRAIN

G. I. Kotsymbas¹, M. I. Humenetska²

¹Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytsky

²State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives

S U M M A R Y

The ultrastructure of sensorimotor cortex of rats during the injection of klozaverm A, klozantel and aversekt in the therapeutic dose within 14 days was presented. The most pronounced ultrastructural changes in the neurons of the brain, dendritic processes, violation of the dual circuit capillary membrane, granular disintegration of astrocytes and the bundle of lamellas myelin membranes of axons during the injection of aversekt were determined. Under the effect of klozaverm A and klozantel, ultrastructural changes are characterized by focal destruction of astrocytome and dendritic processes, reduction of chromatin and organelles in pyramidal neurons of rats.

ВЛИЯНИЕ КЛОЗАВЕРМА А, КЛОЗАНТЕЛА, АВЕРСЕКТА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС

Г. И. Коцюмбас¹, М. И. Гуменецкая²

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий
имени С. З. Гжицкого

²Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных
препаратов и кормовых добавок

А Н Н О Т А Ц И Я

Представлена ультраструктура сенсомоторной коры головного мозга крыс при введении клозаверма А, клозантела и аверсекта в терапевтической дозе 14 суток подряд. Установлено, наиболее выраженные ультраструктурные изменения в нейронах головного мозга, дендритных отростках, нарушение двухконтурной мембраны капилляров, зернистый распад астроцитов и расслоения ламелей миелиновых оболочек аксонов, при введении аверсекта. Под влиянием клозаверма А и клозантела ультраструктурные изменения характеризуются очаговыми поражениями астроцитарных и дендритных отростков, уменьшением содержания хроматина и органелл в пирамидных нейронах крыс.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Коцюмбас І. Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Петерега та ін. // Л.: Тріада плюс, 2006. — С. 121–123.
2. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Навчальний посібник. / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський // Житомир : Полісся, 2005. — 288 с.
3. Питерс А. Ультраструктура нервной системы / А. Питерс, С. Палей, Г. Уэбстер // М. : Мир, 1972. — 175 с.
4. Манина А. А. Ультраструктурные основы деятельности мозга / А. А. Манина // М. : Медицина, 1976. — 100 с.
5. Анатомия и гистология нервной системы. Под редакцией И. Н. Филимонова. М. : Медгиз, 1959. — 487 с.
6. Kettenmann H. Neuroglia / H. Kettenmann, Bruce R. Ransom // Oxford University press.— New York, 1995. — 1073 с.
7. Боголепов Н. Н. Ультраструктура мозга при гипоксии / Н. Н. Боголепов // М. : Медицина, 1979. — 168 с.
8. Урбанович П. П. Патологічна анатомія тварин / П. П. Урбанович, М. К. Потоцький, І. І. Гевкан та ін. // К. : Аграрна основа, 2005. — 1166 с.
9. Ермохин П. Н. Гистопатология центральной нервной системы / П. Н. Ермохин // Атлас микрофотографий. М. : Медицина, 1969. — С. 153–205.
10. Скоромец А. А. Топическая диагностика заболеваний нервной системы / А. А. Скоромец, А. П. Скоромец, Т. А. Скоромец // С-Пб. : Политехника, 2004. — 397 с.