Achanta P. Gliomagenesis and the use of neural stem cells in brain tumor treatment /P.Achanta, R.N.I.Sedora, A.Qui?ones-Hinojosa //Anticancer agents med. chem.- 2010.- Vol.10(2).- P.121-130.

Bovenberg M.S. Advances in stem cell therapy against gliomas / M.S.Bovenberg, M.H.Degeling, B.A.Tannous //Trends mol. med.- 2013.- Vol.19 (5).- P.281-291.

Maintaining and loading neural stem cells for delivery of oncolytic adenovirus to brain tumors /A.U.Ahmed, I.V.Ulasov, R.W.Mercer [et al.] //Methods mol. biol.- 2012.- Vol.797.- P.97-109.

Human neural stem cells transduced with IFN-beta and cytosine deaminase genes intensify bystander effect in experimental glioma /S.Ito, A.Natsume, S.Shimato [et al.] // Cancer Gene Ther.- 2010.- Vol.17(5).- P.299-306.

Human neural stem/progenitor cells derived from embryonic stem cells and fetal nervous system present differences in immunogenicity and immunomodulatory potentials in vitro /J.Liu, C.G□therstr□m, M.Forsberg [et al.] // Stem Cell. Res.- 2013.- Vol.10 (3).- P.325-337.

Kim S.U. Neural stem cell-based gene therapy for brain tumors /S.U.Kim // Stem Cell. Rev.- 2011.- Vol.7(1)- P.130-140.

Migration of human neural stem cells toward an intracranial glioma / J.Y.Jeon, J.H.An, S.U.Kim [et al.] // Exp. mol. med.- 2008.- Vol.40 (1).- P.84-91.

Neural stem cells secrete factors that promote auditory cell proliferation via a leukemia inhibitory factor signaling pathway / H.C.Chen, H.I.Ma, H.K. [et al.] //J. Neurosc. Res.- 2010.- Vol.88 (15).- P.3308-3318.

The antitumorigenic response of neural precursors depends on subventricular proliferation and age /J.H.Walzlein, M.Synowitz, Engels B. [et al.] //Stem Cells.- 2008.- Vol.26(11).- P.2945-2954.

Любич Л.Д., Семенова В.М., Стайно Л.П.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ СУПЕРНАТАНТА ФЕТАЛЬНЫХ НЕЙРОГЕННЫХ КЛЕТОК НА КЛЕТКИ ГЛИОМЫ С6

Резюме. *Цель работы состояла в оценке влияния супернатанта фетальных нейрогенных клеток (СНК) крысы на культивированные клетки глиомы крысы С6. СНК, полученные из суспензий нейрогенных клеток мозга крысы на 9-е на 9-е (Е9) и 14-е (Е14) сутки гестации (0,01, 0,10 мг/мл) добавляли к суспензии клеток глиомы крысы С6; через 24 часа инкубации в суспензиях определяли количество жизнеспособных клеток и высчитывали цитотоксический индекс. СНК (0,01, 0,10 мг/мл) добавляли к первичным культурам глиомы крысы С6, через 24 и 48 часов инкубации анализировали цитологические препараты и определяли митотический индекс. СНК фетального мозга крысы разных сроков гестации выявили цитотоксический и антимитотический эффект на культивированные клетки глиомы С6, усиливавшийся с увеличением срока гестации мозга крысы, продлением срока инкубации и был дозозависимым. Первичные культуры глиом головного мозга крысы являются адекватной экспериментальной моделью для оценки противоопухолевого действия фетальных нейрогенных клеток крысы.*

Ключевые слова: *прогениторные нейрогенные клетки крысы, супернатант, глиома С6 крысы, цитотоксический индекс, митотический индекс.*

Lyubich L.D., Semenova V.M., Stayno L.P.

APPLICATION OF CULTIVATION FOR EXPERIMENTAL IMPACT ASSESMENT OF FETAL NEUROGENIC CELLS' SUPERNATANT ON C6 GLIOMA CELLS

Summary. *The purpose of the study was to evaluate the effect of rat fetal neurogenic cells supernatant (RFNS) on cultured cells of rat glioma C6. RFNS from suspensions of neurogenic cells of rat brain of 9-th (E9) and 14-th (T14) days of gestation (0,01, 0,10 mg/ml) were added to cell suspensions of rat glioma C6; after 24 h of incubation cell suspensions were analyzed for number of viable cells, cytotoxic index (CI) was calculated. RFNS (0,01, 0,10 mg/ml) were added to primary cultures of rat glioma C6, after 24 and 48 h of incubation cytological preparations were analized and mitotic index was determined. RFNS of fetal rat brain of different terms of gestation revealed cytotoxic and antimitotic effect on cultured C6 glioma cells, which intensified with increasing gestational age of rat brain, lengthening the duration of incubation and was dose-dependent. Primary cultures of rat brain gliomas are adequate experimental model for the evaluation of the antitumor action of fetal rat neurogenic cells.*

Key words: *rat progenitor neurogenic cells, supernatant, rat glioma C6, cytotoxic index, mitotic index.*

Рецензент: д.біол.н., професор Стеченко Л.О.

Стаття надійшла до редакції 20.04.2015 р.

Любич Лариса Дмитрівна - к.біол.н., ст. наук. сп. ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044 483-36-84

Семенова Віра Михайлівна - д.мед.н., професор, завідувач лабораторією культивування тканин ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044 483-92-08

Стайно Лариса Петрівна - наук. сп. лабораторії культивування тканин ДУ "Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П.Ромоданова НАМН України"; +38 044 483-92-08

© Алексевич К.О., Кузів О.Є., Фіра Л.С., Грималюк О.І.

УДК 612.17-089:612.35+616.36-002]-085

Алексевич К.О., Кузів О.Є., Фіра Л.С., Грималюк О.І.

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського" МОЗ України (майдан Волі, 1, м.Тернопіль, 46001, Україна)

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ МІОКАРДА ТА ПЕЧІНКИ НА ТЛІ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ ЗА КАРДІОТОКСИЧНОЇ ДІЇ АДРЕНАЛІНУ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ МЕКСИДОЛОМ

Резюме. *Доведено, що поєднане ураження експериментальних тварин тетрахлорметаном та адреналіном поглиблює структурно-функціональну перебудову печінки та міокарда, що супроводжується наростанням дистрофічних і некробіотичних змін гепатоцитів та різким пригніченням у ній репараційних процесів, в міокарді - порушенням мікроциркуляторного русла та некрозом кардіоміоцитів, які наростають впродовж досліду. Мексидол пригнічує процеси альтерації за одночасної стимуляції відновлення структури гепатоцитів та зменшує некрози кардіоміоцитів міокарда лише через 48 год експерименту.*
Ключові слова: *морфологія, міокард, печінка, тетрахлорметановий гепатит, адреналінове пошкодження міокарда, мексидол.*

Вступ

Серцево-судинні захворювання залишаються важливою як соціальною, так і економічною проблемою у всьому світі. В цілому серцево-судинна патологія коштує європейській економіці майже 196 більйонів євро кожного року. Вона є причиною 1,9 мільйона смертей в Європейському союзі і понад 4 мільйонів смертей в Європі щорічно [European convention ... , 1986]. Важливим визначальним фактором для прогнозу гострих коронарних станів, є наявність супутньої патології. В умовах зростаючого техногенного токсичного впливу на організм людини все частіше в практиці лікаря зустрічається поєднання серцево-судинної патології та токсичного ураження печінки. Наявність ураження печінки впливає як на патогенез серцево-судинних захворювань, так і на ефективність та особливості застосовуваної корекції. Саме тому виправдовують себе численні дослідження даної коморбідної патології та пошуки ефективних коригуючих чинників таких станів.

Мета: визначити динаміку структурного пошкодження міокарда, викликаного введенням підвищених доз адреналіну, на тлі тетрахлорметанового гепатиту та ефективність корекції цих змін мексидолом.

Матеріали та методи

Експерименти виконано на 36 нелінійних білих щурах-самцях масою 170-200 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського.

Токсичне ураження печінки викликали внутрішньоочеревинним введеням 50% олійного розчину тетрахлорметану в дозі 1,0 мл/кг [Афанасьєв, Юрина, 1999]. Гостре адреналінове пошкодження міокарда спричиняли шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 0,18% розчину адреналіну гідротартрату ("Дарниця", Україна) у дозі 0,5 мг/кг [Етика лікаря та права людини ..., 2003].

З метою корекції застосовувався препарат з групи антиоксидантів та антигіпоксантів - мексидол (ТОВ Медичний центр "Еллара", м.Покров, Російська Федерація). Значення дози препарату обирали, опираючись на інструкцію до застосування та використовуючи коефіцієнти видової чутливості Риболовлєва Ю.Р. і його метод перерахунку дози для людини на дозу для щура [Рыболовлев, Рыболовлев, 1979]. Препарат вводили внутрішньоочеревино у дозі 50 мг/кг триразово - одночасно із введенням адреналіну, через 24 та 48 годин після введення адреналіну гідротартрату.

Евтаназію проводили з використанням тіопенталу натрію через 3, 24 та 48 год від початку введення адреналіну на тлі 7 доби гострого токсичного гепатиту. Тварин розділено на 3 групи: 1 - інтактні тварини, 2 - уражені тварини, 3 - уражені тварини, котрим з метою корекції застосовували мексидол.

Для гістологічних досліджень [Афанасьєв, Юрина, 1999] брали печінку та серце піддослідних тварин на 7 добу розвитку гепатиту через 3, 24 і 48 годин після введення адреналіну та після корекції мексидолом у відповідні терміни. Зразки органів фіксували у 10% розчині формаліну, дегідратували у спиртах зростаючої концентрації та заливали у целоїдин-парафіном за загальноприйнятими методиками. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [Улумбекова, Челышев, 1997]. Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень виконували цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500.

Усі експерименти виконано з дотриманням загальних правил і положень Європейської Конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ,2001) [Етика лікаря та права людини ... , 2003; European convention ... , 1986; Nichols et al., 2012].

Результати. Обговорення

Проведений аналіз отриманих даних показав, що на 7 добу після внутрішньоочеревинного введення тетрахлорметану в експериментальних тварин розвиваєть-

Рис. 1. Печінка щура. 7 доба після внутрішньоочеревинного введення тетрахлорметану. Виражена гідропічна дистрофія гепатоцитів, некроз, каріопікноз і каріорексис. Розширення синусоїдних гемокапілярів.

ся токсичний гепатит, який морфологічно характеризується дистрофією та некрозом переважної більшості гепатоцитів часточки і наростає від центру до периферії, викликаючи дискомплексацію її пластинок (рис. 1).

Дистрофія і некроз центролобулярних та інтрамедіальних гепатоцитів поєднуються із проявам регенерації. Про це свідчить поява по периферії часточок двоядерних та великих темних гепатоцитів. Виявляються гістолімфоцитарні інфільтрати в центролобулярних ділянках. Водночас спостерігається розвиток фібропластичних процесів, що веде до капіляризації синусоїді та закріплює ішемію [Кузів, 2002].

Нашими експериментальними дослідженнями [Алексевич та ін., 2015] встановлено, що пошкодження міокарда підвищеними дозами адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту викликає активацію ПОЛ за одночасного пригнічення АОЗ і, таким чином, реалізує потенціюючий токсичний вплив адреналіну на печінку.

Провідними змінами у печінці на тлі тетрахлорметанового гепатиту після введення кардіотоксичної дози адреналіну через 3, 24 і 48 годин є порушення мікроциркуляції та наростання дистрофічно-некротичних змін з боку гепатоцитів. Так, відмічено повнокрів'я центральних вен часточок та судин портальних трактів, синусоїдних гемокапілярів та периваскулярний набряк. У гепатоцитах наростає жирова і гідропічна дистрофія, некроз у всіх відділах часточок, проте пошкодження гепатоцитів домінує в перипортальних ділянках, яке поєднується з гістіолімфоцитарною інфільтрацією (рис. 3).

Через 48 годин після введення кардіотоксичної дози адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту явища розладу кровоплину в часточках печінки наростають, що поглиблює ішемію клітин і посилює альтерацію гепатоцитів (рис. 4), знижує компенсаторно-адаптаційні можливості печінки.

Пошкодження міокарда експериментальних тварин підвищеними дозами адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту супроводжувалось насамперед ураженням мікроциркуляторного русла, периваскулярним та інтерстеціальними набряками, некротичними та некробіотичними змінами кардіоміоцитів, які виявлялись уже через 3 год (рис. 5) після введення адреналіну і наростали до 48 годин експерименту (рис. 6), що можна пояснити пошкодженням біомембран кардіоміоцитів внаслідок активації ПОЛ і прогресуванням метаболічних змін у серцевому м'язі на тлі порушення функції печінки [Лепявко, Хара, 2009].

Встановлені нами порушення структурно-метаболічних функцій гепатоцитів за умов пошкодження міокарда підвищеними дозами адреналіну спонукало до пошуку нових методів ефективної корекції поєднаної патології. Таким препаратом виявився мексидол, який має як антиоксидантну, так і антигіпоксантну дію. Так, світлооптичне дослідження печінки на тлі тетрахлорметанового гепатиту після введення кардіотоксичної дози адреналіну через 3, 24 та 48 годин після корекції

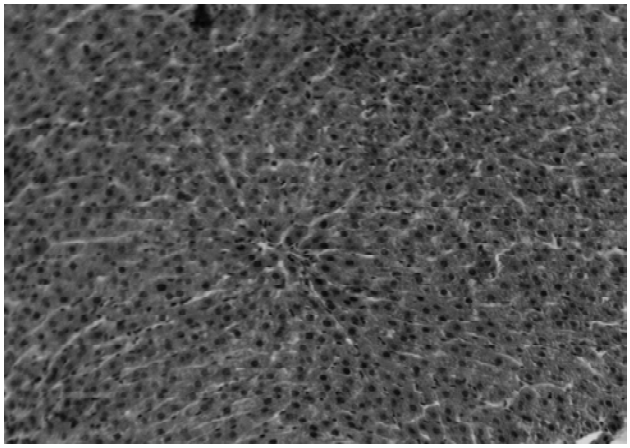

Рис. 2. Печінка інтактного щура. Гепатоцити формують печінкові пластинки, між якими локалізуються внутрішньочасточкові синусоїдні гемокапіляри. Гепатоцити полігональної форми з чіткими межами і великими ядрами, локалізованими в центрі базофільної цитоплазми. В перипортальній зоні виявляються двоядерні печінкові клітини. Гематоксилін-еозин. х100.

Рис. 3. Печінка щура через 3 год після введення адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту. Розширення синусоїдних гемокапілярів, виражена гістіолімфоцитарна інфільтрація перипортальних трактів. Гематоксилін-еозин. х100.

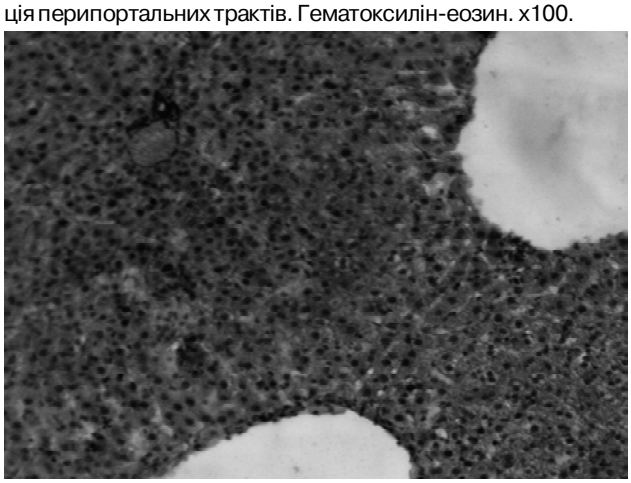

Рис. 4. Печінка щура через 48 годин після введення адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту. Різке розширення центральної вени часточки, дискомплексація пластинок, дистрофія та некроз гепатоцитів. Гематоксилін-еозин. х100.

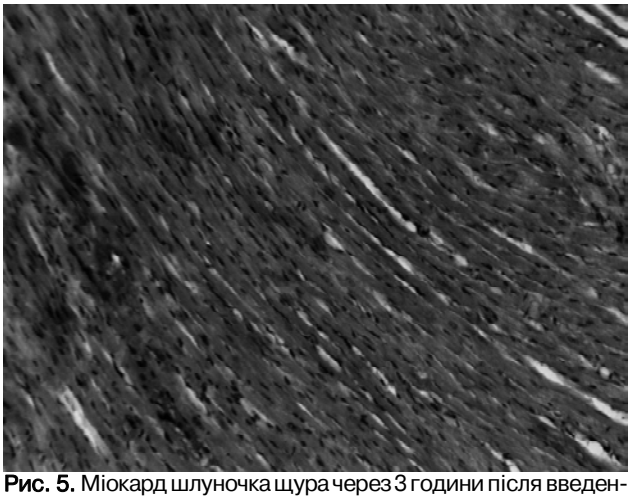

Рис. 5. Міокард шлуночка щура через 3 години після введення адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту. Перваскулярний та інтерстиціальний набряки, некрози кардіоміоцитів дрібновогнищевого характеру. Гематоксилін-еозин. х100.

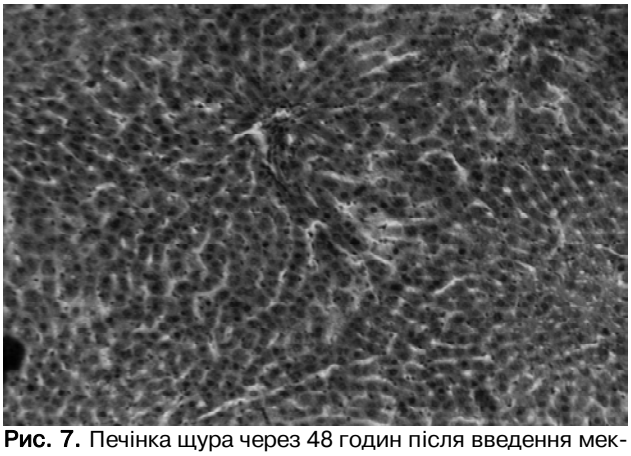

Рис. 7. Печінка щура через 48 годин після введення мексидолу на тлі тетрахлорметанового гепатиту та ураження міокарда адреналіном. Лімфо-гістіоцитарні інфільтрати в ділянці перипортальних трактів, розширення синусоїдних гемокапілярів. Наявність двоядерних гепатоцитів у центролобулярних ділянках. Гематоксилін-еозин. х100.

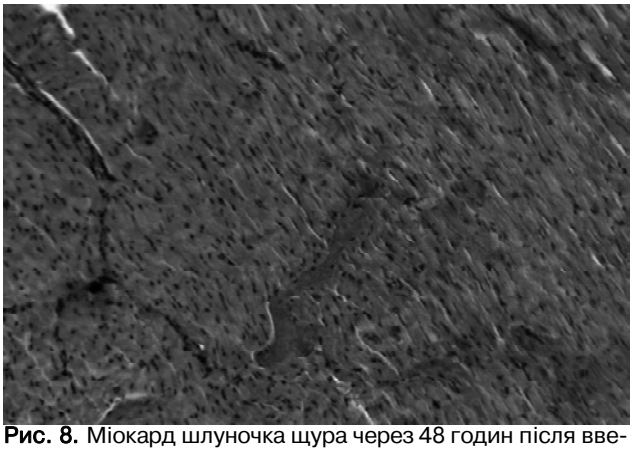

Рис. 8. Міокард шлуночка щура через 48 годин після введення адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту за корекції мексидолом. Некроз окремих кардіоміоцитів дрібновогнищевого характеру. Гематоксилін-еозин. х100.

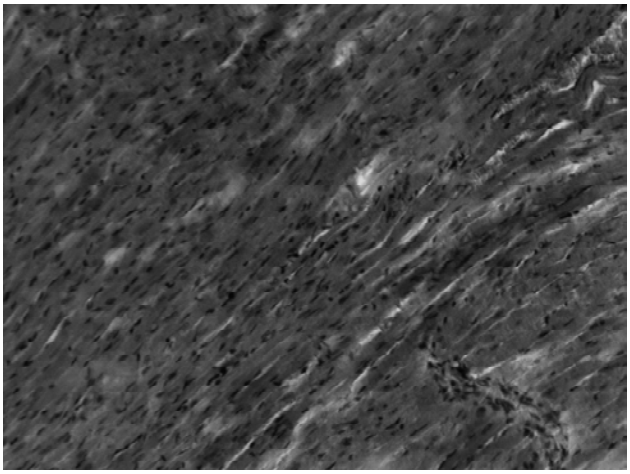

Рис. 6. Міокард шлуночка щура через 48 годин після введення адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту. Дифузні некрози кардіоміоцитів. Гематоксилін-еозин. х100.

мексидолом показало, що в часточках зберігається порушення мікроциркуляції, дискомплексація печінкових пластинок, виражена гістіолімфоцитарна інфільтрація портальних трактів. Однак, необхідно зазначити, що лише через 48 годин після введення адреналіну під впливом мексидолу в печінковій часточці експериментальних тварин виявляється мозаїчність ураження гепатоцитів. Поряд із печінковими клітинами в стадії некрозу, гідропічної та жирової дистрофії в центролобулярних зонах збільшується кількість двоядерних гепатоцитів та клітин із збільшеним об'ємом цитоплазми, що свідчить про активацію репараційних процесів (рис. 7).

Мікроскопічне дослідження міокарду після введення адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту за корекції мексидолом через 3год, 24 год і 48 годин показало, що мексидол мало впливав на структуру міокарду на 3 і 24 год експерименту, лише через 48 годин виявлено зменшення некротизованих кардіоміоцитів та їх дрібновогнищевий характер (рис. 8).

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Тетрахлорметановий гепатит характеризується структурно-функціональною перебудовою печінки, яка проявляється у поєднанні масивної жирової та гідропічної дистрофії, некрозу, які супроводжуються зниженням функціональної активності гепатоцитів. Альтеративні зміни гепатоцитів посилювалися розвитком ішемії та проліферації лімфо-гістіоцитарного інфільтрату в перипортальних трактах.

2. Кардіотоксична доза адреналіну посилює метаболічні розлади в печінці, що супроводжується наростанням дистрофічних і некробіотичних змін гепатоцитів та подальшим пригніченням репараційних процесів на різних рівнях її структурно-функціональної організації.

3. Морфологічне дослідження міокарда шлуночків експериментальних тварин після введення токсичної

дози адреналіну на тлі тетрахлорметанового гепатиту показали порушення мікроциркуляторного русла та некробіотичні зміни кардіоміоцитів, які наростали до 48 годин спостереження. Позитивний вплив мексидолу на морфо-функціональний стан печінки та міокарда проявляється лише через 48 годин від початку експерименту.

Перспективи подальших досліджень перебігу дистрофічних процесів у міокарді на тлі токсичного гепатиту полягають у більш детальному вивченні патогенетичних особливостей, а також оцінці ефективності мексидолу при виявлених порушеннях, що дозволить пропонувати його застосування у клініці при комплексному лікуванні поєднаного ураження серця та печінки.

Список літератури

Алексевич К.О. Інтенсивність процесів вільнорадикального окислення та стан антиоксидантної системи щурів, одночасно уражених адреналіном та тетрахлорметаном /К.О.Алексевич, Л.С.Фіра, А.Л.Штробля // Науковий вісник Ужгородського ун-ту. серія: Медицина.- 2015.- Вип. 1 (51).- С.5-9.

Афанасьев Ю.И. Гистология / [Под. ред. Ю.И.Афанасьева, Н.А.Юриной].- М.: Медицина, 1999.- 744с.

Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідах //Эксперим. та клін. фізіологія та біохімія.- 2003.- Т.22, №2.- С.108-109.

Кузів О.І. Морфологічні зміни в печінці за токсичного гепатозу /О.І.Кузів // Здобутки клінічної та експериментальної медицини.- Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.- Вип.7.- С.153.

Лепявко А.А. Морфометричний аналіз ступеня структурного пошкодження міокарда в щурів різного віку і статі при дії токсичної дози адреналіну / /А.А.Лепявко, М.Р.Хара //Клін. та эксперим. патологія.- 2009.- Т.8, №1.- С.29-31.

Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности /Ю.Р.-Рыболовлев, Р.С.Рыболовлев // Докл. АН СССР.- 1979.- Т.247, №6.- С.1513-1516.

Улумбеков Е.Г. Гистология. Введение в патологию /[под ред. Е.Г.Улумбекова, Ю.А.Челышева].- М. : ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1997.- 950с.

European Cardiovascular Disease Statistics /M.Nichols, N.Townsend, P.Scarborough [et al.] //European Heart Network and European Society of Cardiology.- 2012- 125p.

European convention for the protection of vertebrate animals used for experiment and other scientific purposes.- Council of Europe.- Strasburg, 1986.- 56 p.

Алексевич К.А., Кузив А.Е., Фира Л.С., Грималюк О.И.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА И ПЕЧЕНИ НА ФОНЕ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТА ПРИ КАРДИОТОКСИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ АДРЕНАЛИНА И ИХ КОРРЕКЦИЯ МЕКСИДОЛОМ

Резюме. *Доказано, что сочетанное поражение экспериментальных животных тетрахлорметаном и адреналином углубляет структурно-функциональную перестройку печени и миокарда, сопровождается нарастанием дистрофических и некробиотических изменений гепатоцитов и резким угнетением в ней репарационных процессов, в миокарде - нарушением микроциркуляторного русла и некрозом кардиомиоцитов, которые нарастают в течение опыта. Мексидол подавляет процессы альтерации при одновременной стимуляции восстановления структуры гепатоцитов и уменьшает некрозы кардиомиоцитов миокарда только через 48 ч эксперимента.*

Ключевые слова: *морфология, миокард, печень, тетрахлорметанового гепатит, адреналиновое повреждение миокарда, мексидол.*

Aleksevych K.O., Kyziv O.E., Fira L.S., Hrymalyuk O.I.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF MYOCARDIUM AND LIVER ON THE BACKGROUND OF TETRACHLORMETANE HEPATITIS AND CARDIOTOXIC ADRENALINE ACTION AND THEIR CORRECTION WITH MEKSYDOL

Summary. *It is proved that a combined damage of experimental animals with tetrachloride and epinephrine enhances structural and functional reorganization of the liver and myocardium, that accompanied by the increase of degenerative and necrobiotic changes of hepatocytes and sharp oppression of reparatory processes in liver, in the myocardium - a violation of the microcirculation and necrosis of cardiomyocytes that grow over experiment. Meksydol inhibits processes of alteration with simultaneous stimulation of restore hepatocyte structure and reduces necrosis of cardiomyocytes only after 48 h of the experiment.*

Key words: *morphology, myocardium, liver, tetrahlormetane hepatitis, adrenalin myocardial injury, Meksydol.*

Рецензент: д.мед.н., професор Герасимюк І.Є.

Стаття надійшла до друку 6.04.2015 р.

Алексевич Катерина Олегівна - пошукач кафедри фармації ННІ післядипломної освіти, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського; +38 097 951-72-91; kate_hrymaluck@yahoo.com

Кузів Оксана Євстахіївна - д.мед.н., професор кафедри психології у виробничій сфері, Тернопільський національний технічний університет імені І.Пулюя; +38 0352 42-79-63; kaf_ps@tu.edu.te.ua

Фіра Людмила Степанівна - д.біол.н., професор кафедри фармації ННІ післядипломної освіти, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського; + 38 096 377-63-90; ludafira@mail.ru

Грималюк Олег Ігорович - к.біол.н., доцент кафедри медичної біології, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського; +38 0352 25-25-84; hrymalyukn@ukr.net