
ДИСКУСІЇ

© Макаренко А.Н.

УДК 616.831-005.1

Макаренко А.Н.

ПРОТЕКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛЯРИЗАЦИИ СЛАБЫМ АНОДОМ ПОСТОЯННОГО ТОКА СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ ПРИ ИНСУЛЬТЕ

**ГВУЗ «Переяслав-Хмельницкий педагогический университет
имени Григория Сковороды» (г. Переяслав-Хмельницкий)**

***alexandernmakarenko@gmail.com**

Вступление. Одним из частых и наиболее прогнозируемых неблагоприятных сосудистых заболеваний головного мозга является инсульт. Новым и перспективным направлением современного физиотерапевтического влияния на динамику развития инсульта считается транскраниальная поляризация (стимуляция) мозга, хотя этот метод имеет определенные существенные ограничения [8]. Доказано функциональное восстановление ЦНС при стимуляции неокортекса анодом постоянного тока, формирование поляризационной доминанты, которая оказывает протекторное действие на нервные клетки в условиях инсульта, нейротравмы и при передозировке общими анестетиками, но исследований цитопротекторного влияния поляризации на морфологическом уровне не проводились [2, 5, 6].

Следовательно, **целью исследования** было изучение влияния поляризации анодом постоянного тока (микрополяризации неокортекса) на дистрофические изменения неокортекса при инсульте.

Объект и методы исследования. Исследование проведено на 55 белых лабораторных мышах самках весом 15-18г. Опытные животные были разделены на пять групп: I – контроль, интактные животные (n=10); II – ложнооперированные животные (n=8); III – инсультная группа (n=17); IV – группа с инсультом и поляризацией анодом постоянного тока СМК (n=10). Исследуемые препараты вводили однократно через 2 часа после завершения операции воспроизведения у животных острого геморрагического инсульта [4]. В этом методе использовано механическое повреждение ткани и сосудов в области внутренней капсулы головного мозга (AP=-1,0мм, L=1,5мм, H=3,0мм) вращательными движениями мандрена-ножа, это сопровождалось натеканием крови в эту область деструкции (т.е. формировался посттравматический вариант интрацеребральной гематомы). Ложнооперированным животным проводили те же процедуры, но без введения мандрена. Животные были декапитированы на восьмые сутки после воспроизведения аутогеморрагического инсульта в условиях поверхностного эфирного наркоза.

Мозг быстро фиксировали в течение суток в 10% нейтральном формалине. Все работы с животными проводились согласно Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [7]. После стандартной гистологической проводки ткань заливали в парафин. Для изучения морфологических показателей клеток изготавливали 10-микронные срезы фронтальной коры головного мозга, которые депарафинировали и окрашивали гематоксилин-эозином [3]. Морфометрические исследования проводились на микроскопе Olympus BX 51 (Япония). О функциональном состоянии выживших нервных клеток судили на основании изменения площади и периметра ядер и перикариона нейронов и нейроглиального индекса. На основе полученных результатов был вычислен индекс нейродегенерации и дегенерации глиальных клеток на основании изучения отношения числа живых клеток к погибшим [1].

Результаты исследований и их обсуждение.

Структурные изменения СМК головного мозга крыс при геморрагическом инсульте. Через 2-3 ч от момента моделирования острого посттравматического аутогеморрагического инсульта обнаруживается зона кровоизлияния в области механической деструкции у всех бес исключения подопытных животных, преимущественно в области Capsula interna. На гистологических препаратах наблюдается картина свидетельствующая об ускоренном развитии и усугублении структурных патоморфологических нарушений в неокортексе. Отмечаются выраженные изменения цереброкортекса со стороны сосудов и межклеточного вещества, резко выраженный отек ткани мозга развивающийся в результате нарушения гемо-, ликвородинамики. В частности регистрируются резко выраженное полнокровие и явления стаза крови в мелких сосудах мозга, развитие отчетливого периваскулярного отека, а также обнаружение отдельных мелких («точечных») периваскулярных кровоизлияний. Отмечаются признаки набухания и значительный перинейритный отек (главным образом в области дендритов). В неокортексе обнаруживаются признаки активации глиоцитов, что сопровождается усилением

ДИСКУСІЇ

тинкториальных свойств их цитоплазмы в виде резкого гиперхроматоза и умеренного набухания ядер клеток. Указанные изменения сопровождаются отчетливым сателлитозом, т.е. скоплением нескольких глиальных клеток в области тел и дендритов пирамидных нейронов. В пирамидных нейронах отчетливо выражены явления центрального и периферического тигролиза. Об этом убедительно свидетельствует резкое сокращение субстанции Ниссля в цитоплазме клеток, причем в отдельных клетках глыбки сохраняются только в области парануклеарной цитоплазмы. На препаратах мозга опытных крыс отмечаются гибель или дистрофические изменения в нейронах СМК при этом дистрофия пирамидных нейронов выражается деформацией и гетерохромным прокрашиванием цитоплазмы.

Проведенные нами наблюдения показали, что функции нейронов в различных слоях неокортекса при развитии острого геморрагического инсульте существенно отличаются: в поверхностных, филогенетически более молодых отделах изменения проявлялись более отчетливо, чем в нижележащих (например, пятом) слоях. Так, в третьем слое СМК отмечается большое число сморщенных, деформированных,

диффузно окрашенных нейронов. Цитоплазма этих пирамидных нейронов гомогенно и интенсивно окрашена, на значительном расстоянии от тел нейронов прослеживаются окрашенные апикальные и базальные дендриты. Обнаруживаются также нейроны в состоянии набухания и клетки-тени. В нейронах более глубоких (IV-VI) слоях отмечается иная картина этих изменений – большое количество клеток с крупными светлыми ядрами, вокруг которых располагаются ободки цитоплазмы, содержащие глыбки тигроида, что в данном случае может рассматриваться как признак инсульт-индуцированного истощения клеточных элементов. Ядра пирамидных нейронов отличаются между собой – они кажутся либо увеличены в объеме, или, значительно чаще, – в состоянии деформации, сморщивания и, даже деструкции ядер. Ядра пирамидных нейронов СМК гиперхромны, занимают маргинальное по отношению к центру клетки положение в цитоплазме. Ядрышки нейронов набухшие, изредка разрушенные.

Следовательно, острейший период развития ГИ сопровождается выраженным повреждением нейронов верхних слоев неокортекса по сравнению с нейронами IV-VI слоев, изменением нейроглиальных

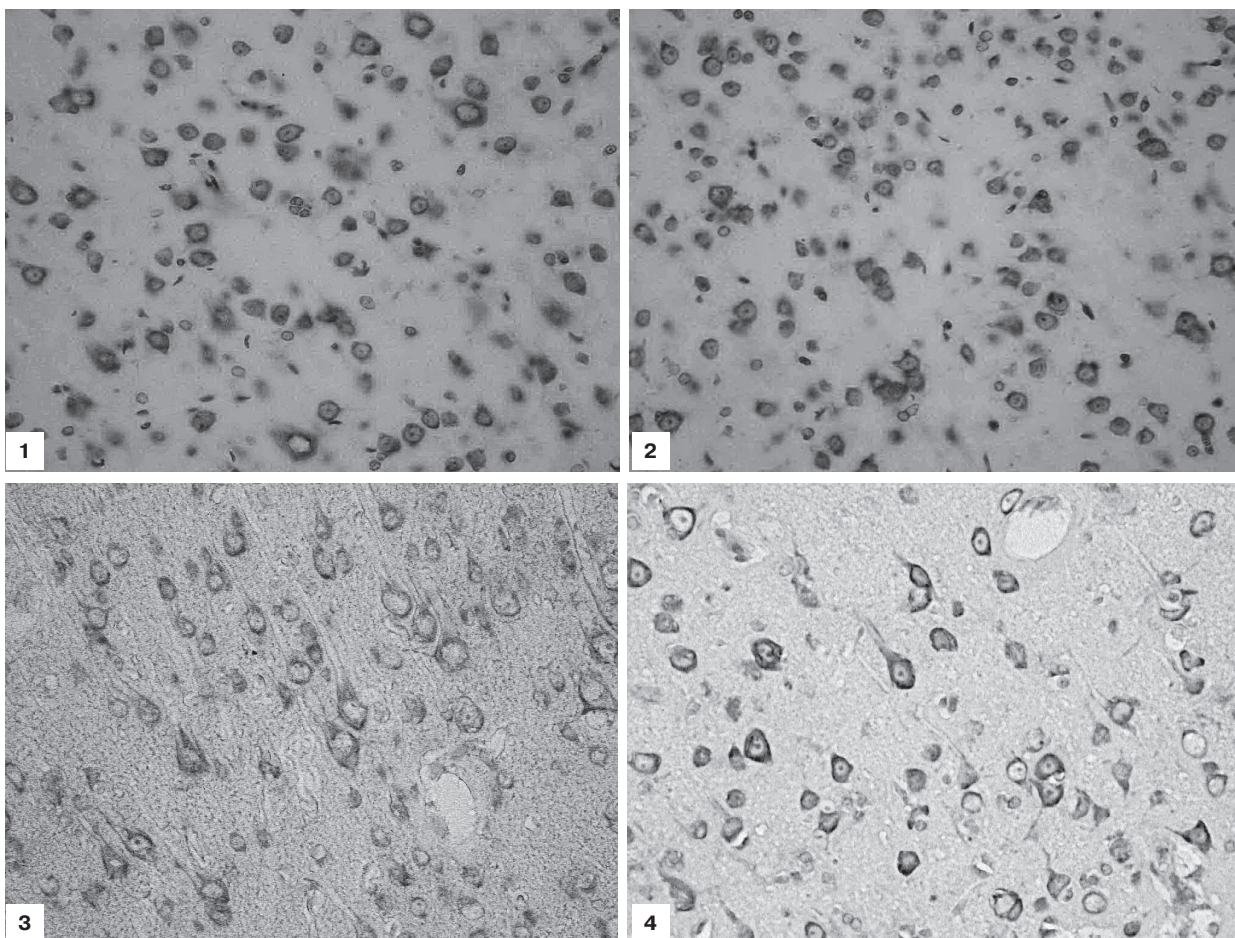


Рис. Протекторное влияние поляризации неокортекса анодом постоянного тока на клеточные образования неокортекса при остром ГИ. Условные обозначения: 1 – контрольная группа; 2 – группа ложнооперированных; 3 – группа с инсультом, хроматолиз пирамидных нейронов и отек апикальных дендритов; 4 – группа с инсультом после поляризации, снижение отека цитоплазмы нейронов. Окраска по Ниссли. Об. 40, ок. 10.

ДИСКУСІЇ

взаимоотношений. При этом в пирамидных нейронах обнаруживают признаки истощения или дегенерации. Можно полагать, что при ОНМК структурно-функциональные изменения в неокортексе на фоне поляризации слабым анодом постоянного тока изменения будут выражены менее отчетливо.

Протекторное влияние поляризации слабым анодом постоянного тока СМК на структурные нарушения, развивающиеся в неокортексе при инсульте. В СМК крыс при остром геморрагическом инсульте отмечается неравномерное кровенаполнение сосудов и периваскулярный отек ткани. Отек ткани мозга отмечен и со стороны эпендимы желудочков мозга. Об этом, в частности, свидетельствует развитие феномена фестончатых краев и субэпендимарного отека, однако эти изменения локальны и значительно менее выражены, чем при ОНМК (когда эпендима находится в состоянии выраженного отека и вакуолизации). При ОНМК на фоне поляризации неокортекса анодом постоянного тока отмечаются явления активации глиальных клеток в области пирамидных нейронов без выраженного сателлитоза, характерного для ОНМК и наличия клеток-теней, ядра глиоцитов также не изменены.

Использование поляризации СМК ингибировало нарастание в ЦНС периваскулярного отека, развивающегося во всех слоях СМК. Отек неотъемлемо является частью ГИ и проявляется значительно более выражено и отчетливо в перифокальной зоне. О диффузном перичелюлярном отеке в СМК при остром инсульте свидетельствует наличие многочисленных пустот, которые диффузно регистрируются в ипсилатеральной и в меньшей степени в контралатеральной СМК.

При использовании поляризации СМК анодом постоянного тока силой 5-9 мкА установлено, что вышеназванные изменения развиваются в меньшей степени. Например, отмечено частичные изменения в ядрах глиоцитов на фоне сателлитоза, не резко выражены хроматолиз субстанции Ниссля в цитоплазме пирамидных нейронов и гиперхроматоз – хроматина ядрышек. Отмечено менее выраженную деформацию апикальных дендритов пирамидных нейронов. Дис-

трофические изменения в нейронах представлены не в виде диффузного тигролиза в клетках, как при ОНМК, а носят очаговой характер. В отдельных нейронах поверхностных слоев субстанция Ниссля располагаются по периферии цитоплазмы, однако этот феномен в большей мере представлен у клеток глубоких слоев неокортекса. Дистрофически измененные, деформированные нейроны единичны, контур границ у них не четкий. В поле зрения представлены единичные «темные», грубо деформированные и некротизированные нейроны, у которых прокрашиваются отдельные нейриты (рис.).

Цитопротекторный эффект поляризации подтвержден морфометрическим исследованием, данные которого приведены в **таблице**.

Наряду с наличием отдельных дистрофически измененных пирамидных нейронов поляризация оказывает протекторное влияние на СМК, при этом клетки частично или полностью сохраняют свою структуру. Анализ и обобщение приведенных фактов свидетельствует о том, что по своей гистологической структуре пирамидные нейроны СМК опытных животных с инсультом, существенно отличаются от соответствующих клеток неокортекса в группе без анодной поляризации.

Следовательно, в острейшем периоде геморрагического периода, т.е. через 2-3 часа после экспериментального воспроизведения ГИ, в клеточных образованиях цереброкортекса наблюдаются развитие определенных нейродистрофических изменений в пирамидных нейронах, которые характеризуются явлением сателлитоза, вакуолизации и дегенерации изучаемых клеток мозга.

Выводы. Полученные факты убедительно свидетельствуют, что при ГИ дегенеративные нарушения в пирамидных нейронах и в системе нейрон-глиальных взаимодействий сопровождаются не только нарушением собственного функционального состояния клеток на фоне внутрисосудистого стаза крови, но и развитием гипотонии, нарушением мозгового кровообращения в условиях нарушения церебральной гемодинамики и перфузии образований ЦНС,

Таблица

Морфометрические изменения пирамидных нейронов СМК

Группа	Слой	Периметр ядра, μm	Периметр клетки, μm	Площадь ядра, μm^2	Площадь клетки, μm^2
Контроль	III	25,4 \pm 2,14	40,6 \pm 4,58	39,4 \pm 1,68	89,3 \pm 5,27
	V	29,4 \pm 1,57	49,0 \pm 9,97	55,2 \pm 5,12	135,9 \pm 9,46
Ложно-оперированные	III	25,2 \pm 8,49	40,7 \pm 3,36	30,9 \pm 5,52	55,7 \pm 6,91
	V	34,4 \pm 2,06	53,7 \pm 4,02	74,5 \pm 4,01*	164,3 \pm 5,78*
Инсульт	III	23,5 \pm 5,92	37,4 \pm 5,08	37,9 \pm 7,23	78,5 \pm 3,01
	V	32,1 \pm 9,77	62,3 \pm 4,72*	68,8 \pm 9,27*	184,9 \pm 6,79*
Инсульт+поляризация	III	24,1 \pm 6,93	66,9 \pm 3,13*#	38,6 \pm 3,78	71,4 \pm 7,91
	V	27,3 \pm 8,77	45,4 \pm 8,05#	51,9 \pm 7,17#	110,8 \pm 2,61*#

Примечание: * – достоверно до контроля ($p < 0,05$); # – достоверно до группы с инсультом ($p < 0,05$).

особенно в терминальную стадию патологического процесса на фоне развития различных постинсультных осложнений.

Научная перспектива последующих исследований. Метод световой микроскопии не позволяет глубоко изучить механизм развития структурных нарушений в ЦНС при инсульте, следовательно, актуальным является изучение патологического процесса с помощью электронномикроскопического исследо-

вания. В качестве научной предпосылки рассматривался вопрос о том, что анализ ультраструктурных изменений в нейронах и синапсах позволил, не только более детально оценить характер развивающихся при ОНМК ультраструктурных нарушений в пирамидных нейронах, но и выявить особенности механизма действия постоянного тока на аксодендритические синапсы, обеспечивающие передачу нервных импульсов в плексиморфном слое неокортекса.

Литература

1. Беленичев И.Ф. Влияние тиотриазонина на гистоморфологические изменения нейронов коры и гиппокампа в постинсультный период / И.Ф. Беленичев, И.А. Мазур, Ю.М. Колесник [и др.] // Новости медицины и фармации. – 2007. – № 5 – С. 14-25.
2. Кульчиков А.Е. Структурно-функциональные аспекты протекторного влияния микрополяризации неокортекса и корковых нейротрофических факторов при геморрагическом инсульте (экспериментальное исследование) / А.Е. Кульчиков, Н.С. Косицын, И.Г. Васильева, А.Н. Макаренко // Акт. пробл. сучас. медицини: Вісн. Укр. мед. стоматол. академії. – 2010. – Т. 10, Вып. 1. – С. 39-43.
3. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. – М.: Мир, 1969. – 648 с.
4. Макаренко А.Н. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга у экспериментальных животных / А.Н. Макаренко, Н.С. Косицын, Н.В. Пасикова [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности. – 2002. – Т. 52, № 6. – С. 765-768.
5. Русинов В.С. Доминанта. Электрофизиологические исследования / В.С. Русинов. – М.: Медицина 1969. – 231 с.
6. Шелякин А.М. Микрополяризация мозга. Теоретические и практические аспекты / А.М. Шелякин, Г.Н. Пономаренко. – Санкт-Петербург: Балтика, 2006. – 224 с.
7. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academy Press, Washington DC, 1996. – Код доступа <http://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>.
8. Hallett M. Transcranial magnetic stimulation and the human brain / M. Hallett // Nature. – 2000. – Vol. 406, № 13. – P. 147-150.

УДК 616.831-005.1

ПРОТЕКТОРНИЙ ВПЛИВ ПОЛЯРИЗАЦІЇ СЛАБКИМ АНОДОМ ПОСТІЙНОГО СТРУМУ СЕНСРОТОРНОЇ КОРИ ПРИ ІНСУЛЬТІ

Макаренко О.М.

Резюме. Вивчені структурні порушення морфофункціональної організації неокортексу щурів при відтворенні гострого геморагічного інсульту в експерименті з використанням мікрополяризації неокортексту анодом постійного струму. Проведений аналіз впливу поляризації анодом постійного струму силою 5-9 мкА на процеси, що розвиваються в неокортексі при експериментальному інсульті. Встановлена протекторна дія поляризації СМК на ступінь розвитку набряку нейритів пірамідних нейронів, цитоархітектоніку неокортексту.

Ключові слова: експериментальний геморагічний інсульт, мікрополяризація, цитопротекція.

УДК 616.831-005.1

ПРОТЕКТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛЯРИЗАЦИИ СЛАБЫМ АНОДОМ ПОСТОЯННОГО ТОКА СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ ПРИ ИНСУЛЬТЕ

Макаренко А.Н.

Резюме. Изучены структурные нарушения морфофункциональной организации неокортекса крыс при воспроизведении острого геморрагического инсульта в эксперименте с использованием микрополяризации неокортекса анодом постоянного тока. Проведен анализ влияния поляризации анодом постоянного тока силой 5-9 мкА на процессы, развивающиеся в неокортексе при экспериментальном инсульте. Установлено протекторное действие поляризации СМК на степень развития отека нейритов пирамидных нейронов, цитоархитектонику неокортекса.

Ключевые слова: экспериментальный геморрагический инсульт, микрополяризация, цитопротекция.

UDC 616.831-005.1

Protective Effect of DC Weak Anode Sensorimotor Cortex Polarization in Stroke

Makarenko A.N.

Abstract. The purpose of the research was to study the effect of the DC anode polarization (neocortex micropolarization) onto dystrophic changes of the neocortex in stroke. The study was conducted on 55 white female laboratory mice weighing 15-18 g.

Structural changes of the rat sensorimotor cerebral cortex (SMC) in hemorrhagic stroke (HS). Following the 2-3 hrs from the time of modeling of the acute post-traumatic autohemorrhagic stroke, a zone of bleeding in the area of mechanical destruction, primarily in the *Capsula interna*, is detected in all experimental animals without exception. The most acute period of HS development is accompanied by the pronounced damage of neurons in the upper layers of the neocortex as compared to neurons of the IV-VI layers, as well as changes in neuroglia relationships. At the same

time, signs of exhaustion or degeneration in the pyramid neurons are detected. Hypothetically, structural and functional changes in the neocortex, accompanied by the DC anode polarization will be pronounced less clearly in the acute ischemic stroke (AIS).

Protective effect of DC weak anode sensorimotor cortex polarization onto structural disorders, developing in the neocortex in stroke. In acute hemorrhagic stroke an uneven vascularity and tissue perivascular edema is noted in the rat SMC. Edema of cerebral tissue is also noted in ependyma of encephalocoel. This is evident particularly by the development of the phenomenon of scalloped margins and subepidermal edema; however, these changes are local and much less pronounced than in AIS (when the ependyma is in the state of pronounced edema and vacuolization). In AIS, accompanied by the DC anode neocortex polarization the phenomena of activation of gliocytes in the area of pyramidal neurons without manifested satellitosis, typical for AIS and presence of shade cells, nuclei of gliocytes are also unchanged. At the most acute hemorrhagic period, i.e. following the 2-3 hours after experimental modeling of HS, in cellular entities of the cerebrocortex the development of specific neurodystrophic disorders in pyramidal neurons, which are characterized by the phenomenon of satellitosis, vacuolization and degeneration of brain cells is observed.

Conclusions. The findings clearly demonstrate that in HS the degenerative disorders in pyramidal neurons and neuron-glia interactions are accompanied by not only impairment of its own functional state of cells in conjunction with intravascular blood stasis, but also the development of hypotension, cerebral circulation disorder in conditions of cerebral hemodynamics impairment and perfusion of the entities of the central nervous system, especially at the terminal stage of the pathological process associated with the development of various postapoplectic complications.

The perspectives of further research will encompass the study of pathological process using the method of electro-microscopy, since the light microscopy does not allow obtaining detailed analysis of the mechanism of development of structural disorders of the central nervous system in stroke. As the scientific precondition, the issue concerning the analysis of the ultrastructural disorders in neurons and synapses has been discussed, allowing not only the more detailed evaluation of the nature of ultrastructural disorder, developing in pyramidal neurons in AIS, but also to reveal the features of the mechanism of the DC effect on axodendritic synapses, ensuring the transmission of nerve impulses in the neocortex pleximorphic layer.

Keywords: experimental hemorrhagic stroke, micropolarization, cytoprotection.

Стаття надійшла 11.08.2015 р.