

памяти по показателям тестов с норковым рефлексом и восьмирукавым лабиринтом. Выводы. Результаты определения эффективности карбацетама при экспериментальной ЧМТ показали восстановление в течение 30 суток показателей ориентировочно-двигательной активности, учебно-исследовательской деятельности и памяти.

Summary

PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF COGNITIVE DISTURBANCES IN BRAIN INJURY

Ziablitshev S. V., Starodubskaya O. O., Bogza S. L.

Key words: traumatic brain injury, cognitive disturbances, Carbacetam

Numerous researches demonstrate the cognitive disturbances can develop not only in the acute period of traumatic brain injury (TBI), but in several years following the trauma. Damage of the highest functions of the brain is observed in a third of patients with mild TBI, while victims with moderate and severe injuries develop more expressed disturbances. Carbacetam is a new GABA-benzodiazepine modulator of a receptor complex, a β -Carboline derivative. The goal of this study was to investigate the efficiency of Carbacetam in restoring cognitive functions in modeled TBI. Methods. The research was conducted on 112 white outbred male rats; TBI was modeled by V. N. Elsky and S. V. Ziablitshev technique (2005). The control group included 16 pseudo traumatized rats, the test groups included 48 animals with TBI in each: the 1st group received Carbacetam (5 mg/kg), the 2nd group received 1 ml of saline solution intraperitoneally within 10 days after the trauma. Cognitive disorders were investigated by open field test, mink reflex test, eight-hose labyrinth test in 7 and 30 days after the trauma. TBI results in essential oppression of cognitive functions that was evident by findings of the tests in both groups in 7 and 30 days after the trauma. Renewal of indicators started developing only under the influence of Carbacetam, which effectively renewed parameters of approximate motor performance to reference level in 30 days after trauma. We observed the restoration of educational and research activity, emotionality, anxiety and memory by findings the mink reflex and eight-hose labyrinth tests. Carbacetam was assessed as effective means to restore cognitive functioning after modeled TBI within 30 days, especially in indicators of approximate motor performance, educational and research activity and memory.

УДК 616.831.-005.1/7+576.7

Макаренко А., Ковтун А., Петров Ф., Джугля И.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ ГЛИАЛЬНОЙ ФОРМУЛЫ (ГФ) И ГЛИАЛЬНЫХ ИНДЕКСОВ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ (ГИК) КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ СПОСОБ ИЗУЧЕНИЯ СОСТОЯНИЯ ГЛИАЛЬНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СИСТЕМЫ ОБРАЗОВАНИЙ МОЗГА

ГВУЗ «Переяслав-Хмельницкий государственный педагогический университет имени Г.С. Сковороды», Переяслав-Хмельницкий

Институт защиты растений НААНУ, Киев

Институт продовольственных ресурсов НААНУ, Киев

Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, Киев

Глиальная система образований мозга в значительной мере подвержена влиянию разнообразных факторов внешней и внутренней среды. Методики анализа глиальной формулы (ГФ) и глиальных индексов количественных (ГИК) позволяет охарактеризовать цитологические параметры различных клеточных образований мозга, в норме, объективно оценивать влияние патологических факторов, а также оценить эффективность терапии патологии ЦНС различными лекарственными препаратами и средствами.

Ключевые слова: глиальная формула, образования головного мозга, патология центральной нервной системы.

Введение

Различные клеточные образования головного мозга обладают неоднородной структурно-функциональной организацией. Данные различия касаются в том числе их глиальной клеточной системы. Такие образования мозга, как сомоторный цереброкортекс (и разные его локусы), образования гипоталамуса, мозжечка и т.д. характеризуются не только отличительными особенностями в виде различного абсолютного числа глиоцитов (астроцитов, олигодендроцитов, микроглиоцитов), но и разными межклеточ-

ными соотношениями [11].

Глиальная система образований мозга в значительной мере подвержена влиянию разнообразных факторов внешней и внутренней среды, включая генетические, патологические и т.д. В результате развития патологических изменений, вызванных действием патогенов (различных неврологических, нейродегенеративных или инфекционных заболеваний), глиальный гомеостаз образований мозга нарушается вследствие повреждения или гибели не только нейронов, но и части глиоцитов. Эти изменения сопровожда-

ются изменением их абсолютного числа и процентной доли в общем составе, а также характера взаимоотношений. Кроме того, использование терапевтических средств, призванных минимизировать последствия воздействия комплекса патологических факторов, способствует восстановлению глиальной системы (глиома) к состоянию, близкому к норме, о чем могут свидетельствовать изменения ее качественных и количественных показателей [5,6,8,11,13].

Таким образом, анализ структуры и функционального состояния глиоцитов позволяет охарактеризовать цитологические параметры различных клеточных образований мозга, в норме, объективно оценивать не только влияние патологических факторов на образования мозга (в частности на их глиально-клеточный гомеостаз), но и оценить эффективность терапии патологии ЦНС различными лекарственными препаратами и средствами.

Целью данной работы являлся обзор результатов исследований, полученных с помощью разработанных авторами методик анализа глиальной формулы (ГФ) и глиальных индексов количественных (ГИК 1-3) при изучении клеточных структур мозга крыс в состоянии нормы, а также после воспроизведения модели цереброваскулярной патологии и проведения соответствующей фармакотерапии.

Материалы и методы

Для проведения гистологических исследований отбирались участки сенсомоторного цереброкортеса после фиксации ткани головного мозга белых крыс в результате перфузии 10% раствором нейтрального формалина (рН 7,4), приготовленном на фосфатном буфере. Головной мозг обезжизняли в батареке возрастающих спиртов и заливали в парафин. На санном микротоме MC-2 (Россия), получали фронтальные срезы толщиной 6-7 мкм, которые окрашивали растворами метиленового синего, тионина или гематоксилином-эозином. Все экспериментальные исследования на животных проводились согласно нормативам Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (1996) [10]. В окрашенных срезах в светооптическом микроскопе Micromed XS-5520 (Китай) (общее увеличение 160х (объектив - 10х, окуляр - 16х)), на стандартной площади среза 689000 мкм² исследовали 10 полей зрения каждого из изучаемых образований мозга. Целью исследования был анализ общего состава и количества разных типов глиоцитов – астроцитов, олигодендроглиоцитов и микроглиоцитов в паравентрикулярном, вентромедиальном, дорсомедиальном ядрах и латеральной зоне гипоталамуса, и сенсомоторном цереброкортесе крыс. Типы глиальных клеток определяли и подсчитывали с использованием основных дифференциальных критериев: структуры клеток, формы ядер и клеточных тел, интенсивности их окраски и характера ядерно-

цитоплазматических отношений.

Фотографирование клеточных образований мозга проводили с помощью цифровой камеры TourCam SCMOS03000KPA 3.0. (Китай), обработка микрофотографий осуществлялась в графическом редакторе Adobe Photoshop CS6.

Во всех проведенных исследованиях по изучению качественных и количественных параметров изменения глии в мозге контрольных и опытных крыс применялись авторские методики, включавшие анализ глиальной формулы (ГФ) и глиальных индексов количественных (ГИК 1-3). Системно-клеточный показатель оценки глиальной формулы (ГФ) характеризует количественное (или процентное) содержание отдельных типов клеток (астроцитов, олигодендроцитов, микроглиоцитов) по отношению к общему количеству глиоцитов в стандартной площади гистосреза. Глиальный индекс количественный (ГИК) существенно отличается от ГФ. Он объективно характеризует соотношение одного типа глиоцитов к другому. В частности, ГИК1 представляет соотношение суммы астроцитов к микроглиоцитам, ГИК 2 – суммы олигодендроцитов к микроглиоцитам и ГИК 3 – суммы астроцитов к общему количеству олигодендроглиоцитов [3].

Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами описательной и вариационной статистики, используя программу SPSS StatisticsDataEditor. Для описания общих количественных закономерностей в исследуемых группах использовали отдельные статистические показатели (меру центральной тенденции с вычислением среднего арифметического и меру изменчивости для вычисления стандартного отклонения). Достоверность различий между данными контрольной и опытной групп оценивали по U-критерию Манна-Уитни (при $p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

1. Применение методик анализа глиома для характеристики системной глиальной организации различных клеточных образований мозга в зависимости от их периода их формирования в филогенезе.

Результаты применения методик анализа ГФ и ГИК 1-3 подтверждают выдвинутую нами гипотезу о взаимосвязи между эволюционным процессом формирования различных отделов, образований головного мозга и их клеточным (глиальным) содержанием (контентом) (табл.1) [6]. Благодаря качественному и количественному анализу состава глии было установлено, что более древний тип глиоцитов (микроглиоциты) составляют значительно большую часть в структуре филогенетически более древних образований мозга (например, нейросклеточного паравентрикулярного ядра гипоталамуса). В отличие от этого, глиальные клетки, возникшие на более поздних этапах эволюции (например, олигодендроциты) составляют значительно большую часть и доминируют в филогенетически

более поздних отделах и образованиях головного мозга млекопитающих (в частности, сенсомоторного цереброкортекса). Следует отметить, что указанные отличия обнаружены не только в левом, но и, особенно, в правом полушарии го-

ловного мозга крыс, что, гипотетически, может быть объяснено более выраженной ролью испилатеральных правополушарных кортикофугальных влияний на клеточные образования гипоталамуса [1].

Таблица 1
Сравнительный анализ результатов глиальной формулы клеточных образований головного мозга белых крыс (площадь поля зрения 0,689 мм², (10 полей зрения, $\bar{x} \pm s_x$)

| Исследуемые образования головного мозга | Глиальные клетки | | |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| | Микроглиоциты | Астроциты | Олигодендроциты |
| Левое полушарие | | | |
| Паравентрикулярное ядро | 76,66±17,55 31,38% | 77,0±10,58 31,52% | 90,6±9,71 37,1% |
| Вентромедиальное ядро | 64,66±7,37 28,57% | 63,0±14,73 27,83% | 98,66±10,06 43,60% |
| Латеральная зона гипоталамуса | 48,0±3,46 24,74% | 66,66±7,63 34,36% | 79,33±8,14 40,90% |
| Сенсомоторный цереброкортекс | 270,7±42,9 17,65% | 365,0±39,03 23,79% | 898,4±103,4 58,56% |
| Правое полушарие | | | |
| Паравентрикулярное ядро | 60,0±8,71 25,10% | 61,66±7,63 25,80% | 117,33±15,53 49,10% |
| Вентромедиальное ядро | 60,0±5 24,09% | 66,33±6,02 26,65% | 122,66±13,20 49,26% |
| Латеральная зона гипоталамуса | 44,33±5,13 20,79% | 53,66±9,07 25,15% | 115,33±9,45 54,06% |
| Сенсомоторный цереброкортекс | 225,5±43,1 15,75% | 331,8±50,7 23,49% | 852,5±137,1 60,76% |

Наиболее отчетливо различия в системной организации глии были получены и продемонстрированы при сравнительной оценке количественных глиальных индексов (ГИК 1-3) (табл.2). При анализе полученных результатов оказалось, что наиболее информативным оказался показатель ГИК 2. В сенсомоторном цереброкортексе левого полушария данный индекс был выше, чем в паравентрикулярном ядре гипоталамуса на 64,39%, а правом полушарии – на 48,16%. Отличительной особенностью оказались также более высокие значения ГИК 2 правого полушария, по сравнению с левым в каждом исследованном клеточном образовании головного мозга. Минимальная разница при этом наблюдалась в сенсомоторной коре больших полушарий головного мозга – 12,22%, а наибольшая была отмечена в латеральной клеточной зоне гипоталамуса, которая составила 36,47%. Эти данные подтверждают высказанную ранее гипотезу об эволюционном детерминировании глиального представительства в филогенетически неоднородных образованиях ЦНС и, в частности, в клеточных структурных образованиях гипоталамуса и цереброкортекса.

Данные индекса ГИК3 свидетельствует о степени концентрации астроцитов в исследованных образованиях головного мозга крыс. В частности, значения ГИК3 были наименьшими в обоих полушариях. По сравнению с паравентрикулярными ядрами гипоталамуса (где значения ГИК3 были наибольшими), разница составила 52,12% в левом полушарии и 26,05% в правом, соответственно. В целом, в исследованных клеточных образованиях головного мозга сумма

олигодендроцитов была наибольшей в эволюционно более молодых образованиях гипоталамуса и сенсомоторного цереброкортекса правого полушария. При этом наименьшая разница между полушариями была зафиксирована в цереброкортексе (16,34%), а наибольшая – в латеральной клеточной зоне гипоталамуса (44,64%) (табл.2). Значения ГИК 1 не позволило выявить искомую зависимость от филогенеза клеточного образования или от локализации в соответствующем большом полушарии мозга.

Таким образом, применение данных методик анализа глии позволяет объективно оценить состав и структурную гетерогенность глии в различных клеточных образованиях головного мозга в норме, а его целью является усовершенствование анализа параметров и гистологических характеристик эволюционно неоднородных клеточных систем и образований мозга интактных белых крыс.

2. Применение методик анализа для изучения состояния глиальной системы некоторых клеточных образований гипоталамуса белых крыс при моделировании острого геморрагического инсульта (ГИ)

При воспроизведении острого ГИ в ядрах гипоталамуса опытных животных наблюдалось уменьшение числа астроцитов и олигодендроцитов на фоне существенного увеличения числа микроглиоцитов (табл.3). Наиболее отчетливо эти изменения проявлялись в дорсомедиальном ядре и латеральной клеточной зоне гипоталамуса. Нарастание указанных изменений в глиальной системе наблюдалось в ряду клеточных образований от паравентрикулярного ядра пе-

реднего гипоталамуса к латеральной зоне среднего гипоталамуса (табл.3). Об этом свидетельствует также постепенное уменьшение показателей значений ГИК 1, 2 (что связано с утратой

ядрами гипоталамуса при ГИ доли астроцитов и олигодендроцитов), на фоне постепенного изменения значений ГИК 3, связанного с увеличением доли микроглиоцитов (табл.4).

Таблица 2
Анализ количественных отношений глиоцитов (индексы ГИК 1-3) клеточных образований головного мозга белых крыс (площадь поля зрения 0,689 мм², (10 полей зрения, $\bar{x} \pm \bar{s}$))

| Исследуемые образования головного мозга | Глиальные индексы | | |
|---|-------------------|------------|------------|
| | ГИК1 (А/М) | ГИК2 (О/М) | ГИК3 (А/О) |
| Левое полушарие | | | |
| Паравентрикулярное ядро | 1,004 | 1,182 | 0,850 |
| Вентромедиальное ядро | 0,974 | 1,526 | 0,639 |
| Латеральная зона гипоталамуса | 1,389 | 1,653 | 0,840 |
| Сенсомоторный цереброкортес | 1,351 | 3,319 | 0,407 |
| Правое полушарие | | | |
| Паравентрикулярное ядро | 1,028 | 1,960 | 0,526 |
| Вентромедиальное ядро | 1,106 | 2,044 | 0,541 |
| Латеральная зона гипоталамуса | 1,210 | 2,602 | 0,465 |
| Сенсомоторный цереброкортес | 1,471 | 3,781 | 0,389 |

Условные обозначения: А – сумма астроцитов, О – сумма олигодендроцитов, М – сумма микроглиоцитов.

Рассмотрим эти вопросы более подробнее. В нейросекреторном крупноклеточном паравентрикулярном ядре гипоталамуса, после моделирования острого ГИ наблюдалось системное изменение количества астроцитов, олигодендроцитов и микроглиоцитов (табл.3). При этом

число астроцитов уменьшалось на 22,2% в сравнении с показателем контрольной группы, олигодендроцитов – на 1,4%, т.е. оставалось практически прежним в то время, как число микроглиоцитов одновременно увеличивалось на 18,5% (табл.3).

Таблица 3
Изменение количественного состава глиоцитов образований переднего и среднего гипоталамуса при моделировании острого ГИ (по данным показателя ГФ)

| Клеточное образование гипоталамуса | Статус исследуемой зоны | Астроциты | Олигодендроциты | Микроглиоциты |
|------------------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Паравентрикулярное ядро | Контроль | 61,66±7,63 25,80% | 117,33±15,53 49,10% | 60,0±8,71 25,10% |
| | После моделирования ГИ | 48,0±7,21 20,22% | 115,66±12,89 48,75% | 73,66±8,14 31,03% |
| Вентромедиальное ядро | Контроль | 66,33±6,02 26,65% | 122,66±13,20 49,26% | 60,0±5 24,09% |
| | После моделирования ГИ | 53,0±7,93 28,35% | 72,33±8,73 38,68% | 61,66±11,59 32,97% |
| Дорсомедиальное ядро | Контроль | 81,0±6,55 29,38% | 151,0±9,0 54,77% | 43,66±5,68 15,85% |
| | После моделирования ГИ | 84,66±10,78 29,85% | 117,66±13,27 41,48% | 81,33±11,01 28,67% |
| Латеральная зона гипоталамуса | Контроль | 53,66±9,07 25,15% | 115,33±9,45 54,06% | 44,33±5,13 20,79% |
| | После моделирования ГИ | 66,0±12,0 33,12% | 64,66±15,01 32,44% | 68,66±11,01 34,44% |

Условные обозначения: ГИ – геморрагический инсульт; ГФ – глиальная формула.

В вентромедиальном ядре среднего гипоталамуса (N. w.-m.) (табл.3) у крыс с острым ГИ наблюдалась следующая картина изменений. Установлено, что число астроцитов уменьшилось на 20,1%, олигодендроцитов – на 41,03%, а число микроглиоцитов оставалось практически без изменений, частично увеличиваясь (только на 2,7%) по сравнению с контрольными показателями. Однако, по структуре глиальной формулы изменения существенно отличались от таковых у паравентрикулярного ядра переднего гипоталамуса. Доля астроцитов, например, увеличилась на 1,7% (несмотря на уменьшение в абсолютном выражении), олигодендроцитов уменьшилась на 10,6%, в то время как доля микроглиоцитов увеличилась на 8,9%). Такая динамика изменений в большей мере присуща и

характерна для эволюционно более молодых клеточных образований головного мозга млекопитающих (табл. 3,4). В отличие от N. w.-m., в дорсомедиальном ядре среднего гипоталамуса было обнаружено значительное увеличение числа микроглиоцитов (на 46,3%), в то время как число астроцитов, и олигодендроцитов уменьшилось соответственно на 4,3% и на 22,0% в сравнении с показателями, установленными у контрольных животных. При этом доля астроцитов в ГФ практически не изменялась, олигодендроцитов – уменьшилась на 13,3%, а микроглиоцитов – увеличивалась на 12,8% (табл.3).

У последнего из группы изученных образований – латеральной зоны среднего гипоталамуса после моделирования острого ГИ было обнаружено увеличение числа астроцитов и микро-

глиоцитов (на 18,7% и на 35,4% соответственно) на фоне одновременного значительного уменьшения числа олигодендроцитов (на 43,9%) по сравнению с соответствующими показателями у контрольных животных. Доля астроцитов и микроглиоцитов в глиальной формуле выросла на 8,0% и 13,65% соответственно, а олигодендроцитов – резко уменьшилась на 21,6% (табл.3). Эти данные свидетельствуют об идентичном реагировании глиального состава (глиома) образований мозга (и, в частности, гипоталамуса) на действия патогенетических факторов и, в частности, при развитии (моделировании) острой недостаточности мозгового кровообращения. В то же время, эти процессы в значительной степени зависят от эволюционного процесса фор-

мирования мозговых образований.

Анализ качественных изменений соотношений глиоцитов в паравентрикулярном ядре гипоталамуса показал, что после моделирования ГИ показатель ГИК 1 уменьшился на 36,7% в сравнении с соответствующим показателем контрольной группы. В то же время другие показатели ГИК 2 и ГИК 3 также снижались на 19,9% и 21,1% соответственно. Эти данные отображают объективно характер изменений глиальной системы паравентрикулярного ядра, и свидетельствуют об увеличении числа микроглиоцитов, их доли в общей системе глиоцитов в филогенетически древнем крупноклеточном нейросекреторном ядре переднего гипоталамуса в условиях острого ГИ (табл.4).

Таблица 4
Изменение глиальных индексов клеточных образований гипоталамуса животных при моделировании острого ГИ (по данным изучения ГИК 1-3)

| Клеточное образование гипоталамуса | Статус исследуемой зоны | ГИК1 (А/М) | ГИК2 (О/М) | ГИК3 (А/О) |
|------------------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|
| Паравентрикулярное ядро | Контроль | 1,028 | 1,960 | 0,526 |
| | После моделирования ГИ | 0,651 | 1,570 | 0,415 |
| Вентромедиальное ядро | Контроль | 1,106 | 2,044 | 0,541 |
| | После моделирования ГИ | 0,860 | 1,173 | 0,733 |
| Дорсомедиальное ядро | Контроль | 1,855 | 3,459 | 0,536 |
| | После моделирования ГИ | 1,041 | 1,447 | 0,719 |
| Латеральная зона гипоталамуса | Контроль | 1,210 | 2,602 | 0,465 |
| | После моделирования ГИ | 0,961 | 0,942 | 1,021 |

Условные обозначения: ГИК – глиальный индекс количественный.

А – сумма астроцитов, О – сумма олигодендроцитов, М – сумма микроглиоцитов.

Изучение изменений глиальных индексов, характеризующих вентромедиальное ядро гипоталамуса (табл.4), свидетельствует о том, что после моделирования ГИ отмечалось уменьшение показателей ГИК 1 и ГИК 2 на 22,2% и 42,6% соответственно в сравнении с показателями, соответствующими данным контрольных животных. При этом показатель ГИК 3 увеличивался на 26,2% и свидетельствовал об увеличении числа астроцитов (чего не наблюдалось в паравентрикулярном ядре), а также о резком снижении количества олигодендроцитов.

Показатели ГИК дорсомедиального ядра отличались от таковых, описанных у других клеточных образований гипоталамической области. Показатель ГИК 1 изучаемого ядра при ГИ уменьшался на 43,9%, ГИК 2 еще более существенно (на 58,2%), а ГИК 3, наоборот, увеличивался на 25,5% в сравнении с показателями изучаемого ядра контрольной группы животных. Выраженность обнаруженных изменений превосходила таковые ГИК 1-3 паравентрикулярного и вентромедиального ядер гипоталамуса. Таким образом, обнаруженные изменения в дорсомедиальном ядре характеризуют в первую очередь не только значительное увеличение абсолютного числа микроглиоцитов и их доли в структуре глиома данного клеточного образования гипоталамуса, но и резкое уменьшение числа и доли олигодендроцитов (табл.4).

И наконец, было установлено, что основные изменения показателей глиальных индексов количественных, характеризовавших латеральную зону гипоталамуса, проявлялись уменьшением ГИК 1 на 20,6%, и ГИК 2 – на 63,8% на фоне одновременного значительного увеличения ГИК 3 – на 54,5%. Эти данные свидетельствуют о резком увеличении абсолютного числа и доли микроглиоцитов в кластере глиальной системы данного гетерогенного клеточного образования, а также об уменьшении роли и вклада олигодендроцитов в ее функционирование при ГИ (табл.4).

3. Изучение влияния патогенов острого геморрагического инсульта (ГИ) на состояние глиальной системы образований мозга белых крыс и эффективности лечебных препаратов, используемых с целью его специфической фармакотерапии

Результаты анализа данных ГФ и ГИК 1-3 у данной группы животных позволили установить следующие закономерности [5]. После моделирования у белых крыс острого геморрагического инсульта число астроцитов и олигодендроцитов в сенсомоторном цереброкортексе по данным ГФ уменьшалось на 52,0% и 55,01% соответственно, при этом число микроглиоцитов увеличивалось соответственно на 13,7% (табл.5). Дополнительно была обнаружена разница эффективности и особенностей фармакоглиопротек-

торного действия исследованных препаратов «Ампассе», «М₂» и «Церебрала» (табл.5). В частности, препарат «Ампассе» влиял сбалансировано и эффективно, восстанавливая число всех изучаемых типов глиоцитов, нормализуя при этом показатели ГИК 1 и ГИК 2. Фармакопрепарат обладал и более выраженным астро- и олигопротекторным действием, чем «М₂» и специфическое противоинсультное средство «Церебрал» (табл.5).

В отличие от такого действия, средство «М₂» обладало выраженным глио-, и в частности, астропротекторным влиянием, нормализуя пока-

затель ГИК 1. Однако, и по данному показателю «М₂» существенно уступало «Ампассе» в равной мере, как и по степени олигоглиопротекторной активности (табл.6).

Фармакотерапия экспериментального воспроизведенного острого ГИ у белых крыс благодаря использованию трофинотропного средства «Церебрал» сопровождалось значительным увеличением числа микроглиоцитов и частичным увеличением числа олигодендроцитов. Соответствующим образом происходило изменение показателей ГИК 1-3, о чем более подробно будет изложено ниже (табл.5,6)

Таблица 5

Изменения показателей глиальной формулы сенсомоторного цереброкортеса при моделировании острого геморрагического инсульта и использовании средств для его фармакотерапии (площадь поля зрения 0,689 мм², (10 полей зрения, $\bar{x} \pm s$)

| Группы животных | Глиоциты | | |
|-------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--|
| | Астроциты | Олигодендроциты | Микроглиоциты |
| Контроль | 298,67±29,11 17,88% | 876,00±31,64 52,42% | 496,50±22,66 29,70% |
| ГИ | 143,50±62,73 [*] 12,90% | 393,50±112,52 [*] 35,38% | 575,30±108,27 [*] 51,72% |
| ГИ+Ампассе (0,1 мг/кг) | 353,14±19,19 ^{***} 22,86% | 660,10±35,64 ^{***} 42,73% | 531,41±31,44 ^{***} 34,40% |
| ГИ+М ₂ (0,1 мг/кг) | 255,80±36,21 ^{***} 30,35% | 212,70±18,03 ^{***} 25,25% | 374,10±34,40 ^{***} 44,40% |
| ГИ+Церебрал (0,15 мг/кг) | 143,0±54,43 [*] 9,25% | 485,40±191,40 [*] 31,38% | 918,60±192,53 ^{***} 59,37% |

Условные обозначения: ГИ – геморрагический инсульт; М₂ – Митохондрин. * – статистически достоверно (при p≤0,05) к контрольным значениям, *** – статистически достоверно (при p≤0,05) к группе ГИ.

Предложенная и использованная методика оценки ГФ позволила выявить и детализировать не только количественные, но и качественные особенности влияния изученных лекарственных препаратов на клеточные образования цереброкортеса при воспроизведении ГИ. Она является достаточно чувствительной, может быть использована при оценке влияния и других или инновационных лекарственных средств, препаратов, являясь количественным и качественным системным показателем, необходимым для проведения современных нейронаучных исследований.

Детальный анализ взаимоотношений различных типов глиоцитов цереброкортеса был осуществлен при оценке показателей ГИК 1-3 (табл.6). У опытных животных с ГИ использовали ряд ранее указанных фармакологических препаратов. Было установлено, что ГИК 1 уменьшался практически в 3 раза после воспроизведения ГИ в сравнении с данным показателем у животных контрольной группы. После использования лечебных средств «Ампассе» и «М₂» данный показатель нормализовался. Однако после использования средства «Церебрал» ГИК 1 в 4 раза уступал этому показателю у контрольных животных. Полученные данные свидетельствуют о том, что «Церебрал» не только не оказывает проастроцитарного протекторного действия, но и способствует существенному увеличению популяции микроглиоцитов в сенсомоторном цереброкортесе.

После воспроизведения у крыс ГИ ГИК 2 существенно уменьшался (практически в 3 раза). Наиболее близкие к данным контрольных животных значения ГИК 2 были обнаружены после терапии ГИ «Ампассе», в то время как терапия острой недостаточности мозгового кровообращения (ОНМК) «М₂» и «Церебралом» не предупреждали уменьшения данного количественного индекса даже по сравнению с результатами опытной группы с ГИ (табл.6).

И, наконец, показатель ГИК3, который частично увеличивался в цереброкортесе после моделирования ГИ, свидетельствовал об уменьшении в этих условиях общего числа олигодендроцитов. Использование средств «Ампассе» и «М₂» увеличивало показатели данного индекса практически в 2 и в 4 раза соответственно (по сравнению с контролем), в то время, как при использовании «Церебрала» было отмечено его резкое уменьшение. Таким образом, для «Ампассе» и, особенно, «М₂» характерно соответствующее проастроцитарное влияние, в то время, как для «Церебрала», такой тип фармакологического действия не характерен (табл.6).

Сравнительный анализ влияния антиинсультных средств на сенсомоторный цереброкортес опытных крыс с моделью ГИ свидетельствует о высокой чувствительности методик ГИК 1-3, а также возможности объективного изучения и оценки селективности влияния фармакологических средств на отдельные пулы глиоци-

тов, формирующих с нейронами клеточные образования головного мозга млекопитающих. Полученные результаты свидетельствуют, по-видимому, о важной роли самих глиоцитов в системной деятельности образований мозга в норме, условиях патологии различного генеза,

важном глиопротекторном фармакологическом механизме действия отдельных препаратов в реализации нейро- и психофармакологического действия лекарственных препаратов при лечении заболеваний мозга различной этиологии.

Таблица 6
Анализ показателей глиальных индексов количественных (ГИК 1-3) сенсомоторного цереброкортеса после моделирования геморрагического инсульта и использования изучаемых фармакотерапевтических средств

| Группы животных | ГИК 1 (А/М) | ГИК 2 (О/М) | ГИК 3 (А/О) |
|-------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Контроль | 0,604 | 1,765 | 0,343 |
| ГИ | 0,261 | 0,682 | 0,400 |
| ГИ+Ампассе (0,1 мг/кг) | 0,665 | 1,242 | 0,535 |
| ГИ+М ₂ (0,1 мг/кг) | 0,693 | 0,573 | 1,212 |
| ГИ+Церебрал(0,15 мг/кг) | 0,155 | 0,528 | 0,312 |

Условные обозначения: ГИ – геморрагический инсульт;
М₂ – Митохондрин. А – сумма астроцитов,
О – сумма олигодендроцитов, М – сумма микроглиоцитов.

Полученные благодаря использованию методик ГФ и ГИК (1-3), результаты имеют не только важное теоретическое, но и существенное практическое значение. В частности, они могут быть использованы для изучения проблем патогенеза ГИ, а также других экспериментальных моделей травматических, цереброваскулярных и нейродегенеративных заболеваний нервной системы, эффективной терапии и предупреждения развития постинсультных и других отдаленных последствий, а также оценки эффективности разрабатываемых инновационных нейрофармакотерапевтических средств.

Заключение

Использование количественных методик анализа ГФ и ГИК (1-3) в процессе изучения глиальной системы различных клеточных образований мозга в условиях нормы, патологии и после проведения фармакотерапии экспериментально воспроизведенной цереброваскулярной патологии показало, что данные методики являются чувствительными и пригодными для выполнения научно-исследовательских и практических задач. В частности, во время исследований обнаружено, что анализ результатов глиальной формулы и глиальных индексов количественных позволил объективно проанализировать структуру глии различных клеточных образований головного мозга в норме с целью усовершенствования и внедрения в научно-исследовательскую работу объективных параметров оценки соответствующих гистологических характеристик. Полученные результаты позволили не только качественно, но и количественно оценить особенности нарушений глиального гомеостаза различных клеточных образований мозга (цереброкортеса, различных ядер гипоталамуса) при моделировании ГИ, они могут быть использованы и при моделировании других патологий центральной нервной системы. В настоящее время такое исследование вы-

полняется при моделировании у грызунов одной из моделей депрессии [9].

При этом впервые удалось проанализировать и сравнить эффект различных лечебных средств на глиальную систему образований мозга в условиях терапии острой цереброваскулярной патологии мозга с целью выбора наиболее оптимального и эффективного препарата.

На основе полученных результатов проведенной работы был разработан детальный алгоритм изучения изменений глиального гомеостаза глиома образований мозга с помощью анализа ГФ и ГИК 1-3. Рассмотрим 3 основных его этапа, которые рекомендуются для использования при проведении соответствующих исследований:

1. Для изучения предлагаем использовать не менее 8-10 фиксированных и окрашенных стандартными красителями срезов мозга исследуемых (в эксперименте) какого-то конкретного среди изучаемых образований мозга. Для окраски возможно использовать гематоксилин-эозин, а также специфические красители, которые в настоящее время используются для окраски отдельных типов глиоцитов, например, окраска на GFAP (Glial fibrillary acidic protein) – астроциты, на антитело Ох-42 – на олигодендроциты, ММР (главный белок миелина) – на микроглиоциты. В отличие от неспецифических, специфические красители эти позволяют наиболее точно выявить и установить число отдельных типов глиальных клеток для расчета ГФ и ГИК (1-3).

2. Для реализации алгоритма изучения необходимо использовать два варианта увеличения при работе с окрашенными срезами: 1) увеличение 80-100х – общий вид, используется для выбора и фиксации конкретного участка изучения (Рис.1) и 2) увеличение 400х – основной вид, для непосредственной оценочной работы с выбранными клеточными объектами в конкретном четко очерченном поле зрения (Рис.2).



Выбор и фиксация участка исследования важны для оценки возможных различий ГФ и ГИК 1-3 в разных участках гетерогенного клеточного образования или различных участках образований мозга.

Литература

1. Карамян А.И. Эволюция конечного мозга позвоночных / А.И. Карамян. – Л.: Наука, Ленинградское отд. – 1976. – 251 с.
2. Макаренко А.Н. Изменения в глияльной системе сенсомоторного цереброкортеса белых крыс при экспериментальном воспроизведении цереброваскулярной патологии / А.Н. Макаренко, Ковтун А.Н., Кривоноз В.В., Черная С.И. // Фундаментальные проблемы нейронаук. Функциональная ассиметрия. Нейропластичность. Нейродегенерация. Материалы Всеросс. Науч. Конференции с междунар. участием (Москва, РФ), 18-19 декабря 2014. – С.599-614.
3. Макаренко А.Н. Изучение нейрона- и глиоглиальных преобразований в клеточных системах головного мозга в норме и при моделировании цереброваскулярной патологии / А.Н. Макаренко, В.Н. Бибикова, Н.Н.Терещенко, С.И. Савосько // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2014. – Т.14, №1(45). – С. 100-106.
4. Макаренко А. Н. Состояние нейроглиальной системы некоторых ядер гипоталамуса при экспериментальном остром геморрагическом инсульте / А. Н. Макаренко, А.Н. Ковтун, Ф.И. Петров // Материалы II Всеросс. науч. конф. с междунар. участием. «Фундаментальные проблемы нейронаук: функциональная ассиметрия, нейропластичность и нейродегенерация». – (Москва, 15-16 декабря, 2016 года). - 2016. – С.586-593.

- Макаренко А. Н. Сравнительный анализ влияния лечебных средств «Амласе», «М» и «Церебрала» на системную глянчатую клеточную реакцию сенсо-моторного цереброректеса белых крыс при моделировании острого геморрагического инсульта (ГИ) / А. Н. Макаренко, А. Н. Ковтун, Ф. И. Петров, И. Г. Васильева // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2017. - Т. 17, №1(57). - С. 243-247.
- Макаренко А. Н. Сравнительная характеристика системной нейроглияльной организации образований головного мозга млекопитающих / А. Н. Макаренко, А. Н. Ковтун, Ф. И. Петров // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2017. - №2(58). - С. 32-36.
- Макаренко О. М. Порівняльна оцінка кількісно-якісного стану глянчатій системи в цереброректесі головного мозку щурів / О. М. Макаренко, Ковтун А. М., Петров П. І. // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2016. - Т. 16, №1 (53). - С. 219-226.
- Banasz M. Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. / M. Banasz, R.S. Duman // Biological psychiatry. - 2008. - V. 64(10). - P. 863-870.
- Eldomiaty Magda A. Voluntary running improves depressive behaviours and the structure of the hippocampus in rats: A possible impact of myokines. / Magda A. Eldomiaty, Shaima M. Almasry, Maha K. Desouky, Sami A. Algaidi // Brain Research. - 2017. - V. 1657. - P. 29-42.
0. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. / Institute of Laboratory Animal Resources. Commission on Life Sciences. National Research Council. National Academy Press. Washington, D.C. - 1996. - 98 p.
1. Parpura V. Glial cells in (patho)physiology. / V. Parpura, M.T. Heneka, V. Montana [et al.] // J. Neurochemistry. - 2012. - V. 121(1). - P. 24-27.
2. Paxinos G. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, 6th Edition. / G. Paxinos, C. Watson - Academic Press. - 2006. - 456 p.
3. Rajkowska G. Gliogenesis and glial pathology in depression. / G. Rajkowska, J.J. Miguel-Hidalgo // CNS Neurol Disord Drug Targets. - 2007 - V. 6 - P. 219-233.

Макаренко А., Ковтун А., Петров Ф., Джугля И.

Ключові слова: гліальна формула, утворення головного мозку, патологія центральної нервової системи.

Summary

COMPARATIVE ANALYSIS OF GLIAL FORMULA AND GLIAL QUANTITATIVE INDICES AS A WAY OF INVESTIGATING GLIAL CELL SYSTEM OF THE BRAIN

Makarenko A., Kovtun A., Petrov F., Dzuhlyia I.

Key words: glial cells, glial formula, glial quantitative indices, brain.

Glial system of the brain is largely influenced by various factors of external and internal environment. Techniques of analysis glial formula and glial quantitative indices allows us to characterize the cytological parameters of various cellular structures of the brain in normal conditions, to evaluate the influence of pathological factors objectively, and to assess the effectiveness of the therapy of various CNS pathologies.

УДК 616.131-004-06:577.128

Москаленко Р.А.

РОЛЬ ПАТОЛОГІЧНОЇ БІОМІНЕРАЛІЗАЦІЇ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОТИЧНОМУ УРАЖЕННІ АОРТИ

Сумський державний університет

Метою роботи було морфологічне дослідження мінералізованих тканин аорти, ураженої атеросклерозом. Всього було досліджено 60 зразків мінералізованих аорт (I група) та 10 зразків тканини стінки аорт без ознак біомінералізації (II група), які виступали у якості контролю. Під час дослідження використали гістологічні, гістохімічні методи та скануючу електронну мікроскопію з рентгенівською дифракцією. Середній вік померлих з атеросклеротичним ураженням аорти становив $68,43 \pm 1,32$ року, а без явищ мінералізації – $51,8 \pm 2,56$ років. Для дослідження було відібрано рівну кількість чоловіків і жінок (30 і 30 пацієнтів). При макроскопічному дослідженні виявлено, що при атеросклеротичному ураженні біомінеральні депозити локалізувалися у ділянці внутрішнього шару стінки аорти. Гістологічне дослідження показує, що в уражених компонентах тканини аорти виявляється потовщення фіброзного шару та еластичних волокон, вогнищеве відкладення ліпідів, холестеринові кісти, явища набряку. Присутність сполук кальцію у виявлених біомінералах підтверджувалася за допомогою гістохімічних забарвлень алізаріновим червоним та методом фон Косса. При СЕМ із рентгенівським мікроаналізом мінералізовані елементи тканин аорти виявлялися як яскраві об'єкти біло-сірого кольору у вигляді брил, грудок, дрібних порошкоподібних частинок, які були інкрустовані у гістологічну структуру стінки і тісно пов'язані зі сполучнотканинним компонентом органу. В окремих місцях спостерігалось розшаровування еластичних і сполучнотканинних волокон, в інших локаціях біомінеральна тканина плавно переходила в навколишню строму. Рентгенівські дифрактограми мінералізованих компонентів стінки аорти усіх локалізацій показували подібний хімічний склад, близький за співвідношенням кальцію та фосфору, переважна більшість яких відповідала гідроксиапатитам.

Ключові слова: аорта, гідроксиапатит, морфологічні зміни, атеросклероз, біомінералізація.

Робота виконана за підтримки науково-дослідної теми «Дослідження змін у кістках при переломах за умов використання наноматеріалів для метал-остеосинтезу з урахуванням функцій м'язового апарату», № державної реєстрації 0116U006815.

Вступ

Біомеханічні властивості тканини аорти залежить від мікроархітектури екстрацелюлярного матриксу [1]. Кальцифікати порушують гістоархітектоніку через відкладення твердих мінеральних депозитів у м'яких тканинах аорти [2]. Втрата біомеханічної злагожденості тканини (аорти) серцево-судинної системи призводить до гострих або хронічних несприятливих ускладнень, таких як порушення цілісності та деформації стінок судин і серця, клапанного апарату, інфарктів. Найбільше значення для здоров'я людини мають два типи кардіоваскулярної біомінералізації: мікро- і макрокальцифікація [3].

Погляди на те, що мікрокальцифікація або т.з. «точкова кальцифікація» (spotty calcification), асоційована з підвищенням кардіоваскулярної смертності є загальноприйнятою [4]. Біомеханічним аспектам мікрокальцифікації присвячені кілька нещодавніх робіт, в яких розглядається

розподіл тиску в атеросклеротичній бляшці і механізм її розриву мінеральним депозитом [5,6]. Дифузні кальцифікати, які утворюють суцільні фрагменти більше ніж 5 мм, розташовані, як правило, у вигляді листів (sheet-like calcification), визначаються як прояв макрокальцифікації [7]. На відміну від точкової кальцифікації, макрокальцифікація стабілізує атеросклеротичну бляшку і слугує бар'єром на шляху запалення [3].

Мета роботи

Морфологічне дослідження мінералізованих тканин аорти, уражених атеросклерозом.

Матеріали та методи дослідження

Протокол комісії етики. Проведення дослідження було схвалено етичним комітетом Медичного інституту СумДУ (протокол №3/6, 7.06.16).

Дослідження проводилось на секційному матеріалі, отриманому під час аутопсій на базі Сумського обласного патологоанатомічного бю-