

Т. І. КметьБуковинський державний медичний
університет, м. ЧернівціОСОБЛИВОСТІ ДИНАМІКИ
МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ
ЕНДОТЕЛІОЦИТІВ У РІЗНИХ ДІЛЯНКАХ
КОРИ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ПРИ НЕПОВНІЙ
ГЛОБАЛЬНІЙ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ
ГОЛОВНОГО МОЗКУ**Ключові слова:** головний мозок,
ішемія-реперфузія, ендотеліальні
клітини.**Резюме.** Досліджено особливості впливу двобічної каротидної ішемії-реперфузії головного мозку на морфофункціональний стан ендотеліоцитів судин різних функціональних відділів кори великих півкуль у динаміці. Встановлено, що найбільшу схильність до ішемічно-реперфузійного пошкодження мають ендотеліальні клітини тім'яної частки кори головного мозку, що проявляється зниженням їх щільності розташування, порушенням морфометричних характеристик, а найменшу – ендотеліоцити судин лобової ділянки. У лобовій та скроневої частках кори півкуль на 12-ту добу постішемічного періоду виявлено компенсаторне посилення проліферації ендотеліальних клітин.**Вступ**

Судинна патологія головного мозку становить одну з найбільш важливих проблем сучасної медицини внаслідок неухильного зростання захворюваності, негативного впливу на якість життя, ранньої інвалідизації пацієнтів. В Україні зареєстровано більше 3 млн осіб із цереброваскулярними захворюваннями (ЦВЗ), при цьому 40 % із них — працездатного віку, серед яких щорічно близько 20 тис. стають інвалідами [3]. У структурі ЦВЗ найбільш тяжким вважається мозковий інсульт. Незважаючи на зусилля світової наукової спільноти в боротьбі з судинною патологією, кількість гострих порушень мозкового кровообігу (ГПМК) продовжує невпинно зростати [10]. Це друга або третя (за даними різних країн) причина в структурі смертності населення [1, 10]. Показано, що в основі поліморфізму ГПМК лежать різноманітні патогенетичні механізми: атеротромбоз, церебральна емболія, тривалий спазм судин [6, 7]. Проте однією з основних ланок патогенезу ГПМК є зменшення атеросклеротичних властивостей ендотелію судинної стінки, який на сьогоднішній день рахується органом-мішенню в патогенезі захворювання [2]. Оскільки ендотеліальні клітини входять до складу гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ), а також інтенсивно реагують на вазоактивні субстанції, вивчення раних та відстрочених ефектів ішемії на їх структурно-функціональні характеристики є важливим для розуміння динаміки формування ендотеліальної дисфункції. Із джерел літератури відомо [5, 9], що в умовах реперфузії в ранньому постішемічному

періоді збільшується проникність ГЕБ, яка призводить до набряку головного мозку. При аналізі літератури з даної проблеми, виявлено мало даних стосовно динаміки порушень стану ендотеліальних клітин різних ділянок кори головного мозку.

Мета дослідження

Вивчити в динаміці вплив неповної глобальної ішемії мозку з подальшою реперфузією різної тривалості на показники морфофункціонального стану ендотеліоцитів лобової (моторної), тім'яної (соматосенсорної) та скроневої (слухової) часток кори великих півкуль.

Матеріал і методи

Дослідження проведено на шестимісячних самцях білих нелінійних щурів трьох груп: контрольні тварини; щури, в яких проводили визначення через 1 год після реперфузії; щури, яких виводили з експерименту на 12-ту добу після ішемії. Неповну двобічну глобальну ішемію мозку моделювали 20-хвилинним кліпсуванням загальних сонних артерій [4], після чого кровотік по цих судинах відновлювали. Для вивчення раних наслідків ішемії-реперфузії мозку частину тварин виводили з експерименту через 1 годину, а відстрочених – на 12-ту добу. Моделювання каротидної ішемії та декапітацію здійснювали під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг маси тіла).

Експериментальні втручання здійснювали відповідно основним положенням GLP (1981 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та

інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Для проведення морфометричних досліджень головний мозок фіксували в розчині Буена протягом 24 год, потім за стандартною схемою проводили гістологічну проводку і тканину заливали в парафінові блоки, з яких готували серійні фронтальні зрізи товщиною 5 мкм. Для вивчення морфофункціонального стану ендотеліоцитів кори мозку гістологічні зрізи депарафінували та фарбували галоціанін-хромовими квасцями за Ейнарсоном для специфічного виявлення РНК.

Зображення, отримане в спектрі люмінесценції на флуоресцентному мікроскопі AXIOSKOP (Zeiss, Німеччина), високочутливою відеокамерою COHU-4722 (COHU Inc., США) вводили в комп'ютер VIDAS-386 і аналізували пакетом прикладних і статистичних програм VIDAS-2,5 (Kontron Elektronik, Німеччина) [8]. В автономному режимі в ендотеліальних клітинах різних часток кори головного мозку визначали наступні показники: щільність (кількість клітин на 1 мм² площі зрізу кори мозку), площу (мкм²), еквівалентний діаметр (мкм) та концентрацію РНК (одиниці оптичної щільності, E_{оп}).

Цифрові результати експериментальних досліджень опрацьовані на персональному комп'ю-

тері у прикладних програмах «Statistica 6.0» та «SPSS 13» із використанням параметричного t-критерію Стьюдента.

Обговорення результатів дослідження

За результатами експерименту встановлено (табл.), що ішемія-реперфузія має неоднозначний вплив на ендотеліальні клітини різних часток кори півкуль головного мозку. Так, щільність клітин у ранньому постішемічному періоді в тім'яній та скроневій ділянках кори вірогідно знизився на 16 % та 10 % відповідно відносно показників у контрольних тварин, тоді як у лобовій частці таких змін не виявлено. У пізньому постішемічному періоді (12-та доба) даний показник у тім'яній зоні кори зменшився на 12 %, а у лобовій та скроневій частках кори підвищився на 25 % та 14 % відповідно стосовно такого в інтактних щурів і на 32 % та 27 % – стосовно раннього терміну спостереження.

Площа ендотеліоцитів в обидва періоди постішемії у лобовій частці кори півкуль не змінилася, тоді як у тім'яній та скроневій частках кори через 1 годину після ішемії-реперфузії мало місце зростання даного показника на 9 % та 7 % відповідно.

Еквівалентний діаметр ендотеліальних клітин у лобовій частці кори півкуль щурів не зазнав змін

Таблиця

Динаміка змін показників морфофункціонального стану ендотеліоцитів окремих часток кори великих півкуль щурів за умов експериментального ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку (M±m)

| Група спостереження | Щільність, клітин (мм ²) | Площа клітини, мкм ² | Еквівалентний діаметр, мкм | Концентрація РНК у клітині, E _{оп} |
|---------------------------------|---|-----------------------------------|---|--|
| Лобова частка кори | | | | |
| Контроль | 207,68±5,68 | 5,90±0,10 | 2,42±0,03 | 0,923±0,004 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год | 195,60±7,16 | 5,99±0,12 | 2,40±0,03 | 1,011±0,006 p ₁ < 0,001 |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 258,74±12,91 p ₁ < 0,01 p ₂ <0,01 | 5,80±0,13 | 2,38±0,03 | 1,064±0,009 p ₁ < 0,001 p ₂ <0,001 |
| Тім'яна частка кори | | | | |
| Контроль | 176,68±5,06 | 5,70±0,13 | 2,33±0,03 | 0,919±0,006 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год | 149,36±8,07 p ₁ <0,05 | 6,19±0,16 p ₁ <0,05 | 2,38±0,04 | 1,006±0,009 p ₁ <0,001 |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 155,22±7,47 p ₁ < 0,05 | 6,08±0,17 | 2,48±0,05 p ₁ < 0,05 | 1,007±0,010 p ₁ <0,001 |
| Скронева частка кори | | | | |
| Контроль | 220,61±4,41 | 5,53±0,10 | 2,34±0,03 | 0,975±0,005 |
| Ішемія-реперфузія 20 хв / 1 год | 198,13±7,05 p ₁ <0,05 | 5,94±0,11 p ₁ <0,05 | 2,34±0,03 | 0,961±0,005 |
| Ішемія-реперфузія 12 діб | 251,13±12,69 p ₁ < 0,05 p ₂ <0,01 | 5,62±0,13 | 2,43±0,03 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05 | 1,21±0,01 p ₁ < 0,001 p ₂ <0,001 |

Примітка. Вірогідність різниці порівняно з: p₁ - контролем (p<0,05, p<0,01, p<0,001); p₂ - ішемією-реперфузією (20 хв / 1 год) у контрольних тварин (p<0,05, p<0,01, p<0,001)

в обидва періоди спостереження. Проте у скроневій частці кори тварин через 12 діб після ішемії спостерігалася тенденція до зростання даного показника, а в тім'яній частці – достовірне підвищення його на 6 %. Збільшення площі ендотеліоцитів на фоні зростання їх еквівалентного діаметру, на нашу думку пов'язано з набряком клітин.

Концентрація РНК у ранній термін після ішемії у скроневій частці кори не змінилася, тоді як у лобовій та тім'яній частках підвищилася на 10 % та 9 % відповідно. Проте в пізній постішемичний період даний показник достовірно зріс у всіх досліджуваних ділянках кори, особливо – в скроневій частці. Таке нерівномірне підвищення концентрації РНК, очевидно свідчить про особливості проліферативно-регенеративних процесів в ендотелії тієї чи іншої частки кори головного мозку.

Висновки

1. Неповна глобальна ішемія-реперфузія головного мозку має суттєвіший вплив на морфофункціональний стан ендотеліальних клітин судин тім'яної частки кори головного мозку, як у ранньому, так і в пізньому ішемічно-реперфузійному періодах. У лобовій частці кори півкуль виявлено менш вагомий ефект даного втручання, особливо в ранньому терміні спостереження.

2. На 12-ту добу ішемічно-реперфузійного періоду в ендотеліальних клітинах усіх досліджуваних ділянок мозку виявлено зростання вмісту РНК, що свідчить про посилення проліферативно-регенеративних процесів.

Перспективи подальших досліджень

Результати свідчать про доцільність пошуку маркерів схильності до ішемічно-реперфузійних пошкоджень ендотелію різних часток кори головного мозку в комбінації з різними захворюваннями, зокрема, цукровим діабетом.

Література. 1. Зозуля Ю. П. Проблеми судинно-церебральної патології та шляхи їх вирішення / Ю. П. Зозуля, Т. С. Міщенко // Журн. НАМН України. – 2011. – Т. 17, № 1. – С. 19–25. 2. Экспрессия васкулоэндотелиального фактора роста и характеристика эндотелиоцитов сосудов головного мозга животных с церебральной ишемией: фармакологические эффекты нового метаболитотропного препарата Лизиний / Ю. М. Колесник, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур [и др.] // Патология. – 2011. – Т. 8, № 2. – С. 89–95. 3. Міщенко Т. С. Проблема патології нервової системи в Україні та стан вітчизняної неврологічної служби на межі десятиріччя / Т. С. Міщенко // Здоров'я України. – 2010. – Т. 3, № 14. – С. 3–4. 4. Скибо Г. Г. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г. Г. Скибо // Патология. – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 22–30. 5. Bramlett H. M. Патология ишемического и травматического поражения мозга: сходства и различия / H. M. Bramlett, W. D. Dietrich // Медицина неотложных состояний. – 2006. – № 5(6). – С. 36–43. 6. Deb P. Pathophysiological mechanisms of acute ischemic

stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis / P. Deb, S. Sharma, K. M. Hassan // Pathophysiology. – 2010. – Vol. 17, № 3. – P. 197–218. 7. Ji R. Ischemic stroke and transient ischemic attack in young adults: risk factors, diagnostic yield, neuroimaging, and thrombolysis / R. Ji, L.H. Schwamm, M.A. Pervez [et al.] // JAMA Neurol. – 2013. – Vol. 70, № 1. – P. 51–57. 8. Kolesnik Y. M. Image analysis system for quantitative immunofluorescence measurement / Y. M. Kolesnik, A. V. Abramov // Microscopy and Analysis. – 2002. – № 5. – P. 12–16. 9. Yang Y. Blood-brain barrier breakdown in acute and chronic cerebrovascular disease / Y. Yang, G. A. Rosenberg // Stroke. – 2011. – Vol. 42, № 11. – P. 3323–3328. 10. Woodruff T. M. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke / T. M. Woodruff, J. Thundyil, S.-C. Tang [et al.] // Molecular Neurodegeneration. – 2011. – Vol. 6, № 11. – P. 1750–1766.

ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ В РАЗНЫХ УЧАСТКАХ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ПРИ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Т. И. Кметь

Резюме. Исследованы в динамике особенности влияния двусторонней каротидной ишемии-реперфузии головного мозга на морфофункциональное состояние эндотелиоцитов сосудов различных функциональных отделов коры больших полушарий. Установлено, что наиболее высокую склонность к ишемически-реперфузионному повреждению имеют эндотелиальные клетки теменной доли коры головного мозга, которое проявляется снижением их плотности расположения, нарушением морфометрических характеристик, а наименьшую – эндотелиоциты сосудов лобной доли. В лобной и височной долях коры на 12-е сутки постисшемического периода выявлено компенсаторное усиление пролиферации эндотелиальных клеток.

Ключевые слова: головной мозг, ишемия-реперфузия, эндотелиальные клетки

PECULIARITIES OF DYNAMICS OF MORPHOFUNCTIONAL STATE OF ENDOTHELIAL CELLS IN DIFFERENT PARTS OF THE CEREBRAL CORTEX DURING INCOMPLETE GLOBAL CEREBRAL ISCHEMIA-REPERFUSION

T. I. Kmet

Abstract. The features of effects of bilateral carotid ischemia-reperfusion injury of the brain on the morphofunctional status of vascular endothelial cells of various functional departments of the cerebral cortex in the dynamics were investigated. It has been found that endothelial cells of the parietal cortex part of the brain have the highest susceptibility to ischemic-reperfusion injury. This is manifested by reduction of their density location and violation of morphometric characteristics. Vascular endothelial cells of the frontal lobe have the smallest susceptibility to ischemic-reperfusion injury. Compensatory increased proliferation of endothelial cells was revealed in the frontal and temporal lobes of the cortex on the 12th day of postischemic period.

Key words: brain, carotid ischemia-reperfusion, endothelial cell.

Bukovyna State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol. 12, № 3 (45). - P. 79-81.

Надійшла до редакції 03.09.2013

Рецензент – проф. С. С. Ткачук

© Т. І. Кметь, 2013