

PATHOGENETIC SUBSTANTIATION OF CHOICE OF HEPATOPROTECTORS FOR PEDIATRIC PRACTICE UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS

N.A. Rikalo

Vinnitsia National Medical University by M.I. Pyrohov

SUMMARY. Research of comparative anticholestatic and anticytolytic efficiency of the most used Ukrainian and foreign hepatoprotectors for pediatric usage on the experimental model of chronic toxic hepatitis at impuberal male rats was conducted. It was set that the most expressive anticholestatic action have antral, UDHA, bicyclol, essentielle and artichoke extract. The best anticytolytic effect have bicyclol, antral, silibinin, UDHA, glutargin and essentielle, the least – thiotriazolinum, artichoke and homoeopathic medication galstena.

KEY WORDS: chronic toxic hepatitis, impuberal rats, hepatoprotectors, effectiveness.

УДК 616.37-008.64:616.831-005.1-091

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ТКАННИ ГІПОКАМПА ЗА УМОВ ДВОБІЧНОЇ КАРОТИДНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРFUЗІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ В САМЦІВ-ЩУРІВ

©С.С. Ткачук, К.С. Волков, О.М. Леньков

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

РЕЗЮМЕ. Двобічна каротидна ішемія-реперфузія головного мозку при стрептозотоцин-індукованому цукровому діабеті в самців-щурів спричинює зміну форми і вмісту нервових клітин, зменшення кількості і порушення структури органел у нейронах, набряк ендотеліоцитів гемокапілярів та перикапілярних просторів різних полів гіпокампа.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: двобічна каротидна ішемія-реперфузія, головний мозок, цукровий діабет, стрептозотоцин, електронна мікроскопія.

Вступ. Цереброваскулярні захворювання та цукровий діабет (ЦД) є актуальними медичними проблемами, що обумовлено їхнім поширенням, роллю в структурі загальної смертності та інвалідності [2, 6]. Слід зазначити, що ЦД є фоновим захворюванням, при якому розвивається ішемія головного мозку, що пов'язано як із розвитком діабетичних судинних, так і метаболічних порушень [6].

Патоморфологічні аспекти ішемічно-реперфузійних пошкоджень головного мозку, зокрема й гіпокампа як однієї з найбільш реактивних структур до такого виду стресу, є достатньо вивченими [1, 3, 5]. Досліджені гістологічні зміни цієї структури й за умов ЦД [4]. Проте ми не знайшли даних щодо морфологічних змін гіпокампа за умов ішемії головного мозку на тлі порушення вуглеводного обміну, що й обумовлює актуальність роботи.

Мета дослідження – дослідити ультраструктурний стан тканин різних полів гіпокампа головного мозку самців щурів при двобічній каротидній ішемії-реперфузії за умов стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету.

Матеріал і методи дослідження. Дослідження проводили на 44 самцях білих нелінійних щурів чотирьох груп: контрольні тварини, щури, яким виконано двобічну каротидну ішемію-реперфузію (ДКІР), щури з ЦД і щури з ЦД, яким виконано ДКІР.

Для виконання ДКІР під внутрішньоочеревинним наркозом (каліпсол, 75 мг/кг) переднім середнім шийним доступом виділяли обидві загальні сонні артерії, які кліпсували на 20 хвилин, після чого кліпси знімали для реперфузії упродовж однієї години. ЦД моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину (Sigma, Aldrich) у дозі 60 мг/кг самцям щурів віком два місяці. Тривалість діабету – три місяці. Забій тварин здійснювали декапітацією під каліпсоловим наркозом. Одразу після забору головного мозку вирізали фрагменти, що містили гіпокамп [8] і фіксували їх у 2,5 % розчині глютаральдегіду (рН 7,3-7,4). Фіксований матеріал через 60 хвилин переносили у буферний розчин і промивали впродовж 20 – 30 хвилин, після чого здійснювали фіксацію 1 % розчином чотириокису осмію на бу-

фері Міллонга впродовж 60 хвилин, а потім – дегідратацію в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол і аралдиту. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамикротомі УМРТ-7, забарвлювали 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю згідно з методом Рейнольдса та вивчали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К [7].

Усі дослідження проводилися з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.

Результати й обговорення. Встановлено, що нейрони полів CA1 та CA2 гіпокампа інтактних тварин мають округло-овальні ядра з великими ядерцями та електроннопрозорою каріоплазмою, в якій переважає еухроматин. Каріолема, перинуклеарний простір та ядерні пори чіткі. Нейроплазма має невелику площу. Щільність органел помірна, проте багато рибосом і полісом (рис. 1).

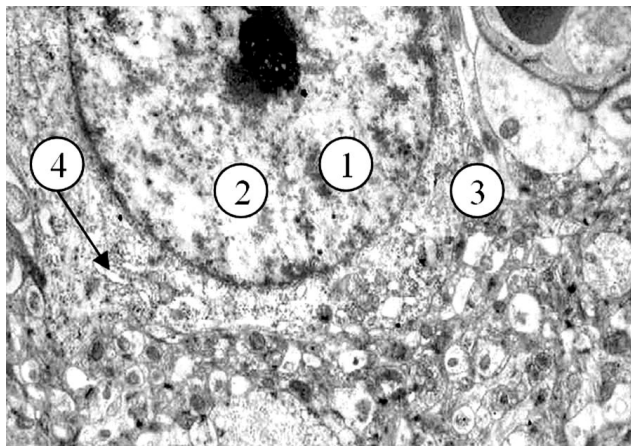


Рис. 1. Ультраструктура нейрона поля CA1 гіпокампа інтактної тварини. Кругле ядро (1), світла каріоплазма (2), невеликий об'єм цитоплазми (3), окремі каналці гранулярної ендоплазматичної сітки (4). x12 000.

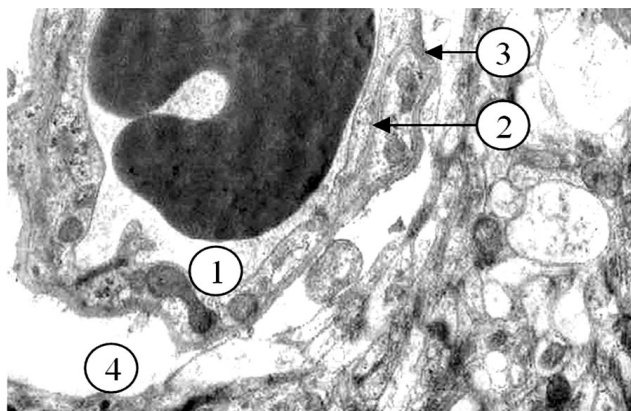


Рис. 3. Субмікроскопічна організація гемокapіляра гіпокампа інтактної тварини. Просвіт капіляра (1), тонка цитоплазматична ділянка ендотелію (2), базальна пластинка (3), цитоплазма відростка астроцита (4). x12 000.

Нейрони поля CA3 мають більші розміри тіл і площу нейроплазми, вищу щільність органел. В ядрах більше гетерохроматину. Каріолема на окремих ділянках нерівна, утворює невеликі інвагінації (рис. 2).

Гемокapіляри мають неширокі просвіти і чітку базальну мембрану помірної щільності. В ендотеліюцитах наявні видовжені ядра та вузькі цитоплазматичні ділянки з піноцитозними пухирцями, органел небагато. Цитолема ендотеліюцитів утворює мікроворсинки та кавеоли (рис. 3).

За умов ДКІР для нейронів полів CA1 та CA2 гіпокампа характерною є світла нейроплазма з невисоким вмістом органел. Ядра округлі, каріоплазма – електроннопрозора. Каріолема збережена, а перинуклеарні простори місцями потовщені. У мітохондріях наявні просвітлення матриксу й деструкція крист. Короткі каналці гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) розширені, на поверхні їх мембран мало рибосом, а також мало вільних рибосом і полісом (рис. 4).

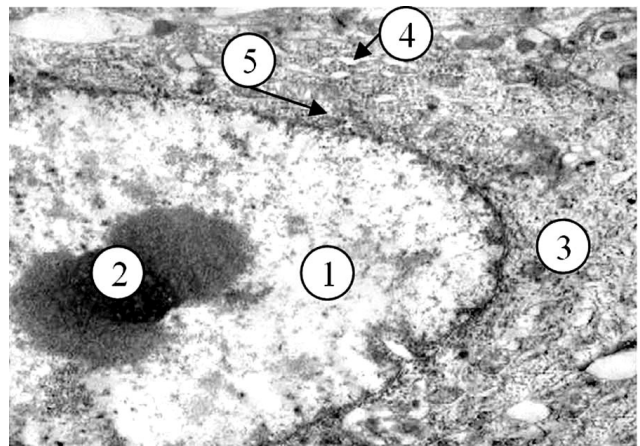


Рис. 2. Ультраструктура нейрона поля CA3 гіпокампа інтактної тварини. Фрагмент ядра (1), ядерце (2), помірний об'єм цитоплазми (3), каналці гранулярної ендоплазматичної сітки (4), мітохондрії (5). x 12 000.

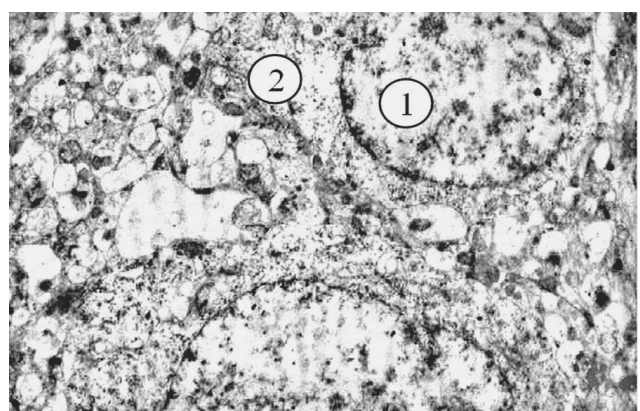


Рис. 4. Субмікроскопічні зміни нейрона поля CA1 гіпокампа тварини при двобічній каротидній ішемії-реперфузії. Електронно-прозора каріоплазма (1), світла нейроплазма (2), мало органел. x12 000.

Нейроцити поля СА3 також мають світлу набряклу нейроплазму, але більшої площі й з вищим вмістом органел. Як і в полях СА1 і СА2, у мітохондріях наявні просвітлення матриксу й деструкція крист. Канальці ГЕС нерівномірно потовщені, окремі – фрагментовані, на поверхні їх мембран мало рибосом. Цистерни комплексу Гольджі розширені, мало вакуолей (рис. 5).

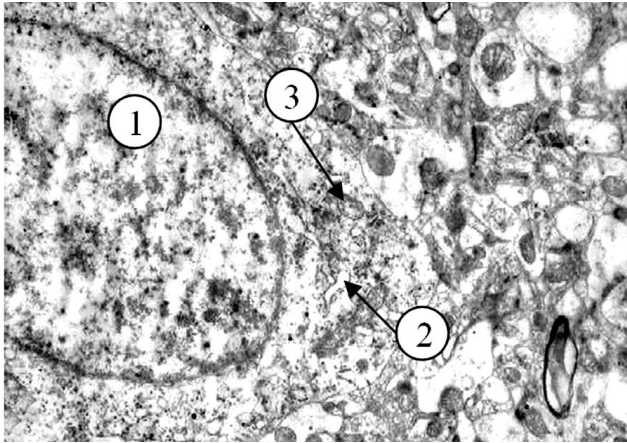


Рис. 5. Ультраструктурний стан нейроцита поля СА3 гіпокампа тварини при двобічній каротидній ішемії-реперфузії. Ядро (1) з еухроматином, нейроплазма з розширеними канальцями гранулярної ендоплазматичної сітки (2), мітохондрії зі світлим матриксом (3). x12 000.

Електроннооптичні дослідження при експериментальному ЦД встановили, що в полях СА1 та СА2 гіпокампа на фоні просвітленого нейропіля частина нейроцитів має електроннощільну каріоплазму та осміофільну нейроплазму невеликої площі. Канальці ГЕС розширені, частково фрагментовані, зі світлими порожнинами. На поверхні їх мембран мало рибосом, проте вільних полісом досить багато. Нечисленні цистерни комплексу Гольджі потовщені і фрагментовані. Невеликі мітохондрії мають осміофільний матрикс, тому кристи в них погано виявляються (рис. 7).

В ядрах збільшений вміст гетерохроматину, наявне компактне темне ядерце. Каріолема хвиляста й має значні інвагінації, перинуклеарний простір нерівномірний. Ядерних пор небагато, вони нечіткі. Такий стан нейроцитів відповідає їх низькій функціональній активності.

У полі СА3 число темних нейроцитів підвищене, площа їх електроннощільної нейроплазми зменшується порівняно з нормохромними клітинами, але вона більша, ніж у подібних нейроцитів полів СА1, СА2. Канальці ГЕС нерівномірно розширені і фрагментовані, із невеликою кількістю рибосом на мембранах. Зміни комплексу Гольджі та мітохондрій подібні до таких у по-

наявні кровоносні капіляри як з вузькими, так і широкими просвітами, зі скупченнями формених елементів. Цитоплазма ендотеліоцитів набрякла і просвітлена, у ній мало органел. Ядра збільшені, із нерівною каріолемою та світлою каріоплазмою. Базальна пластинка темна, тонка й нечітка. Збільшені периваскулярні простори, які є розширеними відростками астроцитів, що свідчить про периваскулярний набряк (рис. 6).

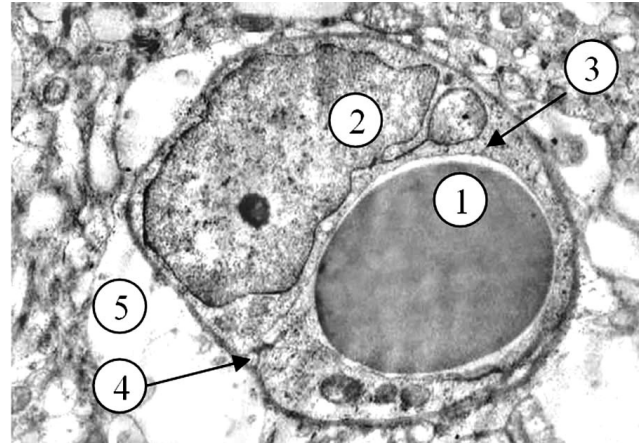


Рис. 6. Субмікроскопічні зміни гемокапіляра гіпокампа при двобічній каротидній ішемії-реперфузії. Вузький просвіт (1) з еритроцитом, ядро ендотеліоцита (2), його світла цитоплазма (3), темна базальна мембрана (4), значні перикапілярні простори (5). x12 000.

лях СА1 і СА2. Окремі мітохондрії гіпертрофовані, у них наявні вогнищево просвітлений матрикс і пошкоджені кристи. Каріолема має глибокі інвагінації та випинання. Каріоплазма електроннощільна, а ядерця виявляються рідко. Перинуклеарні простори місцями збільшені. Ядерні пори нечіткі, їх небагато (рис. 8).

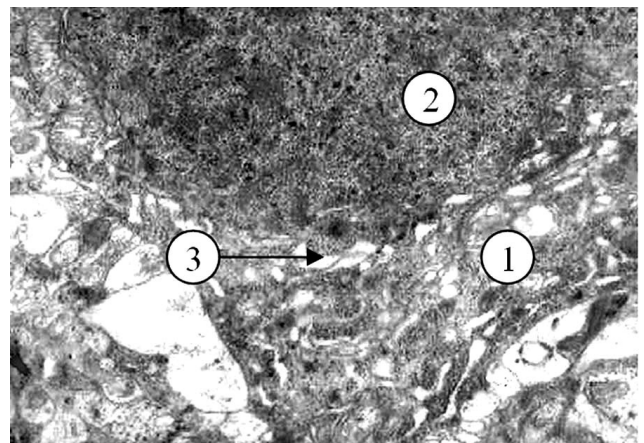


Рис. 7. Субмікроскопічний стан нейроцита і нейропіля гіпокампа (поле СА1) тварини при цукровому діабеті. Електроннощільна нейроплазма (1) і каріоплазма (2), розширені канальці гранулярної ендоплазматичної сітки (3). x12 000.

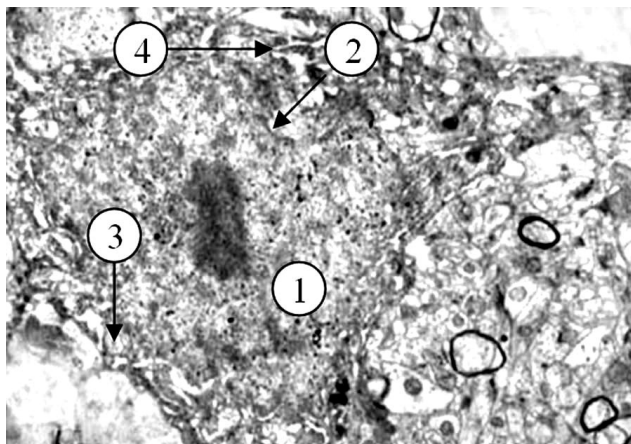


Рис. 8. Ультраструктура темного нейрона поля СА3 гіпокампа тварини при цукровому діабеті. Ядро (1) з нерівною каріолемою (2), нерівномірно збільшені просвіти каналців гранулярної ендоплазматичної сітки (3), змінені мітохондрії (4). $\times 12\,000$.

Гемокапіляри мають неширокі просвіти. Наявний периваскулярний набряк. Базальна мембрана нечітка на окремих ділянках. В електроннопрозорій цитоплазмі ендотеліоцитів є небагато органел і піноцитозних пухирців. Невеликі мітохондрії мають вогнищево просвітлений матрикс, пошкоджені кристи. Канальці ГЕС короткі та розширені (рис. 9).

Такий стан судин мікроциркуляторного русла свідчить про їх низьку функціональну активність і порушення трансапілярного обміну.

Електроннооптичні дослідження гіпокампа в умовах експериментального ЦД та ДКІР встановили значні деструктивні зміни.

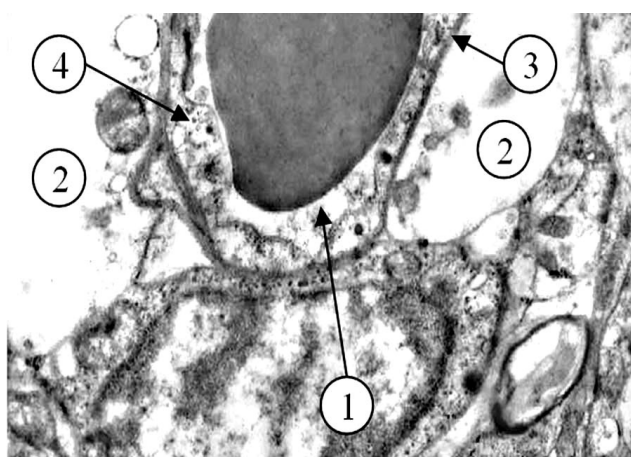


Рис. 9. Субмікроскопічна організація гемокапіляра гіпокампа тварини при цукровому діабеті. Вузький просвіт (1), великі периваскулярні простори (2), нечіткі контури базальної мембрани (3), світла цитоплазма ендотеліоцита (4). $\times 12\,000$.

Так, “світлі” нейрони полів СА1, СА2 мають електроннопрозору набряклу нейроплазму, малий вміст органел. Канальці ГЕС розширені, фрагментовані. У нейроплазмі мало рибосом і полісом, компоненти комплексу Гольджі спостерігаються рідко, цистерни значно потовщені й деформовані. Наявні як невеликі поодинокі мітохондрії, так і набряклі й збільшені, в яких значно просвітлений матрикс, пошкоджені як кристи, так і місцями зовнішні мітохондріальні мембрани. Каріолема нерівномірної товщини, з інвагінаціями, каріоплазма – електроннопрозора (рис. 10).

“Темні” нейрони полів СА1, СА2 невеликі, деформовані за рахунок набряку структур нейропіля. Нейролема, як і каріолема, має нерівні контури, інвагінації, випинання. Місцями ці структури втрачають чіткість. Каріоплазма має різної величини грудки гетерохроматину. Перинуклеарні простори вогнищево збільшені за рахунок відшарування зовнішньої ядерної мембрани. Канальці ГЕС місцями мають значні розширення і надають осміофільній нейроплазмі ажурного вигляду. Спостерігаються поодинокі мітохондрії зі світлим матриксом і пошкодженими кристами (рис. 11).

Зміни в полі СА3 гіпокампа подібні, проте частіше зустрічаються “темні” нейрони. Такі клітини мають більші тіла за рахунок більшої площі нейроплазми. Нейропіль створений набряклими, світлими фрагментами відростків гліальних клітин.

Такий стан ультраструктури нейронів свідчить про порушення їх функціональної активності, а також про пригнічення процесу внутрішньоклітинної регенерації.

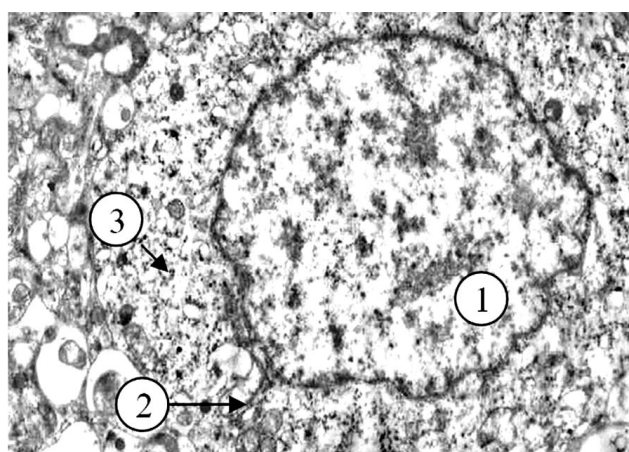


Рис. 10. Ультраструктурні зміни нейрона гіпокампа тварини (поле СА2) при цукровому діабеті та двобічній каротидній ішемії-реперфузії. Електроннопрозоре з інвагінаціями каріолеми ядро (1), змінені органи, мітохондрія (2), гранулярна ендоплазматична сітка (3). $\times 12\,000$.

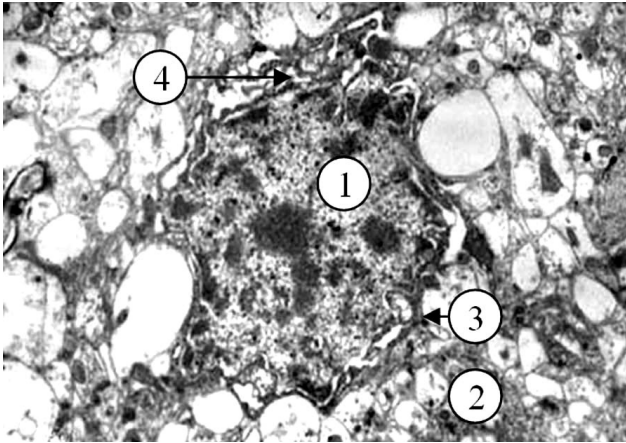


Рис. 11. Субмікроскопічні зміни "темного" нейрона (поле СА2) гіпокампа тварини при цукровому діабеті та двобічній каротидній ішемії-реперфузії. Осміофільна каріо- (1) та цитоплазма (2). Значні інвагінації каріолеми (3), світлі розширені просвіти каналців гранулярної ендоплазматичної сітки (4). x12 000.

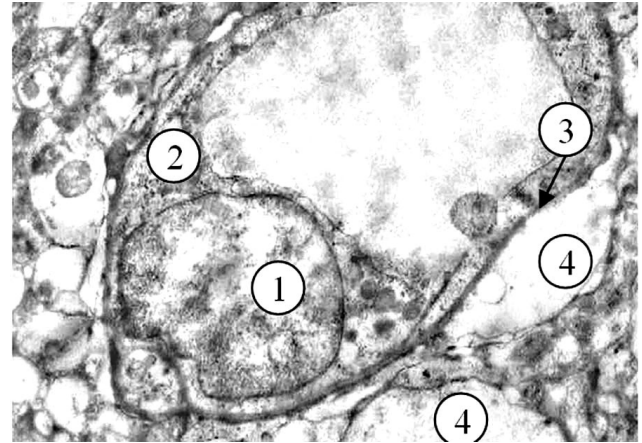


Рис. 12. Субмікроскопічні зміни гемокапіляра гіпокампа тварин при цукровому діабеті та двобічній каротидній ішемії-реперфузії. Світле ядро (1), набрякла цитоплазма (2) ендотеліоцитів, нечітко контурована базальна мембрана (3), збільшені перикапілярні простори (4). x12 000.

Наявні значні зміни структури гемокапілярів. Їх неширокі просвіти оточені просвітленою набряклою цитоплазмою ендотеліоцитів, в якій мало органел, піноцитозних пухирців, мікрроворсинок. Округлі ядра мають світлу каріоплазму. Базальна пластинка витончена, нечітко контурована. Перикапілярні простори місцями збільшені (рис. 12). Такий стан судин свідчить про їхню низьку функціональну активність.

Висновки. Морфологічні зміни тканини гіпокампа під впливом двобічної каротидної ішемії-реперфузії на тлі тримісячного цукрового

діабету позначаються на всіх його полях зміною форми і вмісту нервових клітин, зменшенням кількості і порушенням структури їх органел, набряком ендотеліоцитів та перикапілярних просторів, що свідчить про зниження функціональної активності нейронів та гемокапілярів, а також про пригнічення перебігу внутрішньоклітинної регенерації в нервових клітинах.

Перспективи подальших досліджень.

Результати вказують на доцільність вивчення відстрочених ультраструктурних змін тканини гіпокампа за таких же умов експерименту.

ЛІТЕРАТУРА

1. Артюхина Н.И. Межполушарная асимметрия повреждений гиппокампа после двусторонней перевязки обочин сонных артерий / Н.И. Артюхина, К.Ю. Саркисова // Рос. физиол. журн. – 2004. – Т.90, № 2. – С. 21-22.
2. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
3. Залежність ступеня пошкодження нейронів гіпокампа від тривалості ішемії мозку та постішемичного періоду / [Г.Г. Скибо, Т.М. Коваленко, І.О. Осадченко та ін.] // Запорозький мед. журн. – 2002. – Т.13, № 3. – С. 21-22.
4. Орловський М.О. Загибель нейронів гіпокампа при стрептозотциновому цукровому діабеті / М.О. Орловський, Г.Г. Скибо // Вісник наукових досліджень. – 2006. – № 3. – С. 57-60.
5. Ишемические повреждения ультраструктуры нейронов в органотипической культуре ткани гиппокампа / [Фрумкина Л.Е., Хаспеков Л.Г., Лыжин А.А. и др.] // Морфология. – 2002. – Т.121, № 1. – С. 44-48.
6. Joslin's Diabetes Mellitus / [C.R. Kahn, C.W. Gordon, L.K. George et al.]. – [14th ed.]. – Philadelphia.: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. – 1224p.
7. Reinolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E.S.Reinolds // J.Cell Biol. – 1993. – Vol.17. – P. 208-212.
8. Sherwood N.M. A stereotaxis atlas of the developing rat brain / N.M. Sherwood, P.S. Timiras // Berkely – Los Angeles – London: University of California Press, 1970. – 208 p.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF THE HIPPOCAMPAL TISSUE UNDER THE INFLUENCE OF BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION IN MALE RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

S.S. Tkachuk, K.S. Volkov, A.M. Lenkov

Bucovynian State Medical University, Chernivtsy

SUMMARY. Bilateral carotid ischemia-reperfusion leads to neurons shape and content changes, reduction in the number of organelles and their structure violation, swelling of capillary endotheliocytes and spaces around capillaries in different hippocampal zones in male rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus.

KEY WORDS: bilateral carotid ischemia-reperfusion, brain, diabetes mellitus, streptozotocin, electron microscopy.

УДК 616.441-008.64+616.12-008.314-092]-092.9

АДРЕНЕРГІЧНИЙ КОМПОНЕНТ В ПАТОГЕНЕЗІ БРАДИКАРДІЇ ПРИ ГІПОТИРЕОЗІ

©В.В. Файфура, С.М. Чарнош, Н.Я. Потіха, Л.М. Сас, О.Р. Вербовецька, П.А. Сас

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського

РЕЗЮМЕ. У досліджах на білих щурах показано, що при гіпотиреозі в системі “блукаючий нерв – синоатріальний вузол” відбувається компенсаторна активація адренергічних механізмів, які протидіють надмірній вагусній імпульсації і запобігають критичному зниженню частоти серцевих скорочень.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гіпотиреоз, серце, вегетативна нервова система.

Вступ. До найтипівіших проявів маніфестного гіпотиреозу відносять розлади серцевого ритму, в першу чергу синусну брадикардію [1]. Існує думка, що її патогенетичну основу складає зниження тону симпатичної нервової системи [2]. Проте оскільки брадикардія при гіпотиреозі відзначається нерегулярністю і непостійністю протягом доби, було висловлено припущення [3], що вона має вагусне походження. Деякі експериментальні і клінічні дослідження підтвердили його. Все ж співвідносна роль симпатичного і парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи в розвитку брадикардії при гіпотиреозі залишається не цілком зрозумілою.

Мета дослідження – з’ясувати значення адренергічних механізмів у розвитку синусної брадикардії при експериментальному гіпотиреозі.

Матеріал і методи дослідження. Досліди проведено на 82 білих статевонезрілих щурах-самцях віком 1,5-2,0 міс. Експериментальну модель гіпотиреозу створювали шляхом згодовування мерказолілу (“Здоров’я”, Україна) в дозі 75 мг/кг маси тіла протягом 14 діб. При виборі дози ми враховували дані літератури, що статевонезрілі щури менш чутливі до антитиреоїдних пре-

паратів, ніж дорослі [4]. За критерії глибини гіпотиреоїдного стану було взято зміни частоти серцевих скорочень, ректальної температури і об’єму спожитого кисню. Електрокардіограму реєстрували на апараті ЭК1К-01 до впливу на щитоподібну залозу, а також на 5-ту, 10-ту і 14-ту доби гіпотиреозу. Співвідносну функціональну активність симпатичного і парасимпатичного відділів вегетативної нервової системи оцінювали за методом варіаційної кардіоінтервалометрії [5]. Чутливість серця до ендogenous ацетилхоліну визначали за ступенем брадикардії у відповідь на електро-стимуляцію блукаючого нерва [6].

Результати й обговорення. Результати проведених досліджень показали, що при гіпотиреозі домінуюче значення в регуляції хронотропної функції серця належить парасимпатичній іннервації. На зростаючу роль парасимпатичних впливів у формуванні частоти серцевого ритму при гіпотиреозі вказувало збільшення величини варіаційного розмаху (між 10-ю і 14-ю добами експерименту – на 24,0 %, $p < 0,001$). Паралельно з цим спостерігалось прогресуюче збільшення показника моди (на 5-ту добу – на 13, 2 %, $p < 0,001$; на 14-ту добу – на 41,2 %, $p < 0,001$). Ці зміни свідчать