

О. М. Макаренко<sup>1</sup>, С. І. Савосько<sup>1</sup>, С. І. Чорна<sup>1</sup>, Ю. О. Солодовнікова<sup>2</sup>

## СТРУКТУРНІ ПОРУШЕННЯ У ЦЕРЕБРОКОРТЕКСІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕМОРАГІЧНОМУ ІНСУЛЬТІ

<sup>1</sup> Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,  
<sup>2</sup> Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

УДК 616.8-091.818

А. Н. Макаренко<sup>1</sup>, С. И. Савосько<sup>1</sup>, С. И. Черная<sup>1</sup>, Ю. А. Солодовникова<sup>2</sup>

### СТРУКТУРНЫЕ НАРУШЕНИЯ В ЦЕРЕБРОКОРТЕКСЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕМОРАГИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ

<sup>1</sup> Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина,

<sup>2</sup> Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

В экспериментальном исследовании показаны структурно-морфологические изменения коры головного мозга крыс в отдаленном периоде геморрагического инсульта.

Исследование было проведено на 30 белых лабораторных крысах-самках массой 200–220 г. Животные были разделены на 3 группы: интактные, псевдооперированные, животные с экспериментальным геморрагическим инсультом.

В данном экспериментальном исследовании установлено, что даже через 7 мес. после острого геморрагического инсульта происходят процессы нейродегенерации. Процессы гибели нервных клеток продолжаются в обоих полушариях головного мозга, а не лишь в участке локализации интрацеребральной гематомы.

Полученные результаты расширяют представление о развитии осложнений при хронической мозговой недостаточности и имеют важное значение для разработки и усовершенствования стратегий реабилитации больных с инсультом.

**Ключевые слова:** геморрагический инсульт, отдаленный период, структурные нарушения.

UDC 616.8-091.818

O. M. Makarenko<sup>1</sup>, S. I. Savos'ko<sup>1</sup>, S. I. Chorna<sup>1</sup>, Yu. O. Solodovnikova<sup>2</sup>

### BRAIN CORTEX STRUCTURAL DISTURBANCES IN EXPERIMENTAL HEMORRHAGIC STROKE

<sup>1</sup> The National University named after Taras Shevchenko, Kyiv, Ukraine,

<sup>2</sup> The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Structural and morphological changes of the rat cerebral cortex in remote period of hemorrhagic stroke were analyzed in experimental studies. Development of neurodegeneration in cortex in both hemispheres was observed in 7 months after the experimental stroke.

Studies were undertaken on 30 white laboratory rat females with mass 200–220 g. Animals were divided into 3 groups: intact, pseudooperated, animals with an experimental hemorrhagic stroke. The histological analysis of sections of the sensorimotor neocortex pseudooperated rats allowed to set that in cerebral vessels considerable structural violations are absent after the exception of cramps of cerebral vessels. In the process of study of histological preparation of cortex of animals in 7 months after the recreation of acute stroke around separate nervous cells development of the expressed edema is marked. A number of the changed cells is marked, cells with the lysis of nuclei, more intensive colour of proximal departments of dendrites was observed.

The obtained results extend an idea about development of complications at chronic cerebral insufficiency and have an important value for development and improvement of strategies of rehabilitation of patients with a stroke.

**Key words:** hemorrhagic stroke, a remote period, structural violations.

Судинні захворювання головного мозку є важливою й актуальною медико-соціальною проблемою сучасності. У світі щороку реєструється понад 16 млн випадків інсульту [1]. Саме це визначає актуальність пошуку нових підходів до терапії цереброваскулярної патології різного ґенезу в цілому та геморагічного інсульту (ГІ) зокрема. Після перенесеного інсульту спостерігаються

тяжкі ускладнення, що супроводжуються моторними, мовними та мнестичними розладами, а до активного способу життя повертається лише 10–15 % реконвалесцентів, близько 60 % осіб стають інвалідами [2].

Дослідження, проведені на інших експериментальних моделях ГІ, показали, що в гострому періоді всі моделі ГІ мають спільні морфологічні та

функціональні ознаки, такі як зона некротизованої тканини мозку із просочуванням крові і гіперезинофільна реакція протягом перших днів після моделювання. Одночасно було показано, що нейтрофіли та макрофаги починають з'являтися в неущожденій тканині мозку навколо інтрацеребральної гематомы [3; 4]. Деякими авторами встановлено розвиток гліозу та макрофагічної реактива-



ції навколо гематоми вже наприкінці першої доби ГІ [5–7]. У патогенезі церебрального інсульту залишаються недостатньо вивченими морфологічні аспекти ураження мозкових клітин у відновному періоді ГІ, а отримані результати мають фрагментарний характер.

**Метою** даного дослідження було вивчення окремих структурно-функціональних змін у цереброкортексі у відновному періоді експериментально відтвореного гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК).

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені на 30 білих лабораторних щурах-самках масою 200–220 г. Тварини були поділені на 3 групи: інтактні, псевдооперовані, тварини з експериментальним ГІ (згідно із загальноприйнятими вимогами проведення експериментальних досліджень на тваринах). Щурів наркотизували інтраперитонеальним введенням розчину тіопенталу натрію (60 мг/кг). Відтворення обмеженого крововиливу у тварин із застосуванням стереотаксичного методу [8] здійснювали механічною деструкцією тканини мозку в ділянці внутрішньої капсули (*capsula interna*, L=3,5–4,0; H=6,0; AP=0,6–1,0) [9] в межах правої півкулі за допомогою мандрена-ножа з додатковим введенням у зону деструкції 0,1 мл автокрові.

Псевдооперованим тваринам проводили такі ж процедури, але без застосування механічної деструкції внутрішньої капсули. Після проведення нейрохірургічного оперативного втручання рану наглухо зашивали ниткою 10/0 ("Ethicon", Шотландія) й обробляли 5 % спиртовим розчином йоду. Через 210 днів (7 міс.) після моделювання ГІ у тварин із хронічною недостатністю мозкового кровообігу, які вижили, проводили інтракардіальну пер-

фузію 4 % розчином параформальдегіду в 0,1M фосфатному буфері (рН 7,4). З метою вивчення окремих морфологічних показників клітин виготовляли 10-мікронні зрізи сенсомоторної кори великих півкуль головного мозку за допомогою кріотома, забарвлення гістологічного матеріалу здійснювали за методом Ніссля [10].

Морфометричні дослідження проводили на мікроскопі Olympus BX 51 (Японія) у тест-зоні розміром 1 мм<sup>2</sup>. Аналіз морфометричних показників нервових клітин цереброкортексту здійснювали на основі змін площі ядер і перикаріонів нейронів. Дегенеративно зміненими вважалися нейрони з ознаками цитолізу, каріолізу, з гомогенно забарвленими ацидофільними ядрами або з ознаками пікнозу [11].

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням стандартних методів обробки результатів у пакетному редакторі Excel. Відмінності між групами оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента, а вірогідними вважали результати з рівнем значущості більше 95 % ( $p < 0,05$ ).

### Результати дослідження та їх обговорення

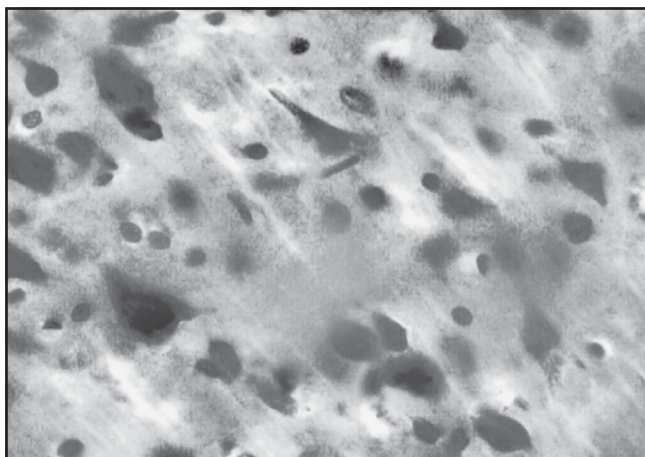
При дослідженні забарвлених зрізів сенсомоторного неокортексту контрольних тварин було встановлено, що церебральні капіляри не змінені, проявів порушень гемодинаміки в них візуально не виявлено. Пірамідні нейрони характеризуються слабким ацидофільним забарвленням цитоплазми. Дендрити й аксони нейронів простежуються на невеликій відстані від тіл нейронів або взагалі не виявляються. Ядра пірамідних нейронів займають центральне положення в тілах нейронів III та V шарів, ектопії ядер не спостерігається. Ядра та ядерця без ознак деструктивних порушень. Трапляються лише поодинокі дегенеративні й ішемічно змінені

клітини (рис. 1, а). Морфометричні вимірювання площі клітин і ядер наведені в табл. 1.

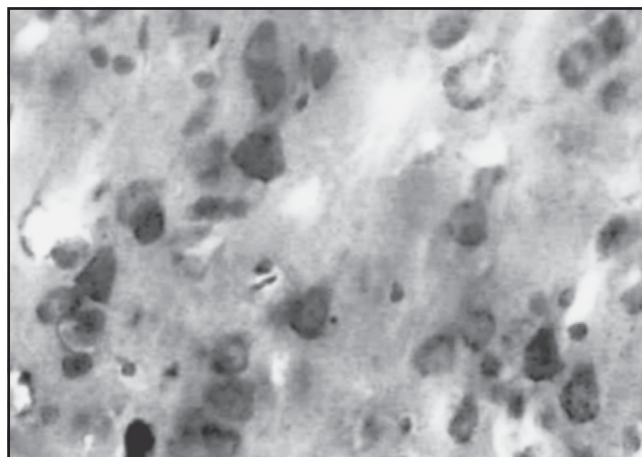
Гістологічний аналіз зрізів сенсомоторного неокортексту псевдооперованих щурів дозволив установити, що у церебральних судинах відсутні значні структурні порушення, за винятком спазму церебральних судин, в окремих досліджених зонах відмічається незначне збільшення периваскулярного простору, при цьому діapedезу формених елементів у тканину мозку не встановлено. Трапляються також окремі нейрони з високим рівнем гіперхромності, нейрони зі зморщеними перикаріонами. В окремих зонах сенсомоторної кори великих півкуль головного мозку щурів візуалізуються клітини зі збільшеними ядрами, у яких наявні одне або кілька ядерець. Патологічних змін у гліоцитах не виявлено (рис. 1, б). Морфометричні показники засвідчують збільшення площі клітин.

У процесі вивчення гістопрепаратів цереброкортексту тварин через 7 міс. після відтворення ГПМК навколо окремих нервових клітин відмічається розвиток вираженого перицелюлярного набряку. Спостерігаються значна кількість гідропічно змінених клітин, клітини з лізисом ядер, при цьому відзначається інтенсивніше забарвлення проксимальних відділів апікальних дендритів. У міжклітинній речовині мозкової тканини виявляються численні дрібні нейрони, цитоплазма й аксони яких забарвлені інтенсивніше. Це переконливо свідчить про зміну функціональної активності даної групи нервових клітин у віддаленому періоді перенесеного ГІ. При порівняльному аналізі структурних змін в обох півкулях мозку встановлено окремі відмінності. В іпсилатеральній півкулі більшість нейронів знаходяться в стані гострого набряку тіл і ядер клітин. Трапляється багато загиблих пірамідних

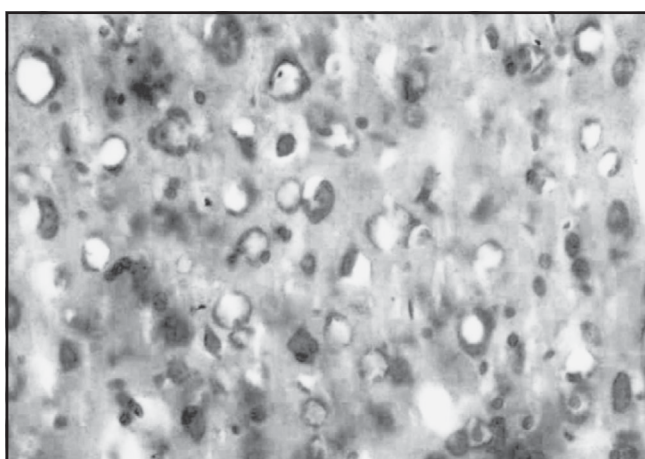




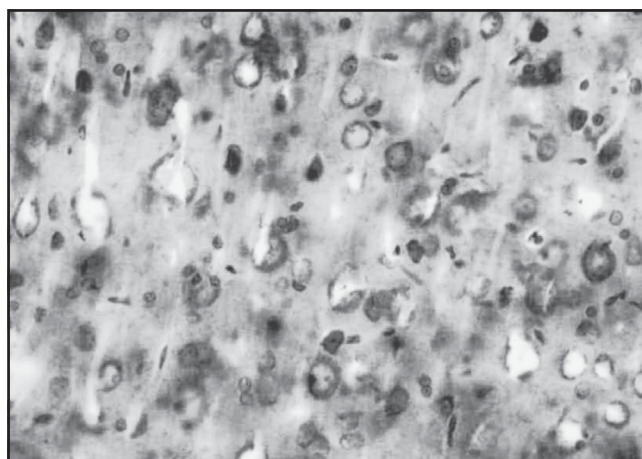
а



б



в



г

**Рис. 1.** Сенсомоторний цереброкортекс щурів при інсульті у віддаленому періоді: а — контрольні тварини, перикаріони та ядра пірамідних нейронів не змінені; б — псевдооперовані тварини, окремі ішемічно змінені нервові клітини; в — тварини з геморагічним інсультом через 7 міс., іпсилатеральна півкуля; г — та ж група, контралатеральна півкуля, більшість нейронів у стані гострого набряку тіл та ядер клітин, цитоліз, загибель нейронів. Забарвлення за Нісслем, об. 40, ок. 12

нейронів із ознаками автолізу. Гліальні клітини також інтенсивно змінені, відмічається пікноз деяких клітин гліального ряду (рис. 1, в).

У контралатеральній півкулі при експериментальному авто-

геморагічному інсульті спостерігається більше неушкоджених нейронів і гліоцитів, ніж у іпсилатеральній. При цьому візуалізується гіпертрофія одних і пікноз інших пірамідних нейронів. Ядра значної кількості піра-

мідних нейронів гіперхромні, займають маргінальне щодо центру клітини положення у цитоплазмі. В окремих клітинах спостерігається виражений набряк тіл апікальних дендритів. Перичелюлярний набряк також відмічається лише навколо окремих клітин. Трапляються окремі зморщені та гіперхромні забарвлені пірамідні нейрони (рис. 1, г). Морфометричні показники площі клітин контралатеральної півкулі є меншими за відповідні показники в іпсилатеральній півкулі тварин із ГПМК за рахунок вираженого набряку тіл апікальних дендритів у іпсилатеральній півкулі.

Важлива роль у терапії ГІ належить корекції метаболіч-

Таблиця 1

**Морфометричні показники нейронів V шару сенсомоторного неокортексу щурів із експериментальним відтворенням гострого порушення мозкового кровообігу, мкм<sup>2</sup>**

Група	Іпсилатеральна півкуля		Контралатеральна півкуля	
	Площа клітини	Площа ядра	Площа клітини	Площа ядра
Інтактні	340,8±25,4	159,0±8,1	332,9±22,9	168,6±9,2
Псевдооперовані	447,4±34,3*	237,4±16,4*	416,8±28,3*	213,7±12,3*
ГПМК	301,3±16,5	139,3±6,3*	217,4±15,6*	111,5±6,2*

Примітка. \* — вірогідно щодо інтактних тварин (p<0,05).





них порушень, лікарським засобам вторинної нейропротекції, що спрямовані на пригнічення віддаленої загибелі нервових клітин [12]. У даному експериментальному дослідженні встановлено, що через 7 міс. після ГІ відбуваються процеси нейродегенерації. Процеси загибелі нервових клітин продовжуються в обох півкулях головного мозку, а не лише в ділянці локалізації інтрацеребральної гематоми.

Дослідження, проведені на інших експериментальних моделях ГІ (такі як ін'єкції автокріві, бактеріальної колагенази), показали, що в гострому періоді всі моделі ГІ мають спільні морфологічні та функціональні ознаки, такі як зона некротизованої тканини мозку із просочуванням крові та гіперезинофільна реакція протягом перших днів після моделювання. Одночасно було доведено, що нейтрофіли та макрофаги починають з'являтися в неушкодженій тканині мозку навколо інтрацеребральної гематоми [3; 4]. Запальні реакції, хоча і відрізнялись у дослідженнях різних авторів, але мали подібну тенденцію, пік нейтрофільної інфільтрації був досягнутий на 2-й день після моделювання ГІ і продовжував розвиватися до 7-ї доби [13]. Активацію мікрогліальних клітин відмічають уже на 1-шу добу ГІ в більшості клітинних утворень інсультної півкулі та менш виражену клітинну реактивацію в контралатеральній. На 7-му–10-ту добу показано розвиток гліозу та макрофагічної реактивації навколо гематоми [5–7]. У нашому дослідженні через 7 міс. після моделювання ГІ в ділянці гематоми все ще реєструються продукти гемолізу. У ході дослідження нами не виявлено вірогідних відмінностей між морфометричними показниками у контрольній групі та у псевдооперованих тварин, що можна пояснити відсутністю морфологічного субстрату ушкодження мозкової

тканини в групі псевдооперованих тварин.

На думку авторів, активація мікрогліальних клітин може сприяти вторинному ушкодженню нервових клітин після ГІ, внаслідок розвитку набряку тканини мозку та запалення ці порушення можуть спровокувати функціональні зміни у віддаленому періоді і спричинити інвалідизацію хворих. Отримані результати розширюють уявлення про розвиток ускладнень після ГІ та мають важливе значення для розробки й удосконалення стратегії реабілітації хворих з інсультом.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Жигунова А. К. Остановим инсульт вместе / А. К. Жигунова // Украинский медицинский журнал. – 2012. – № 5 (91). – С. 8.
2. *Cerebrovascular lesions induce transient  $\beta$ -amyloid deposition* / M. Garcia-Alloza, J. Gregory, K. V. Kuchibhotla [et al.] // *Brain*. – 2011. – Vol. 134, N 12. – P. 3697–3707.
3. *Intracerebral hemorrhage induces macrophage activation and matrix metalloproteinases* / C. Power, S. Henry, M. R. Del Bigio [et al.] // *Annals of Neurology*. – 2003. – N 53. – P. 731–742.
4. Wang X. Y. Triggers and mediators of hemorrhagic transformation in cerebral ischemia / X. Y. Wang, E. H. Lo // *Molecular Neurobiology*. – 2003. – N 28. – P. 229–244.
5. Gregersen R. Microglia and macrophages are the major source of tumor-necrosis-factor in permanent middle cerebral artery occlusion in mice / R. Gregersen, K. Lambertsen, B. Finsen // *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. – 2000. – Vol. 20. – P. 53–65.
6. Hanisch U. K. Microglia as a source and target of cytokine / U. K. Hanisch // *Glia*. – 2002. – Vol. 40. – P. 140–155.
7. Stoll G. Lesion-associated expression of transforming growth factor-beta-2 in the rat nervous system: Evidence for down-regulating the phagocytic activity of microglia and macrophages / G. Stoll, M. Schroeter, S. Jander [et al.] // *Brain Pathology*. – 2004. – Vol. 14. – P. 51–58.
8. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга у экспериментальных животных / А. Н. Макаренко, Н. С. Косицын, Н. В. Пасекова, М. М. Свинов // *Журнал высшей нервной деятельности*. – 2002. – Т. 52, № 6. – С. 765–768.

ва, М. М. Свинов // *Журнал высшей нервной деятельности*. – 2002. – Т. 52, № 6. – С. 765–768.

9. Paxinos G. The rat brain in stereotaxic coordinates / G. Paxinos, C. Watson. – San Diego : Academic Press, 2008. – 400 p.

10. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. – М. : Мир, 1969. – 648 с.

11. Влияние тиотриазолина на гистоморфологические изменения нейронов коры и гиппокампа в постинсультный период / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, Ю. М. Колесник // *Новости медицины и фармации*. – 2007. – № 5. – С. 14–25.

12. Виленский Б. С. Инсульт: профилактика, диагностика и лечение / Б. С. Виленский. – СПб. : Фолиант, 2002. – 397 с.

13. Xue M. Comparison of brain cell death and inflammatory reaction in three models of intracerebral hemorrhage in adult rats / M. Xue, M. R. Del Bigio // *Cerebrovascular Diseases*. – 2003. – Vol. 12. – P. 152–159.

#### REFERENCES

1. Zhigunova A.K. We will stop a stroke together. *Ukrainskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012; 5 (91): 8.
2. Garcia-Alloza M. et al. Cerebrovascular lesions induce transient  $\beta$ -amyloid deposition. *Brain*. 2011; 134(12): 3697-3707.
3. Power C. et al. Intracerebral hemorrhage induces macrophage activation and matrix metalloproteinases. *Annals of Neurology* 2003; 53: 731-742.
4. Wang X.Y., Lo E.H. Triggers and mediators of hemorrhagic transformation in cerebral ischemia. *Molecular Neurobiology* 2003; 28: 229-244.
5. Gregersen R., Lambertsen K., Finsen B. Microglia and macrophages are the major source of tumor-necrosis-factor in permanent middle cerebral artery occlusion in mice. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 2000; 20: 53-65.
6. Hanisch U.K. Microglia as a source and target of cytokine. *Glia*. 2002; 40: 140-155.
7. Stoll G. et al. Lesion-associated expression of transforming growth factor-beta-2 in the rat nervous system: Evidence for down-regulating the phagocytic activity of microglia and macrophages. *Brain Pathology* 2004; 14: 51-58.
8. Makarenko A.N., Kositsyn N.S., Pasekova N.V., Svinov M.M. Method of design of local hemorrhage in the different structures of cerebrum for the experimental animals. *Zhurnal vysshei*



*nervnoi deyatel'nosti*. 2002; 52 (6): 765-768.

9. Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. San Diego : Academic Press. 2008, 400 p.

10. Lilly R. Pathohistological technique and practical histochemistry. Moscow. 1969, 648 p.

11. Belenichev I.F., Mazur I.A., Kolesnik Yu.M. Poststroke influence of tiotriazoline on the histomorphological changes of neurons of cortex and hippocampus. *Novosti meditsyny i farmatsii* 2007; 5: 14-25.

12. Vilenskiy B.S. Stroke: prophylaxis, diagnostics and treatment. *Foliant* 2002. 397 p.

13. Xue M., Del Bigio M.R. Comparison of brain cell death and inflammatory reaction in three models of intracerebral hemorrhage in adult rats. *Cerebrovascular Diseases* 2003; 12: 152-159.

Надійшла 3.01.2012

УДК 616.311:616-002:54-124-148

Ю. Г. Романова

## ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ГЕЛЯ «ПРОФИАЛ» НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ ПОЛОСТИ РТА (МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

УДК 616.311:616-002:54-124-148

Ю. Г. Романова

### ВЛИЯНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ГЕЛЯ «ПРОФИАЛ» НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ ПОЛОСТИ РТА (МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

*Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина*

Для проведения эксперимента была использована модель воспаления слизистой оболочки полости рта, развивающегося в результате токсического и аллергического действия метилметакрилата.

Гель «Профиал» наносили на слизистую оболочку крыс после аппликаций метилметакрилатом. Результаты морфологического исследования показали, что гель «Профиал» не оказывает раздражающего действия и не изменяет структуру слизистой оболочки, а после токсического поражения слизистой оболочки полости рта восстанавливает ее целостность.

**Ключевые слова:** слизистая оболочка полости рта, воспаление, метилметакрилат, гель для полости рта.

UDC 616.311:616-002:54-124-148

Yu. G. Romanova

### INFLUENCE OF ANTIINFLAMMATORY GEL "PROFIAL" ON TUNICA MUCOSA OF MOUTH (MORPHOLOGICAL RESEARCH)

*The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

The aim of research is study of influencing "Profial" gel, including an extract *Scutellaria baicalensis*, on the mucous membrane of cavity of mouth of experimental rats.

**Materials and methods.** For conducting an experiment a model of development of inflammation of tunica mucosa of mouth, developing as a result of toxic and allergic action of methyl metacrilate, was used.

"Profial" gel action on the mucous membrane of rats was tested after applications with methylmetacrilate. The research was conducted on 30 white rats: 1st group — intact animals; the 2nd group — treatment of the mucous membrane with 1% monomer solution; 3rd group — treatment of mucous membrane by monomer + the "Profial" gel.

The mucous membrane of rats was covered with "Profial" gel after the methyl metacrilate application. Results of morphological research showed that the "Profial" gel renders irritating action and does not change mucosa structure, but after the toxic defeat of tunica mucosa of mouth restores its integrity.

**Key words:** tunica mucosa of mouth, inflammation, methyl metacrilate, gel for the oral cavity.

Воспаление слизистой оболочки полости рта — ведущий симптом таких стоматологических заболеваний, как стоматиты разной этиологии и пародонтогенеза, гингивит, пародонтит.

В комплексе их лечения обязательно используется противовоспалительная терапия с

применением лекарственных средств в виде полосканий, кремов, мазей и др.

Гели для полости рта также могут использоваться в целях профилактики и лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки полости рта (СОПР). Они широко применяются в ортопедической

стоматологии для улучшения адаптации к съемным протезам [1–3]. Также могут служить искусственной слюной при сухости СОПР [4–6].

**Цель** настоящих исследований состояла в изучении влияния геля, включающего экстракт шлемника байкальского, на СОПР.

