

UDC 611.31+611.329)-018.73:612-063]-08

METHOD OF INDUCTION OF SINGLE AND COMBINED LESIONS OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE ESOPHAGUS AND THE ORAL CAVITY

Pshyk-Titko I.

Summary. The experiment researched the method of induction of erosive and non-erosive lesions of the mucous membrane of the esophagus and the oral cavity by means of water immobilization stress. A four-level visual analogous scale was used to analyze the degree of injury.

Key words: esophageal mucosa, mouth mucosa, gastric esophageal reflux disease, erosive and non-erosive reflux-esophagitis.

Стаття надійшла 31.03.2011 р.

УДК 616.858-089.843:612.419

В. А. Пятикоп, С. Ю. Масловский, Е. А. Щегельская*

ВВЕДЕНИЕ НЕЙРОИНДУЦИРОВАННЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК И ИХ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПАРКИНСОНИЗМОМ

Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)

*Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина (г. Харьков)

Настоящая работа является фрагментом научно-исследовательской темы Харьковского государственного медицинского университета «Нейротрансплантация в лечении экстрапирамидных расстройств, спинальных и церебральных травм и инсультов» государственный регистрационный номер 0105U002758.

Вступление. Болезнь Паркинсона — прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, которым страдает 1—2 % пожилых людей [5].

В основе патоморфологии паркинсонизма (П) лежит депигментация и снижение численности нейронов в черной субстанции и стриатуме, что приводит к дефициту продукции дофамина. Известно, что тяжесть П коррелирует с темпом и степенью процесса гибели нейронов. Вместе с тем считают, что количество дофамина в стриатуме уменьшается на 70-90 % и 60-80% нейронов черной субстанции гибнет еще до появления симптомов заболевания [1]. Таким образом, патогенетический подход в лечении П базируется на восполнении дефицита дофамина путем коррекции дисфункции дофаминергических структур. Одним из методов такой коррекции, по результатам нейробиологических исследований, является пересадка эмбриональной нервной ткани (ЭНТ). Как подчеркивает В. А. Отеллин, в экспериментальных работах показано, что пересаженные нейроны ЭНТ формируют синаптические и несинаптические контакты с нервными клетками реципиента, высвобождают медиаторы, трофические и ростовые факторы. В пересаженной нервной ткани дифференцируются нервные и глиальные клетки, формируются многочисленные межнейрональные синапсы и единая сосудистая сеть [2].

Однако применение ЭНТ в условиях клиники имеет такие ограничения, как морально-этическая проблема забора тканей у эмбриона человека, большое количество донорского материала, необходимого для однократного введения пациенту, отторжение трансплантата и др. Эти обстоятельства стимулируют изучение использования для нейротрансплантации других источников нервных клеток, в частности нейробластов, индуцированных из собственных клеток стромы костного мозга (КСКМ) пациента [4].

Цель настоящей работы — изучение морфологических изменений нейробластов, индуцированных из КСКМ и пересаженных в мозг крысам с экспериментальным паркинсонизмом (ЭП).

Объект и методы исследования. Опыты проводили на 30 крысах-самцах линии Vistar весом 250-300 г. Из бедренных костей крыс-самцов выделяли костный мозг, дважды отмывали его в растворе Хэнкса и рассеивали в культуральные флаконы площадью 80 см² в среде DMEM/F12 (1/1) с 20 % фетальной бычьей сыворотки (Sigma) и 50

мкг/мл гентамицина. Через 24 часа культивирования среду сливали и промывали прикрепившиеся клетки раствором Хэнкса. Затем добавляли свежую среду и культивировали клетки стромы костного мозга при 37 °С и 5 % CO² в течение 14 суток до образования клеточного монослоя, меняя среду каждые 3 суток. КСКМ снимали со дна культурального флакона после обработки клеток раствором Версена и кратковременной инкубации в 0,25 % растворе трипсина (Sigma).

Для индукции дифференцировки в нейробласты КСКМ инкубировали в бессывороточной среде с ретиноевой кислотой (10⁻⁶ М) в течение 2 часов при +37 °С.

Модель паркинсонизма создавали двусторонним анодным электролизом черной субстанции (substantia nigra, SN). Анод изготавливали из стальной проволоки диаметром 0,3мм, изолированной по всей длине винифлексовым лаком, за исключением рабочей части длиной до 1 мм. Катод помещали в рот животного. Электролиз производили током с напряжением 12 В, силой тока 0,3 мкА, экспозицией 6-8 сек. Для точного попадания в исковую цель использовали атлас стереотаксических координат мозга крысы Е. Фифкова и Дж. Маршалла и стереотаксический аппарат.

Животные были разделены на следующие группы:

I - контрольная группа с двусторонней деструкцией SN (6 животных);

II-группа:животные с деструкцией SN+трансплантация КСКМ, индуцированных в нейробласты (24 животных).

Нейротрансплантацию (НТ) у животных II группы осуществляли на 7 сутки после стереотаксического моделирования паркинсонизма.

Через 5, 15, 25 и 50 суток после НТ крыс забивали, мозг фиксировали в 10% растворе формалина, заключали в парафин и делали из него серийные срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином. Гистологический анализ микропрепаратов проводили с помощью светового микроскопа.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате гистологического исследования, проведенного на животных с ЭП и нейротрансплантацией КСКМ, индуцированных в нейрональные клетки, выявлено следующее.

На 5 сутки после имплантации КСКМ, индуцированных в нейробласты, на срезах мозга отчетливо видна зона имплантации нейробластов. Нервные клетки равномерно распределены на фоне умеренного отека мозговой ткани. Нейробласты расположены компактно и образуют группу малодифференцированных клеток, отмечается умеренно выраженная гиперплазия и гипертрофия глиальных клеток, заметна микроглиальная инфильтрация (рис. 1,

ув. 80). При большем увеличении (200) среди равномерно расположенных нейробластов можно различить двуядерные нервные клетки округлой формы с гипертрофированными ядрышками, что указывает на проявление гипертрофии и гиперплазии нейробластов (рис 2).

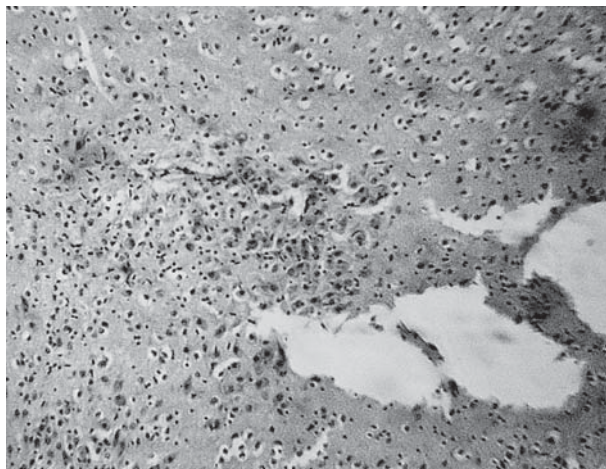


Рис. 1. Компактное расположение нейробластов в мозге крыс. На 5 сутки после введения. Ув. 80.

На 15 сутки при малом увеличении хорошо видна зона имплантации на фоне умеренного отека окружающей мозговой ткани. Ткань мозга вокруг зоны введения не имеет признаков повреждения, глиальный рубец не образуется.

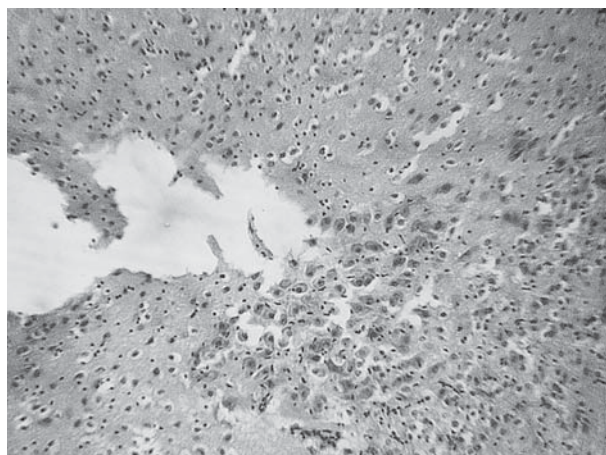


Рис. 2. Ранние стадии деления и дифференцировки имплантированных нейробластов на 15 сутки после введения. Ув. 200.

Через 25 суток после трансплантации на фоне умеренного отека мозговой ткани нейробласты распределены более равномерно. Однако наблюдаются и компактно расположенные группы имплантированных нейробластов. Отчетливо заметна гиперплазия и гипертрофия глиальных клеток с хорошо выраженной глиальной инфильтрацией (рис. 3).

Особенностью препаратов мозга на 50 сутки после НТ является наличие в области трансплантата двуядерных нейронов и нейронов грушевидной формы, что указывает на продолжающийся процесс дифференцировки клеток (рис. 4). Недифференцированных клеток в зоне имплантации обнаруживается значительно меньше.

Анализ результатов имплантации КСКМ, индуцированных в нейробласты, показал, что в месте введения суспензии нейробластов, полученных из КСКМ,

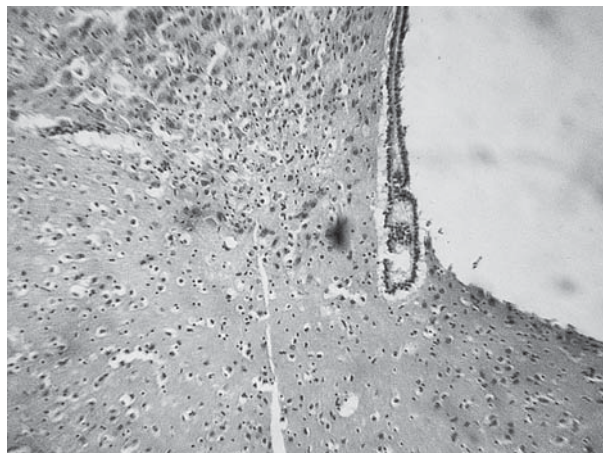


Рис. 3. Зона трансплантации КСКМ, индуцированных в нейробласты. Через 25 суток. Ув. 200.

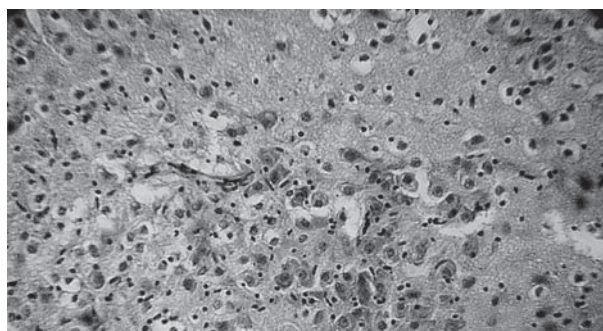


Рис. 4. Дифференцирующиеся нейроны, нейробласты и клетки глии в области нейротрансплантации на 50сутки. Ув.200

формируется дифференцированный пул клеток, способных в определенной степени компенсировать утраченные функции, чему в большой степени способствует отсутствие глиального вала, который обычно формируется при трансплантации эмбриональных нервных клеток.

При сопоставлении данных результатов с полученными нами ранее данными о динамике изменения уровня дофамина в головном мозге у крыс с ЭП в те же сроки, что и проведенные гистоморфологические исследования, а также с динамикой изменения двигательных расстройств у этих же животных [3], можно сделать вывод, что пик процесса пролиферации и дифференцировки пересаженных нейробластов совпадает со сроками восстановления двигательных функций и нормализации уровня ДА в структурах головного мозга. Таким образом, обнаружена корреляционная связь между этими морфофункциональными показателями.

Выводы.

1. Нейробласты, индуцированные из клеток стромы костного мозга крыс и трансплантированные в мозг крысам с экспериментальным паркинсонизмом, делятся и дифференцируются в нейроны в зоне трансплантации в течение 50 суток.

2. Сроки дифференцировки трансплантированных нейробластов совпадают со сроками нормализации уровня дофамина в структурах головного мозга и восстановления двигательных расстройств у крыс с ЭП.

Перспективы дальнейших исследований. Перспективным является разработка дифференцированных показаний для дальнейшего клинического применения нейродифференцированных стромальных аутоклеток у больных болезнью Паркинсона с учетом формы заболевания.

Список литературы

1. Клиническая неврология. Том III (часть 2). Основы нейрохирургии / [Под ред. академика РАН РАМН А. Н. Коновалова]. — М.: «Медицина» 2004. - 246 с.
2. Отеллин В. А. Морфологическое обоснование применения метода нейротрансплантации в клинике / В. А. Отеллин // Журн. Вопр. нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. — 1999. — № 4. — С. 32–37.
3. Пятикоп В. А. Динамика изменений уровня дофамина в головном мозге и крови крыс с моделью паркинсонизма после трансплантации клеток стромы костного мозга, индуцированных в нейробласты / Пятикоп В. А., Щегельская Е. А. Микулинский Ю. Е. и др. // Проблемы криобиологии. — 2005 — Т 15, № 3. - С. 452-454.
4. Щегельская Е. А. Индуцированная дифференцировка клеток стромы костного мозга мыши в нервные клетки / Е.А. Щегельская, Ю.Е. Микулинский, А.В. Ревин // Цитология. — 2002. — Т. 44, № 7. — С. 637-641.
5. Экстрапирамидные расстройства: руководство по диагностике и лечению / [под ред. В. Н. Штока, И. А. Ивановой–Смоленской, О. С. Левина]. — М.: МЕДпресс-информ, 2002. — 606 с.

УДК 616. 858-089. 843: 612.419

ВВЕДЕНИЕ НЕЙРОИНДУЦИРОВАННЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК И ИХ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПАРКИНСОНИЗМОМ

Пятикоп В.А., Масловский С.Ю., Щегельская Е.А.

Резюме. В настоящей работе представлены результаты введения клеток стромы костного мозга (КСКМ), индуцированных в нейробласты, крысам с экспериментальным паркинсонизмом, полученным вследствие двусторонней электролитической деструкции черной субстанции (ЧС).

Животные были разделены на 2 группы: I – контрольная группа с двусторонней деструкцией ЧС (6 животных); II – группа животных с двусторонней деструкцией ЧС + введение КСКМ, индуцированных в нейробласты (24 животных). Нейротрансплантацию проводили на 7-е сутки после моделирования паркинсонизма. Анализ результатов нейротрансплантации показал формирование пула нейробластов, которые некоторым образом способствовали восстановлению утраченных двигательных функций.

Ключевые слова: нейроиндукция, паркинсонизм, моделирование, введение клеток.

УДК 616. 858-089. 843: 612.419

ВВЕДЕННЯ НЕЙРОІНДУКОВАНИХ СТРОМАЛЬНИХ КЛІТИН ТА ЇХ МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ПАРКІНСОНІЗМОМ

П'ятикоп В.О., Масловський С.Ю., Щегельська О.А.

Резюме. В роботі представлені результати введення кліток стромы кісткового мозку (КСКМ), індукованих в нейробласти, щурам з експериментальним паркінсонізмом, отриманим внаслідок двобічної електролітичної деструкції чорної субстанції (ЧС).

Тварини були розподілені на 2 групи: I – контрольна група з двобічною деструкцією ЧС (6 тварин); II – група тварин з двобічною деструкцією ЧС + введення КСКМ, індукованих в нейробласти (24 тварини). Нейротрансплантацію виконували на 7 добу після моделювання паркінсонізму. Аналіз результатів показав формування пулу нейробластів, які сприяли відновленню втрачених рухових функцій.

Ключові слова: нейроіндукція, паркінсонізм, моделювання, введення клітин.

UDC 616. 858-089. 843: 612.419

INJECTION OF NEUROINDUCED STROMAL CELLS AND THEIR MORPHOLOGICAL CHANGES IN RATS WITH EXPERIMENTAL PARKINSONISM

Pyatikop V., Maslovskiy S., Schegelskaya E.

Summary. The authors inform about the results of injection of bone marrow stromal cells (BMSC) induced in to neuroblasts in rats with experimental parkinsonism obtained by double-side destruction of substantia nigra (SN).

The animals were divided into the following groups: I – control group with double-sided destruction SN (6 animals); II – animal group with destruction SN + injection BMSC induced in to neuroblasts (24 animals)/ Neurotransplantation (NT) in the second group of animals was accomplished on the seventh day after experimental parkinsonism. Analysis of the results of BMSC NT showed the foemation neuroblasta clusters capable to some extent of compensating lost functions.

Key words: neuroinduction, parkinsonism, modeling, cells injection.

Стаття надійшла 31.03.2011 р.

УДК 616.44-092.9:577.118

А.М. Романюк, С.В. Сауляк, Ю.В. Москаленко, Р.А. Москаленко

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ В УМОВАХ ГІПЕРМІКРОЕЛЕМЕНТОЗУ

Медичний інститут Сумського державного університету

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у відповідності до плану наукових досліджень кафедр анатомії людини та патоморфології Медичного інституту Сумського державного університету і є частиною держбюджетної теми №87.01.02.09-10 «Морфофункціональні зміни внутрішніх органів та скелета під впливом несприятливих ендот-а екзогенних чинників та шляхи їх корекції» та теми «Вивчення впливу несприятливих зовнішніх чинників Сумської області на стан здоров'я населення», державна реєстрація - № 0105U002471.

Вступ. Встановлено, що причиною безпліддя у 30% випадків вважається несприятлива екологія [1]. Серед хімічних речовин, що забруднюють навколишнє середовище, важкі метали та їх сполуки утворюють значну групу токсикантів, які відносяться до пріоритетних забруднювачів виробничого та оточуючого середовища, тому першочергове значення досліджень в цьому напрямку неодноразово відмічалось у наукових роботах [3]. Сьогодні проведені дослідження впливу модельованих мікроелементозів на кісткову систему, серце, легені, підшлункову та щитоподібну залози [2]. В той же час залишається мало дослідженим