

Wentao Li Clinical efficacy of radical nephrectomy versus nephron-sparing

surgery on localized renal cell carcinoma /Li Wentao, Yanlei Cheng,

Yi Cheng [et al.] //Eur. J. Med. Res. - 2014. - Vol. 19, №1. - P.58-64.

Монастырский В.Н., Пивторак В.И., Козак И.А.

МОРФОЛОГИЯ ПОЧКИ, ОСТАВШЕЙСЯ ПОСЛЕ УДАЛЕНИЯ КОНТРАЛАТЕРАЛЬНОЙ

Резюме. Проведено експериментальне дослідження на 60 половозрілих крысах-самцях. В ранні терміни експерименту адаптивно-компенсаторні зміни після проведеної нефрэктомії проявлялись компенсаторною гіпертрофією площини ниркових телець і реорганізацією судинного русла. В пізні терміни експерименту в частині нефронів розвивались морфофункціональні зміни деструктивного характеру.

Ключевые слова: нефрэктомия, единственная почка, морфология.

Monastirskiy V.M., Pivtorak V.I., Kozak I.A.

THE MORPHOLOGY OF THE KIDNEY REMAINING AFTER REMOVAL OF THE CONTRALATERAL

Summary. An experimental study on 60 mature male rats has done. Adaptive-compensatory changes after nephrectomy performed manifested in the early stages of the experiment compensatory hypertrophy of the renal corpuscles area and reorganization of the vascular bed. In the later stages of the experiment in part of nephrons develops morphological changes of destructive nature.

Key words: nephrectomy, single kidney, morphology.

Стаття надійшла до редакції 26.11.2014

Монастирський Володимир Миколайович - к. мед. н., асистент каф. хірургії факультету післядипломної освіти Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова; +38 096 344-84-84

Пивторак Володимир Ізяславович - д. мед. н., професор, професор кафедри оперативної хірургії та топографічної анатомії; pivtorakv@gmail.com

Козак Іван Олександрович - д. мед. н., доцент, доцент кафедри хірургії факультету післядипломної освіти Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова; +38 096 344-84-84

© Юрченко П.О., Король А.П., Заїчко Н.В., Камінська Н.А.

УДК: 546.221.1: 616.83: 616.153

Юрченко П.О., Король А.П., Заїчко Н.В., ¹Камінська Н.А.

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова МОЗ України, кафедра біологічної та загальної хімії; ¹науково-дослідний центр ВНМУ (вул. Пирогова, 56, Вінниця, 21018, Україна)

БІОХІМІЧНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ МАРКЕРИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦІЇ У ЩУРІВ ПРИ КОМБІНОВАНІЙ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ ВІТАМІНАМИ, ЕСМІНОМ ТА БЕТАЇНОМ

Резюме. Вивчені біохімічні та морфологічні маркери нейродегенерації у 88 щурів за умов комбінованої гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) та її корекції. Встановлено, що введення вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} та полімікроелементного комплексу есмину забезпечує ефективну елімінацію гомоцистеїну; нормалізує вміст H_2S в мозку та сироватковий вміст мозкового нейротрофічного фактору і нейронспецифічної енолази; зменшує нейродегенеративні, нейрозапальні та нейроваскулярні зміни в сенсомоторній корі головного мозку щурів. Бетаїн зменшує нейротоксичність ГГЦ, але за ефективністю поступається комбінації вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} з есмином.

Ключові слова: гомоцистеїн, гідрогенсульфід, мозок, нейродегенерація, есмін, вітаміни, бетаїн.

Вступ

Нейродегенеративні та нейроваскулярні захворювання часто асоціюються з порушеннями обміну гомоцистеїну (ГЦ). Засвідчений зв'язок гіпергомоцистеїнемії (ГГЦ) зі структурними змінами головного мозку - німи інфарктами, лейкоареозами, дилатацією шлуночків мозку, мікро- та макроангіопатіями [Стопінчук, 2013; Sapkota et al., 2014]. Важливу роль у регуляції стану нейронів, астроцитів, ендотеліоцитів та інших клітинних елементів тканин мозку відіграють гідрогенсульфід (H_2S), нейротрофічний фактор (BDNF) та нейронспецифічна ензолаза (NSE) [Carvalho et al., 2008; Kimura, 2013; Woertgen et al., 2014]. Для корекції ГГЦ застосовують вітамінні та невітамінні засоби, однак їх вплив на вміст H_2S у мозку, біохімічні та морфологічні показники нейродегенерації за умов ГГЦ залишається не визначним.

Метою роботи було встановлення впливу комбінації вітамінів B_6 , B_9 , B_{12} та есмину (полі мікроелементного засобу) і бетаїну на біохімічні та морфологічні марке-

ри нейродегенерації у щурів з комбінованою ГГЦ.

Матеріали та методи

Досліди проведені на 88 білих лабораторних щурах-самцях (250-270 г) згідно загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986). Тварини перебували в стандартних умовах виварію з природним світловим режимом день/ніч, воду і їжу отримували ad libitum. Комбіновану ГГЦ викликали шляхом годування щурів напівсинтетичною "гіповітамінно-метіоніновою" дієтою (1% L-метіоніну, відсутність вітамінів B_6 , B_9 , B_{12}) упродовж 14 днів [Пентюк та ін., 2004]. Після досягнення цільових рівнів ГЦ (14 доба) частину тварин перевели на основну дієту (ОД), збалансовану по всім мікро- та макронутрієнтам, з

них двом групам проводили метаболічну корекцію комбінацією вітамінів V_6 , V_9 , V_{12} (714; 143; 14,3 мкг /кг маси) в поєднанні з есміном (35 мг/кг, АТ "Київський вітамінний завод") або бетаїном (450 мг/кг, Sigma, США). Речовини вводили в/шл на 1% крохмальному гелі 7 дб. Контролем були інтактні щурі, котрих утримували на ОД. Знеживлювали тварин шляхом декапітації під пропофоловим наркозом ("Fresenius Kabi" 60 мг/кг в/о) через 14 дб та 21 добу. Матеріал для біохімічних досліджень отримано у 64 тварин, для морфологічних - у 24 тварин.

Гістологічне дослідження головного мозку щурів проводили відомими методами світлової мікроскопії. Вивчали фронтальні зрізи сенсомоторних ділянок кори великих півкуль, забарвлені гематоксилін-еозинном. Вміст H_2S в мозку визначали за реакцією з N,N-диметил-пара-фенілендіаміном як описано [Wilinski et al., 2011]. Вміст ГЦ, NSE та BDNF в сироватці крові визначали методом ІФА за наборами "Homocysteine EIA" (Axis-Shield, Англія); "NSE EIA KIT" (DAI, США); "BDNF Quantikine ELISA" (R&D Systems, США). Статистичний аналіз проводили з використанням t-критерію Стьюдента. Вірогідними вважали дані при $p < 0,05$.

Результати. Обговорення

У щурів, які перебували на гіповітамінозно-метіоніновій дієті 14 дб, вміст ГЦ у сироватці крові був вищим в 12,0 разів, а вміст H_2S в мозку був нижчим в 2,6 рази, ніж у щурів групи контролю (табл. 1).

Через 14 дб у щурів з комбінованою ГГЦ виявлялись виразні біохімічні ознаки нейродегенеративних процесів: сироватковий вміст NSE був вищим на 119%, а вміст BDNF на 45,5% нижчим, ніж у тварин контрольної групи. 7-добове перебування щурів з ГГЦ на ОД (із фізіологічним вмістом вітамінів V_6 , V_9 , V_{12}) упродовж 7 дб викликало достовірне зниження вмісту ГЦ, але він залишився в 3,23 рази вищим, ніж в контролі. В той же час, рівень ГЦ в групах "ГГЦ + віт. V_6 , V_9 , V_{12} + есмін" та "ГГЦ+бетаїн" був достовірно нижчим на 63,2 та 25%, ніж у щурів в групі "ГГЦ+ОД". У щурів в групі "ГГЦ+ОД" вміст H_2S в мозку залишився вдвічі нижчим, ніж в контролі, також не реєструвалось вірогідних змін вмісту BDNF та NSE в сироватці крові. У щурів в групі "ГГЦ + віт. V_6 , V_9 , V_{12} + есмін" нормалізувався вміст H_2S в мозку

Таблиця 1. Біохімічні показники у щурів з комбінованою ГГЦ за умов корекції вітамінами V_6 , V_9 , V_{12} , есміном та бетаїном ($M \pm m$, $n=8-10$).

Групи щурів	H_2S (мозок) нмоль/мг протеїну	Сироватка крові			
		ГЦ, мкмоль/л	BDNF, пг/мл	NSE, нг/мл	
1	Контроль	2,55±0,26	7,12±0,32	171±15,1	1,30±0,08
2	ГГЦ (14 доба)	0,98±0,11*	85,3±4,93*	93,2±6,57*	2,85±0,23*
3	ГГЦ + ОД	1,29±0,11* [§]	22,4±2,14* [§]	104±3,94*	2,31±0,23*
4	ГГЦ + віт. V_6 , V_9 , V_{12} + есмін	2,01±0,12* ^{§&}	8,24±0,76* ^{§&}	133±9,46* ^{§&}	1,62±0,21* ^{§&}
5	ГГЦ + бетаїн	1,67±0,08* ^{§§§}	16,8±1,58* ^{§§§}	121 7,66* [§]	1,94 0,23* [§]

Примітки: * - $p < 0,05$ відносно групи 1; [§] - $p < 0,05$ відносно групи 2; [&] - $p < 0,05$ відносно групи 3; ^{§-} $p < 0,05$ відносно групи 4.

та біохімічні ознаки нейродегенерації були значно меншими: сироватковий вміст BDNF був вищим, а вміст NSE - нижчим (на 27-30%), ніж у щурів в групі "ГГЦ+ОД". Введення бетаїну менш ефективно коригувало вміст H_2S в мозку та вміст BDNF та NSE в сироватці крові.

У щурів з ГГЦ на тлі дефіциту H_2S в мозку виявлялись значні зміни у всіх структурних компонентах сенсомоторної ділянки кори великих півкуль із суттєвим порушенням цитоархітекtonіки (рис. 1а). Виявлені атрофічні та деструктивні зміни в нейроцитах пірамідного шару: коагуляційний некроз, гомогенізація та хроматоліз цитоплазми; каріопікноз, каріолізис, гіперхромія, розширені перичелюлярні простори. Поряд із дистрофічно зміненими темними нейроцитами виявляли світлі нейроцити з набряком цитоплазми, лізисом хроматофільної субстанції, а також "клітини-тіні". В гангліонарному шарі виявляли безклітинні ділянки гангліозних клітинних спускошень, які, можливо виникли в наслідок апоптозу гігантопірамідних нейронів (клітин Беца). На це вказує відсутність лейкоцитарної інфільтрації у ділянках загиблих нейроцитів. Нейропіль в усіх шарах сенсомоторної ділянки кори великих півкуль мав грубозернисту структуру; була наявна гіперплазія гліоцитів; в цитоплазмі астроцитів виявлена вакуолярна дистрофія.

Вазотоксичний ефект ГГЦ підтвердився змінами в судинах мікроциркуляторного русла: просвіти звужені, нерівномірне кровонаповнення, стінки артеріол потовщені; цілісність стінок судин порушена, ендотеліальна вистилка не суцільна, із ділянками десквамації, вакуолярної дистрофії та некрозом ендотеліоцитів, пристінковими тромбами; просвіти венул розширені, повнокровні, із агрегатами еритроцитів та тромбоцитів, вираженою адгезією та діapedезом лейкоцитів та еритроцитів через стінки вену; базальна мембрана розпушена капілярів розпушена; периваскулярні простори значно розширені, з лейкоцитарною інфільтрацією, виражений набряк інтерстицію. Навколо капілярів виявляли поодинокі геморагії. Периваскулярна сполучна тканина розпушена, в багатьох полях зору виявляли гістіолімфоцитарну інфільтрацію.

У щурів в групі "ГГЦ + основна дієта" були наявні практично всі ознаки нейро- та вазотоксичної дії високих рівнів ГЦ, про це свідчить переважання гіперхромних нейроцитів; наявність атрофічних та деструктивних

змін в нейроцитах та астроцитах; порушення цитоархітекtonіки нейросенсорних ділянок кори великих півкуль; вогнища спустошень в пірамідному шарі; грубозерниста структура нейропілью (рис. 1, б). Про ураження судин кровоносного русла свідчить повнокров'я, стаз, пристінкові тромби, підвищена проникність

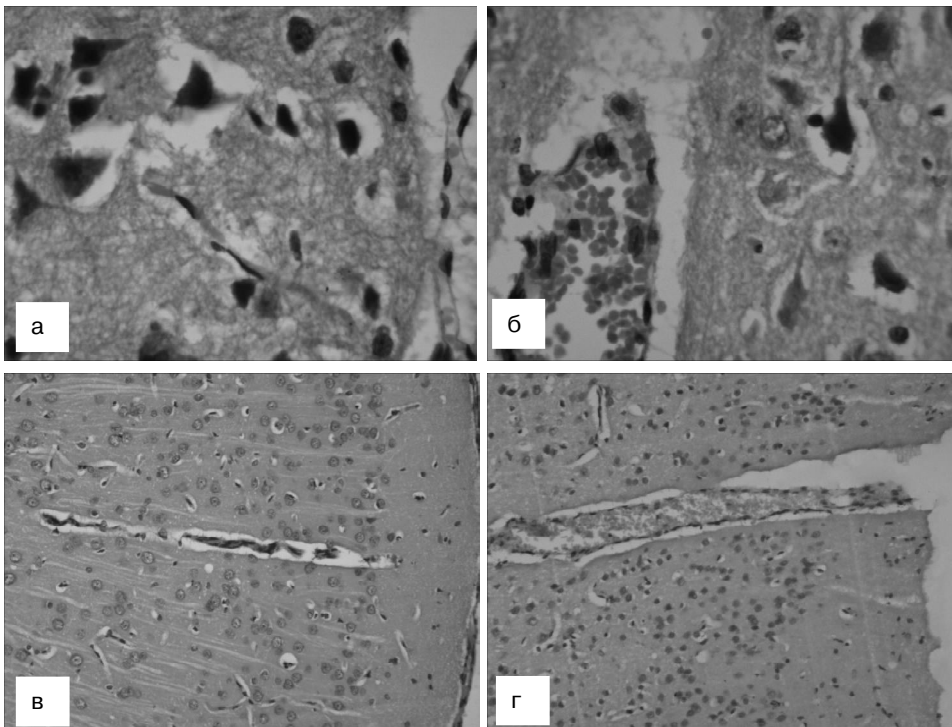


Рис. 1. Фрагменти сенсомоторної ділянки кори великих півкуль головного мозку щурів з комбінованою ГГЦ. Гематоксилін-еозин. $\times 400$ (а; б); $\times 100$ (в; г): а) Група "ГГЦ, 14 доба". Гіперхромія нейронів; перичелюлярний набряк; грубозерниста структура нейропілю. б) Група "ГГЦ+ОД" (21 доба). Пристінкові тромби в венулах; розширені периваскулярні простори; пікнотично змінені нейрони; перичелюлярний набряк. в) Група "ГГЦ+віт. В₆, В₉, В₁₂ + есмін" (21 доба). Відновлена цитоархітектура; нормохромні нейрони; гіперхромні нейрони. г) Група "ГГЦ + бетаїн" (21 доба). Нормохромні нейрони; 4-гіперхромні нейрони; вогнища розрідження нейронів в пірамідному шарі; нормохромні та гіперхромні нейрони.

стінок судин, розширення периваскулярних просторів, атрофічні та деструктивні зміни ендотеліоцитів.

Введення комплексу вітамінів В₆, В₉, В₁₂ у поєднанні з есміном на тлі ОД істотно зменшувало нейро- та вазотоксичну дію ГГЦ. У щурів в групі "ГГЦ + віт. В₆, В₉, В₁₂ + есмін" ознаки нейродегенерації та порушень структури судин кровоносного мікроциркуляторного русла були значно меншими, ніж у щурів в групі "ГГЦ+ОД": в сенсомоторних ділянках кори великих півкуль переважали нейрони нормохромного типу, значно меншим був перичелюлярний набряк, нейропіль мав дрібнозернисту структуру, вогнища клітинних розріджень мали менші розміри і зустрічались значно рідше (рис. 1, в). В гангліонарному шарі переважали нормохромні нейрони з ознаками підвищеної функціональної активності: інтенсивно забарвленою цитоплазмою в навколядерній зоні та гіпертрофованими ядрами з просвітленим хроматином. Це може свідчити про адаптаційні зміни в нейронах за умов регресу ГГЦ-індукованих метаболічних порушень.

У щурів в групі "ГГЦ + віт. В₆, В₉, В₁₂ + есмін" частіше виявляли судини нормального кровонаповнення, з цілісною ендотеліальною висилкою, меншим периваскулярним набряком. У просвітах артеріол тромби практично не виявляли, ендотеліоцити були нормохромни-

ми і утворювали суцільний пласт. Просвіти венул були помірно повнокровними, периваскулярний набряк та лейкоцитарна інфільтрація не виражені, збільшена чисельність новоутворених кровоносних капілярів.

У щурів в групі "ГГЦ + бетаїн" також реєстрували зменшення ознак нейродегенерації та судинних порушень, однак позитивний ефект був менш значим, ніж при застужанні вітамінів В₆, В₉, В₁₂ та есміну (рис. 1, г). Були наявні вогнища спустошень нейронів (але дрібніших розмірів), перичелюлярний набряк; нейропіль мав дрібнозернисту структуру; наявна виражена гіперплазія нейроглії та більша кількість астроцитів, що може свідчити про активізацію регенераторних процесів у макроглії. В просвітах окремих артеріол виявляли тромби та ділянки десквамації та дегенерації ендотеліоцитів, але їх

кількість була меншою, ніж в групі "ГГЦ+ОД"; венули були помірно повнокровними, наявні ділянки із застійним повнокров'ям, подекуди в периваскулярних просторах були розташовані лімфоцити.

Таким чином, корекція ГГЦ вітамінами, есміном та бетаїном дозволяє підвищити вміст Н₂С в мозку та викликати регрес мікроциркуляторних, нейрозапальних та нейродегенеративних змін в сенсомоторній корі великих півкуль головного мозку щурів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Корекція ГГЦ вітамінами В₆, В₉, В₁₂ у поєднанні з полімікроелементним комплексом есміном забезпечує ефективну елімінацію надлишку ГЦ, нормалізує вміст Н₂С в мозку, сироватковий вміст BDNF та NSE, зменшує морфологічні ознаки ГГЦ-індукованих нейродегенеративних, нейрозапальних та нейроваскулярних змін у щурів.

2. Бетаїн знижує рівень ГЦ, коригує вміст Н₂С в мозку, зменшує біохімічні та гістологічні ознаки ушкодження мозку за умов комбінованої ГГЦ, але за ефективністю поступається комбінації вітамінів В₆, В₉, В₁₂ з есміном.

Подальше вивчення молекулярних аспектів впливу комбінованих вітамінно-мікроелементних засобів на систему Н₂С в мозку при різних патологічних станах відкри-

ває можливості підвищення ефективності профілактики нейродегенеративних розладів в клінічних умовах.

Список літератури

- Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан судинної системи в експерименті /О.О.Пентюк, М.Б.Луцук, К.П.Постовітенко [та ін.] //Досягнення біології та медицини.- 2004.- №1 (3).- С.35-38.
- Стопінчук А.В. Гомоцистеїн та структурні ураження головного мозку: чи є статистично достовірний зв'язок? /А.В. Стопінчук // Вісник морфології.- 2013.- Т.19, №2.- С.462-465.
- Association of homocysteine with ventricular dilatation and brain atrophy in Parkinson's disease /S.Sapkota, M.Gee, J.Sabino [et al.] //Mov. Disord.- 2014.- Vol.29, №3.- P.368-374.
- Carvedilol induces endogenous hydrogen sulfide tissue concentration changes in various mouse organs /B.Wilinski, J.Wilinski, E.Somogyi [et al.] //Folia Biol.- 2011.- Vol.59, №3-4.- P.151-155.
- Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders /M. Petras, Z. Tatarikova, M. Kovalska [et al.] //J. Physiol. Pharmacol.- 2014.- Vol. 65, № 1.- P. 15-23.
- Kimura H. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system /H. Kimura // Neurochem. Int.- 2013.- Vol. 63, № 5.- P.492-497.
- Role of the brain-derived neurotrophic factor at glutamatergic synapses /A.L. Carvalho, M.V. Caldeira, S.D. Santos [et al.] //Br. J. Pharmacol.- 2008.- Vol.153, Suppl.1.- P.310-324.
- Woertgen C. Time profile of neuron specific enolase serum levels after experimental brain injury in rat /C.Woertgen, R.D.Rothoerl, A.Brawanski //Acta Neurochir.- 2000.- Vol.76, Suppl.- P.371-373.

Юрченко П.А., Король А.П., Заичко Н.В., Каминская Н.А.

БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ У КРЫС ПРИ КОМБИНИРОВАННОЙ ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИИ И ЕЕ КОРРЕКЦИИ ВИТАМИНАМИ, ЭСМИНОМ И БЕТАИНОМ

Резюме. Изучены биохимические и морфологические маркеры нейродегенерации у 88 крыс при комбинированной гипергомоцистеинемии (ГГЦ) и ее коррекции. Установлено, что введение витаминов B_6 , B_9 , B_{12} и полимикрорезультатного комплекса эсмина обеспечивает эффективную элиминацию гомоцистеина; нормализует содержание H_2S в мозге и сывороточные уровни мозгового нейротрофического фактора и нейронспецифической энолазы; снижает нейродегенеративные, нейровоспалительные и нейроваскулярные изменения в сенсомоторной коре головного мозга крыс. Бетаин уменьшает нейротоксичность ГГЦ, но по эффективности уступает комбинации витаминов B_6 , B_9 , B_{12} с эсмином.

Ключевые слова: гомоцистеин, гидрогенсульфид, мозг, нейродегенерация, эсмин, вітаміни, бетаин.

Yurchenko P.A., Korol A.P., Zaichko N.V., Kaminska N.A.

BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL MARKERS OF NEURODEGENERATION IN RATS WITH HYPERHOMOCYSTEINEMIA AND ITS CORRECTION BY VITAMINS, ESMIN AND BETAINE

Summary. Established biochemical and morphological markers of neurodegeneration in 88 rats with hyperhomocysteinemia (HHC) and its correction. The injection of vitamins B_6 , B_9 , B_{12} and polymicroelements complex Esmine provides effective elimination of homocysteine; normalizes H_2S content in brain; normalizes serum level of brain-derived neurotrophic factor and neuron specific enolase; reduces neurodegenerative, neuroinflammatory and neurovascular changes in the sensorimotor cortex of rats. Betaine reduces neurotoxicity HHC, but its efficiency is lower than combination of vitamins B_6 , B_9 , B_{12} with Esmine.

Key words: homocysteine, hydrogen sulfide, brain, neurodegeneration, esmin, vitamins, betaine.

Стаття надійшла до редакції 10.11.2014р.

Юрченко Петро Олександрович - асистент кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім.М.І.Пирогова; +38 0432 66-12-24; peter777ah@mail.ru

Король Анатолій Петрович - к.мед.н., доцент кафедри гістології ВНМУ ім.М.І.Пирогова

Заичко Наталія Валентинівна - д.мед.н., доцент, завідувач кафедри біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М.І.Пирогова; +38 0432 66-12-24

Камінська Ніла Анатоліївна - к.мед.н., ст.н.сп. НДЦ ВНМУ ім. М.І.Пирогова; nila@vnm.edu.ua

© Кулигіна В.М., Пилипюк О.Ю.

УДК: 616.314-002-053.5:616.72-002.772

Кулигіна В.М., Пилипюк О.Ю.

ВНМУ ім.М.І.Пирогова, кафедра терапевтичної стоматології (вул. Меєдведева, 11, м. Вінниця, 21036, Україна)

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАПРОПОНОВАНОГО МЕТОДУ ПРОФІЛАКТИКИ КАРІЄСУ ЗУБІВ НА МОДЕЛІ АД'ЮВАНТНОГО АРТРИТУ У ТВАРИН

Резюме. Вивчено стан твердих тканин у одномісячних щурів на фоні змодельованого ювенільного ревматоїдного артриту за допомогою ад'юванта Фрейда. Встановлено, що ад'ювантний артрит супроводжується 100% поширеністю, високою інтенсивністю та глибиною ураження зубів каріозним процесом, що підтверджує негативний вплив хронічного аутоімунного запалення на стан твердих тканин зубів. Отримані результати протикаріозної дії розробленого комплексу профілактичних засобів та заходів у поєднанні з загальною терапією соматичного захворювання на моделі ад'ювантного артриту свідчать про високу ефективність запропонованого методу та доцільність його впровадження в практику.

Ключові слова: ювенільний ревматоїдний артрит, карієс зубів, профілактика.