

ВЛИЯНИЕ СОРОКАПЯТИСУТОЧНОГО ХОЛЕСТАЗА НА КОРУ МОЗЖЕЧКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Слонеvская Е. А.

Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Республика Беларусь

Нейроглобин (Ngb) – это глобиновый белок позвоночных животных, способный регулировать метаболизм клетки в норме и при патологии. При нормальных условиях он регулирует кислородный гомеостаз нейрона, а при патологии – соединяет радикалы и монооксид азота, свободные формы кислорода, ингибирует митохондриальный апоптоз и нейтрализует оксидативный стресс. В условиях ишемии/гипоксии выступает как нейропротектор, способен регулировать клеточное дыхание. [1]

После открытия нейроглобина в 2000-х годах стало известно, что он является гем-белком и участвует в цитопротекции. В нынешнее время уровень Ngb положительно коррелирует с благоприятным исходом при множестве нейротоксических воздействий, например, при ишемических и черепно-мозговых травмах и болезни Альцгеймера.

Исходя из сказанного, представляло интерес изучение количества нейроглобина в клетках Пуркинье мозжечка при нарушении оттока желчи, который вызывает поражение митохондрий нейронов мозга и окислительный стресс. [2] Экспрессия нейроглобина, а также основа её регуляции в данных условиях недостаточно исследована.

Исследование выполнено на базе лаборатории кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Гродненский государственный медицинский университет». При проведении экспериментальных исследований мы соблюдали принципы гуманного обращения с животными и учитывали рекомендации Рабочей группы Федерации европейского сообщества по науке о лабораторных животных, и на выполнение данных исследований получено разрешение этического комитета Гродненского государственного медицинского университета.

Цель работы – определить количество белка нейроглобина и активность дыхательных ферментов в клетках Пуркинье мозжечка при сорокапятисуточном холестазе после перевязки общего желчного протока у крыс.

Задачи работы заключались в следующем:

1. установить гистохимические нарушения в нейронах Пуркинье после длительного подпечёчного холестаза.
2. установить иммуногистохимические нарушения в нейронах Пуркинье после длительного подпеченочного холестаза.
3. установить гистологические нарушения в нейронах Пуркинье после длительного подпечёчного холестаза.

Материалы и методы – взяты от 12 животных (шесть контрольных и шесть опытных крыс). Моделирование холестаза проводили общепринятыми методами – перевязкой общего желчного протока в области ворот печени.

Образцы мозга от всех животных обрабатывали параллельно и в одинаковых условиях. С этой целью их фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде при +4 °С (на ночь), а позже заключали в парафин. Стандартные парафиновые срезы толщиной 5 мкм готовили с помощью микротомы (LeicaRM 2125 RTS, Германия) и монтировали на предметные стекла. Затем по методу Ниссля срезы окрашивали 0,1 % толуидиновым синим на выявление в нейронах хроматофильной субстанции, общей оценки цитологии нейронов.

Для иммуногистохимического выявления нейроглобина применяли первичные моноклональные мышинные антитела фирмы Abcam (Великобритания, ab. 37258) в разведении 1:600. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436).

Для гистохимического исследования другие образцы тех же отделов мозга, предварительно замораживали парами азота, а позже помещали для хранения в жидкий азот, затем в криостат Leica CM 1840 (Leica Microsystems GmbH, Германия) (-15 °С). Из них готовили срезы толщиной 10 мкм. Срезы обрабатывали для выявления оксидоредуктаз, связанных с циклом Кребса – сукцинатдегидрогеназы (СДГ; КФ 1.3.99.1) и с транспортом электронов – дегидрогеназы восстановленного НАД (НАДН-ДГ; КФ 1.6.99.3).

Цитофотометрию клеток Пуркинье в парафиновых сагиттальных срезах, окрашенных по методу Ниссля и иммуногистохимического метода, проводили с помощью программы компьютерного анализа изображений Image Warp (Bit Flow, США) «Bioscan NT» 2.0 (Беларусь-США).

Статистически обрабатывали полученные данные с помощью программы Statistica 10.0 для Windows с нахождением U-test (Mann-Whitney). Достоверными считали данные с различием между контрольной и опытной группами при значениях $p < 0,05$ [3].

По результатам исследования выявили, что сорок пять суток подпечёчного холестаза приводят к незначительным изменениям активности изученных ферментов в клетках Пуркинье. Так, в контроле и в опыте гранулы продуктов реакции целиком заполняют область перикариона в клетках Пуркинье.

Сорокапятисуточный холестаз приводит к повышению активности СДГ, которая составляет 105,7% в перикарионах клеток Пуркинье. Происходит некоторое снижение активности НАДН-ДГ в клетках Пуркинье по сравнению с контролем. Что касается иммунореактивности кислород-депонирующего белка нейроглобина, спустя сорок пять суток холестаза замечено увеличение экспрессии на 18 % ($p = 0,000$).

Таким образом, при нарушении тока желчи в организме в изученных структурах мозжечка в течение сорока пяти суток происходит незначительное снижение или повышение активности изученных ферментов и содержания РНК. Это можно связать с повреждением целостности мембран, органелл.

Список литературы:

1. Иммуногистохимическое исследование головного мозга / Д. Э. Коржевский, Е. Г. Гилерович, О. В. Кирик [и др.] ; под ред. Д. Э. Коржевского. – СПб. : СпецЛит, 2016. – 143 с.
2. P Van Acker, Z. Neuroglobin and neuronal cell survival / Z. P Van Acker [et all] // J. Mol Neurobiol. – 2019. – Vol. 3. – P. 2101-2122. doi: 10.1007/s12035-018-1212-8. Epub 2018 Jul 10.
3. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2003. – 312 с.

ВАРИАНТНАЯ АНАТОМИЯ ЛИЦЕВОГО И ТРОЙНИЧНОГО НЕРВОВ

Ткач А. А., Белик О. В., Кованцев С. Д.

Государственный Медицинский и Фармацевтический Университет
имени Николае Тестемицану. Кишинев, Республика Молдова

Актуальность. Одной из первоочередных задач современной морфологии является изучение индивидуальной изменчивости органов тела человека, в первую очередь их иннервации.

Нейроанатомия представляет собой сложную и постоянно развивающуюся область медицины, которая часто диктует хирургический подход и возможности решения той или иной сложной ситуации, связанной с вариантной анатомией черепных нервов [1].

Экстракраниальная часть лицевого нерва имеет сложные как строение, так и пространственные взаимоотношения с окружающими структурами. Различия строения нерва имеются у каждого человека. Кроме множественных анастомозов с собственными ветвями, лицевой нерв имеет анастомозы с ветвями тройничного нерва. Препарирование экстракраниальной части лицевого нерва является ведущим методом его изучения, а топографо-анатомические данные, полученные при этом методе изучения, станут базой для развития виртуальной анатомии и хирургии будущего [4].

Глубокое знание анатомии лицевого нерва имеет решающее значение, чтобы избежать его непреднамеренного повреждения во время ритидэктомии, паротидэктомии, репозиции челюстно-лицевого перелома и почти любой операции на голове и шее. Повреждение лобной и краевой нижнечелюстных ветвей лицевого нерва, в частности, может привести к очевидным клиническим нарушениям [6, 8].

Повреждение лицевого нерва при ритидэктомии происходит менее чем в одном проценте случаев, однако с внедрением новых и более агрессивных техник платизмальных и субплатизмальных лоскутов риск повреждения ветвей лицевого нерва увеличивается [8, 9].