

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ УЛЬТРАСТРУКТУР НЕЙРОНОВ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС С ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ

Бонь Е. И., Максимович Н. Е., Островская О. Б., Курочкина Е. Д.

Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь

Актуальность. При ишемии головного мозга (ИГМ) развивается цепь патогенетических нарушений в его структурах, среди которых одним из ведущих является энергодефицит, что приводит к развитию клеточной патологии из-за нарушений гомеостаза, активности ферментов, целостности мембран и работы энергетических насосов. В условиях ИГМ избирательно нарушаются механизмы синаптической передачи, что способствует нарушению ауторегуляции местного кровотока, развитию вазоспазма, усилению агрегации тромбоцитов и развитию внутрисосудистого стаза, усугубляя гипоксию и усиливая энергодефицит [2].

Цель: изучить изменения ультраструктуры нейронов теменной коры (ТК) и гиппокампа (Гп) головного мозга крыс с церебральной ишемией разной степени тяжести.

Эксперименты выполнены на 40 самцах беспородных белых крыс массой 260 ± 20 г с соблюдением требований Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей.

Моделирование ИГМ осуществляли в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (40-50 мг/кг).

В исследованиях использованы модели тотальной (ТИГМ), субтотальной (СИГМ), ступенчатой субтотальной (ССИГМ) и частичной (ЧИГМ) ишемии головного мозга [1].

Тотальную ишемию головного мозга или ТИГМ моделировали путем декапитации животных. Забор головного мозга осуществляли спустя 1 час и 24 часа после декапитации [3].

Субтотальную ишемию головного мозга или СИГМ моделировали путем одномоментной перевязки обеих ОСА. Забор материала осуществляли спустя 1 час и 24 часа после операции.

Ступенчатую субтотальную ИГМ или ССИГМ осуществляли путем последовательной перевязки обеих ОСА с интервалом 7 суток (подгруппа 1), 3-е суток (подгруппа 2) или 1 сутки (подгруппа 3) [4]. Взятие материала осуществляли через 1 час после перевязки второй ОСА в каждой из подгрупп.

Частичную ишемию головного мозга или ЧИГМ моделировали путем перевязки одной ОСА справа. Взятие материала осуществляли через 1 час после операции.

В предыдущих исследованиях гистологических, энергетических и прооксидантно-антиоксидантных характеристик нейронов было установлено, что данные сроки наиболее ярко иллюстрируют динамику изменений при моделировании ишемии различной степени тяжести.

Контрольную группу составили ложно оперированные крысы аналогичных пола и веса.

Методы исследования. Электронно-микроскопические исследования были выполнены в теменной коре и гиппокампе головного мозга крыс.

Сразу после декапитации и быстрого извлечения головного мозга лезвием вырезали участки ТК и Гп и помещали их в 1% осмиевый фиксатор на буфере Миллонига (рН=7,4) на 2 часа при температуре 4°C.

Далее срезы промывали в смеси буфера Миллонига (20 мл) и сахарозы (900 мг), обезживали в спиртах возрастающей концентрации, смеси спирта и ацетона, чистом ацетоне; проводили через смесь смол (аралдит М + аралдит Н + дибутилфталат+ДМР-30) и ацетона и заключали в смесь смол.

Полутонкие срезы (толщиной около 350 нм) изготавливали на ультрамикротоме MT-7000 (RMC, США), окрашивали метиленовым синим и вырезали лезвием необходимые для изучения участки внутреннего пирамидного слоя ТК и пирамидного слоя поля СА₁ Гп.

Ультратонкие срезы (толщиной около 35 нм) изготавливали на том же ультрамикротоме, собирали на опорные сеточки, контрастировали ацетатом урана и цитратом свинца. Для этого сеточки со срезами опускали в каплю уранилацетата и выдерживали 20 минут в темноте при комнатной температуре, затем промывали в 3-х порциях бидистиллированной воды по 5 секунд и контрастировали цитратом свинца в течение 8 минут, промывали в 3-х порциях бидистиллированной воды по 5 секунд.

Полученные препараты изучали под электронным микроскопом JEM-1011 (JEOL, Япония), фотографировали цифровой камерой Olympus MegaView III (Olympus Soft Imaging Solutions, Германия).

Морфометрию ультраструктур проводили с помощью программы для обработки изображения Image Warp (Bit Flow, США), для чего обводили курсором на мониторе компьютера митохондрии, комплекс Гольджи, гранулярную эндоплазматическую сеть, рибосомы и лизосомы. Измерялись плотность, размеры, форма органелл, плотность и длина крист митохондрий, размеры лизосом и их плотность, количество связанных с эндоплазматической сетью и свободных рибосом, высчитывали коэффициент их отношения.

Для предотвращения систематической ошибки измерений образцы головного мозга от сравниваемых контрольной и опытных групп животных изучали в одинаковых условиях.

Результаты и выводы. В результате исследований получены количественные непрерывные данные. Так как в эксперименте использованы малые выборки, которые имели ненормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики с помощью лицензионной

компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США). Данные представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – значение нижнего квартиля; UQ – значение верхнего квартиля. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$ (тест Крускала-Уоллиса с поправкой Бонферони) [5].

Проведены исследования по изучению изменения ультраструктуры нейронов ТК и Гп головного мозга крыс в условиях церебральной ишемии различной степени тяжести (тотальной (ТИГМ), субтотальной (СИГМ), ступенчатой субтотальной (ССИГМ) с различными сроками между перевязками обеих общих сонных артерий и частичной (ЧИГМ)). При ТИГМ отмечались наиболее выраженные нарушения ультраструктуры нейронов: уменьшение площади митохондрий, степени их вытянутости и увеличением округлости, уменьшение плотности крист митохондрий и их длины, вакуолизация гранулярной эндоплазматической сети, преобладание свободных рибосом над связанными. При 1-часовой СИГМ изменялась только форма митохондрий с уменьшением плотности и длины их крист. Однако при 1-суточной СИГМ изменения ультраструктуры были аналогичны у крыс с ТИГМ. Ультраструктура митохондрий крыс с ЧИГМ не отличалась от митохондрий крыс контрольной группы, за исключением меньшей плотности крист митохондрий нейронов ТК, $p < 0,05$ и менее значительным увеличением количества свободных рибосом, $p < 0,05$. В 1-й подгруппе ССИГМ с интервалом между перевязками обеих ОСА 7 суток размеры, форма митохондрий, плотность и длина их крист и размеры лизосом не отличались от значений показателей в контрольной группе ($p > 0,05$). Кроме того, отмечалось увеличение количества лизосом и свободных рибосом, дезорганизация и расширение цистерн эндоплазматической сети и комплекса Гольджи. Происходила гиперплазия цистерн эндоплазматической сети, что свидетельствует об активации механизмов компенсации при гипоксии. По мере сокращения временного интервала между перевязками ОСА во 2-й (3 суток) и 3-й подгруппах (1 сутки) при ССИГМ строение органелл было схожим с таковым при СИГМ. Изменения органелл нейронов в ТК и Гп были аналогичны, за исключением более значительного уменьшения плотности крист митохондрий в нейронах ТК при 1-часовой СИГМ, ЧИГМ, а также во 2-й и 3-й подгруппах ССИГМ.

Список литературы:

1. Bon E. I. Comparative characteristics of changes in neuron organelles during two-stage ligation of the common carotid arteries in phylogenetically different sections of the brain cortex of outbred white rats / E. I. Bon, N. Ye. Maksimovich, S.M. Zimatkin, O. Ostrovskaya1, N. Kokhan // Journal of innovations in medical research. – 2023. – Vol.2, № 4. – P. 34-40.
2. Бонь, Е. И. Особенности гистологических изменений нейронов филогенетически разных отделов коры головного мозга крыс при частичной церебральной ишемии / Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, С.М. Зиматкин, М.П. Пумпур // Новости медико-биологических наук. – 2023. – Т. 23, № 2. – 2023. – С. 143-150.

3. Bon, E. I. Classical Methods for Studying the Structure of Cells / E. I. Bon, N. Ye. Maksimovich, S. M. Zimatkin, N.V. Kokhan // Biomed J Sci & Tech Res. – 2023. – Vol. 50(5). – P. 1-2.

4. Бонь, Е. И. Изменения ультраструктуры нейронов теменной коры и гиппокампа головного мозга крыс с тотальной церебральной ишемией / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин, О. Б. Островская, Н. В. Кохан // Веснік Брэсцкага ўніверсітэта. Серыя 5. Біялогія. Навукі аб зямлі. – 2023. № 1. – С. 16-23.

5. Maksimovich, N. Ye. Changes In the Morphology of Neurons of The Parietal Cortex and Hippocampus of Rats in The Dynamics of Step Subtotal Cerebral Ischemia / N.Ye. Maksimovich, E. I. Bon, S. M. Zimatkin, S.V. Holik // Journal of Clinical Sciences and Clinical Research. – Vol. 2, № 1. – P. 1-8.

СЛУЧАЙ СИСТЕМНОГО АМИЛОИДОЗА У ПАЦИЕНТА С РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Бутолина К. М., Мироненко О. Н.¹, Криворучко Д. С.

Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь

¹Гродненское областное клиническое патологоанатомическое бюро, Республика Беларусь

Актуальность. Амилоидоз – тяжелое и часто смертельное осложнение ревматоидного артрита (РА). Распространенность его среди пациентов с РА различается в разных популяциях и колеблется от 7% до 26%.

Амилоидоз при РА возникает в результате длительного хронического воспаления и представляет собой вторичную форму заболевания (АА-амилоидоз). Он чаще развивается в течение первых 15 лет РА [1]. Эффективное противовоспалительное лечение, приводящее к ремиссии РА, служит защитой от структурных изменений суставов, а также от его осложнений, в том числе от появления и прогрессирования амилоидоза. Однако амилоидоз может развиваться, несмотря на интенсивное лечение РА, так как ремиссия или снижение его активности достигаются не во всех случаях.

АА-амилоидоз поражает разные органы и системы организма. Он откладывается в стенках артерий и строме желудочно-кишечного тракта, почек, печени, сердца, тимуса, а иногда и мочевого пузыря [2]. Редкой формой амилоидоза является амилоидоз предстательной железы. В литературе описано несколько наблюдений амилоидоза данной локализации [3]. Отложение амилоида в щитовидной железе наблюдается в 80% случаев АА-амилоидоза, но только в 0,04% случаев может стать причиной развития амилоидного зоба [4].

Поражение амилоидозом почек, клинически выражающееся последовательной сменой стадий от протеинурии до нефротического синдрома и почечной недостаточности, считается одним из наиболее тяжелых и опасных для жизни осложнений РА [1]. Однако при жизни амилоидоз почек у пациентов