

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонь, Е. И. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович // Биомедицина. – 2018. – № 2. – С. 59–71.
2. Bon, L. I. Effects of experimental cerebral ischemia on metabolic characteristics of parietal cortex neurons / L. I. Bon, N. Ye. Maksimovich, S. M. Zimatkin // Bioprocess Engineering. – 2018. – Vol. 2, № 1. – P. 1–5.
3. Малышев, И. Ю. Стресс, адаптация и белки теплового шока / И. Ю. Малышев // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 9. – С. 1193–1202.
4. Каркищенко, Н. Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачева. – Москва : Профиль-2С, 2010. – 241 с.
5. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – Москва : Практика, 1999. – 459 с.
6. LaManna, J. C. Brain adaptation to chronic hypobaric hypoxia in rats / J. C. LaManna, L. M. Vendel, R. M. Farrell // Journal of Applied Physiology. – 1992. – Vol. 72, № 6. – P. 2238–2243.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕЙРОНОВ КОРЫ И ГИППОКАМПА ПРИ СТУПЕНЧАТОЙ СУБТОТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

**Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М., Валько Н.А., Кот В.Н.,
Зорко А.И., Карнюшко О.А.**

*Гродненский государственный медицинский университет
Гродно, Беларусь*

Введение. Церебральная ишемия представляет собой тяжелое нейродегенеративное состояние, приводящее к нарушению когнитивных и сенсомоторных функций. Ключевыми звеньями патогенеза являются недостаток оксигенации нейронов, эксайтотоксичность, окислительный стресс и апоптоз [1, с. 25; 4, с. 2]. До настоящего времени в литературе отсутствуют эталонные модели ишемии головного мозга (ИГМ). Моделирование путем одномоментной компрессии общих сонных артерий (ОСА) не позволяет изучить адаптационные процессы в динамике из-за тяжести повреждения. Ранее проведенные исследования показали снижение размеров перикарионов и увеличение количества гиперхромных сморщенных нейронов при острой ишемии [2, с. 61; 4, с. 3].

Цель. Анализ изменений морфологических характеристик нейронов теменной коры (ТК) и гиппокампа крыс при ступенчатой субтотальной ИГМ с различными интервалами между перевязками ОСА.

Методы исследования. Эксперименты выполнены на 42 самцах беспородных белых крыс массой 240 ± 20 г с соблюдением требований Директивы 2010/63/EU [3]. Ступенчатую субтотальную ИГМ осуществляли

путем последовательной перевязки ОСА с интервалом 1 сутки (подгруппа 1), 3 суток (подгруппа 2) или 7 суток (подгруппа 3). В каждой подгруппе по 12 животных. Контрольную группу (n=6) составили ложнооперированные крысы. Забор материала осуществляли через 1 час и 1 сутки после операции. Срезы окрашивали 0,1% толуидиновым синим по методу Ниссля. Морфометрию проводили с помощью микроскопа Axioscop 2 plus и программы ImageWarp. Оценивали площадь нейронов, форм-фактор, фактор элонгации и соотношение клеток по степени хромотофилии. Статистическую обработку проводили с использованием теста Краскелла-Уоллиса с поправкой Бонферони (программа Statistica 10.0) [5, с. 211].

Результаты и их обсуждение. Наиболее выраженные изменения наблюдались в подгруппе 1 (интервал 1 сутки). Площадь перикарионов нейронов ТК здесь уменьшилась на 60% через час и на 55% через сутки ($p<0,05$), в гиппокампе – на 47% и 48% соответственно ($p<0,05$). Форм-фактор снижался, а фактор элонгации увеличивался, указывая на деформацию клеток (таблица 1) (рисунки 1 и 2).

Таблица 1 – Площадь перикарионов нейронов теменной коры и гиппокампа крыс со ступенчатой субтотальной ИГМ, Me (LQ; UQ)

Группы		Площадь, мкм ²		Форм-фактор, ед.		Фактор элонгации, ед.		
		теменная кора (тк)	гиппокамп	тк	гиппокамп	тк	гиппокамп	
Контроль	1 ч	161 (143;165)	96 (92;100)	0,9 (0,8;0,9)	0,84 (0,8;0,88)	1,2 (1,8;1,3)	1,1 (1,1;1,2)	
	1 сут	101 (85;120)	89 (86;89)	0,9 (0,9;0,9)	0,9 (0,9;0,9)	1,2 (1,15;1,3)	1,2 (1,2;1,3)	
СИГМ	1 пг	1 ч	66 (62;69)*	57 (55;60,4)*	0,8 (0,75;0,8)*	0,7 (0,66;0,8)*	1,6 (1,5;1,7)*	1,6 (1,6;1,7)*
		1 сут	57 (54,5;62)*	58 (49;61)*	0,7 (0,6;0,7)*	0,7 (0,67;0,7)*	1,54 (1,4;1,6)*	1,5 (1,4;1,6)*
	2 пг	1 ч	69 (65;71,5)*	66 (65;67,5)*	0,7 (0,7;0,75)*	0,7 (0,7;0,73)*	1,4 (1,4;1,4)*	1,4 (1,4;1,4)*
		1 сут	74 (70;83,5)* ⁺	72 (66;77,5) ⁺	0,74 (0,7;0,8)*	0,8 (0,7;0,8)*	1,4 (1,35;1,4)*	1,4 (1,3;1,4)*
	3 пг	1 ч	77 (76;79)*	79 (75;86,5) ⁺	0,8 (0,75;0,8)*	0,8 (0,75;0,8)*	1,3 (1,3;1,3)* ⁺	1,3 (1,3;1,3)* ⁺
		1 сут	88 (77;89)	88 (85;93)* ^{+#}	0,8 (0,75;0,8)*	0,8 (0,7;0,8)*	1,3 (1,3;1,3)* ⁺	1,3 (1,3;1,3)* ⁺

Примечание – пг – подгруппа, * – $p<0,05$ по сравнению с группой контроль, + – $p<0,05$ по сравнению с подгруппой 1, # – $p<0,05$ по сравнению с подгруппой 2, ед. – единицы.

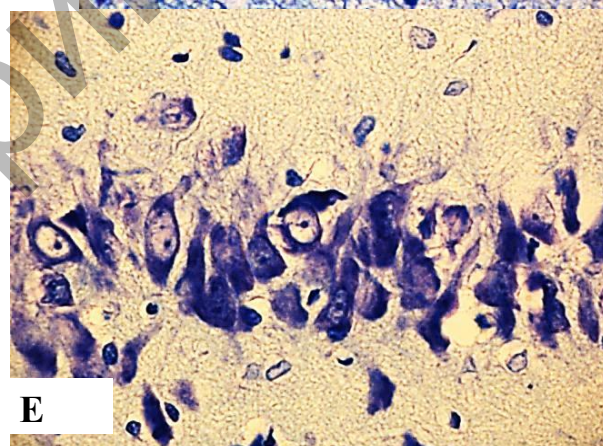
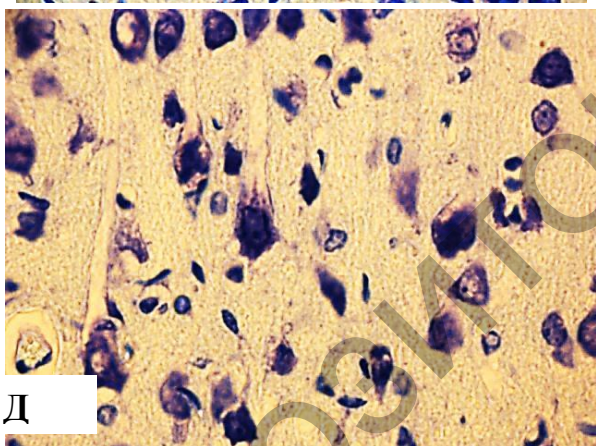
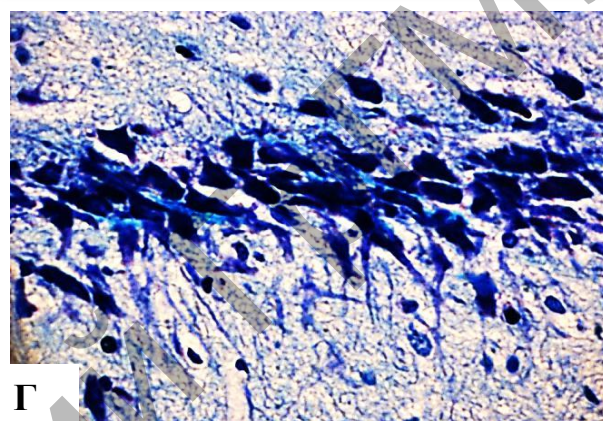
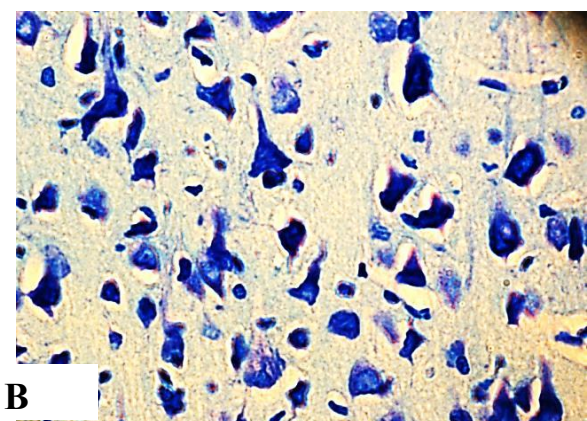
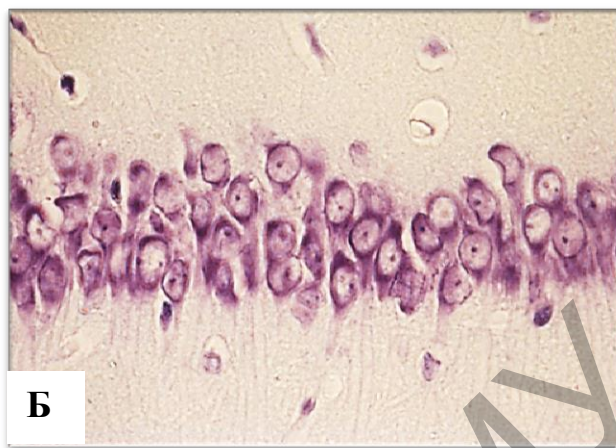
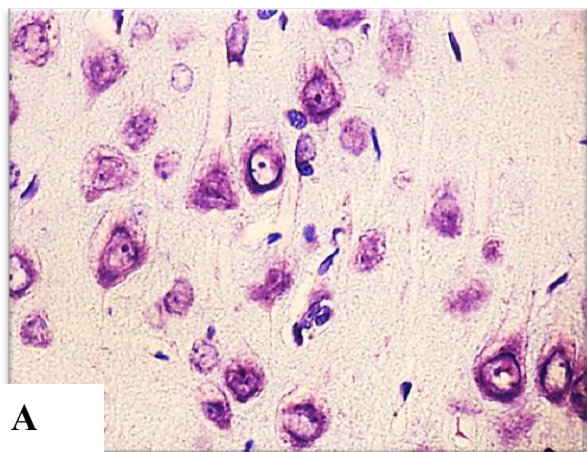


Рисунок 1 – Нейроны пятого слоя теменной коры (А,В,Д) и пирамидного слоя гиппокампа (Б,Г,Е). А, Б – контроль, В, Г – промежуток 1, спустя 1 сутки после перевязки второй ОСА, Д, Е – промежуток 7, спустя 1 сутки после перевязки второй ОСА. Цифровая микрофотография. Окраска по Нисслю.

Ув. объектива x 40

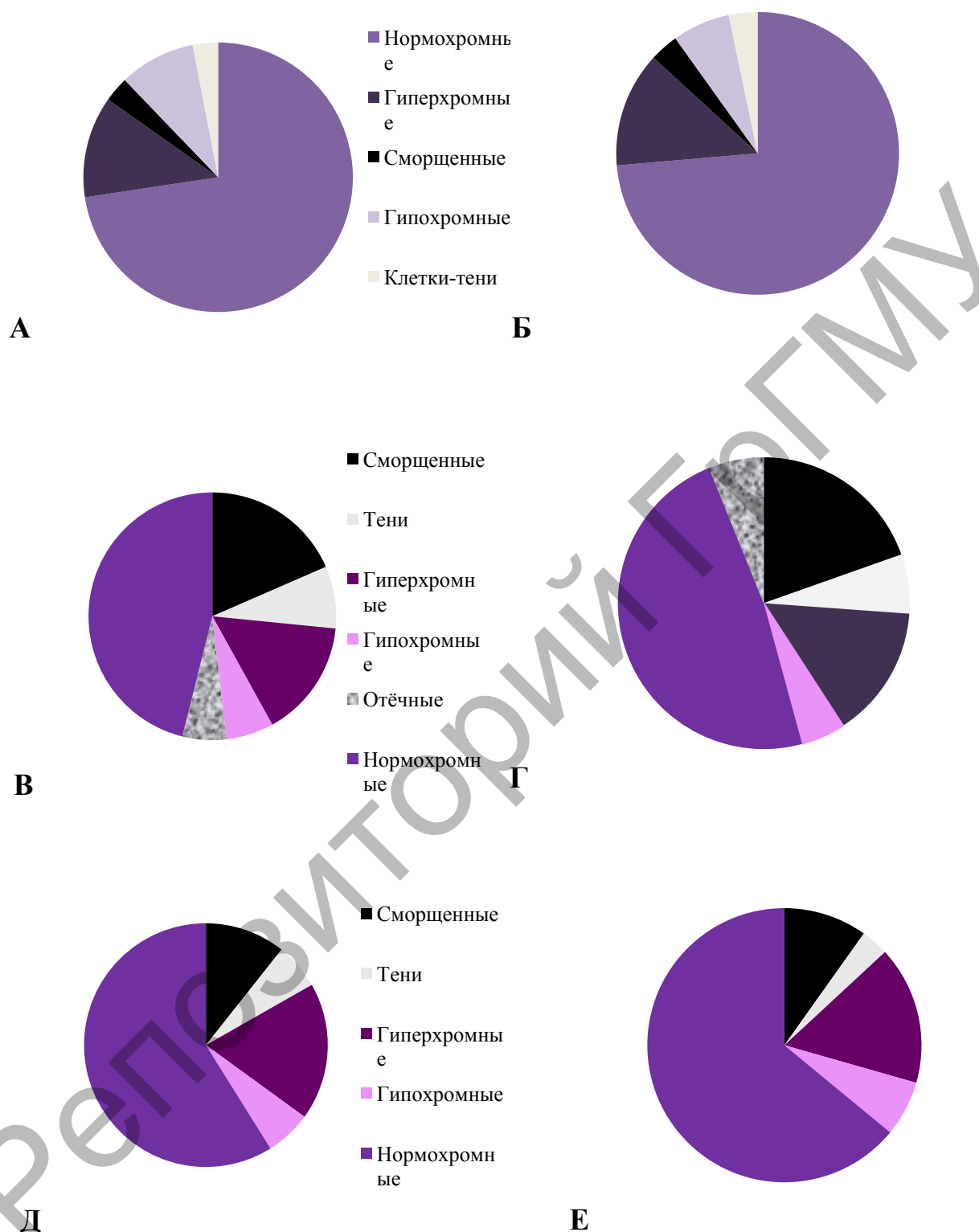


Рисунок 2 – Соотношение нейронов с различной степенью хроматофилии цитоплазмы пятого слоя теменной коры головного мозга (А, В, Д) и пирамидного слоя гиппокампа (Б,Г,Е). А, Б – контроль, В, Г – промежуток 1, спустя 1 сутки после перевязки второй ОСА, Д, Е – промежуток 7, спустя 1 сутки после перевязки второй ОСА

Количество нормохромных нейронов в ТК в подгруппе 1 уменьшилось на 35–40% ($p < 0,05$), а гиперхромных сморщенных возросло на 78–83% ($p < 0,05$). В гиппокампе аналогичные показатели составили увеличение на 95–96% ($p < 0,05$). В подгруппе 3 (интервал 7 суток) негативные изменения были минимальны: площадь нейронов ТК уменьшилась лишь на 39–48%, а количество клеток-теней в гиппокампе не отличалось от контроля.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при интервале 7 суток успевают включиться адаптивные механизмы: улучшение микроциркуляции, неоваскуляризация, активация HIF-1 [6, с. 2240]. Это подтверждается и лучшей сохранностью нейронов гиппокампа, что согласуется с данными о его филогенетической устойчивости. При интервале 1 сутки компенсаторные ресурсы истощаются, и повреждения носят необратимый характер, аналогичный одномоментной ишемии [1, с. 27; 4, с. 4].

Выводы.

1. Ступенчатая ишемия с интервалом 1 сутки приводит к максимальным морфологическим нарушениям: уменьшению площади нейронов на 55–60%, росту числа гиперхромных сморщенных клеток на 78–96% и появлению клеток с отеком.

2. Увеличение интервала между окклюзиями до 7 суток способствует развитию адаптивных процессов, что выражается в лучшей сохранности нейронов, особенно в гиппокампе.

3. Выраженность морфологических нарушений находится в прямой зависимости от длительности интервала: чем он больше, тем эффективнее компенсаторные механизмы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бонь, Е. И. Морфофункциональные нарушения в гиппокампе крыс при субтотальной ишемии / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович, С. М. Зиматкин // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2018. – № 1. – С. 24–29.

2. Бонь, Е. И. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга / Е. И. Бонь, Н. Е. Максимович // Биомедицина. – 2018. – № 2. – С. 59–71.

3. Каркищенко, Н. Н. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачева. – Москва : Профиль-2С, 2010. – 241 с.

4. Bon, L. I. Effects of experimental cerebral ischemia on metabolic characteristics of parietal cortex neurons / L. I. Bon, N. Ye. Maksimovich, S. M. Zimatkin // Bioprocess Engineering. – 2018. – Vol. 2, № 1. – P. 1–5.

5. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – Москва : Практика, 1999. – 459 с.

6. LaManna, J. C. Brain adaptation to chronic hypobaric hypoxia in rats / J. C. LaManna, L. M. Vendel, R. M. Farrell // Journal of Applied Physiology. – 1992. – Vol. 72, № 6. – P. 2238–2243.