

УДК 612.825:616.36-008.811.4]-018:599.323.4

Т. В. КЛИМУТЬ¹, А. В. ЗАЕРКО¹, С. В. ЕМЕЛЬЯНЧИК², С. М. ЗИМАТКИН¹

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ ПОЯСНОЙ КОРЫ МОЗГА КРЫСЫ ПРИ ХОЛЕСТАЗЕ

¹ Учреждение образования «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Республика Беларусь

² Учреждение образования «Гродненский государственный университет имени Янки
Купалы», Гродно, Республика Беларусь

Установлено, что на пике холестаза (на 10–20-е сутки после перевязки и перерезки общего желчного протока) у крыс уменьшается число нейронов на единицу площади мелкоклеточного и крупноклеточного слоев поясной коры. По мере развития холестаза в поясной коре происходит постепенное уменьшение размеров нейронов и их ядер, которое достигает максимума на 5-е, 10-е, 20-е сутки в мелкоклеточном слое и на 10-е, 20-е, 45-е сутки в крупноклеточном слое. При этом перикарионы нейронов вытягиваются и их сферичность уменьшается. Следовательно, нейроны мелкоклеточного слоя быстрее реагируют на холестаз, а сохранившиеся нейроны быстрее восстанавливаются. В дальнейшем через 45–90 суток после перерезки ОЖП происходит постепенная нормализация размеров и формы нейронов в обоих исследуемых слоях поясной коры.

Ключевые слова: поясная кора, крупноклеточный слой, мелкоклеточный слой, головной мозг, холестаз.

Введение. Холестаз – нарушение оттока желчи из печени в двенадцатиперстную кишку. Это осложнение возникает при различной патологии печени и желчевыводящих путей, особенно часто при желчекаменной болезни, которой страдает более 10 % населения планеты [3]. Недостаточный отток желчи приводит к нарушению пищеварения (особенно жиров) в кишечнике, накоплению желчи в желчевыводящих путях, повреждению гепатоцитов и поступлению компонентов желчи (билирубин, желчные кислоты и др.) в кровь, а затем и в мозг [5].

В клинической практике отмечено, что холемическая и печеночная интоксикация оказывают сильное угнетающее действие на ЦНС. При начальных стадиях холестаза клиницистами описаны так называемые «малые симптомы» начинающейся энцефалопатии в виде головных болей, головокружений, тяжести в голове, бессонницы ночью и сонливости днем, апатии, разбитости, невозможности длительного сосредоточения внимания, памяти. Затем могут проявляться более выраженные неврологические (психические) симптомы в виде неврастения, энцефалопатии, энцефаломиелопатии и полинейропатии. При продолжении токсикоза развиваются морфологические изменения в головном мозге, которые описаны при экспериментальном подпечёночном холестазе для неокортекса, коры мозжечка и гистаминергических нейронов гипоталамуса [5].

В обеспечении многообразных функций головного мозга принимает активное участие поясная кора его больших полушарий. Она является важной частью лимбической системы, которая отвечает за эмоции, обучение, память, и её нарушения могут быть связаны с когнитивным дефицитом, депрессией, бессонницей, наблюдаемыми при холестазе [8]. Поясная кора совершенно не изучена при холестазе и её исследование поможет понять механизмы развития нейropsychических расстройств при этой патологии. Это обуславливает актуальность и важность гистологического исследования данного отдела коры мозга при холестазе и явилось целью настоящей работы.

Материалы и методы исследования. В работе использовано 72 беспородные белые крысы самцы массой 225±25 грамм. Контрольных и опытных животных содержали в стандартных условиях вивария Гродненского государственного медицинского университета, в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и полноценной пище. Исследование проведено в соответствии с принципами биоэтики и требованиями Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей [12]. Для моделирования подпечёночного холестаза использовали перерезку общего желчного протока (ОЖП) между двумя лигатурами на 2–3 мм ниже места слияния печеночных протоков по методу Л. С. Кизюкевича [7]. Это обусловлено тем, что перевязка выше этого уровня может не приводить к полному холестазу, а ниже

него в ОЖП впадают многочисленные протоки поджелудочной железы, перевязка которых приводит к развитию панкреатита и быстрой гибели всех животных [6]. Животным контрольной группы проводили ложную операцию с сохранением физиологического оттока желчи в двенадцатиперстную кишку на протяжении всего эксперимента. Через 2, 5, 10, 20, 45 и 90 суток в утренние часы опытных и контрольных животных синхронно выводили из эксперимента путем декапитации, предварительно усыпив парами эфира. Для исследования брали кусочки больших полушарий головного мозга, фиксировали их в жидкости Карнуа при +4 °С (на ночь), а затем заключали в парафин. Фронтальные срезы толщиной 7 мкм готовили с помощью микротомы (LeicaRM 2125 RTS, Германия) и монтировали на предметные стекла. Препараты окрашивали по методу Ниссля (0,1 % водным раствором тионина) для оценки размеров и формы нейронов поясной извилины. Идентификацию поясной коры проводили по схемам стереотаксического атласа [13]. Морфометрию нейронов выполняли в мелкоклеточном и крупноклеточном слоях поясной извилины [1].

Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование и морфометрию проводили с помощью микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), встроенной цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

Количество нейронов во 2-м, мелкоклеточном, и 5-м, крупноклеточном, слоях поясной коры всех исследованных животных подсчитывали на 1000 мкм² площади этих слоёв. Оценку размеров и формы перикарионов и ядер нейронов этих слоёв проводили, обводя курсором контуры их перикарионов и ядер на экране монитора, с получением следующих параметров: минимального и максимального диаметров, периметра, площади, форм-фактора ($4\pi S/P^2$, где S – площадь сечения перикариона, P – периметр перикариона) и фактора элонгации (D_{max}/D_{min} , где D_{max} – максимальный диаметр, D_{min} – минимальный диаметр перикариона); также подсчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение.

В результате морфометрических исследований получены количественные данные. Их обрабатывали с помощью компьютерной программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft, Inc., США, серийный номер AXAR207F394425FA-Q) с применением описательной статистики. Так как в эксперименте нами использовались малые выборки, которые не всегда имели нормальное распределение, анализ проводили методами непараметрической статистики [2]. Для каждого показателя определяли значение медианы (Me), нижнего (LQ) и верхнего квартиля (UQ). Объекты исследования набирали в группы независимо друг от друга, поэтому сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна-Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U-test) [10]. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5 % ($p < 0,05$, где p – критическое значение уровня значимости) [9].

Результаты и их обсуждение. Нейроны 2-го мелкоклеточного слоя поясной коры преимущественно овальной формы, с узким ободком цитоплазмы вокруг ядра, с плотностью расположения около 4 клеток на 1000 мкм² (рисунок 1, 2).

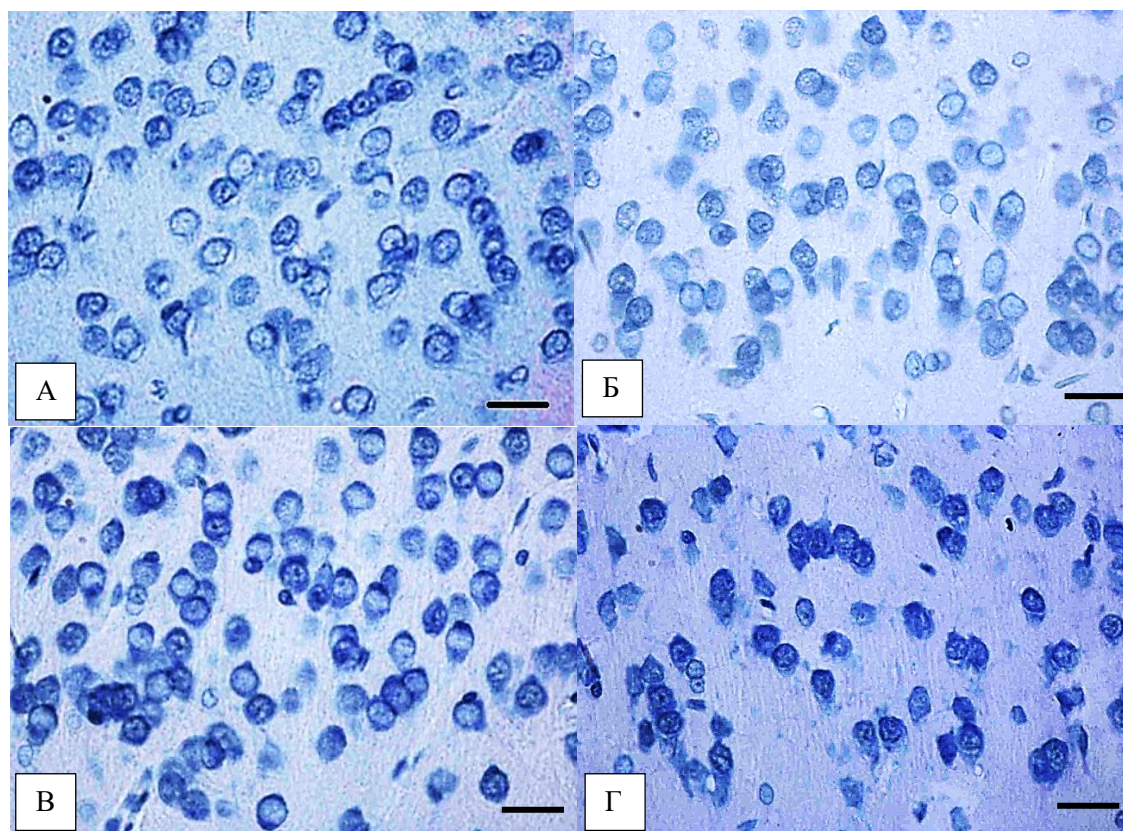


Рис. 1. Нейроны 2-ого (мелкоклеточного) слоя на 5-е (А – контроль, Б – опыт) и 10-е сутки (В – контроль, Г – опыт) после перерезки общего желчного протока, окраска по методу Ниссля, увеличение $\times 400$, масштабный отрезок 20 мкм

При подсчете количества нейронов мелкоклеточного слоя на единицу площади поясной коры установлено, что на 2-е и 5-е сутки после перерезки общего желчного протока количество нейронов по сравнению с контрольной группой достоверно не изменяется. Начиная с 10-х суток у животных опытной группы количество нейронов значительно снижается (на 32,2 %), и это снижение сохраняется во все более поздние сроки исследования (рисунок 1, 2).

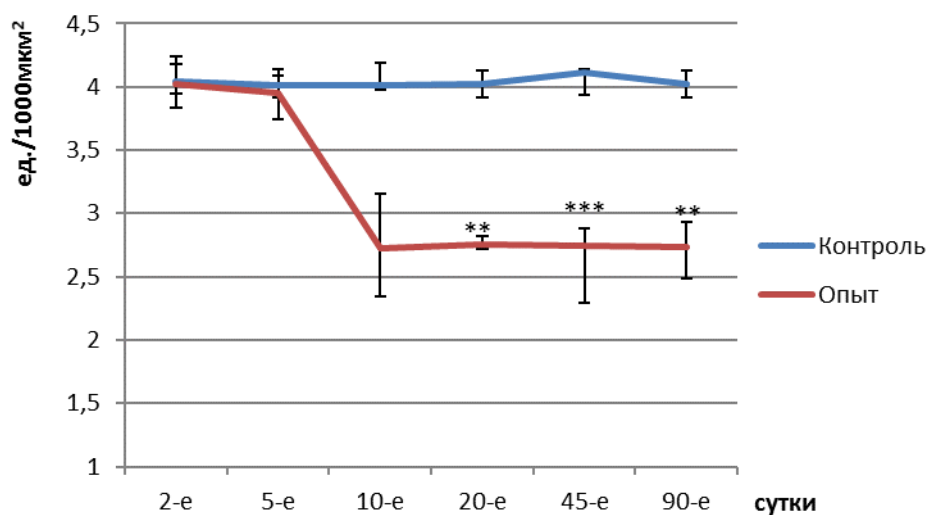


Рис. 2. Количество нейронов мелкоклеточного слоя на единицу площади поясной коры

При анализе размеров и формы нейронов мелкоклеточного слоя установлено, что через 2-е суток после перерезки ОЖП значительные изменения не выявляются. На 5-е сутки после перерезки ОЖП происходит уменьшение площади перикарионов нейронов мелкоклеточного слоя на 6,2 % ($p < 0,001$), их большего радиуса – на 5,6 % ($p < 0,001$), периметра – на 4,3 % ($p < 0,001$), форм-фактора – на 4,5 % ($p < 0,01$). При этом увеличивается фактор их элонгации – на 9,6 % ($p < 0,001$). На 10-е сутки в

сохранившихся нейронах уменьшена площадь перикарионов – на 5,3 % ($p<0,05$), большой радиус – на 4,8 % ($p<0,001$), периметр – на 3,3 % ($p<0,05$), а фактор элонгации увеличен – на 7,2 % ($p<0,001$). На 20-е сутки уменьшен малый радиус – на 2,6 % ($p<0,05$), форм-фактор – на 2,3 % ($p<0,01$), а фактор элонгации увеличен на – 6,4 % ($p<0,01$). На 45-е и 90-е сутки после перевязки ОЖП в нейронах мелкоклеточного слоя поясной коры достоверных изменений морфометрических параметров не наблюдается (табл. 1). При анализе размеров и формы ядер нейронов мелкоклеточного слоя поясной коры установлено, что у крыс опытной группы на 2-е и 5-е сутки после перерезки ОЖП не выявляется значительных изменений.

Табл. 1. Показатели размеров и формы перикарионов нейронов мелкоклеточного слоя поясной коры, окраска по методу Ниссля (Me (LQ;UQ))

Параметры		2-е сутки	5-е сутки	10-е сутки	20-е сутки	45-е сутки	90-е сутки
Площадь, мкм ²	К	72,82 (69,97;74,42)	73,85 (67,08;82,65)	75,66 (69,67;84,26)	79,53 (71,22;91,63)	84,30 (75,94;97,13)	93,70 (77,16;145,57)
	О	71,92 (69,34;73,92)	69,21 (63,02;75,48) ***↓	71,67 (66,65;78,84) *↓	76,38 (71,56;86,34)	83,65 (81,37;87,44)	94,24 (81,22; 116,92)
Большой радиус, мкм	К	12,07 (11,31;12,81)	11,55 (10,69;12,56)	12,01 (11,19;13,02)	12,11 (11,35;12,87)	13,27 (11,86;14,51)	13,90 (13,43;14,98)
	О	11,73 (11,10;12,69)	10,53 (9,91;11,23) ***↓	11,43 (10,71;12,01) ***↓	11,97 (11,41;12,68)	13,21 (12,51;13,94)	13,77 (11,08;15,31)
Малый радиус, мкм	К	9,03 (8,25;9,67)	8,29 (7,87;8,86)	8,31 (7,72;8,67)	8,35 (7,83;9,13)	8,50 (7,92;9,04)	9,99 (9,24;10,99)
	О	9,00 (8,28;9,60)	8,28 (7,85;8,75)	8,07 (7,61;8,46)	8,13 (7,77;8,77) *↓	8,42 (8,05;9,07)	9,89 (8,30;13,05)
Фактор элонгации	К	1,35 (1,20;1,53)	1,25 (1,15;1,36)	1,38 (1,27;1,50)	1,40 (1,31;1,56)	1,57 (1,39;1,76)	1,39 (1,27;1,56)
	О	1,32 (1,20;1,47)	1,37 (1,23;1,53) ***↑	1,48 (1,35;1,61) ***↑	1,49 (1,38;1,63) ***↑	1,54 (1,42;1,67)	1,37 (1,25;1,48)
Периметр, мкм	К	34,61 (33,22;36,44)	32,56 (30,79;34,72)	33,49 (31,68;35,43)	33,88 (31,76;35,98)	36,91 (34,02;39,43)	39,94 (38,43;42,35)
	О	34,51 (32,19;36,87)	31,15 (29,41;32,57) ***↓	32,39 (31,53;33,98) *↓	33,77 (32,10;35,90)	36,92 (35,79;39,04)	39,90 (32,40;45,02)
Форм- фактор	К	0,88 (0,84;0,91)	0,88 (0,85;0,91)	0,86 (0,85;0,90)	0,88 (0,85;0,91)	0,81 (0,76;0,85)	0,86 (0,82;0,89)
	О	0,88 (0,84;0,91)	0,84 (0,81;0,88) **↓	0,86 (0,82;0,89)	0,86 (0,83;0,90) **↓	0,81 (0,75;0,85)	0,88 (0,84;0,91)

Примечание: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$ при сравнении с контролем того же срока.

На 10-е сутки после перерезки ОЖП происходит уменьшение площади ядер сохранившихся нейронов на 13,9 % ($p<0,01$), большого радиуса – на 5,6 % ($p<0,001$), малого радиуса – на 7,1 % ($p<0,001$), периметра – на 10,3 % ($p<0,001$). На 20-е сутки достоверно меньше площадь ядер – на 11,9 % ($p<0,001$), периметр – на 1,6 % ($p<0,05$), при малый диаметр выше – на 1,5 % ($p<0,05$), форм-фактор – на 3,6 % ($p<0,05$). При этом у опытных животных происходит увеличение ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО) на 5 сутки после перерезки ОЖП на 14,9 %, на 10 сутки – на 10,1 %, на 45 сутки – на 4,1 % (табл. 2). На 45-е и 90-е сутки после перевязки ОЖП не наблюдается достоверных изменений изученных морфометрических параметров ядер (табл. 2).

Табл. 2. Показатели размеров и формы ядра и ЯЦО нейронов мелкоклеточного слоя поясной коры, окраска по методу Ниссля (Me (LQ; UQ))

Параметры		2-е сутки	5-е сутки	10-е сутки	20-е сутки	45-е сутки	90-е сутки
Площадь, мкм ²	К	45,94 (43,50;48,89)	48,28 (43,80;53,50)	60,30 (46,91;71,60)	61,60 (58,37;65,02)	62,29 (58,10;67,03)	64,73 (52,45;89,27)
	О	45,29 (43,28;47,62)	47,75 (41,96;53,09)	51,89 (46,91;63,26) **↓	54,23 (48,83;61,11) ***↓	59,96 (53,94;63,54)	63,81 (60,20;69,19)
Большой радиус, мкм	К	9,37 (8,94;9,75)	8,67 (8,14;9,11)	9,79 (8,50;11,39)	9,64 (8,74;10,59)	9,97 (9,12;10,85)	10,76 (10,05;11,57)
	О	9,04 (8,67;9,60)	8,59 (8,04;9,19)	8,99 (8,32;9,78) ***↓	9,77 (9,06;10,32)	9,88 (9,33;10,47)	10,19 (8,18;13,48)
Малый радиус, мкм	К	7,59 (7,15;8,18)	7,22 (6,72;7,71)	7,59 (7,10;8,28)	7,11 (6,50;7,38)	7,26 (6,81;7,86)	8,62 (8,13;9,21)
	О	7,50 (7,24;7,92)	7,08 (6,60;7,58)	7,05 (6,62;7,52) ***↓	7,22 (6,74;7,68)*↑	7,61 (7,22;8,09)	8,91 (6,66;11,04)
Фактор элонгации	К	1,20 (1,12;1,35)	1,19 (1,11;1,29)	1,27 (1,16;1,43)	1,38 (1,23;1,52)	1,36 (1,23;1,51)	1,22 (1,13;1,33)
	О	1,16 (1,11;1,21)	1,19 (1,12;1,32)	1,26 (1,17;1,39)	1,35 (1,25;1,47)	1,29 (1,19;1,41)	1,14 (1,00;1,51)
Периметр, мкм	К	27,64 (26,32;28,96)	26,3 (24,87; 27,53)	29,88 (26,29;32,37)	29,03 (27,07;30,72)	30,75 (28,88;34,28)	32,82 (30,81;34,82)
	О	27,26 (25,62;28,84)	26,04 (24,66;27,42)	26,81 (25,70;28,37) ***↓	28,55 (26,84;29,78) *↓	29,51 (27,83;31,66)	31,77 (26,17;36,06)
Форм- фактор	К	0,88 (0,84;0,92)	0,89 (0,85;0,92)	0,87 (0,84;0,90)	0,84 (0,79;0,89)	0,86 (0,80;0,89)	0,88 (0,82;0,91)
	О	0,86 (0,82;0,90)	0,89 (0,85;0,92)	0,87 (0,82;0,90)	0,87 (0,83;0,90) *↑	0,86 (0,81;0,90)	0,89 (0,63;0,97)
ЯЦО	К	1,65 (1,45; 1,97)	1,74 (1,40;2,06)	2,07 (1,51;2,63)	2,01 (1,42;2,38)	1,96 (1,47;2,44)	2,16 (1,88;2,70)
	О	1,75 (1,51;2,04)	2,00 (1,53;2,40) ***↑	2,28 (1,56;2,66) *↑	2,01 (1,45;2,54)	2,04 (1,69;3,15) ***↑	2,13 (1,82;2,34)

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ при сравнении с контролем

Таким образом, наибольшие изменения в нейронах мелкоклеточного слоя поясной коры после перерезки ОЖП наблюдаются через 10 и 20 суток, что соответствует пику холестаза, по результатам биохимического анализа крови животных [4]. При этом, происходит значительное уменьшение количества нейронов, что свидетельствует о их гибели. В сохранившихся нейронах уменьшаются размеры перикарионов и ядер, увеличивается ЯЦО. При этом изменяется форма перикарионов, они становятся более вытянутыми и менее сферичными. В отдаленные сроки (45-е и 90-е) сутки после перерезки ОЖП все исследуемые показатели приходят к контрольным значениям, что возможно связано с образованием обходных желчных выводных протоков и устранением холестаза [5].

Нейроны 5-го, крупноклеточного, слоя поясной коры преимущественно овальной формы, заметно крупнее, чем в мелкоклеточном слое, с узким ободком цитоплазмы вокруг ядра, с плотностью расположения около 4 клеток на 1000 мм² (рисунок 3, 4).

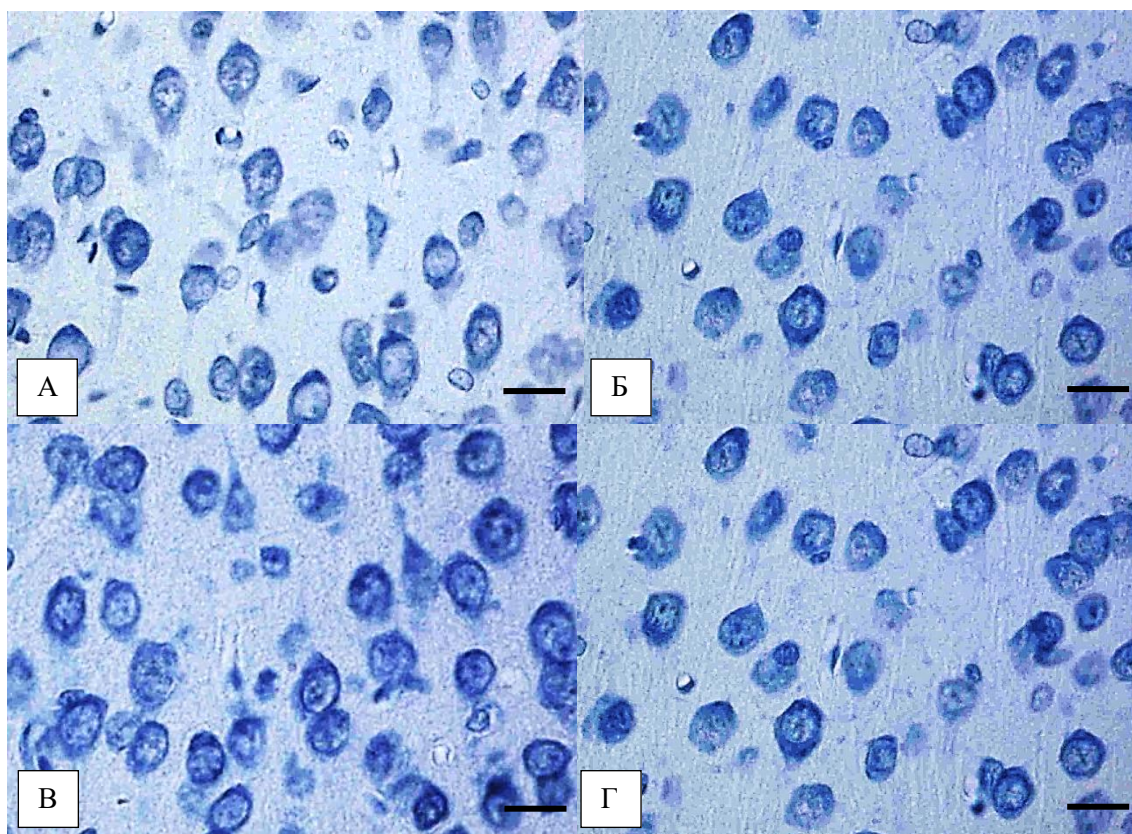


Рис. 3. Нейроны 5-ого (крупноклеточного) слоя на 10-е (А – контроль, Б – опыт) и 20-е сутки (В – контроль, Г – опыт) после перерезки общего желчного протока, окраска по методу Ниссля, масштабный отрезок 20 мкм, увеличение $\times 400$

При подсчете количества нейронов крупноклеточного слоя на единицу площади выявлено, что на 2-е и 5-е сутки после перерезки ОЖП их количество, по сравнению с контрольной группой, достоверно не изменяется. Начиная с 10-х суток у животных опытной группы количество нейронов значительно снижается: на 10-е сутки – на 19,9%, на 20-е сутки – на 34,6%, на 45-е сутки – на 35,2%, на 90-е сутки – на 35,9% (рисунок 3, 4).

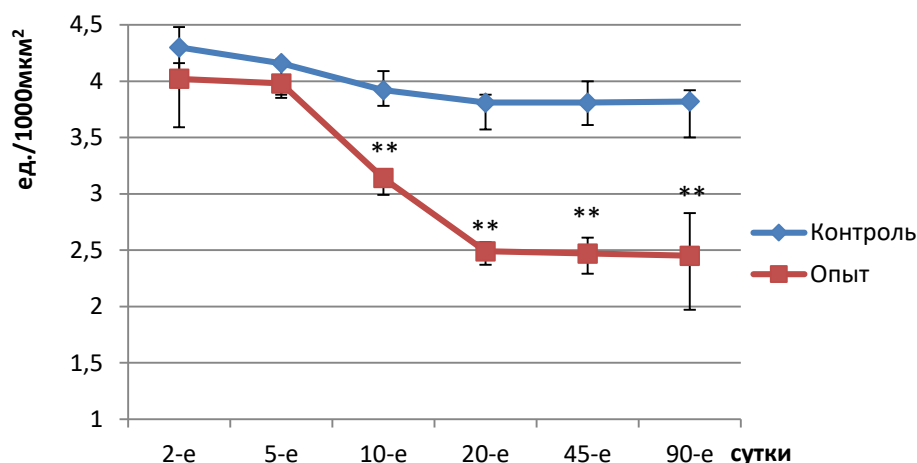


Рис. 4. Количество нейронов крупноклеточного слоя на единицу площади поясной коры

При анализе размеров и формы нейронов крупноклеточного слоя установлено, что на 5-е сутки после перерезки ОЖП происходит уменьшение форм-фактора перикарионов нейронов на 2,2 % ($p < 0,001$), периметра – на 4,6 % ($p < 0,001$). На 10-е сутки в них достоверно уменьшается площадь перикарионов на 10,7 % ($p < 0,001$), большой радиус – на 20,5 % ($p < 0,01$), малый радиус – на 15,9 % ($p < 0,001$), периметр – на 12,1 % ($p < 0,001$). На 20-е сутки площадь уменьшена на 7,7 % ($p < 0,01$), малый радиус – на 4,4 % ($p < 0,05$). На 45-е сутки уменьшены площадь перикарионов этих нейронов на

2,4 % ($p<0,001$), малый радиус – на 10,0 % ($p<0,001$), форм-фактор – на 4,7 % ($p<0,01$), периметр – на 4,0 % ($p<0,001$), а фактор элонгации увеличен на 6,8 % ($p<0,001$). Через 90 суток после перевязки ОЖП в морфометрических параметрах сохранившихся нейронов крупноклеточного слоя поясной коры не наблюдается достоверных изменений (табл. 3, рисунок 4).

Табл. 3. Показатели размеров и формы перикарионов нейронов крупноклеточного 5-го слоя поясной коры, окраска по методу Ниссля (Me (LQ; UQ))

Параметры		2-е сутки	5-е сутки	10-е сутки	20-е сутки	45-е сутки	90-е сутки
Площадь, мкм ²	K	82,77 (77,79;86,02)	86,20 (75,81;97,86)	93,50 (83,60;104,74)	104,71 (85,28;121,36)	105,75 (102,22;115,83)	111,15 (94,96;119,61)
	O	81,24 (76,09;88,72)	83,01 (71,19;97,19)	83,35 (77,51;87,13) ***↓	96,64 (84,11;100,68) **↓	103,22 (102,14;103,45)* **↓	111,25 (94,36;119,39)
Большой радиус, мкм	K	12,66 (11,70;13,83)	11,85 (11,06;12,69)	13,04 (12,04;13,96)	13,21 (12,00;14,22)	14,21 (13,61;15,86)	14,78 (13,91;16,44)
	O	11,57 (11,12;12,63)	11,72 (10,87;12,97)	10,36 (9,02;12,38) **↓	12,95 (11,64;14,13)	13,82 (12,52;15,26)	14,94 (12,29;21,21)
Малый радиус, мкм	K	9,26 (8,51;9,91)	9,26 (8,63;10,03)	9,33 (8,68;10,13)	10,05 (8,97;11,03)	10,54 (9,87;11,64)	11,31 (10,59;12,22)
	O	9,04 (8,47;9,66)	9,04 (8,34;9,82)	7,85 (7,47;8,59) ***↓	9,61 (8,93;10,32) *↓	9,48 (8,75;10,37) ***↓	11,23 (9,55;14,08)
Фактор элонгации	K	1,39 (1,27;1,52)	1,26 (1,19;1,38)	1,45 (1,27;1,59)	1,31 (1,18;1,45)	1,33 (1,21;1,45)	1,31 (1,20;1,47)
	O	1,33 (1,22;1,46)	1,30 (1,17;1,40)	1,31 (1,17;1,48)	1,35 (1,22;1,46)	1,42 (1,30;1,61) ***↑	1,34 (1,09;2,13)
Периметр , мкм	K	36,62 (34,33;38,77)	34,48 (32,38;37,11)	36,97 (35,05;39,24)	38,26 (34,84;41,75)	42,08 (39,81;46,42)	43,70 (40,69;46,68)
	O	34,14 (32,51;35,76)	32,90 (31,42;35,83) ***↓	32,51 (29,66;34,91) ***↓	37,25 (34,56;39,69)	40,39 (40,10;40,65) ***↓	43,84 (37,33;53,08)
Форм- фактор	K	0,86 (0,82;0,89)	0,91 (0,87;0,93)	0,87 (0,82;0,90)	0,89 (0,85;0,92)	0,85 (0,79;0,89)	0,89 (0,85;0,92)
	O	0,89 (0,86;0,92)	0,89 (0,85;0,91) ***↓	0,88 (0,83;0,90)	0,90 (0,86;0,91)	0,81 (0,77;0,87) ***↓	0,88 (0,73;0,95)

Примечание: * – $p<0,05$; ** – $p<0,01$; *** – $p<0,001$ при сравнении с контролем

При анализе размеров и формы ядер нейронов крупноклеточного слоя установлено, что у животных опытной группы на 2-е сутки после перерезки общего желчного протока не выявляется значительных изменений.

На 5-е сутки после перерезки ОЖП происходит уменьшение большого диаметра ядер на 4,6 % ($p<0,01$), малого радиуса – на 3,4 % ($p<0,05$), периметра – на 4,2 % ($p<0,01$). На 10-е сутки достоверно уменьшается площадь ядер на 1,5 % ($p<0,001$), малый радиус – на 1,2 % ($p<0,001$), большой радиус – на 0,3 % ($p<0,001$), периметр – на 1,7 % ($p<0,001$). На 20-е сутки уменьшена площадь ядра на 7,0 % ($p<0,05$), малый радиус – на 7,91 % ($p<0,01$), форм-фактор – на 4,4 % ($p<0,01$), а фактор элонгации увеличен на 1,6 % ($p<0,05$). ЯЦО этих нейронов у опытных животных увеличено на 10-е сутки после перерезки общего желчного протока на 12,2 %, на 20-е сутки – на 33,3 %, на 45 суток – на 12,7 %. Через 45-е и 90-е сутки после перевязки ОЖП в морфометрических параметрах ядер нейронов крупноклеточного слоя поясной коры не наблюдается достоверных изменений (табл. 4).

Табл. 4. Показатели размеров и формы ядра нейронов крупноклеточного слоя поясной коры, окраска по методу Ниссля (Ме (LQ; UQ))

Параметры		2-е сутки	5-е сутки	10-е сутки	20-е сутки	45-е сутки	90-е сутки
Площадь, мкм ²	К	54,23 (50,95;58,25)	61,45 (53,63;71,40)	63,20 (55,92;69,33)	66,21 (57,19;75,59)	68,45 (57,26;80,43)	69,94 (60,91;78,70)
	О	53,92 (47,12;58,75)	54,79 (48,19;68,69)	62,27 (53,29;82,41) ***↓	61,60 (52,08;70,44) *↓	69,19 (68,68;69,64)	69,68 (60,91;78,27)
Большой радиус, мкм	К	10,01 (9,15;11,00)	9,95 (9,26;10,67)	10,36 (9,02;12,35)	10,32 (9,34;10,83)	10,71 (9,61;11,76)	12,03 (11,18;13,22)
	О	9,24 (8,50;9,75)	9,49 (8,72;10,49)** ↓	10,33 (9,66;11,49) ***↓	9,91 (9,02;11,01)↓	10,93 (10,45;11,75)	12,39 (9,56;16,73)
Малый радиус, мкм	К	7,70 (6,93;8,67)	7,97 (7,27;8,66)	7,94 (7,32;8,57)	8,45 (7,48;9,12)	8,25 (7,43;9,05)	9,63 (9,16;10,43)
	О	7,42 (6,91;7,85)	7,70 (6,91;8,52) *↓	7,84 (7,43;8,59) ***↓	7,91 (7,36;8,41)**↓	8,36 (8,25;9,05)	9,60 (7,70;12,18)
Фактор элонгации	К	1,27 (1,17;1,40)	1,24 (1,14;1,35)	1,23 (1,15;1,37)	1,22 (1,11;1,32)	1,27 (1,19;1,41)	1,21 (1,14;1,31)
	О	1,24 (1,15;1,32)	1,22 (1,13;1,36)	1,31 (1,17;1,48)	1,24 (1,18;1,38)*↑	1,22 (1,15;1,34)	1,25 (1,03;1,96)
Периметр, мкм	К	29,55 (27,27;31,83)	29,63 (27,51;32,02)	30,57 (27,34;34,67)	30,57 (28,94;32,41)	31,68 (28,67;34,53)	32,90 (29,52;36,83)
	О	27,77 (26,15;28,75)	28,38 (26,46;31,22) **↓	30,04 (28,47;31,84)* **↓	30,55 (27,22;32,63)	31,63 (30,79;32,31)	32,96 (29,52;36,83)
Форм- фактор	К	0,88 (0,83;0,91)	0,89 (0,85;0,92)	0,87 (0,81;0,91)	0,90 (0,85;0,92)	0,87 (0,82;0,91)	0,88 (0,81;0,90)
	О	0,89 (0,83;0,92)	0,89 (0,84;0,92)	0,87 (0,83;0,90)	0,86 (0,80;0,91)**↓	0,88 (0,84;0,91)	0,86 (0,59;0,94)
ЯЦО	К	1,41 (1,27;1,65)	1,91 (1,64;2,40)	1,80 (1,26;2,20)	1,59 (1,40;1,95)	1,81 (1,38; 2,41)	1,74 (1,58;1,93)
	О	1,33 (1,22;1,43)	2,04 (1,54;2,61)	2,02 (1,79;2,28) *↑	2,12 (1,52;2,72) ***↑	2,04 (1,94;2,14) *↑	1,70 (1,58;1,84)

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ при сравнении с контролем того же срока

Таким образом, наибольшие изменения в нейронах крупноклеточного слоя поясной коры наблюдаются, как и в нейронах мелкоклеточного слоя, через 10 и 20 суток после перерезки ОЖП, на максимуме холестаза при этом способе его моделирования у крыс. При этом происходит значительное снижение числа нейронов (особенно с 20-х суток), уменьшение площади перикарионов нейронов и их ядер, увеличение ядерно-цитоплазматического отношения. Подобные изменения ЯЦО были получены ранее в нейронах пирамидного слоя зоны СА1 гиппокампа крыс при моделировании хронической алкогольной интоксикации [11]. Известно, что гиппокамп и поясная кора относятся к более старым структурам коры головного мозга (аллокортекс).

Заключение. На пике холестаза (на 10–20-е сутки после перевязки/перерезки общего жёлчного протока) у крыс уменьшается число нейронов на единицу площади мелкоклеточного и крупноклеточного слоев поясной коры. После перерезки ОЖП по мере развития холестаза в поясной коре происходит постепенное уменьшение размеров нейронов и их ядер, которое достигает максимума на 5-е, 10-е, 20-е сутки в мелкоклеточном слое и на 10-е, 20-е, 45-е сутки в крупноклеточном слое. Следовательно, нейроны мелкоклеточного слоя быстрее реагируют на холестаз, а сохранившиеся нейроны быстрее восстанавливаются. По мере уменьшения площади перикарионов нейронов и их ядер в мелкоклеточном слое, их форма вытягивается (возрастает фактор элонгации). В дальнейшем через 45–90 суток после перерезки ОЖП происходит постепенная нормализация размеров и формы нейронов в мелкоклеточном слое поясной коры, а в крупноклеточном – через 90 суток.

Литература:

- [1] Банина В. В., Быкова В. Л. Международные термины по цитологии и гистологии человека с официальным списком русских эквивалентов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 272 с.
- [2] Батин Н.В. Компьютерный статистический анализ данных. Минск : Ин-т подготовка научных кадров НАН Беларуси, 2008. 160 с.
- [3] Вахрушев Я.М., Хохлачева Н.А. Желчнокаменная болезнь: эпидемиология, факторы риска, особенности клинического течения, профилактика // Архив внутренней медицины. 2016. Т. 6, № 3. С.30–35.
- [4] Емельянчик С.В. Закономерности морфофункциональных изменений нейронов мозга крысы при нарушениях циркуляции желчи: Автореф. дис. ...доктора биол. наук. Минск : УО «Белорусский государственный медицинский университет», 2021. 43 с.
- [5] Зиматкин С.М., Емельянчик С.В. Нейроны мозга при нарушениях циркуляции желчи. Гродно : ГрГМУ, 2021. 368 с.
- [6] Кизюкевич Л. С. Причины развития полиорганной недостаточности при хирургической патологии желчевыводящих путей // Вести Национальной академии наук Беларуси. Сер. мед. наук. 2005. № 2. С. 118–121.
- [7] Кизюкевич Л.С. Реактивные изменения в почках при экспериментальном холестазе. Гр.: ГрГМУ, 2005. 239 с.
- [8] Мажирин К.Г., Первушина О.Н., Федоров А.А. и др. Нейровизуализация и феномен морального выбора // Успехи физиологических наук. 2021, Т. 52, № 1. С. 16–30
- [9] Омельченко В.П., Демидова А.А. Информатика, медицинская информатика, статистика. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021. 608 с.
- [10] Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М. : Медиа Сфера, 2003. 312 с.
- [11] Смирнов А.В. и др. Морфологические преобразования в пирамидном слое зоны СА1 гиппокампа крыс при моделировании хронической алкогольной интоксикации и фармакологической коррекции соединением нейроглутам // Волгоградский научно-медицинский журнал. 2019. №4. С.8–13.
- [12] Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes : text with EEA relevance 20.10.2010. Strasbourg : Official Journal of the European Union, 2010. 46 p.
- [13] Paxinos G., Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. London: Academic Press, 2007. 448 p.

Т. В. KLIMUT¹, А. В. ZAERKO¹, S. V. EMELYANCHIK², S. M. ZIMATKIN¹

HISTOLOGICAL CHANGES IN THE NEURONS OF THE RAT CINGULATE CORTEX DURING CHOLESTASIS

¹ Educational institution "Grodno State Medical University", Grodno, Republic of Belarus

² Educational institution "Yanka Kupala Grodno State University", Grodno, Republic of Belarus

Summary

It has been established that at the peak of cholestasis (10–20 days after ligation/transection of the common bile duct (CBD) in rats, the number of neurons per unit area of the parvocellular and magnopyramidal layers of the cingulate cortex decreases. As cholestasis develops in the cingulate cortex, a gradual decrease in the size of neurons and their nuclei occurs, which reaches a maximum on days 5, 10, 20 in the small cell layer and on days 10, 20, 45 in the large cell layer layer. At the same time, the pericaryons of neurons are elongated and their sphericity decreases. Consequently, neurons of the small cell layer respond more quickly to cholestasis, and the remaining neurons recover more quickly. Subsequently, 45–90 days after CBD transection, a gradual normalization of the size and shape of neurons occurs in both layers of the cingulate cortex under study.

Key words: cingulate cortex, magnocellular layer, parvocellular layer, brain, cholestasis.