

УДК 616.831.31-005.4.-092.913:618.33

Н. Е. МАКСИМОВИЧ¹, М. А. ФЕДУТО¹, Е. И. БОНЬ¹, С. М. ЗИМАТКИН¹, А. А. ФЕДУТО²
**ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ НЕЙРОНОВ КОРЫ
ЗАТЫЛОЧНОЙ ДОЛИ КРЫС ПРИ ОБСТРУКТИВНОЙ
РЕСПИРАТОРНОЙ ГИПОКСИИ**

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

² Гродненский областной клинический центр «Фтизиатрия»,
г. Гродно, Республика Беларусь

Острая кислородная недостаточность способна вызвать тяжелые и часто необратимые изменения в деятельности тканей и систем организма или даже привести его к гибели. При изучении нейронов затылочной доли головного мозга крыс в условиях 30 и 60 минутной обструктивной респираторной гипоксии (степень обтурации 65 %) выявили: увеличение площади нейронов без изменения их формы, а также изменение степени хроматофилии, которое проявлялось резким уменьшением количества нормохромных нейронов спустя 30 минут (до 10 %) и их исчезновением спустя 60 минут, увеличением количества гипохромных нейронов (до 70 %) и клеток-теней (до 20 %). При этом обструктивная респираторная гипоксия продолжительностью 60 минут приводила к более значительному увеличению размеров нейронов (на 42 %), чем гипоксия продолжительностью 30 минут (на 22 %).

Ключевые слова: обструкция, гипоксия, нейроны, затылочная кора.

Введение. Острая кислородная недостаточность способна вызвать тяжелые и часто необратимые изменения в функционировании тканей и систем организма или даже привести его к гибели. Гипоксия возникает при многих заболеваниях, патологических состояниях и воздействиях факторов внешней среды. В частности, дефицит кислорода может наступать в результате нарушения прохождения воздуха по дыхательным путям вследствие их стеноза (сужения), приводя к обструктивной респираторной гипоксии. При стенозе более 2/3 диаметра трахеи дыхание затруднено, что приводит к нарушению альвеолярной вентиляции и дыхательной недостаточности.

Наиболее опасно острое кислородное голодание для головного мозга, контролирующего деятельность всего организма [2–4]. Особого внимания заслуживает кора затылочной доли головного мозга, которая отвечает за восприятие и обработку зрительной информации, зрительную память и ориентацию в непривычной обстановке. Это связано с тяжестью развивающихся при ее повреждении последствий. Ранее проведенные исследования затылочной коры головного мозга в условиях глобальной аноксии, вызванной механической асфиксией, выявили наличие структурных изменений нейронов в виде уменьшения площади и изменения формы (утрата сферичности и увеличение вытянутости) клеток, а также изменение степени хроматофилии, которое проявлялось уменьшением количества нормохромных нейронов с одновременным увеличением количества гиперхромных сморщенных нейронов [5, 7]. К настоящему времени недостаточно изучены процессы повреждения нейронов коры затылочной доли головного мозга вследствие гипоксии респираторного генеза, вызванной частичной обструкцией (стенозом) дыхательных путей.

Цель – изучить динамику морфологических изменений нейронов коры затылочной доли головного мозга крыс при обструктивной респираторной гипоксии.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено на беспородных белых крысах (18 самцов, масса 240 ± 20 г), разделенных на 3 группы ($n=6$) – контрольную и 2 опытные, с соблюдением требований Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей.

Контрольную группу составили ложнооперированные крысы с воспроизведением всех этапов без стеноза трахеи (группа 1). У крыс опытных групп осуществляли моделирование стеноза трахеи путем ее частичной компрессии. Для этого после достижения необходимой глубины наркоза (тиопентал натрия, 40 мг/кг) животное фиксировалось на препаровальном столике брюшком вверх. После рассечения кожи по средней линии шеи от подбородочной области до грудины тупым способом расслаивались мышцы шеи до трахеи, на которую ниже перстневидного хряща гортани накладывалась пластмассовая проволока диаметром 1,5 мм с перевязкой лигатурой трахеи в этом участке с последующим извлечением проволоки. При этом сужение просвета трахеи достигало 65 %. Продолжительность обструктивной респираторной гипоксии составляла 30 минут (группа 2) и 60 минут (группа 3).

Головной мозг быстро извлекали и фиксировали в жидкости Карнуа, после чего изготавливали серийные фронтальные парафиновые срезы затылочной доли толщиной 7 мкм и окрашивали их по методу Ниссля. Расположение коры затылочной доли устанавливали с использованием стереотаксического атласа [8].

У каждого животного изучали 30 нейронов пятого слоя коры затылочной доли с определением их размеров, формы и степени хроматофилии [9]. Изменение площади и формы нейронов (форм-фактор, фактор элонгации) оценивали с помощью программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США). В гистологических препаратах определяли различные виды нейронов по степени окрашивания их цитоплазмы (хроматофилии): нормохромные, гиперхромные, гиперхромные сморщенные, гипохромные, клетки-тени, и оценивали их процентное содержание.

Полученные количественные непрерывные данные после проверки на нормальность обрабатывали с использованием методов непараметрической статистики, 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 показателями контрольной и опытных групп считали достоверными при $p < 0,05$ (Mann-Whitney U-test с поправкой Бонферони) [1, 6].

Результаты и их обсуждение. В контрольной группе нейроны коры затылочной доли имели округлую форму, отчетливые ровные контуры клеточной и ядерной поверхностей. Площадь перикарионов составила 140,7 (131,5; 146,0) мкм², форм-фактор – 0,9 (0,9; 0,9) единиц, фактор элонгации – 1,1 (1,1; 1,1) единиц (таблица).

Табл. Показатели размеров и формы нейронов коры затылочной доли головного мозга крыс с обструктивной респираторной гипоксией (Me; LQ; UQ)

Группы	Показатели		
	площадь (мкм ²)	форм-фактор (ед.)	фактор элонгации (ед.)
Контроль	140,7 (131,5; 146,0)	0,9 (0,9; 0,9)	1,1 (1,1; 1,1)
Гипоксия, 30 мин	172,2 (163,3; 178,8)*	0,9 (0,9; 0,9)	1,1 (1,1; 1,1)
Гипоксия, 60 мин	200,4 (196,4; 201,5)* #	0,9 (0,9; 0,9)	1,1 (1,1; 1,1)

Примечание: * – различия достоверны по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$); # – различия достоверны по сравнению с группой гипоксия 30 минут ($p < 0,05$)

У животных опытных групп происходили изменения структуры нейронов коры затылочной доли, которые проявлялись в изменении их площади и интенсивности окрашивания цитоплазмы. У крыс с 30 минутной обструктивной респираторной гипоксией площадь нейронов коры затылочной доли головного мозга увеличилась на 22 % по сравнению с показателем в контрольной группе ($p<0,05$). При этом форм-фактор и фактор элонгации нейронов не изменились ($p>0,05$), что указывает на сохранение формы нейронов.

При 60 минутной обструктивной респираторной гипоксии площадь нейронов увеличилась на 42 % по сравнению с показателем в контрольной группе ($p<0,05$), а изменение формы нейронов не происходило, о чем свидетельствует отсутствие изменений форм-фактора ($p>0,05$) и фактора элонгации ($p>0,05$). При этом у крыс с 60 минутной обструктивной респираторной гипоксией отмечалось прогрессирующее увеличение площади нейронов по сравнению с 30 минутным периодом гипоксии на 16 % ($p<0,05$) как отражение увеличения отечности клеток, вызванной нарушением электролитного обмена из-за нарушения работы Na^+ - K^+ -насоса при энергодифиците.

В контрольной группе до 95 % популяции нейронов составили нормохромные клетки, а остальные нейроны – гипохромные (4 %) и гиперхромные (1 %) клетки (рис. 1, 2).

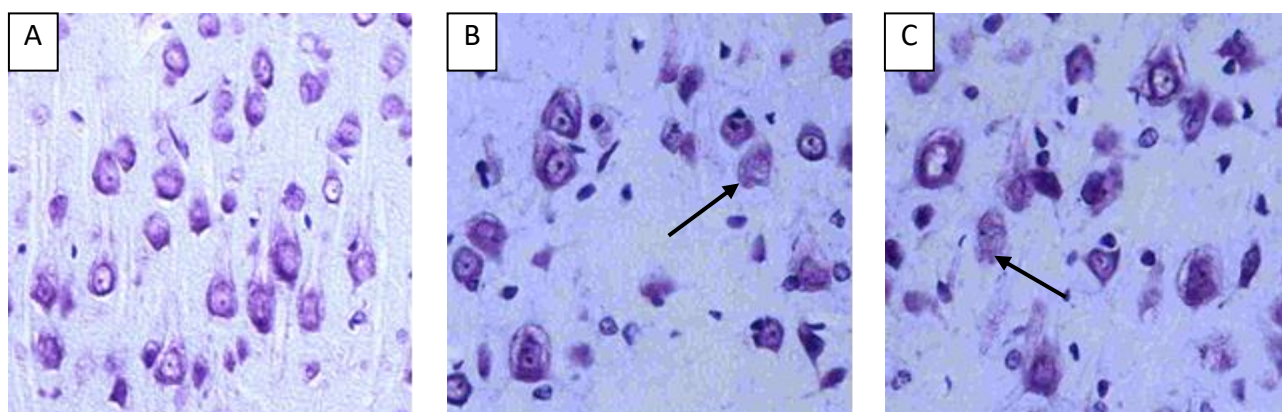
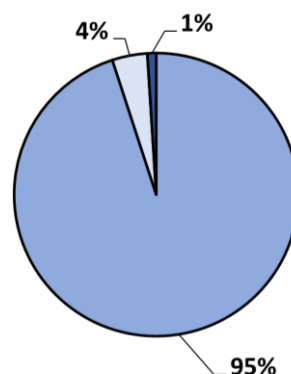
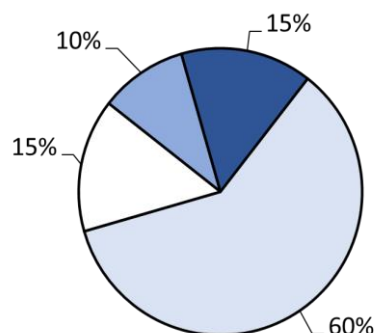


Рис. 1. Нейроны пятого слоя коры затылочной доли крыс с обструктивной респираторной гипоксией. Цифровая микрофотография. Окраска по Нисслю. А – контрольной группы (нормохромные нейроны); В – после 30 минут обструктивной респираторной гипоксии (гипохромные нейроны с признаками набухания и клетки-тени (указано стрелкой)); С – после 60 минут обструктивной респираторной гипоксии (гипохромные нейроны с признаками набухания и клетки-тени (указано стрелкой)). Ув. объектив $\times 20$

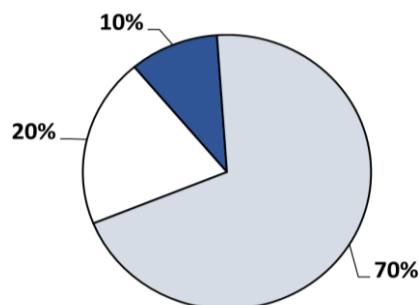
Контроль



Гипоксия, 30 минут



Гипоксия, 60 минут



■ нормохромные ■ гиперхромные ■ гипохромные □ клетки-тени

Рис. 2. Соотношение нейронов с различной степенью хроматофилии цитоплазмы в коре затылочной доли головного мозга крыс с обструктивной респираторной гипоксией

К 30 минутам обструктивной респираторной гипоксии выявлено резкое уменьшение количества нормохромных нейронов (до 10 %), небольшое увеличение количества гиперхромных нейронов (до 15 %), а также появление в значительном количестве гипохромных нейронов с признаками набухания (60 %) и клеток-теней (15 %).

Через 60 минут обструктивной респираторной гипоксии нормохромные нейроны не определялись, а большую часть клеток представляли гипохромные нейроны с признаками набухания (70 %) и клетки-тени (20 %), количество же гиперхромных нейронов несколько уменьшилось (до 10 %) в отличие от крыс с 30 минутной гипоксией.

Заключение. Таким образом, гипоксия респираторного генеза вследствие стеноза трахеи на 65 % привела к изменению нейронов коры затылочной доли крыс в оба изучаемых периода (спустя 30 и 60 минут) в виде увеличения площади нейронов на 22 % и 42 %, соответственно и уменьшения количества нормохромных нейронов спустя 30 минут либо их исчезновения спустя 60 минут с одновременным увеличением количества

гипохромных нейронов с признаками набухания и клеток-теней. При этом 60 минутная гипоксия, вызванная обструкцией верхних дыхательных путей, приводила к более выраженным изменениям площади нейронов коры затылочной доли головного мозга, чем гипоксия продолжительностью 30 минут.

Литература:

- [1] Батин Н. В. Компьютерный статистический анализ данных : учеб.-метод. Пособие. Мн.: Ин-т подгот. науч. кадров НАН Беларуси, 2008. 160 с.
- [2] Бонь Е. И., Н.Е. Максимович Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга // Биомедицина. 2018. №2. С. 59–71.
- [3] Гусев, Е. И., В.И. Скворцова Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. 325 с.
- [4] Максимович Н. Е., Бонь Е.И., Зиматкин С.М. Головной мозг крысы и его реакция на ишемию. Гр.: ГрГМУ, 2020. 240 с.
- [5] Федута М.А. и др. Гистологические нарушения нейронов затылочной коры головного мозга крыс при механической асфиксии в динамике // Журнал «Новости медико-биологических наук». 2022. Т. 22., № 1. С. 93–94.
- [6] Brown B. M. Newcombe R. G. Non-null semi-parametric inference for the Mann-Whitney measure. Journal of Nonparametric Statistics, 743 p.
- [7] Maksimovich N. Ye. et al. Morphological Changes in rats Cerebral Cortex Neurons during Strangulation Asphyxia. Journal of Surgical Case Reports and Images. 2024. № 7(1). P.1–4.
- [8] Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in stereotaxis coordinates. Tokyo: Elsevier, 1998. 242 p.
- [9] Paxinos G. et al. The rat nervous system. Tokyo: Elsevier Acad. Press, 2004. 1035 p.

N. Ye. MAKSIMOVICH¹, M. A. FEDUTO¹, E. I. BON¹, S. M. ZIMATKIN¹, A. A. FEDUTO²

DYNAMICS OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN NEURONS OF THE OCCIPITAL CORTICAL LOBE OF RATS DURING OBSTRUCTIVE RESPIRATORY HYPOXIA

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

² Grodno Regional Clinical Center "Phthisiology", Grodno, Republic of Belarus

Summary

Acute oxygen deficiency can cause severe and often irreversible changes in the activity of tissues and systems of the body or even lead to death. When studying neurons of the occipital lobe of the brain of rats under conditions of 30 and 60 minutes of obstructive respiratory hypoxia (degree of obstruction 65%), they revealed: an increase in the area of neurons without changing their shape, as well as a change in the degree of chromatophilia, which was manifested by a sharp decrease in the number of normochromic neurons after 30 minutes (up to 10 %) and their disappearance after 60 minutes, an increase in the number of hypochromic neurons (up to 70 %) and shadow cells (up to 20 %). At the same time, obstructive respiratory hypoxia lasting 60 minutes led to a more significant increase in the size of neurons (by 42 %) than hypoxia lasting 30 minutes (by 22 %).

Keywords: obstruction, hypoxia, neurons, occipital cortex.