

УДК: 611.817.1 – 018.82:616.36 – 008.8] – 092.9

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОК ПУРКИНЬЕ МОЗЖЕЧКА КРЫС В ДИНАМИКЕ ПОЛНОГО НАРУЖНОГО ОТВЕДЕНИЯ ЖЕЛЧИ

*С.В. ЕМЕЛЬЯНИК, к.м.н., доцент;**С.М. ЗИМАТКИН, д.б.н., профессор*

Кафедра зоологии и физиологии человека и животных

УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»

Кафедра цитологии, гистологии и эмбриологии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Межуниверситетская лаборатория «Биомед»

Полное наружное отведение желчи в течение 1, 3 и 5 суток, у крыс приводит к прогрессирующему уменьшению размеров перикарионов и ядер клеток Пуркинье мозжечка. При этом их форма становится более вытянутой и менее округлой

Ключевые слова: *наружное отведение желчи, кора мозжечка, клетки Пуркинье, компьютерный анализ изображения, крысы.*

The full external removal of bile within the period of 1, 3 and 5 days induces the progressive decrease of pericarions sizes and nuclei of Purkinje cells in cerebellum. In addition their shape becomes elongated and less spherical.

Key words: *external removal of bile, Purkinje cells of cerebellum, computer image analyses, rats.*

Введение

В последние десятилетия происходит существенный рост патологии гепатобилиарной системы. Целый ряд таких заболеваний сопровождается грозным осложнением – холестазом (нарушением оттока желчи). Это, в первую очередь, желчнокаменная болезнь. В промышленно развитых странах 10-15% взрослого населения страдают этой болезнью, причем, это составляет примерно 10% от всех заболеваний гепатобилиарной системы [12, 13]. В общей популяции людей распространенность данного заболевания составляет от 2,2 до 5% [14]. В экономически развитых странах каждая 5 женщина и 10 мужчина старше сорока лет страдают желчнокаменной болезнью [4]. Поскольку желчнокаменная болезнь имеет высокую эпидемиологическую распространенность (по количеству операций занимает второе место после аппендэктомий), а начало и раннее течение, как правило, протекают бессимптомно, диагностика становится эффективной только на стадии уже сформированных конкрементов. Все это делает данную патологию не только медицинской, но и социальной проблемой [1, 10]. При этом заболевании часто нарушается желчевыделительная функция печени [2, 6] приводящая, в конечном счете, к нарушению тканевого гомеостаза. Проводя лечебные мероприятия при желчнокаменной болезни, зачастую прибегают к хирургическому лечению, и с целью создания декомпрессии желчных путей в конце операции производят их дренирование на некоторый срок [11]. При этом создаются условия наружного отведения желчи, которые сами не безопасны практически для

всех систем организма [7]. Таким образом, широкое использование в клинической практике хирургами декомпрессии желчных путей фактически создает условия для наружного отведения и полной потери желчи организмом. Морфометрических исследований нейронов коры мозжечка в таких условиях не проводили.

Цель работы – изучить некоторые морфометрические показатели клеток Пуркинье мозжечка при полном наружном отведении желчи из организма у крыс в течение 1, 3 и 5 суток.

Материал и методы

В работе использован материал от 40 беспородных белых крыс-самцов массой 200±25 г каждый. 21 из опытных крыс накладывали фистулу общего желчного протока по методу Л.С. Василевской [3]. 19 крысам контрольной группы проводили ложную операцию: им делали все те же манипуляции, что и опытной группе, только общий желчный проток не вскрывали, а катетер подшивали к брыжейке двенадцатиперстной кишки, при этом сохранялся физиологический отток желчи в 12-перстную кишку на протяжении всего эксперимента. Все животные были разделены на три пары групп: первая – 7 опытных и 5 контрольных – отведение желчи в течение одних суток; вторая – 7 опытных и 7 контрольных – отведение желчи в течение трех суток; третья – 7 опытных и 7 контрольных – отведение желчи в течение пяти суток.

По прошествии установленного срока производили забой крыс, соблюдая требования гуманного обращения с животными. Стандартные образцы

полушарий мозжечка (всегда одни и те же участки) фиксировали в жидкости Карнуа и заключали в парафин. Срезы толщиной 7 мкм окрашивали на выявление хромотофильной субстанции (тигроидного вещества) по методу Ниссля [9].

С помощью системы анализа изображения, состоящей из компьютера, видеокамеры, микроскопа и программы «Bioscan NT» 2,0 (Kanako Ltd, Минск, Беларусь) определяли размеры (максимальный и минимальный радиусы, периметр, площадь и объем) и форму (форм-фактор и фактор элонгации) клеток Пуркинью. Полученные цифровые значения анализировали методами непараметрической статистики с использованием программы «Statistica 6.0». Значимыми считали различия между контрольными и опытными группами при $p < 0,05$ (U-критерий Mann-Whitney). В диаграммах цифровые значения представлены как медиана \pm интерквартильный размах (Me \pm IQR).

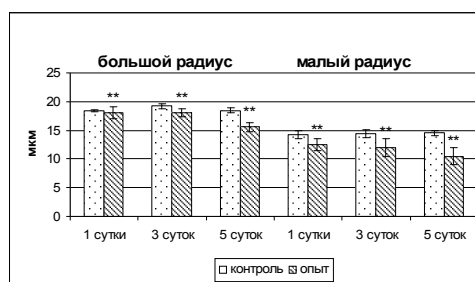
Результаты исследования и их обсуждение

При изучении гистологических препаратов коры мозжечка контрольных животных (одни, двое и пять суток после ложной операции) в ганглионарном слое (stratum neuronum piriformium) хорошо выявляются грушевидные нейроны (neuronum piriforme) или клетки Пуркинью. Они имеют крупное тело, причем, всегда расположены в один ряд, параллельно поверхности коры мозжечка. При окраске по методу Ниссля хромотофинная субстанция в виде синих глыбок равномерно распределена по всему перикариону. В центре перикариона расположено одно ядро, в центре которого – ядрышко. От тела клетки в молекулярный слой отходят 2-3 дендрита. От основания клетки Пуркинью отходит один нейрит, идущий в зернистый слой. Таким образом, ложная операция контрольным животным не оказывает практически никакого влияния на изученные структуры коры мозжечка, и описанная картина может, по-видимому, фактически соответствовать таковой интактных животных.

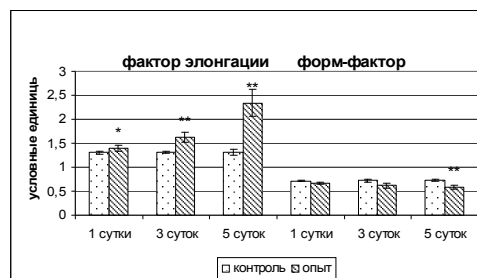
При изучении коры мозжечка опытных животных (суточное отведение желчи) в гистологических препаратах различия в морфологии, по сравнению с описанным выше контролем, визуально не установлено, т.е., картина идентичная таковой контрольных крыс.

Морфометрическое исследование клеток Пуркинью коры мозжечка после суточного отведения желчи в перикарионах показало, что происходит уменьшение большого радиуса на 1,80%, малого радиуса – на 12,37%, периметра – на 6,42%, возрастание фактора элонгации – на 106,11%, уменьшение форм-фактора – на 7,04%, площади – на 10,71% и объема – на 13,89% (рисунок 1 – А, Б, В, Г, Д). Ядра этих нейронов уменьшают большой радиус на 6,22%, малый радиус – на 11,18%, периметр – на 4,35%, при этом возрастает фактор элонгации на 103,15%, уменьшают форм-фактор – на 5,56%,

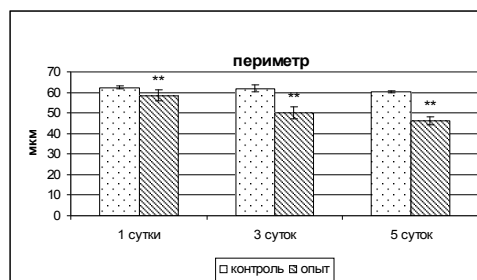
площадь – на 18,95% и объем – на 17,36% (рисунок 2 – Е, И, К, Л, М).



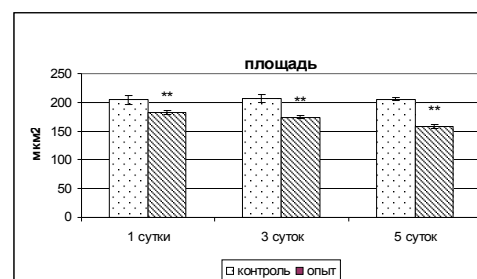
А



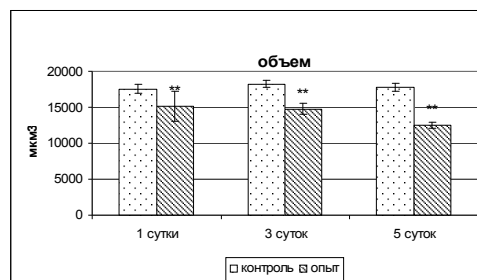
Б



В

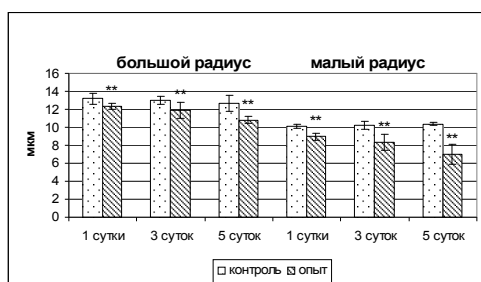


Г

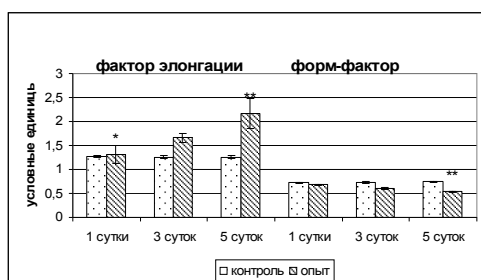


Д

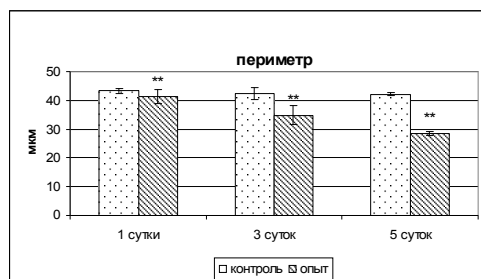
Рисунок 1 – Некоторые показатели морфометрии перикарионов нейронов клеток Пуркинью коры мозжечка в динамике полного наружного отведения желчи – А, Б, В, Г, Д; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.



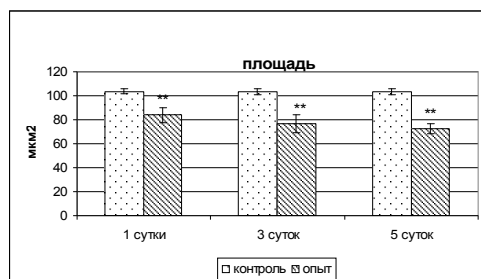
Е



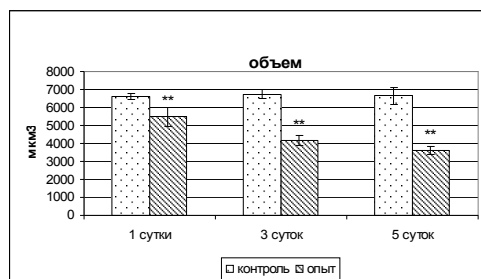
И



К



Л



М

Рисунок 2 – Некоторые показатели морфометрии ядер нейронов клеток Пуркинью коры мозжечка в динамике полного наружного отведения желчи – Е, И, К, Л, М; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

Таким образом, суточное отведение желчи у крыс приводит к реактивным изменениям перикарионов и ядер клеток Пуркинью коры мозжечка (в обоих случаях 6 из 7 показателей статистически достоверно изменяются). Причем, несмотря на небольшие изменения показателей, они статистически достоверны, поскольку интерквартильный ранг не велик, что свидетельствует о действительных изменениях. Подобные изменения можно расценить, по-видимому, как повышение активности нейронов, как реакции на создавшиеся условия в организме крыс. Имеет место своеобразная стадия компенсации недостающих компонентов желчи: печень и другие органы работают с повышенной нагрузкой [8], что непременно, как мы видим, сказывается и на работе нейронов мозжечка.

При изучении коры мозжечка опытных животных при трехсуточном отведении желчи в гистологических препаратах среди клеток Пуркинью, описанных ранее, появляются единичные сильно вытянутые, веретеновидные клетки. Они имеют гиперхромную цитоплазму, интенсивно синего цвета. Их ядра повторяют форму перикариона. Это так называемые сморщенные нейроны, представляющие собой обратимое структурное и функциональное состояние клетки. Если патологический фактор будет снят, они восстанавливают свою форму и в дальнейшем нормально функционируют.

Морфометрическое исследование клеток Пуркинью коры мозжечка в этот срок отведения желчи показало, что в перикарионах нейронов происходит дальнейшее усугубление изменения показателей: так, большой радиус уменьшается на 6,30%, малый радиус – на 16,79%, периметр – на 19,17%, при этом фактор элонгации возрастает на 124,43%, форм-фактор уменьшается на 13,89%, площадь – на 15,72% и объем – на 18,90%. То есть, форма нейронов становится несколько более вытянутой, овальной и менее грушевидной. Это становится возможным при наличии сморщенных клеток, несмотря на то, что их количество невелико, но они все же оказывают влияние на конечные показатели (рисунок 1 – А, Б, В, Г, Д). Сходная картина в ядрах клеток Пуркинью здесь уменьшается: большой радиус – на 8,54%, малый радиус – на 18,32%, периметр – на 17,67%, при этом возрастает фактор элонгации на 131,75%, уменьшается форм-фактор – на 16,44%, площадь – на 25,63% и объем – на 37,99% (рисунок 2 – Е, И, К, Л, М). Подобные изменения клеток Пуркинью можно объяснить тем фактом, что они сжимаются и приобретают извитой ход цитолеммы, что приводит к возрастанию фактора элонгации при одновременном уменьшении форм-фактора, что влечет уменьшение большого и малого радиусов, периметра и, как следствие, площади и объема.

Таким образом, трехсуточное отведение желчи приводит к более выраженным изменениям со сто-

роны морфометрических показателей перикарионов и ядер клеток Пуркинье коры мозжечка. Причем, в перикарионах 6 из 7, а в ядрах – 5 из 7 изученных показателей изменяются статистически достоверно. На этот срок, по всей видимости, нейроны истощают свои возможности работать активно, недостающие компоненты желчи не могут быть компенсированы за счет внутренних запасов (резервов).

При изучении коры мозжечка опытных животных после пятисуточного отведения желчи в гистологических препаратах, кроме сморщенных клеток, описанных ранее, появляются нейроны разнообразной формы: округлой, овальной и др. Причем, количество нейронов грушевидной формы, аналогичных в контроле, невелико, что, несомненно, сказывается на морфометрических показателях: происходит уменьшение большого радиуса на 15,66%, малого радиуса – на 27,94%, периметра – на 23,71%, возрастание фактора элонгации – на 178,63%, уменьшение форм-фактора – на 19,44%, площади – на 23,17% и объема – на 29,83% (рисунок 1 – А, Б, В, Г, Д). В ядрах уменьшается большой радиус – на 14,33%, малый радиус – на 32,85%, периметр – на 32,68%, при этом возрастает фактор элонгации на 71,43%, уменьшается форм-фактор – на 27,03%, площадь – на 30,12% и объем – на 45,59% (рисунок 2 – Е, И, К, Л, М). Подобные результаты отражают увеличение количества сморщенных и сильно деформированных нейронов. Все они, несомненно, вносят свой вклад в общие морфометрические данные исследованных показателей, и тем самым отражают объективную картину, наблюдаемую в коре мозжечка при отведении желчи.

Таким образом, пятисуточное отведение желчи приводит к существенным изменениям со стороны изученных морфометрических показателей перикарионов и ядер клеток Пуркинье коры мозжечка, причем, все показатели статистически достоверны. Это согласуется с данными о том, что к пятым суткам начинается стадия декомпенсации и, в конечном счете (на 6-7сутки), животные погибают [5]. Все это, по-видимому, отражает адаптационные перестройки клеток Пуркинье, необходимые для поддержания гомеостаза в сложившихся усло-

виях дефицита компонентов желчи в организме. Полученные результаты указывают на важную роль желчи в поддержании структурного гомеостаза нейронов мозжечка.

Вывод

При полном наружном отведении желчи в течение 1, 3 и 5 суток происходит прогрессивное уменьшение размеров перикарионов и ядер клеток Пуркинье мозжечка. При этом их форма становится более вытянутой и менее округлой.

Литература

1. Билиарный сладж, современный взгляд на проблему / А.А. Ильченко [и др.]. – Гепатология. – 2003. – № 6. – С. 20–25.
2. Биохимическая характеристика некоторых внутренних органов при экспериментальном супрадуоденальном холестазе / К.А. Мандрик [и др.]. – Вестник ГрГУ, Гродно. – 2001, Серия 2 – № 2. – С. 155–119.
3. Василевская, Л.С. Отделение липопротеинового комплекса с желчью у крыс / Л.С. Василевская. – Вопросы питания. – 1965. – Т. 24, № 3. – С. 47–49.
4. Горбунов, В.Н. Желчнокаменная болезнь / В.Н. Горбунов. – Мед. помощь. – 1999. – № 6. – С. 23–25.
5. Емельянчик, С.В. Биохимические изменения в желчи и сыроворотке крови в динамике полного наружного отведения желчи у крыс / С.В. Емельянчик, С.М. Зиматкин. – Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2005. – № 4. – С. 43–45.
6. Кизюкевич, Л.С. Причины развития полиорганной недостаточности при хирургической патологии желчевыводящих путей / Л.С. Кизюкевич Л.С. – Вести НАН Беларуси (серия медицинских наук). – 2005. – № 2. – С. 118–121.
7. Козырев, М.А. Заболевания печени и желчных путей / М.А. Козырев. – Минск, – 2002. – 249 с.
8. Некоторые биохимические показатели желчи и сыворотки крови у крыс при трехсуточном полном наружном отведении желчи / С.В. Емельянчик [и др.]. – Вестник Гродненского государственного университета имени Янки Купалы. – 2004. – № 4. – С. 135–141.
9. Пирс, Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: ИЛ, 1962. – 768 с.
10. Рекомендации 5 съезда научного общества гастроэнтерологов России по проблеме желчнокаменной болезни / Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2005. – № 4. – С. 3–4.
11. Феофилов, Г.Л. Оценка способов завершения хирургических вмешательств на желчных путях / Г.Л. Феофилов, В.А. Бородач В.А. – Вестник хирургии. – 1990. – Т. 144, № 1. – С. 104–107.
12. Konikoff, F.M. Gallstones – approach to medical management / F.M. Konikoff. – Med. Gen. Med. – 2003. – V. 5, № 4. – P. 8.
13. Weik, C. Hepatobilidre Erkrankungen im Alter / C. Weik, G. Strohmeyer. – DMW: Dtsch. med. Wochenschr. – 1999. – Vol. 124, № 15. – P. 466–471.
14. Крючина, Е.А. Изменение литогенности желчи в отдаленные сроки после выполнения резекции желудка / Е.А. Крючина, В.П. Сливка. – Клін. хірургія. – 2000. – № 3. – С. 22–23.

Поступила 05.06.08