

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 611.817.1:591.35:[618.3-06:616.36-031.65-008.811.6]-092

**Карнюшко
Ольга Анатольевна**

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОЗЖЕЧКА КРЫС,
РОЖДЕННЫХ ОТ САМОК С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ
ХОЛЕСТАЗОМ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Минск, 2017

Научная работа выполнена в учреждении образования «Гродненский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Зиматкин Сергей Михайлович**,
доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой гистологии, цитологии
и эмбриологии учреждения образования
«Гродненский государственный медицинский
университет»

Официальные оппоненты: **Артишевский Александр Александрович**,
доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры морфологии человека
учреждения образования «Белорусский
государственный медицинский университет»

Глушен Сергей Витальевич, кандидат
биологических наук, доцент, доцент кафедры
генетики Белорусского государственного
университета

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гомельский
государственный медицинский университет»

Защита состоится 26 января 2018 года в 14³⁰ часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.03 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет», 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83; e-mail: uchsovet@bsmu.by; тел. (017) 277-16-21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «___» декабря 2017 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент



Т.А.Летковская

ВВЕДЕНИЕ

Мозжечок является центром равновесия и координации движений, участвует в регуляции артериального давления [Lutherer L. O. et al., 1983], дыхания [Xu F., Frazie D. T., 2002], иммунных процессов [Peng Y. P. et al., 2005], пищевого поведения [Zhu J. N., Wan J. J., 2008], движения глаз [Кубарко А. И., Кубарко Ю. А., 2005], речи [Schmahmann J. D., Sherman J. C., 1998], сна и бодрствования [DelRosso L. M., Hoque R., 2014], эмоций, внимания [Castellanos F. X. et al., 2001], когнитивных функций и творческих процессов [Saggar M. et al., 2015]. Поэтому изучение динамики постнатального морфогенеза мозжечка в норме и при патологии представляет значительный интерес.

Течение беременности нередко осложняет патология печени, в частности холестаза. Холестаз беременных развивается чаще в III триместре беременности, сопровождается уменьшением поступления желчи в 12-перстную кишку и повышением ее компонентов в крови: билирубина, холестерина, желчных кислот [Успенская Ю., Григорьева Г., 2008] и др. Холестаз беременных – многофакторное заболевание, важную роль в развитии которого играют генетические, гормональные и экологические факторы [Abu-Nayyeh S., Williamson C., 2015; Wikström E. S., Marschall H. U., 2010; Koutsounas I. et al., 2015]. Поскольку симптомы и лабораторные признаки холестаза исчезают через 1-3 недели после родов, он считается доброкачественным заболеванием для матери. Напротив, у детей, рожденных от матерей, перенесших во время беременности холестаз, чаще диагностируются внутриутробная гипоксия, респираторный дистресс-синдром [Zessa E. et al., 2006], нарушение сердечного ритма, признаки морфофункциональной незрелости, окрашивание околоплодных вод меконием, антенатальная гибель [Жесткова Н. В., 2010; Ковалева Н. Б., Байрамова И. Х., 2006; Zessa E. et al., 2006; Glantz A. et al., 2004]. Для ослабления симптомов холестаза, пролонгирования беременности и уменьшения осложнений со стороны плода в акушерской практике применяется гидрофильная желчная кислота – урсодезоксихолевая кислота (УДХК) [Vacq Y. et al., 2012; Marschall H. U., 2015; Geenes V. et al., 2014].

В экспериментальных исследованиях установлено, что потомство, развивавшееся в условиях холестаза матери, существенно отстает в физическом развитии, массе тела [Monte M. J. et al., 1996] и морфофункциональном становлении многих органов: печень [Monte M. J. et al.; Дудук Н. И., Зиматкин С. М., 2014], желудок [Мацюк Я. Р., Михальчук Е. Ч., 2007], тонкая кишка [Чернышев Ю. Н., 2012, 2014], почки [Михальчук Е. Ч., 2014], легкие [Herraes E. et al., 2014]. В литературе отсутствуют сведения о влиянии холестаза беременных на развитие мозга, в частности мозжечка у потомства.

Все это определяет важность и актуальность изучения особенностей морфогенеза мозжечка у потомства, развивавшегося в условиях холестаза матери.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами, темами. Исследование выполнялось в рамках НИР, зарегистрированных в Государственном реестре НИОК(Т)Р: «Протективное действие урсодезоксихолевой кислоты на измененные в условиях подпеченочного холестаза матери структурно-метаболические свойства органов плодов и родившегося потомства (экспериментальное исследование)», (2013-2015 гг., № государственной регистрации 20130883).

Цель и задачи исследования. Цель исследования – установить влияние экспериментального подпеченочного холестаза матери, вызванного на 17-е сутки беременности у крыс, на структурные и гистохимические показатели постнатального морфогенеза мозжечка потомства.

В соответствии с поставленной целью определены следующие задачи:

1. Установить особенности развития филогенетически древней и новой коры и промежуточного ядра мозжечка на 2-90-е сутки после рождения у потомства крыс с подпеченочным холестазом, вызванным на 17-е сутки беременности, и возможности их коррекции с помощью урсодезоксихолевой кислоты (УДХК).

2. Установить динамику постнатального развития ультраструктур клеток Пуркинье мозжечка у потомства крыс в норме, у потомства крыс с подпеченочным холестазом, вызванным во время беременности, и возможности коррекции выявленных изменений с помощью УДХК.

3. Выяснить изменения динамики цитохимических свойств клеток Пуркинье у крыс, развивавшихся в условиях холестаза матери и принимавших УДХК.

4. С помощью молекулярных нейромаркеров оценить динамику постнатального развития (дифференцировки) нейронов и синапсов в мозжечке крысы в норме и у потомства крыс с холестазом, вызванным во время беременности, установить возможности коррекции выявленных изменений с помощью УДХК.

Объект исследования – мозжечок беспородных белых крыс на 2, 7, 15, 45 и 90-е сутки постнатального развития.

Предмет исследования – микро- и ультрамикроскопическая структура, гистохимические и иммуногистохимические свойства нейронов филогенетически древней (палеоцеребеллюм) и новой (неоцеребеллюм) коры мозжечка паравермальной области и промежуточного ядра в норме, в условиях экспериментального подпеченочного холестаза и холестаза с коррекцией УДХК.

Научная новизна

Впервые установлена количественная динамика постнатального органеллогенеза клеток Пуркинье, развития зернистых нейронов и синаптогенеза мозжечка крысы в норме.

Впервые получены данные о влиянии экспериментального холестаза, вызванного во время беременности у самок белых крыс, на развитие мозжечка у их потомства в постнатальном онтогенезе. В частности, установлены нарушения морфогенеза коры и промежуточного ядра мозжечка, отставание роста перикарионов клеток Пуркинье и нарушение их ультраструктуры, сопровождающиеся изменением в них активности ряда окислительных ферментов и содержания РНП, нарушения динамики иммунореактивности даблкортина и NeuN, свидетельствующих об отставании созревания зернистых нейронов, и синаптофизина, указывающих на нарушения синаптогенеза.

Доказано корригирующее действие УДХК, принимаемой крысами-самками с холестазом, на нарушенные морфофункциональные показатели развития мозжечка их потомства.

Положения, выносимые на защиту:

1. У потомства крыс-самок с подпеченочным холестазом, вызванным на 17-е сутки беременности, происходят изменения морфогенеза коры (особенно палеоцеребеллюма) и промежуточного ядра мозжечка. Применение УДХК частично нормализует выявленные нарушения.

2. Установлена количественная динамика постнатального развития ультраструктур в клетках Пуркинье мозжечка крысы в норме. Холестаз, моделируемый у беременных крыс, вызывает у их потомства нарушения постнатального органеллогенеза в клетках Пуркинье мозжечка, сопровождающиеся изменениями активности окислительных ферментов и содержания РНП в их цитоплазме. УДХК корригирует большинство нарушенных показателей.

3. В структурах мозжечка крыс в постнатальном онтогенезе в норме закономерно убывает иммунореактивность даблкортина и нарастает содержание NeuN и синаптофизина, свидетельствующих о созревании нейронов и развитии синапсов. У потомства, развивавшегося в условиях холестаза матери, в наружном зернистом слое замедлены убыль даблкортина, а во внутреннем зернистом слое нарастание NeuN, при этом в молекулярном слое замедлен рост синаптофизин-иммунореактивной зоны синаптогенеза, а в зернистом слое – формирование клубочков мозжечка. УДХК частично нормализует созревание нейронов и синаптогенез.

Личный вклад соискателя учёной степени. Патентно-информационный поиск по изучаемой проблеме, экспериментальная и методическая части работы выполнены диссертантом лично. Данные, полученные при гистологических,

гистохимических, иммуногистохимических, морфометрических, цитофотометрических, электронно-микроскопических и статистических исследованиях, обрабатывались соискателем самостоятельно. Выбор темы, постановка задач, планирование экспериментов, обсуждение результатов исследования осуществлялись совместно с научным руководителем.

Основные научные результаты, представленные в диссертации, изложены в статьях и тезисах докладов. Влияние подпеченочного холестаза, вызванного у самок-крыс во время беременности, на морфогенез коры и промежуточного ядра мозжечка и при коррекции УДХК исследованы совместно с Зиматкиным С. М. и отражены в статьях [1, 2] – вклад диссертанта 85%, в материалах конференций [7, 8] – вклад диссертанта 95%, тезисах докладов [12] – вклад соискателя 95%. Развитие зернистых нейронов мозжечка с помощью молекулярных маркеров зрелости нейронов – даблкортина и NeuN – изучено совместно с Зиматкиным С.М. и отражено в статье [4] – вклад диссертанта 90%, в материалах конференций [10] – вклад диссертанта 90%, а также влияние экспериментального обтурационного холестаза матери на развитие нейронов мозжечка и при коррекции УДХК и изложены в статье [3] – вклад соискателя – 90%. Качественная и количественная оценка синаптогенеза в развивающемся мозжечке 2-45-суточных крыс с помощью молекулярного маркера синаптофизина исследованы совместно с Зиматкиным С. М. и отражены в статье [6] – вклад диссертанта – 90%; нарушения синаптогенеза в мозжечке 2-45-суточных крыс, развивавшихся в условиях холестаза матери и при коррекции УДХК, отражены в статье [5] – вклад соискателя 90%; 15-суточных крыс изложены в тезисах докладов [13] – вклад соискателя – 95%. Структурные нарушения палеоцеребеллюма и ультраструктуры клеток Пуркинью 15-суточных крысят от матерей с экспериментальным холестазом отражены в материалах конференций [9] – вклад диссертанта 95%; нарушения морфогенеза палеоцеребеллюма потомства исследованы совместно с Зиматкиным С.М. и отражены в материалах конференций [11] – вклад соискателя 95%.

Апробация диссертации и информация об использовании её результатов. Результаты диссертации доложены и обсуждены на шести семинарах кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ (2013-2016 гг.); Республиканской научно-практической конференции «Современные достижения молодых ученых в медицине» (Гродно, 2014-2015 гг.); ежегодной итоговой научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» (Гродно, 2016 г.); конференциях студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора Ю. Г. Бойко (Гродно, 2015 г.) и 100-летию со дня рождения А. З. Нечипоренко (Гродно, 2016 г.); I Белорусском биохимическом конгрессе (Гродно, 2016 г.); научно-

практической конференции с международным участием, посвященной 115-летию со дня рождения академика Д. М. Голуба (Минск, 2016 г.).

Результаты исследований и выводы, сделанные на их основе, внедрены в учебный процесс кафедры патологической физиологии им. Д. А. Маслакова (3 акта о внедрении) и кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии (1 акт о внедрении): метод коррекции с помощью урсодезоксихолевой кислоты нарушений развития нейронов мозжечка у потомства крыс с экспериментальным холестазом, вызванным во время беременности; метод оценки нарушения синаптогенеза в коре мозжечка крыс, рожденных от матерей с экспериментальным холестазом, вызванным во время беременности; метод оценки влияния экспериментального холестаза матери на морфогенез палеоцеребеллюма 15-суточных крысят и метод оценки постнатального развития нейронов мозжечка крысы с помощью молекулярных маркеров – даблкортина и NeuN.

Опубликование результатов диссертации. По теме диссертации опубликовано 13 научных работ общим объемом 3,33 авторских листа (из них единолично – 5): 6 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь (2,13 авторских листа), 5 статей в сборниках материалов конференций (1,02 авторских листа), 2 тезиса в сборниках конференций (0,18 авторских листа).

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, глав (обзор литературы, материал и методы исследования, 4 главы собственных исследований), заключения, библиографического списка (на 23 страницах) и приложений. Работа изложена на 151 странице, включая 47 таблиц (на 16 страницах) и 81 рисунок (на 35 страницах). Библиографический список содержит перечень использованных источников литературы (всего 297 источников, из них 231 – зарубежных) и список публикаций соискателя.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования. Эксперименты выполнены на самках беспородных белых крыс (всего 57) с исходной массой 180 ± 20 г и на родившемся от них потомстве (всего 181), которое было разделено на три экспериментальные группы. Крысята контрольной группы получены от самок с лапаротомией на 17-е сутки беременности без перевязки общего желчного протока. Крысята группы «холестаз» получены от самок, которым на 17-е сутки беременности перевязывали общий желчный проток [Кизюкевич Л. С., 2005]. Группу «холестаз+УДХК» составили крысята, родившиеся от самок, которые

после перевязки общего желчного протока ежедневно до родов и в течение первой недели после родов получали с пищей урсодезоксихолевую кислоту (УДХК) (препарат «Урсофальк», фирма Dr. Falk Pharma GmbH, Germany) в дозе 50 мг/кг/сут.

Все опыты проведены с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» [Каркищенко Н. Н., 2010]. На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 7 от 23.12.2013).

Первым днём беременности считался день обнаружения сперматозоидов во влагалищных мазках. Все беременные самки, как и родившееся от них опытное и контрольное потомство, содержались в стандартных условиях вивария при естественном световом режиме и свободном доступе к воде и пище.

Для исследования использовали потомство разных возрастных групп: 2-, 7-, 15-суточные (ранний постнатальный период), 45-суточные (пубертатный период) и 90-суточные животные (половозрелый период). Крысят контрольных и опытных групп, достигших этого возраста, выводили из опыта декапитацией и забирали материал мозжечка.

Гистологическое исследование. Кусочки мозжечка сразу после забора фиксировали в жидкости Карнуа с последующей стандартной гистологической обработкой в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в парафин. С помощью микротомы (Leica RM2125, Германия) изготавливали парафиновые срезы паравермальной области мозжечка в сагиттальной плоскости толщиной 5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилин – эозином и 0,1% раствором тионина по методу Ниссля для морфометрического исследования филогенетически древнего (долька *culmen*) и нового (дольки *cus 1, 2*) отделов коры мозжечка и промежуточного ядра мозжечка. Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование, морфометрию проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

Расположение филогенетических отделов в гистологических препаратах развивающегося мозжечка крысят определяли по Оленеву [Оленев С. Н., 1978], а расположение исследуемых долек в препаратах взрослых крыс – с помощью стереотаксического атласа [Paxinos G., 2007].

Электронно-микроскопическое исследование. Кусочки мозжечка сразу после их взятия помещали в 1% осмиевый фиксатор на буфере Миллонига (pH=7,4) на 2 часа при температуре +4°C [Millonig G. A., 1961]. Далее их промывали в смеси буфера Миллонига (20 мл) и сахарозы (900 мг), обезвоживали в 50 и 70° этиловом спирте. Образцы выдерживали 12 часов в 70° этиловом

спирте. Затем обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, смеси спирта и ацетона, в трех порциях ацетона, проводили через смеси смолы (Araldite M + Araldite M hardener 964 + дибутилфталат + Araldite M accelerator 960) (Sigma-Aldrich) и ацетона, а затем заключали в заливочную смолу в желатиновых капсулах и для полимеризации помещали в термостат при температуре +60°C на четверо суток. На ультрамикротоме Leica EM UC 7 (Германия) готовили полутонкие срезы толщиной 350 нм и окрашивали метиленовым синим. Препараты просматривали в световом микроскопе с целью уточнения локализации КП палеocerebellюма. Затем изготавливали ультратонкие срезы толщиной около 35 нм на ультрамикротоме Leica EM UC 7 (Германия), собирали на опорные медные сеточки (Sigma, размер ячейки 300×83), контрастировали уранилацетатом [Watson M. L., 1958] 20 минут под темной крышкой при комнатной температуре, затем промывали в трех порциях бидистиллированной воды по 25 секунд, контрастировали цитратом свинца в течение 8 минут [Reynolds E. S., 1963], промывали в трех порциях бидистиллированной воды по 30 секунд.

Полученные препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония), фотографировали цифровой камерой Olympus Mega View III (Olympus Soft Imaging Solutions, Германия). Ультраструктурную морфометрию проводили с помощью программы для обработки изображения iTEM (JEOL, Япония).

Гистохимическое исследование. Образцы мозжечка помещали на полоски маркированной фильтровальной бумаги, замораживали и хранили в жидком азоте. В криостате Leica CM 1850 (Leica Microsystems GmbH, Германия) при температуре -14°C готовили сагиттальные срезы паравермальной части мозжечка толщиной 10 мкм, монтировали на предметные стекла и подсушивали на протяжении 1 часа при комнатной температуре. Для изучения окислительного метаболизма нейронов криостатные срезы обрабатывали на выявление активности оксидоредуктаз, связанных с циклом Кребса: сукцинатдегидрогеназы (СДГ, сукцинат: акцептор – оксидоредуктаза; КФ 1.3.99.1; по Нахласу и др., 1957); с гликолизом – лактатдегидрогеназы (ЛДГ, L-лактат: НАД-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.27; по Гесс, Скарпелли, Пирсу, 1958); с транспортом электронов – НАДН-дегидрогеназы (НАДН-ДГ, НАДН: акцептор – оксидоредуктаза; КФ 1.6.99.3; по Нахласу, Уокеру и Зелигману, 1958). Окрашенные срезы промывали в дистиллированной воде, далее фиксировали в течение 30 минут в 10% нейтральном формалине, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в полистирол. Все гистохимические реакции сопровождались бессубстратным контролем. На парафиновых срезах выявляли содержание рибонуклеопротеинов (РНП) по Эйнарсону [Пирс Э., 1962; Луппа Х., 1980].

Количественную оценку активности СДГ, ЛДГ, НАДН-ДГ и содержания РНП проводили, определяя оптическую плотность полученного осадка хромогена в цитоплазме нейронов, на максимуме поглощения окрашенных продуктов реакций. Относительную активность ферментов или содержание РНП выражали в единицах оптической плотности.

Иммуногистохимическое исследование. С целью определения дифференцирующихся и зрелых нейронов в развивающемся мозжечке использовались даблкортин (DCX, маркер незрелых нейронов) и нейрональный ядерный белок (NeuN, маркер зрелых нейронов) [Коржевский Д. Э. и др., 2015, 2011]. Образцы мозжечка фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде [Коржевский Д. Э. и др., 2006] при +4°C (на ночь), затем заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 7 мкм готовили с помощью микротомы (LeicaRM 2125 RTS, Германия), монтировали на предметные стекла. Препараты обрабатывали согласно протоколу иммуноцитохимической реакции для световой микроскопии, исключая процедуру теплового демаскирования антигенов. Для иммуногистохимического выявления DCX применяли первичные поликлональные кроличьи антитела фирмы Abcam (Великобритания) ab.18723, для NeuN – ab.128886 (в разведении 1:400, при +4°C, 20 ч., во влажной камере). Для выявления связавшихся первичных антител использовали: набор EXPOSE Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit ab.80437 Abcam (Великобритания) [Коржевский Д. Э. и др., 2005]. Для сравнительной оценки динамики синаптогенеза использовался молекулярный маркер синаптических пузырьков синаптофизин (SYN) [Колос Е. А. и др., 2015]. Для иммуногистохимического выявления SYN применяли первичные поликлональные кроличьи антитела фирмы Thermo Scientific (США) Synaptophysin Antibody (PA5-27286) (в разведении 1:400). Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор Thermo Scientific (США) Super Picture™ Polymer Detection Kit. Изучение гистохимических и иммуногистохимических препаратов, их микрофотографирование и цитофотометрию проводили при разных увеличениях микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC 320 (Leica Microsystems GmbH, Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

Статистическая обработка цифровых данных. В результате морфометрических и цитофотометрических исследований полученные количественные данные обрабатывали методами непараметрической статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 6.0 для Windows (StatSoft, Inc., США, серийный номер 31415926535897). В описательной статистике для каждого показателя определяли значения медианы (Me) и интерквартильного диапазона (IQR) [Лакин Г. Ф., 1990;

Реброва О. Ю., 2003; Батин Н. В., 2008]. Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна-Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U-test) [Реброва О. Ю., 2003]. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$) [Рокицкий П. Ф., 1973].

Полученные результаты, их анализ и обсуждение. Морфометрическое исследование показало, что на раннем этапе постэмбрионального онтогенеза интенсивное развитие мозжечка крысят контрольных и опытных животных характеризуется прогрессивным увеличением толщины коры. Однако на 7-е сутки после рождения у крысят групп «холестаз» и «холестаз+УДХК» толщина коры была меньше в палеоцеребеллуме на 16,2 и 11,8% ($p < 0,05$) и неоцеребеллуме – на 13,7 и 11,9% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с контролем. В коре развивающегося мозжечка 2-, 7-, 15-суточных крысят на поверхности коры существует наружный зернистый слой (НЗС), где продолжается пролиферация предшественников зернистых нейронов мозжечка. Его толщина у контрольных животных достигает максимума на 7-е сутки после рождения, а затем уменьшается к 15-м суткам. На 7-е сутки постнатального онтогенеза у крысят групп «холестаз» и «холестаз+УДХК» толщина НЗС в неоцеребеллуме была меньше на 18,1 и 17,4% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с контролем. В палеоцеребеллуме у крысят группы «холестаз» на 7-е сутки постнатального развития наблюдалась тенденция к снижению этого слоя на 26,9% ($p = 0,05$), но на 15-е сутки после рождения его толщина, напротив, была больше на 23,7% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. УДХК частично нормализовала этот параметр, так в палеоцеребеллуме на 15-е сутки толщина НЗС была меньше на 32,4% ($p < 0,05$), чем у крысят из группы «холестаз». У всех животных в постнатальном онтогенезе толщина молекулярного слоя прогрессивно возрастала. У крысят, рожденных от матерей с холестазом, в палеоцеребеллуме наблюдалось отставание в росте молекулярного слоя на 2 и 7-е сутки постнатального онтогенеза по сравнению с контролем на 19,8 и 21,1% ($p < 0,05$), соответственно. В постнатальном онтогенезе у крысят расстояние между перикарионами КП увеличивается за счет роста нейропиля между ними. Это приводит к уменьшению плотности расположения данных нейронов в извилине. Однако на седьмые сутки после рождения у крысят группы «холестаз» плотность расположения КП была увеличена в палеоцеребеллуме на 20,1% ($p < 0,05$) и в неоцеребеллуме – на 8,7% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с контролем, а у животных «холестаз+УДХК» на седьмые сутки в палеоцеребеллуме меньше плотность расположения КП на 13% ($p < 0,05$) по сравнению с крысятами в группе «холестаз». Размеры перикарионов КП мозжечка у контрольных животных со 2-х по 45-е сутки постнатального развития прогрессивно увеличиваются. В палеоцеребеллуме потомства крыс с

холестаза площадь перикарионов КП на 7, 15, и 45-е сутки постнатального развития была меньше (по сравнению с контролем) на 9,3-17,8% ($p < 0,05$). В неocerebellуме наблюдалось также уменьшение площади перикарионов на 13,2% ($p < 0,05$) у крысят группы «холестаз» на 15-е сутки после рождения по сравнению с контролем. У крысят «холестаз+УДХК» на 15-е сутки в палео- и неocerebellуме размеры перикарионов КП больше на 15,8 и 14,6% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с крысятами группы «холестаз».

На 45-е сутки постнатального онтогенеза у крысят группы «холестаз» установлено снижение относительного числа нормохромных нейронов, увеличение гиперхромных и гипохромных нейронов. Изменения по данному показателю были более выражены в палеocerebellуме по сравнению с контрольными крысятами, где количество гиперхромных нейронов в группе «холестаз» было в 5 раз больше (60%), чем в группе «контроль» (12%). УДХК в значительной степени нормализовала эти нарушения [2, 7, 11].

У крысят, развивавшихся в условиях холестаза матери, происходит нарушение становления промежуточного ядра мозжечка, что проявляется в повышенной плотности расположения его нейронов в ранние сроки после рождения: на вторые сутки после рождения наблюдается тенденция к увеличению плотности расположения нейронов на 14% ($p = 0,05$) по сравнению с контролем, на 15-е сутки у крысят группы «холестаз» увеличена плотность расположения нейронов на 13,8% ($p < 0,05$) и наблюдается лишь тенденция к увеличению этого показателя на 10,6% ($p = 0,06$) в группе «холестаз+УДХК» по сравнению с контролем. Размеры перикарионов нейронов промежуточного ядра мозжечка у контрольных животных со вторых по 90-е сутки постнатального развития прогрессивно увеличиваются. Однако у потомства, развивавшегося в условиях холестаза во все сроки исследования, наблюдалось уменьшение площади перикарионов на 8,2-11,2% ($p < 0,05$), у крысят группы «холестаз+УДХК» в промежуточном ядре размеры перикарионов на 2-е и 45-е сутки больше на 4,7 и 7,4% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с холестазом. На 45-е сутки постнатального онтогенеза у животных группы «холестаз» перикарионы нейронов имели более вытянутую форму, так как фактор элонгации перикарионов был на 11,8% ($p < 0,05$) больше, чем в контроле. В группе «холестаз» на 45 и 90-е сутки наблюдалось снижение относительного числа нормохромных нейронов и увеличение гиперхромных (почти в 3 раза), на 45-е сутки имелась также тенденция к увеличению числа сморщенных нейронов. На 45-е сутки в группе «холестаз+УДХК» по сравнению с контрольной группой различий нет, а на 90-е сутки установлена лишь тенденция к снижению нормохромных нейронов и увеличению гиперхромных [1, 7, 8, 12].

При электронно-микроскопическом исследовании установлено, что у крысят, развивавшихся в условиях холестаза матери, со 2-х по 45-е сутки

наблюдается отставание в росте тел КП на 39-15% ($p < 0,05$). На 2-е и 15-е сутки развития отмечалось уменьшение размеров ядер КП на 26 и 13,4% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с контролем. При этом на 2-е сутки после рождения ядерно-цитоплазматическое отношение КП было выше на 75,8% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, а затем постепенно восстанавливалось. У животных группы «холестаза+УДХК» со 2-х по 45-е сутки достоверных различий по данным показателям по сравнению с контролем не выявлено. На 2-е сутки размеры ядрышек КП были меньшими у крысят группы «холестаза» на 27,5% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, на 7-45-е сутки у животных группы «холестаза» и «холестаза+УДХК» различия по данному показателю с контролем отсутствовали. У потомства группы «холестаза» на 2-е сутки постнатального онтогенеза в КП мозжечка наблюдалось уменьшение площади, занимаемой митохондриями в цитоплазме, и составило, соответственно, у крысят группы «контроль» – 8,2%, у крысят группы «холестаза» – 6,5%. У животных группы «холестаза» на 7-е сутки в митохондриях была меньше относительная длина крист (по сравнению с контролем) на 32% ($p < 0,05$), на 15 и 45-е сутки после рождения в митохондриях КП потомства крыс с холестазом было уменьшено количество крист на 16,4 и 18,2% ($p < 0,05$) и их длина на 33,6 и 33,7% ($p < 0,05$), соответственно. У потомства крыс с холестазом, получавших УДХК, достоверных различий по сравнению с контролем по данным показателям не установлено. При этом у потомства крыс с холестазом в палеоцеребеллюме на 2-е сутки наблюдалось снижение активности СДГ на 32,4% ($p < 0,05$), на 7 и 45-е сутки ниже, чем в контроле, на 16,3 и 11,4% ($p < 0,05$), соответственно. На 7-е сутки активность этого фермента была ниже в неоцеребеллюме на 19,7% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Установлено, что у потомства, развивавшегося в условиях холестаза матери, активность НАДН-дегидрогеназы на 15 и 45-е сутки ниже в палеоцеребеллюме на 14,8 и 16,4% ($p < 0,05$) и в неоцеребеллюме – 14,2 и 12,5% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Активность ЛДГ у контрольных животных в цитоплазме КП прогрессивно снижается, а у потомства крыс с холестазом в палеоцеребеллюме на 2-е сутки наблюдалась тенденция к повышению активности фермента на 21,4% ($p = 0,05$), на 15 и 45-е сутки выше, чем в контроле, на 28,1 и 17,1% ($p < 0,05$), соответственно. На 15-е сутки активность этого фермента была выше и в неоцеребеллюме на 22,7% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

У контрольных крыс длина цистерн ГрЭС КП в постнатальном онтогенезе прогрессивно увеличивалась, у животных группы «холестаза» этот процесс был замедлен. На 2 и 7-е сутки развития у потомства крыс с холестазом длина цистерн была меньше ГрЭС на 18,9 ($p < 0,05$) и 31,7% ($p < 0,05$), на 2, 15, 45-е сутки – меньше количество рибосом, связанных с мембранами ГрЭС, на 22,3, 24,7, 35,8% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с контролем, при этом количество

свободных рибосом было больше, что свидетельствует о нарушении биосинтеза белка на экспорт и переключении биосинтеза белка для собственных нужд клетки. Установлено, что содержание РНП в цитоплазме КП коры мозжечка у крыс группы «холестаза» достоверно увеличено на 15-е сутки в неocerebellуме – 15,6% ($p < 0,05$), и в paleocerebellуме на 15 и 45-е сутки по сравнению с контролем – на 18,9 и 53,4% ($p < 0,05$), соответственно. Это коррелирует с числом гиперхромных нейронов ($r = 0,84$), которое значительно возрастает. УДХК несколько корригировала этот параметр [2, 11].

Количество лизосом на единицу площади цитоплазмы значительно возрастало у 15- и 45-суточных крысят группы «холестаза» по сравнению с контролем, что может свидетельствовать об активации процесса аутофагии.

Применение УДХК с момента моделирования холестаза у крыс и в течение 7-ми суток после родов позволило нормализовать у их потомства развитие КП и ультраструктуру. Это проявлялось в нормализации роста размеров перикарионов КП, на 2-15-е сутки их размеры были больше на 19,2-44,7% ($p < 0,05$) по сравнению с крысятами группы «холестаза», а также в увеличении площади ядрышек на 2-е сутки на 27,1% ($p < 0,05$), уменьшении ЯЦО на 2-е и 7-е сутки на 47 и 36,3% ($p < 0,05$), соответственно. В цитоплазме КП увеличение площади, занимаемой митохондриями (7,5%), на 15 и 45-е сутки количества крист на 16,1-18% ($p < 0,05$), и на 15, 45-е сутки их длины на 21,1-79,8% ($p < 0,05$); на 2 и 7-е сутки длины цистерн ГрЭС на 35,5-37,8% ($p < 0,05$), количество связанных рибосом на 15-45-е сутки не отличается от контроля.

Иммуногистохимическое исследование развития нейронов показало, что на 2, 7 и 15-е сутки после рождения у крысят интенсивная экспрессия молекулярного маркера микротрубочек незрелых нейронов даблкортина (DCX) определяется в двух-трех внутренних рядах клеток наружного зернистого слоя коры мозжечка (НЗС), где располагаются постмитотические зернистые нейроны, готовые к радиальной миграции. В этих предмиграционных нейронах у потомства крыс с холестазом обнаружено отставание убыли экспрессии даблкортина (DCX) в paleocerebellуме на 2-е сутки – 18,1%, на 7-е сутки – 38,1%, на 15-е сутки – 19,9% ($p < 0,05$) и в неocerebellуме на 2-е сутки снижение на 13,4%, ($p < 0,05$) и увеличение на 7-е сутки на 21,2% ($p < 0,05$) и на 15-е сутки на 28,2% ($p < 0,05$). Это свидетельствует об отставании созревания предмиграционных зернистых нейронов коры мозжечка. Применение УДХК корригировало данный показатель. Так, экспрессия DCX в предмиграционных нейронах наружного зернистого слоя на 2-15-е сутки была ниже на 8,7-16,7% ($p < 0,05$) по сравнению с крысятами группы «холестаза».

Плотность расположения иммунопозитивных по NeuN нейронов (маркера зрелых нейронов) и его экспрессия во ВЗС мозжечка контрольных крыс как в палео-, так и в неocerebellуме прогрессивно увеличивалась, причем в

палеоцеребеллюме раньше, чем в неоцеребеллюме [4]. Напротив, у животных группы «холестаза» во внутреннем зернистом слое (ВЗС) палеоцеребеллюма выявлено уменьшение плотности расположения иммунопозитивных по NeuN зрелых нейронов на 7-е сутки на 41,4%, на 15-е сутки – на 25,3% ($p < 0,05$) и во ВЗС неоцеребеллюма на 7-е сутки – 39,4% ($p < 0,05$). При этом наблюдалось замедление нарастания в зернистых нейронах экспрессии NeuN в палеоцеребеллюме на 7-е сутки на 32,6%, на 15-е сутки – 17,6% ($p < 0,05$) и в неоцеребеллюме на 7-е сутки – 31,3%, на 15-е сутки на 29,3% ($p < 0,05$). Это свидетельствует о замедлении созревания зернистых нейронов в постнатальном онтогенезе у потомства крыс с холестазом. У контрольных крысят в раннем постнатальном онтогенезе прогрессивно возрастает экспрессии NeuN в нейронах промежуточного ядра, а у крысят группы «холестаза» на 2-15-е сутки экспрессия NeuN значительно ниже – на 16,4-30,7% ($p < 0,05$), и достигает уровня контроля только на 45-е сутки. Применение УДХК корригирует этот показатель [3, 9, 11].

Исследование синаптогенеза в коре мозжечка с помощью маркера синаптических пузырьков синаптофизина показало, что на 15-е сутки после рождения у потомства группы «холестаза» как в палео- так и неоцеребеллюме наблюдается отставание в росте ширины зоны синаптогенеза в молекулярном слое коры мозжечка на 26,6 и 11,3% ($p < 0,05$), соответственно, а у крысят группы «холестаза+УДХК» – только в палеоцеребеллюме на 14,2% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. При этом у крысят группы «холестаза» и «холестаза+УДХК» на 7-е сутки после рождения иммунореактивность по SYN в палеоцеребеллюме ниже на 14,6 и 12,5% ($p < 0,05$), соответственно. На 15-е сутки в группе «холестаза» иммунореактивность как в палеоцеребеллюме (на 19,3%; $p < 0,05$), так и в неоцеребеллюме (на 25,6%; $p < 0,05$) выше. У животных группы «холестаза+УДХК» в этот срок отличий от контроля нет.

На 15-45-е сутки после рождения количество аксосоматических синапсов на перикарионах КП значительно уменьшается. В эти сроки количество крупных SYN-позитивных синапсов на перикарионах КП в палео- и неоцеребеллюме составляет всего $2,0 \pm 1,0$. У потомства группы «холестаза» и «холестаза+УДХК» на 15-е сутки их количество было выше, чем в контроле, и составило $4,0 \pm 2,0$ и $4,0 \pm 1,5$ ($p < 0,05$), соответственно.

На 15-е сутки во ВЗС определяются иммунопозитивные по SYN мелкие и средние (преобладают), по размеру формирующиеся клубочки мозжечка. К 45-м суткам число крупных SYN-позитивных клубочков с очень высокой иммунореактивностью возрастает, мелких – уменьшается. У потомства группы «холестаза» на 15-е сутки во ВЗС палео- и неоцеребеллюма выявлено замедление формирования клубочков мозжечка – уменьшение количества крупных (на 52,4 и 53,4%, соответственно ($p < 0,05$)) и увеличение числа мелких клубочков. У

потомства крыс с холестазом, получавших УДХК, достоверных отличий по сравнению с контролем не было.

В промежуточном ядре мозжечка у контрольных крысят на 2-е сутки после рождения на перикарионах нейронов наблюдались лишь единичные SYN-иммунопозитивные точки – аксосоматические синапсы. В нейропиле равномерно располагались многочисленные мелкие аксодендритические синапсы. На 7-45-е сутки вокруг перикарионов некоторых нейронов промежуточного ядра образуются темные ободки из плотно расположенных аксосоматических синапсов, а в нейропиле размеры аксодендритических синапсов увеличиваются и они начинают располагаться неравномерно, образуя скопления. У крысят группы «холестаз» на 2-е сутки постнатального онтогенеза экспрессии SYN в нейропиле ниже на 18,1% ($p < 0,05$), чем в контроле, что свидетельствует о запаздывании синаптогенеза. Применение УДХК нормализует этот показатель [5, 6, 10, 11, 13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. У потомства крыс с холестазом, вызванным на 17-е сутки беременности, нарушается постнатальный морфогенез коры (особенно палеоцеребеллюма) и промежуточного ядра мозжечка. В раннем постнатальном онтогенезе (2-15-е сутки после рождения) это выражается в замедлении роста коры (на 7-е сутки она на 14-16% тоньше, чем в контроле) и нарушении динамики развития ее слоев. На 7-е сутки толщина наружного зернистого слоя (НЗС) палеоцеребеллюма и неоцеребеллюма была меньше на 27 и 18%, соответственно, а на 15-е сутки после рождения его толщина в палеоцеребеллюме, напротив, была на 24% больше. Происходит замедление роста молекулярного слоя (на 2-7-е сутки постнатального онтогенеза его толщина на 20-21%, меньше, чем в контроле), а также отставание роста тел клеток Пуркинье и развития нейропиля, что подтверждается повышенной плотностью расположения клеток Пуркинье на 7-е сутки в палео- и неоцеребеллюме на 20 и 9%, соответственно. В промежуточном ядре мозжечка также происходит отставание роста тел нейронов и развития нейропиля (на 15-е сутки плотность расположения нейронов увеличена на 14%) [1, 2, 7, 8, 9, 11, 12].

2. У потомства крыс с холестазом, вызванным во время беременности, замедляется дифференцировка клеток Пуркинье мозжечка по сравнению с контрольными животными. На 2-е сутки после рождения в клетках Пуркинье увеличено ядерно-цитоплазматическое отношение, уменьшены размер ядрышек, а также площадь, занимаемая в цитоплазме митохондриями.

На 7-е сутки в митохондриях была меньше относительная длина крист, на 15-е сутки – длина и количество крист. Это сопровождается снижением в цитоплазме клеток Пуркинье активности маркерных ферментов митохондрий сукцинатдегидрогеназы и НАДН-дегидрогеназы. При этом активность фермента анаэробного гликолиза лактатдегидрогеназы повышается. В ранние сроки после рождения у потомства крыс с холестазом в клетках Пуркинье меньше длина цистерн ГрЭС и количество связанных рибосом, а количество свободных рибосом на 1 мкм² цитоплазмы, напротив, больше. Это сопровождалось увеличением на 19% содержания в цитоплазме клеток Пуркинье рибонуклеопротеинов (РНП) на 15-е сутки после рождения.

Со 2-х по 15-е сутки развития в мозжечке крыс в норме снижается иммунореактивность даблкортина в предмиграционных нейронах НЗС, увеличивается иммунореактивность NeuN в нейронах внутреннего зернистого слоя. В предмиграционных нейронах НЗС коры мозжечка у потомства крыс с холестазом на 7-15-е сутки обнаружено повышение иммунореактивности молекулярного маркера незрелых нейронов даблкортина на 18-38%. Напротив, во внутреннем зернистом слое в эти же сроки иммунореактивность маркера зрелых нейронов NeuN была на 18-33% ниже. Это свидетельствует о замедлении созревания зернистых нейронов мозжечка по сравнению с контролем.

В нейронах промежуточного ядра мозжечка на 2-15-е сутки у крыс в норме прогрессивно возрастает иммунореактивность NeuN, а у потомства крыс с холестазом она понижена (на 16-31%) [2, 3, 4, 10].

3. В мозжечке потомства крыс с холестазом нарушен синаптогенез. Так, на 15-е сутки после рождения в молекулярном слое палео- и неocerebellума (на 27 и 11%) отстает рост зоны синаптогенеза (выявляется с помощью маркера синаптических пузырьков синаптофизина) и убыль иммунореактивности синаптофизина этой зоны (на 19 и 26%). Выявлено замедление формирования клубочков мозжечка во внутреннем зернистом слое палео- и неocerebellума (на 52-53% уменьшено количество крупных и увеличено число мелких SYN-иммунопозитивных клубочков) по сравнению с контролем. В нейропиле промежуточного ядра мозжечка у потомства крыс с холестазом распределение иммунореактивности синаптофизина в нейропиле также нарушено [5, 6, 10, 11, 13].

4. В отдаленные сроки (45-90-е сутки) после рождения у потомства крыс с холестазом, вызванным во время беременности, в коре и промежуточном ядре мозжечка морфофункциональные нарушения сохраняются. На 45-е сутки в палеocerebellуме уменьшено количество нормохромных и увеличено числа гиперхромных клеток Пуркинье (до 60%). Сохраняется отставание роста тел этих нейронов. Ультраструктурные нарушения проявлялись в уменьшении длины и количества крист в митохондриях, сопровождающихся снижением в

цитоплазме клеток Пуркинье активности сукцинат- и НАДН-дегидрогеназы, что свидетельствует об угнетении митохондриальных энергетических процессов. На 45-е сутки в цитоплазме клеток Пуркинье снижено количество связанных рибосом, а количество свободных рибосом, напротив, было значительно больше, что сопровождалось увеличением в цитоплазме содержания РНП на 53%. На 45-е сутки выявлено также расширение цистерн комплекса Гольджи и увеличение количества лизосом.

В промежуточном ядре мозжечка на 45 и 90-е сутки постнатального онтогенеза сохраняется отставание роста тел нейронов (на 11 и 10%), на 45-е сутки уменьшено число нормохромных и увеличено число гиперхромных нейронов (до 49%) [1, 2, 11].

5. Урсодезоксихолевая кислота корригирует большинство изученных показателей морфогенеза мозжечка, нарушенных у потомства крыс с холестазом. Так, УДХК нормализует динамику изменения ширины НЗС и иммунореактивность в нем даблкортина, нормализует плотность расположения клеток Пуркинье и соотношение их по хроматофилии цитоплазмы, рост перикарионов клеток Пуркинье, динамику уменьшения их ядерно-цитоплазматического отношения, размеров ядрышек, количество свободных и связанных рибосом, содержание РНП в цитоплазме этих нейронов, длину крист митохондрий и активность окислительных ферментов. В промежуточном ядре корригирующее действие УДХК проявлялось в нормализации роста перикарионов и динамики иммунореактивности маркера созревания нейронов – NeuN и синаптогенеза – синаптофизина [1, 2, 3, 5].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Результаты проведенных исследований могут быть использованы для расширения фундаментальных знаний студентов вузов медико-биологического профиля о неблагоприятном влиянии холестаза матери на развитие мозжечка их потомства и возможностях коррекции нарушений УДХК, что послужит фундаментальной основой для совершенствования способов диагностики, профилактики и лечения нарушений развития мозжечка у потомства животных и человека, вызванных холестазом.

2. Результаты исследований и выводы, сделанные на их основе, внедрены в учебный процесс в УО «Гродненский государственный медицинский университет».

3. Полученные научно обоснованные данные могут быть учтены при проведении дальнейших исследований развития мозжечка у потомства, развивавшегося в физиологических условиях, а также при других экзо- и эндогенных воздействиях на организм матери во время беременности.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Статьи в рецензируемых журналах

1. Карнюшко, О. А. Нарушения морфогенеза промежуточного ядра мозжечка потомства крыс с холестазом, вызванным во время беременности; коррекция урсодезоксихолевой кислотой / О. А. Карнюшко, С. М. Зиматкин // *Новости медико-биологических наук.* – 2015. – Т. 11, № 2. – С. 139–145.
2. Карнюшко, О. А. Нарушения морфогенеза коры мозжечка потомства крыс с экспериментальным холестазом и их коррекция / О. А. Карнюшко, С. М. Зиматкин // *Весці НАН Беларусі. Серыя мед. навук.* – 2015. – № 3. – С. 95–101.
3. Карнюшко, О. А. Нарушения развития нейронов мозжечка у потомства крыс с холестазом и их коррекция урсодезоксихолевой кислотой / О. А. Карнюшко, С. М. Зиматкин // *Новости медико-биологических наук.* – 2015. – Т. 12, № 4. – С. 185–190.
4. Зиматкин, С. М. Экспрессия даблкортина и NeuN в развивающихся нейронах мозжечка крыс / С. М. Зиматкин, О. А. Карнюшко // *Морфология, Спб.* – 2016. – Т. 149, № 1. – С. 38–42.
5. Карнюшко, О. А. Нарушения синаптогенеза в мозжечке потомства крыс-самок с холестазом и их коррекция урсодезоксихолевой кислотой / О. А. Карнюшко, С. М. Зиматкин // *Журнал ГрГМУ.* – 2016. – № 2. – С. 45–49.
6. Зиматкин, С. М. Синаптогенез в развивающемся мозжечке крысы / С. М. Зиматкин, О. А. Карнюшко // *Морфология, Спб.* – 2016. – Т. 150, № 4. – С. 34–39.

Материалы конференций

7. Карнюшко, О. А. Структурные нарушения мозжечка 2-суточных крысят, рожденных от матерей с подпеченочным холестазом и их коррекция урсодезоксихолиевой кислотой / О. А. Карнюшко // *Современные достижения молодых ученых в медицине : материалы Респ. науч.-практ. конф., Гродно, 20 нояб. 2014 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол. : В. А. Снежицкий (отв. ред.) [и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2014. – С. 85–87.*
8. Карнюшко, О. А. Влияние экспериментального холестаза матери на развитие промежуточного ядра мозжечка потомства и возможность его коррекции / О. А. Карнюшко // *Современные достижения молодых ученых в медицине : материалы II Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Гродно, 27 нояб. 2015 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол. : В. А. Снежицкий (отв. ред.) [и др.]. – Гродно : ГрГМУ, 2015. – С. 84–87.*
9. Карнюшко, О. А. Структурные нарушения палеocerebellума 15-суточных крысят, рожденных от матерей с холестазом

/ О. А. Карнюшко // Актуальные проблемы медицины [Электронный ресурс] : материалы ежегодной науч.-практ. конф., Гродно, 28-29 янв. 2016 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол. : В. А. Снежицкий (отв. ред.) [и др.]. – Электрон. текстовые дан. и прогр. (6, 65 Мб). – Гродно : ГрГМУ, 2016. – С. 242–245. – 1 эл. опт. диск.

10. Зиматкин, С. М. Молекулярные маркеры в оценке постнатального развития мозжечка крысы / С. М. Зиматкин, О. А. Карнюшко // Современные проблемы биохимии = Current problems in biochemistry : сб. науч. ст. [I Белорус. Биохим. Конгр., Респ. Беларусь, Гродно, 5-6 июля 2016 г. : в 2-х ч.] / НАН Беларуси [и др.] ; редкол.: Л. И. Надольник (гл. ред.) [и др.]. – Гродно : ЮрСаПринт, 2016. – Ч. 1. – С. 116–121.

11. Карнюшко, О. А. Нарушения морфогенеза палеocerebellума потомства крыс с экспериментальным холестазом / О. А. Карнюшко, С. М. Зиматкин // Достижения и инновации в современной морфологии : сб. тр. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 115-летию со дня рожд. академика Д. М. Голуба, Гродно, 30 сент. 2016 г. / [под ред. проф. П. Г. Пивченко и д-ра мед. наук Н. А. Трушель]. – Минск : БГМУ, 2016. – С. 183–185.

Тезисы докладов

12. Карнюшко, О. А. Морфометрическая характеристика промежуточного ядра мозжечка 7-суточных крысят рожденных от матерей с экспериментальным холестазом / О. А. Карнюшко // Материалы конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора Ю. Г. Бойко, Гродно, 23-24 апр. 2015 г. [Электронный ресурс] / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, УО «ГрГМУ», Каф. патол. анатомии, СНО, Совет молодых ученых ; редкол. : В. А. Снежицкий (отв. ред.) [и др.]. – Электрон. текстовые дан. и прогр. (5, 37 Мб). – Гродно : ГрГМУ, 2015. – С. 243–244. – 1 эл. опт. диск.

13. Карнюшко, О. А. Нарушения синаптогенеза в коре мозжечка крыс, развивавшихся в условиях холестаза матери / О. А. Карнюшко // Материалы конф. студентов и молодых ученых, посвященной 100-летию со дня рождения А. З. Нечипоренко, 21-22 апр. 2016 г. [Электронный ресурс] / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол. : В. А. Снежицкий (отв. ред.) [и др.]. – Электрон. текстовые данные. – Гродно : ГрГМУ, 2016. – С. 84–85. – 1 эл. опт. диск.



РЭЗІЮМЭ

Карнюшка Вольга Анатольеўна Марфалагічныя асаблівасці мазжачка пацукоў, народжаных ад самак з эксперыментальным халестазам

Ключавыя словы: халестааз, клетка Пуркінье, ультраструктура, урсадэзаксіхалеваая кіслата, мазжачок, сінаптагенэз, даблкарцін, NeuN.

Мэта работы: высветліць уплыў эксперыментальнага падпячоначнага халестазу маці, выкліканага на 17-я суткі цяжарнасці ў пацукоў, на структурныя і гістахімічныя паказчыкі постнатальнага морфагенэзу мазжачка нашчадкаў.

Метады даследавання: марфалагічны, гістахімічны, імунагістахімічны, цытафотаметрычны, электронна-мікраскапічны і статыстычны.

Атрыманыя вынікі і іх навуковая навізна. Упершыню атрыманы даныя аб уплыве эксперыментальнага халестазу, выкліканага падчас цяжарнасці ў самак белых пацукоў, на развіццё мазжачка ў іх нашчадкаў у постнатальным антагенэзе.

Высветлена, што халестааз, выкліканы ў самак пацукоў падчас цяжарнасці, прыводзіць у іх нашчадкаў да парушэння морфагенэзу кары і прамежкавага ядра мазжачка, адставанню росту перыкарыёнаў клетак Пуркінье і парушэнню іх ультраструктуры, якія суправаджаюцца змяненнем у іх актыўнасці шэрагу цытаплазматычных ферментаў, адставанню паспявання зярністых нейронаў і парушэнню сінаптагенэзу.

Даказана карыгуючае дзеянне урсадэзаксіхалевай кіслаты, прымаемай пацукамі-самкамі з халестазам, на морфафункцыянальныя паказчыкі развіцця мазжачка іх нашчадкаў.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: атрыманыя даныя могуць быць выкарыстаны пры правядзенні далейшых навуковых даследаванняў мазжачка, а таксама для пашырэння фундаментальных ведаў студэнтаў вышэйшых навучальных устаноў медыка-біялагічнага профілю.

Галіна ўжывання: гісталагія, цыталагія, клеткавая біялогія, акушэрства і гінекалогія, паталагічная анатомія, неўралогія.

РЕЗЮМЕ**Карнюшко Ольга Анатольевна****Морфологические особенности мозжечка крыс,
рожденных от самок с экспериментальным холестазом**

Ключевые слова: холестаза, клетка Пуркинье, ультраструктура, урсодезоксихолевая кислота, мозжечок, синаптогенез, даблкортин, NeuN.

Цель работы: установить влияние экспериментального подпеченочного холестаза матери, вызванного на 17-е сутки беременности у крыс, на структурные и гистохимические показатели постнатального морфогенеза мозжечка потомства.

Методы исследования: морфологический, гистохимический, иммуногистохимический, цитофотометрический, электронно-микроскопический и статистический.

Полученные результаты и их научная новизна. Впервые получены данные о влиянии экспериментального холестаза, вызванного во время беременности у самок белых крыс, на развитие мозжечка у их потомства в постнатальном онтогенезе.

Установлено, что холестаза, вызванный у самок крыс во время беременности, приводит у их потомства к нарушению морфогенеза коры и промежуточного ядра мозжечка, отставанию роста перикарионов клеток Пуркинье и нарушению их ультраструктуры, сопровождающихся изменением в них активности ряда цитоплазматических ферментов, отставание созревания зернистых нейронов и нарушения синаптогенеза.

Доказано корригирующее действие УДХК, принимаемой крысами-самками с холестазом, на морфофункциональные показатели развития мозжечка их потомства.

Рекомендации по использованию: полученные данные могут быть использованы при проведении дальнейших научных исследований мозжечка, а также для расширения фундаментальных знаний студентов вузов медико-биологического профиля.

Область применения: гистология, цитология, клеточная биология, акушерство и гинекология, патологическая анатомия, неврология.

SUMMARY

Karnyushko Olga Anatolyevna **Morphological features of the cerebellum in rats,** **born from female rats with experimental cholestasis**

Key words: cholestasis, Purkinje cell, ultrastructure, ursodeoxycholic acid, cerebellum, synaptogenesis, doublecortin, NeuN.

Purpose of research: to establish the influence of experimental subhepatic cholestasis of mother, which was induced on the 17th day in pregnant rats, on structural and histochemical indices of postnatal morphogenesis in the cerebellum of the offspring.

Methods of research: morphological, histochemical, immunohistochemical, cytophotometrical, electron microscopical and statistical.

Obtained results and their novelty. The data concerning the influence of experimental cholestasis, that was induced during pregnancy of female white rats, on the development of the cerebellum of their offspring during postnatal ontogenesis were obtained for the first time.

It was found out that cholestasis induced in female rats during their pregnancy leads to disturbed morphogenesis of the cortex and interpositus nucleus of the cerebellum, retarded growth of Purkinje cell perikaryons and their disturbed ultrastructure that is accompanied by the changed activity of a number of cytoplasmic enzymes in them, retarded maturation of granular neurons and disturbed synaptogenesis in their offspring.

Corrective effect of ursodeoxycholic acid, that is taken by female rats with cholestasis, on morphofunctional indices of cerebellum development in their offspring was proved.

Recommendations on application. The obtained data can be applied for further scientific studies of the cerebellum as well as enhancement of basic knowledge of medical and biological students.

Area of application: histology, cytology, cellular biology, obstetrics and gynecology, pathological anatomy, neurology.

Научное издание

Карнюшко Ольга Анатольевна

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОЗЖЕЧКА КРЫС,
РОЖДЕННЫХ ОТ САМОК С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ
ХОЛЕСТАЗОМ

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Подписано в печать 20.12.2017.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Ризография.
Усл.-печ. л. **1,40**. Уч.-изд. л. **1,35**. Тираж **70** экз. Заказ **218**.

Издатель и полиграфическое исполнение
учреждение образования
«Гродненский государственный медицинский университет».
ЛП № 02330/445 от 18.12.2013. Ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно.