

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ЗООЛОГИИ И ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ
Направление подготовки 06.03.01 Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
ЯКОВЛЕВОЙ АНАСТАСИИ ИГОРЕВНЫ

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ КЛЕТОК КОРЫ ГОЛОВНОГО
МОЗГА КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ ДИОКСИНА

Работа завершена:

« 28 » мая 2019 г.  (А. И. Яковлева)

Работа допущена к защите:


Научный руководитель

Кандидат биологических наук, доцент

« 28 » мая 2019 г.  (М. М. Сальникова)

Заведующий кафедрой

Кандидат биологических наук, доцент

« 29 » 05 2019 г.  (Р. М. Сабиров)

Казань – 2019

РЕФЕРАТ

Ключевые слова: крысы, ультраструктура, кора головного мозга, диоксин, нейроны, нейроглия, миелиновая оболочка, аксон.

Исследования проводили на крысах трёх групп, в каждой группе было по 3 особи. Первая группа животных служила биологическим контролем. Вторая получала хроническую затравку диоксином в дозе 1/800 LD₅₀ (0.025 мкг/кг веса), третья – в дозе 1/400 LD₅₀ (0.05 мкг/кг веса). Забор материала производился через 40 дней после начала затравки. Экспериментальная часть осуществлена в Федеральном центре токсикологической, радиационной и биологической безопасности ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» г. Казань. Ультраструктурные исследования проводились в лаборатории электронной микроскопии кафедры зоологии и общей биологии К(П)ФУ.

Результаты светооптических исследований коры головного мозга крыс, получавших затравку диоксином, показали уменьшение количества нейронов на единицу площади, достоверно уменьшались и ядра нейронов. Исследования на ультратонком уровне позволили доказать наличие более глубоких изменений: демиелинизация аксонов, уменьшение количества синапсов при общем увеличении их длины. В нейронах накапливались гранулы липофусцина, набухали митохондрии, их матрикс просветлялся, разрушались кристы, расширялись каналы ЭПС и цистерны комплекса Гольджи, увеличивалось количество пероксисом. Изменения затрагивали и клетки глии: были отмечены пикнотические ядра астроцитов, микроглиоцитов и олигодендроцитов. Микроглиоциты содержали большое количество лизосом и фагосом с фрагментами миелиновых оболочек.

Выпускная квалификационная работа состоит из 65 страниц, включает 28 рисунков, из которых 22 – оригинальные, 6 гистограмм и 1 таблицу. Список литературы составляют 57 источников, из которых 21 – на иностранном языке.

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	6
1. 1. Структура коры головного мозга.....	6
1. 2. Гистология коры головного мозга крыс.....	7
1. 3. Строение нейрона.....	11
1. 4. Воздействие диоксина на человека и животных.....	14
1. 5. Клинические проявления диоксиновой интоксикации.....	15
1. 6. Степени интоксикации.....	16
1. 7. Механизм действия.....	17
1. 8. Влияние диоксиновой интоксикации на ультраструктуру клеток коры головного мозга.....	18
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	25
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	28
3. 1. Световая микроскопия.....	28
3. 2. Электронная микроскопия.....	34
4. ВЫВОДЫ.....	57
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	59

ВВЕДЕНИЕ

Хорошо известно, что диоксины являются сильнейшими синтетическими ядами, даже ничтожно малое количество этого соединения способно вызывать изменения в клетках организма. Не существует разработанных средств терапии диоксиновой интоксикации, лечение носит лишь симптоматический характер, вследствие чего, воздействие диоксина на организмы активно изучается. Как правило, большинство исследователей, изучающих влияние диоксиновой интоксикации, рассматривают последствия поступления диоксина в организм и его биологическое действие (Yoshioka W. et al., 2011). При этом, исследователи акцентируют своё внимание на влиянии диоксиновой интоксикации на общее состояние организма и состоянии внутренних органов: печень, почки, селезёнка, сердце и мышцы, а также репродуктивную систему (Епифанцев А.В., 2006, Никитин А.И., 2006, Камилов Ф.Х., 2007). Многие исследования рассматривают воздействие диоксина на способность к размножению и изменения, проявляющиеся у потомства (Nguyen N.M. et al., 2013, Courtney K., More J., 1979). Однако лишь малая часть статей охватывает влияние диоксиновой интоксикации на нервную систему в той или иной степени (Кабдрахманова Д.Б. и др., 2018). Удивительно это по причине того, что в нервной ткани содержится большое количество сложных липидов, а диоксины являются липофильными молекулами (Улахович Н.А. и др., 2010), и соответственно, должны хорошо проникать в части нервной системы и вызывать их изменения. Согласно обобщённым данным Фёдорова Л.А., «при пероральном поступлении коэффициенты распределения *lgK_{OW}* диоксина в органах, в сравнении с кровью, имеют следующий вид: жировая ткань – 300, кожа – 30, печень – 25, мозг – 10, стенки кишечника – 10, селезенка – 10, щитовидная железа – 10, почки – 7, мышцы – 4» (Фёдоров Л.А., 1993).

Некоторые исследования свидетельствуют о том, что клетки мозга даже более чувствительны к воздействию диоксина, чем гепатоциты (Hassoun E.A. et al., 2000).

Исследования влияния диоксиновой интоксикации на ультраструктуру клеток коры головного мозга крыс вызывают не только научный интерес, но и в дальнейшем могут помочь в разработке средств лечения отравлений, вызванных диоксином.

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ

Цель: выявление изменений в ультраструктуре клеток коры головного мозга крыс после воздействия диоксина в дозах 1/800 и 1/400 LD₅₀. Для реализации поставленной цели были выдвинуты следующие задачи:

- 1) изучить морфологические особенности нервной ткани коры головного мозга крыс в норме и после воздействия диоксина на светооптическом уровне;
- 2) исследовать ультраструктуру клеток коры головного мозга крыс в норме и после воздействия диоксина;
- 3) провести морфометрический анализ некоторых показателей нервной ткани контрольной и опытных групп животных;
- 4) проанализировать полученные результаты в свете имеющихся данных о токсическом воздействии диоксина.

4. ВЫВОДЫ

- 1) Исследования образцов коры головного мозга крыс Wistar контрольной группы с использованием методов световой и электронной микроскопии показали присущую млекопитающим характерную морфологию клеток пирамидного слоя – нейронов и компонентов глии, наличие гематоэнцефалического барьера капилляров головного мозга и сосудов, наполненных кровью.
- 2) Морфометрический анализ на светооптическом уровне выявил гибель нервных клеток коры головного мозга крыс, получавших хроническую заправку диоксином в дозах 1/800 и 1/400 LD₅₀ в течение 40 дней, на 34.7 % и 40.9 % ($p < 0.05$) соответственно. Ядра нейронов уменьшились по мере увеличения дозы диоксина на 24.4 % ($p < 0.05$), что характеризует патологию ядерного аппарата.
- 3) У крыс обеих групп, получавших заправку диоксином, имеет место демиелинизация аксонов, которая проявляется в уменьшении количества оборотов миелиновой оболочки на 40.3 % и толщины оболочки на 64.1 % ($p < 0.05$) при максимальной из используемых доз диоксина. Имеются участки нервной ткани, которые вовсе не содержат миелинизированных отростков. Микроглиоциты содержат фагосомы с фрагментами миелина. Демиелинизация аксонов, вероятно, является результатом перекисного окисления липидов мембран.
- 4) В нейронах и клетках глии коры головного мозга крыс под действием диоксина происходят следующие деструктивные изменения: перераспределение хроматина, расширение каналов ЭПС и цистерн комплекса Гольджи, разрушение цитоскелета, набухание митохондрий и потеря крист, что говорит о нарушении в процессах клеточного метаболизма и снижении энергетического потенциала клеток. Нервные клетки содержат телолизомы с липофусцином, что можно интерпретировать с одной стороны как наличие патологии клетки, с

другой – приспособительный механизм к условиям дефицита кислорода и энергии в мозге.

- 5) Морфометрический анализ показал достоверное уменьшение количества синаптических контактов в коре головного мозга крыс, получавших хроническую затравку диоксином в дозах $1/800$ и $1/400$ LD_{50} в течение 40 дней на 14.8 % и 22.2 % соответственно. Длина синаптической щели у крыс, получавших диоксин в дозе $1/800$ LD_{50} , увеличилась на 50 % по сравнению с контрольной группой крыс. Это вероятно связано с активацией компенсаторных механизмов при недостатке синаптических контактов в нервной ткани. При увеличении дозы диоксина до $1/400$ LD_{50} длина синаптической щели увеличивается лишь на 33.4 % ($p < 0.05$), что говорит нам о неспособности клеток эффективно компенсировать последствия воздействия.