

ЛИПИДОЛОГИЯ НЕЙРОАНАТОМИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МОЗЖЕЧКА И ЕГО ПОДКОРКОВЫХ ЯДЕР

Шиян Д.Н., Коробова Л.К., Шиян В.В., Лысенко В.О.

Харьковский национальный медицинский университет (кафедра анатомии человека)

Харьков, Украина.

LIPIDOLOGY NEUROANATOMICAL ORGANIZATION OF THE CEREBELLUM AND ITS SUBCORTICAL NUCLEI

Sheyan D.N., Korobova L.K., Shiyani V.V., Lysenko V.O.

Kharkov National Medical University (Human Anatomy Department)

Kharkov, Ukraine.

У человека мозжечок расположен под затылочными долями полушарий головного мозга в задней черепной ямке, состоит из 2-х полушарий и узкого непарного срединного отдела – червя. Наружные слои мозжечка образуют кору из серого вещества, состоящего из поверхностного слоя тел нервных клеток, под которыми находится сердцевина мозжечка – белое вещество, состоящее из клеток нейроглии и отростков нервных клеток, обложенных миелином, или миелиновых нервных волокон. В глубине белого вещества находятся 4 пары центральных ядер мозжечка: кровельные ядра или ядра шатра, шаровидные ядра, пробковые ядра и зубчатые ядра, тесно связанные с корой полушарий мозжечка, с непарным отделом мозжечка, т.е. червем, и с его окологервячными зонами посредством афферентных и эфферентных систем нервных волокон.

Миелиновые нервные волокна, или аксоны нервных клеток, формирующие белую субстанцию мозжечка, т.е. афферентных и эфферентных проводящих путей мозжечка, по количественному содержанию клеточных суммарных липидных компонентов в несколько раз превышают содержание комплекса общих липидов клеток коркового слоя. При этом серое вещество зубчатого ядра и других подкорковых ядер окологервячной зоны мозжечка имеет существенные отличия от серого вещества коркового слоя в том, что аксоны нервных клеток зубчатого ядра и других подкорковых ядер обложены миелином уже в сером веществе и дают коллатерали, разветвляющиеся возле клеток нейроглии и пронизывающие все межуточное пространство ядер. Поэтому, представляется интересным выделение и количественное определение суммарных клеточных липидных компонентов участка окологервячной зоны, включающий подкорковые ядра мозжечка, по отношению к количеству суммарных липидов белой субстанции мозжечка и коркового слоя.

В исследовании использовался способ определения количественного содержания комплекса общих липидов в отделах ЦНС, запатентованный авторами и получивший положительное решение на выдачу «Патента Украины».

Целью этого способа является выделение общих липидов из различных отделов ЦНС для определения их процентного содержания в различных весовых и возрастных категориях. Метод может быть также использовано в различных аспектах научно-исследовательской деятельности в области морфологических наук, клинической медицины и клинической фармации.

Близким к заявляемому изобретению является способ получения комплекса фосфолипидов из сырья животного происхождения, включающий экстракцию общих липидов смесью хлороформа и метанола, отделение нелипидных примесей промывкой экстракта, перерастворение общих липидов и осаждение фосфолипидов.

Известны также способы получения индивидуальных фосфолипидов, используемых для изготовления липосомальных препаратов и биологически активных эмульсий в медицинской промышленности. Способ получения сфингомиелина, заключается в том, что мозг крупного рогатого скота очищают, порционно гомогенизируют в ацетоне, гомогенаты объединяют и центрифугируют. Осадок экстрагируют смесью петролейного эфира и этанола в соотношении 1:1. Полученный экстракт упаривают, гидролизуют 1 N раствором едкого кали в метаноле и хроматографируют на колонке с силикагелем. Способ получения фосфатидилэтаноламина, который выделяют из мозга крупного рогатого скота или яичного желтка, основан на экстракции суммарных фосфолипидов смесью хлороформа с метанолом, отделением водорастворимых примесей дистиллированной водой и удалением балластных липидов хлоридом кадмия с последующей хроматографической очисткой.

Фосфатидилсерин выделяют из мозга крупного рогатого скота. Метод выделения основан на экстракции сырья смесью хлороформа с метанолом и последующей очистке суммарного экстракта липидов осаждением солями тяжелых металлов с последующей очисткой. Наиболее близким к заявляемому изобретению по сути и совокупности признаков (прототипом) является способ получения комплекса фосфолипидов из сырья животного происхождения, включающий измельчение сырья, экстракцию общих липидов органическими растворителями, отделение нелипидных примесей путем промывки экстракта 0,1% раствором хлористого натрия, перерастворение общих липидов в органическом растворителе, осаждение фосфолипидов ацетоном. При этом экстракцию общих липидов проводят из промышленных отходов головоногих моллюсков, а в качестве органических растворителей для экстракции и перерастворения используют смесь хлороформа с метанолом, петролейный эфир или диэтиловый эфир,

Заявляемый способ предусматривает, что выделение комплекса общих липидов производится из тканей центральной нервной системы, которые относятся к препаратам животного происхождения и состоят на 80-85% из фосфолипидов и гликолипидов, остальное приходится на долю нейтральных липидов (глицеридов, стерина, углеводов). Способ включает очищение препарата от мозговых оболочек, последующее взвешивание, измельчение и гомогенизацию в ацетоне, 5-кратную экстракцию общих липидов смесью хлороформа с этиловым спиртом в соотношении 2:1, отделение нелипидных примесей промывкой экстракта 0,7% раствором хлористого кальция в делительной колонке. Верхнюю фазу образовавшейся 2-х фазной системы сливают, нижнюю фазу фильтруют и упаривают досуха. Полученный сухой остаток общих липидов взвешивают и определяют процентное содержание комплекса общих липидов в препарате по формуле $\frac{в}{а} \cdot 100\%$, где «в» – вес сухого остатка общих липидов, «а» – вес исходного препарата.

Данный способ предполагает упрощение технологического процесса, повышение безопасности способа, его экономическую целесообразность.

В настоящей работе в качестве исследуемого материала использовался препарат мозжечка мужчины 65 лет, включающий окологервячную зону с зубчатым ядром и другими подкорковыми ядрами, часть белой субстанции мозжечка без примеси серого вещества и препарат коркового слоя (рис. 1)

Вес зубчатого ядра и других ядер окологервячной зоны составил 3,8 г. Препараты белого вещества и коркового слоя также взяты в количестве 3,8 г.

Препараты измельчают и проводят фиксацию с одновременной гомогенизацией в ацетоне 3-5 мин. при комнатной температуре из расчета 4 мл ацетона на 1 г ткани.

1. Осадок отделяют фильтрованием и заливают 5-ю объемами смеси хлороформа с этиловым спиртом при соотношении 2:1, интенсивно перемешивают и оставляют на 2-3 часа для экстракции, постоянно перемешивая, после чего фильтруют.
2. Фильтрат помещают в холодильник при t 1-3 градуса, а осадок вновь 4-кратно экстрагируют вышеуказанным способом.
3. Объединяют полученные экстракты вместе и промывают 0,7% раствором хлористого кальция в объеме 0,2-0,3 от общего объема экстракта в делительной колонке для отделения нелипидных примесей. Смесью интенсивно перемешивают и отстаивают 16-18 час. в холодильнике при t 1-3 градуса для разделения фаз и получения 2-х фазной системы (Рис. 2).
4. Отделяют нижнюю фазу, верхнюю фазу сливают. Нижнюю фазу фильтруют и упаривают досуха. Сухой остаток представляет собой комплекс общих липидов состоящий

из 80-85% фосфолипидов и гликолипидов, остальное приходится на долю нейтральных липидов с незначительной примесью белков.

5. Проводят взвешивание сухого остатка и вычисляют процентное содержание комплекса общих липидов по формуле $v/a*100\%$, где «в» – вес сухого остатка, «а» – вес исходного препарата (Рис.3).

Сухой остаток общих липидов после взвешивания сохраняют перерастворением в хлороформе.

В ходе исследования определялся вес сухого остатка околочервячной зоны с зубчатым ядром, который составил 0,85 г. откуда по формуле $v/a*100\%$, получаем: $0,85/3,8*100\%=22,4\%$

Вес сухого остатка комплекса общих липидов коркового слоя составил 0,6 г, откуда по формуле вычисляем: $0,6/3,8*100\%=16\%$

Вес сухого остатка белого вещества мозжечка составил 1,4 г. откуда по формуле получаем $1,4/3,8*100\%=36,8\%$

Из полученных результатов можно заключить, что количество липидных компонентов белой субстанции мозжечка превосходит количество суммарных липидов околочервячной зоны с зубчатым ядром в 1,6 раза, а количество суммарных липидов коркового слоя в 2,3 раза.



Рис. 1. Мозжечок мужчины 65 лет. Срез в горизонтальной проекции. Показаны кора полушарий, белое вещество, ядра мозжечка.



Рис. 2. Разделение фаз в делительной колонке для отделения нелипидных примесей.



Рис. 3. Сухие остатки комплекса общих липидов в исследуемых препаратах.