

## Состояние митохондрий в клетках Пуркинье мозжечка крысы при холестазе

С.В. Емельянчик<sup>1</sup>, О.А. Карнюшко<sup>2</sup>, С.М. Зиматкин<sup>2</sup>

<sup>1</sup> УО «Гродненский государственный университет имени Я. Купалы», Гродно, Беларусь

<sup>2</sup> УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

*Цель исследования* – комплексом методов (гистохимия, электронная микроскопия, иммуногистохимия) оценить состояние энергетического аппарата клеток Пуркинье мозжечка крыс при экспериментальном холестазе.

*Материалы и методы.* Эксперимент выполнен на 108 белых крысах-самцах массой 200–250 граммов. В контрольной группе проводили ложную операцию (сохранялся физиологический отток желчи в 12-перстную кишку), в экспериментальной перевязывали общий желчный проток с последующей перерезкой между двумя лигатурами. Кору мозжечка исследовали на 2-, 5-, 10-, 20-, 45- и 90-е сутки эксперимента. Клетки Пуркинье мозжечка изучали гистологически, гистохимически, электронномикроскопически и иммуногистохимически.

*Результаты.* Установлено, что после перевязки общего желчного протока в клетках Пуркинье мозжечка активность маркерных ферментов митохондрий сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и дегидрогеназы восстановленного НАД (НАДН-ДГ) снижается умеренно на 5-е сутки, максимальное снижение отмечается на 10-е сутки. В клетках Пуркинье мозжечка на 10-е сутки опыта определены митохондрии с разрушенными кристами, просветленным матриксом, появляются гигантские формы. При этом иммунореактивность АТФ-синтазы увеличивается на 2-е сутки, затем происходит уменьшение на 5-е сутки с максимумом на 10-е сутки и на 20-е сутки – умеренное уменьшение. На 45-е и 90-е сутки у выживших животных отмечается постепенная нормализация всех изученных параметров.

*Заключение.* После перевязки общего желчного протока в клетках Пуркинье мозжечка у крыс происходит значительное нарушение энергетических процессов.

**Ключевые слова:** СДГ, НАДН-ДГ, митохондрии, АТФ-синтаза, мозжечок, холестаз, крысы

*Для корреспонденции:* Ольга Анатольевна Карнюшко. E-mail: karnyushko-olga@mail.ru

*Для цитирования:* С.В. Емельянчик, О.А. Карнюшко, С.М. Зиматкин. Состояние митохондрий в клетках Пуркинье мозжечка крысы при холестазе. Клини. эксп. морфология. 2019; 8(2): 41-47. DOI: 10.31088/2226-5988-2019-30-2-41-47

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 18.03.2019. Статья принята в печать 04.06.2019

## The state of mitochondria in cerebellum Purkinje cells of rats with cholestasis

S.V. Emelyanchik<sup>1</sup>, O.A. Karnyushko<sup>2</sup>, S.M. Zimatkin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

<sup>2</sup> Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

*Objective* – complex methods (histochemistry, electron microscopy, immunohistochemistry) to study the state of the energy apparatus in cerebellum Purkinje cells of rat with experimental cholestasis.

*Materials and methods.* The research was performed on 108 white male rats weighing 200–250 g. In experimental animals the common bile duct ligation (the physiological outflow of bile into the duodenum was stopped), in control – false surgery. The cerebellum samples were examined at 2, 5, 10, 20, 45, and 90 days after operation. The cerebellum Purkinje cells were investigated histochemically, electron microscopically and immunohistochemically.

*Results.* It was established that after ligation of the common bile duct in cerebellum Purkinje cells the activity of the markers enzymes of mitochondria, succinate dehydrogenase (SDH) and dehydrogenase of reduced NAD (NADH-DG), decreases moderately on the fifth day, the maximum decrease – on the 10th day. On the 10th day of the experiment, mitochondria with destroyed crosses, enlightened matrix, appear in the cerebellum Purkinje cells. At the same time, the immunoreactivity of ATP synthase increases on the second day, then a decrease on

the fifth day, with a maximum on the 10th day and on the 20th day a moderate decrease. In survived animals at the 45 – 90 days after operation all parameters studied were recovered.

**Conclusions.** Thus, after ligation of the common bile duct in rats, in cerebellum Purkinje cells took place a disturbances of energy processes.

**Key words:** SDH, NADH-DG, mitochondria, ATP synthase, cerebellum, cholestasis, rats

**Corresponding author:** Olga A. Karnyushko. E-mail: karnyushko-olga@mail.ru

**For citation:** S.V. Emelyanchik, O.A. Karnyushko, S.M. Zimatkin. The state of mitochondria in cerebellum Purkinje cells of rats with cholestasis. Clin. exp. morphology. (In Russ.). 2019; 8(2): 41-7. DOI: 10.31088/2226-5988-2019-30-2-41-47

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 18.03.2019. **Accepted** 04.06.2019

Холестаз (застой желчи, нарушение ее оттока из печени в 12-перстную кишку) является частым осложнением болезней печени и желчевыводящих путей. В наших предыдущих экспериментальных исследованиях показано, что холестаз приводит к печеночной энцефалопатии, значительным гистологическим, гистохимическим и ультраструктурным нарушениям в нейронах коры мозга и мозжечка, гибели некоторых из них [1–4]. При этом наиболее уязвимыми для повреждения от холестаза оказались клетки Пуркинье мозжечка. Известно, что нейроны являются сильно энергозависимыми клетками, поэтому для поддержания высокого уровня функционирования и гомеостаза необходимо нормальное состояние их митохондрий. Дисфункция митохондрий лежит в основе многих неврологических и нейродегенеративных заболеваний [5–8]. При холестазе увеличивается содержание билирубина и холестерина в крови, что и может приводить к митохондриальной дисфункции в нейронах мозга. Маркерным ферментом митохондрий является сукцинатдегидрогеназа – ферментный комплекс, построенный из четырех субъединиц белка (SDHA, SDHB, SDHC и SDHD), гены которых расположены в ядерной ДНК клетки. Этот фермент выступает как компонент цикла трикарбоновой кислоты, окисляя сукцинат до фумарата и убихинон до убихинола в транспортной цепи митохондрий. Другой маркерный фермент митохондрий – дегидрогеназа восстановленного НАД (НАДН-ДГ), участвующая в транспорте электронов. Одним из чувствительных иммуногистохимических маркеров деятельности митохондрий является белок АТФ-синтаза – комплекса V, образующего АТФ из АДФ и расположенного на кристах внутренней мембраны митохондрий. В связи с изложенным выше представляло интерес комплексное гистохимическое, иммуногистохимическое и электронномикроскопическое исследование митохондрий в клетках Пуркинье мозжечка при экспериментальном холестазе.

**Цель исследования** – комплексом методов (гистохимия, иммуногистохимия, электронная микроскопия) оценить состояние митохондрий в клетках Пуркинье мозжечка при экспериментальном холестазе у крыс.

## Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 108 беспородных белых крысах-самцах массой 200–250 граммов. На проведение данных исследований получено разрешение этического комитета Гродненского государственного медицинского университета (протокол № 1 от 11.01.2017). Животных содержали в стандартных условиях вивария. Крысам опытной группы под ингаляционным эфирным наркозом проводили перевязку общего желчного протока (ОЖП) на 3–5 мм ниже слияния долевых протоков двумя лигатурами с последующим пересечением между ними [1]. Крысам контрольной группы проводили лапаротомию без перевязки ОЖП. Спустя 2, 5, 10, 20, 45 и 90 суток в утренние часы (для синхронизации по времени) животных выводили из эксперимента декапитацией. Участки коры мозжечка животных экспериментальной и контрольной групп обрабатывали параллельно и в одинаковых условиях для получения сопоставимых результатов.

Для гистохимического исследования кусочки мозжечка замораживали и хранили в жидком азоте, кусочки мозжечка опытных и контрольных животных монтировали одним блоком, криостатные срезы обрабатывали для выявления оксидоредуктаз, связанных с циклом Кребса, – сукцинатдегидрогеназы (СДГ; сукцинат: акцептор – оксидоредуктаза; КФ 1.3.99.1) по M. Nachlas et al., и с транспортом электронов – дегидрогеназы восстановленного НАД (НАДН-ДГ; НАДН: акцептор – оксидоредуктаза; КФ 1.6.99.3) по M. Nachlas, D. Walker, A. Seligman [9]. Затем заключали в глицерин-желатину.

Для иммуногистохимического исследования кусочки мозжечка фиксировали в цинк-этанол-формальдегиде при +4°C в течение 20 часов, а затем заключали в парафин. Стандартные парафиновые срезы толщиной 7 мкм готовили с помощью микротомы (Leica RM 2125 RTS, Германия). Срезы мозжечка опытных и контрольных животных одного срока монтировали на предметные стекла единым блоком. Для иммуногистохимического выявления АТФ-синтазы применяли первичные моноклональные мышинные антитела Anti-ATP5A antibody фирмы Abcam (Великобритания, ab. 14748) в разведении 1:2400 (выбрано как оптимальное из ряда разведений 1:200–1:3000

в предварительном исследовании) при +4°C, экспозиция 20 часов, во влажной камере. Для выявления связавшихся первичных антител использовали набор EXPOSE Mouse and Rabbit specific HRP/DAB detection IHC kit Abcam (Великобритания, ab. 80436). Негативным контролем служили срезы, при обработке которых не использовали первичные антитела.

Визуальное исследование, микрофотографирование и морфометрию гистохимических и иммуногистохимических препаратов проводили при помощи микроскопа Axioskop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры Leica DFC320 (Германия) и программы компьютерного анализа изображения Image Warp (Bit Flow, США).

Для электронномикроскопического исследования материал от животных опытной и контрольной групп фиксировали в течение 2 часов при +4°C в двух порциях 1% раствора четырехоксида осмия ( $OsO_4$ ) на 0,1M буфере Миллонига (pH 7,4). Затем промывали в растворе буфера Миллонига (20 мл) + сахарозы (900 мг), обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (50% и 70%), смеси спирта и ацетона, ацетоне, проводили через смесь смол (аралдит М + аралдит Н + дибутилфталат + ДМР-30) и ацетона и заливали в эту смесь. Срезы готовили с помощью ультратома MT-7000 (США). Изучение и микрофотографирование препаратов проводили при помощи электронного микроскопа JEM 100СХ II (JEOL, Япония) в Центре электронной микроскопии Института физиологии НАН Беларуси. Морфометрию митохондрий проводили по методу Морозова [10].

Полученные результаты обрабатывали методом 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). Сравнение групп по одному признаку проводили с помощью критерия Манна–Уитни для независимых выборок (Mann-Whitney U-test). Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ( $p < 0,05$ ).

### Результаты исследования

**Гистохимия.** Активность маркерных ферментов митохондрий СДГ и НАДН-ДГ в клетках Пуркинье мозжечка выявляется по темно-синему осадку продукта гистохимической реакции диформаза (рис. 1, 2). Через 2 суток холестаза активность изученных ферментов не меняется, после 5 суток происходит снижение активности в клетках Пуркинье: СДГ – на 2,4% и НАДН-ДГ – на 8,3%. На 10-е сутки холестаза отмечено дальнейшее снижение активности СДГ на 24% и НАДН-ДГ на 17% по сравнению с контролем (рис. 1, 2). Через 20 суток активность ферментов оставалась значительно сниженной: для СДГ – на 24% и для НАДН-ДГ – на 11%. Спустя 45 суток активность СДГ в клетках Пуркинье повышалась на 6%, НАДН-ДГ не отличалась от контроля, а через 90 суток происходила нормализация активности обоих ферментов (табл. 1).

**Иммуногистохимия.** В клетках Пуркинье мозжечка иммунореактивность АТФ-синтазы выявляется в виде мелких и средних размеров гранул темно-коричневого цвета, относительно гомогенно расположенных в цитоплазме. При этом ядра клеток Пуркинье иммунонегативны (рис. 3). После двух суток холестаза происходит временное увеличение иммунореактивности АТФ-синтазы в клетках Пуркинье на 4%, после пяти

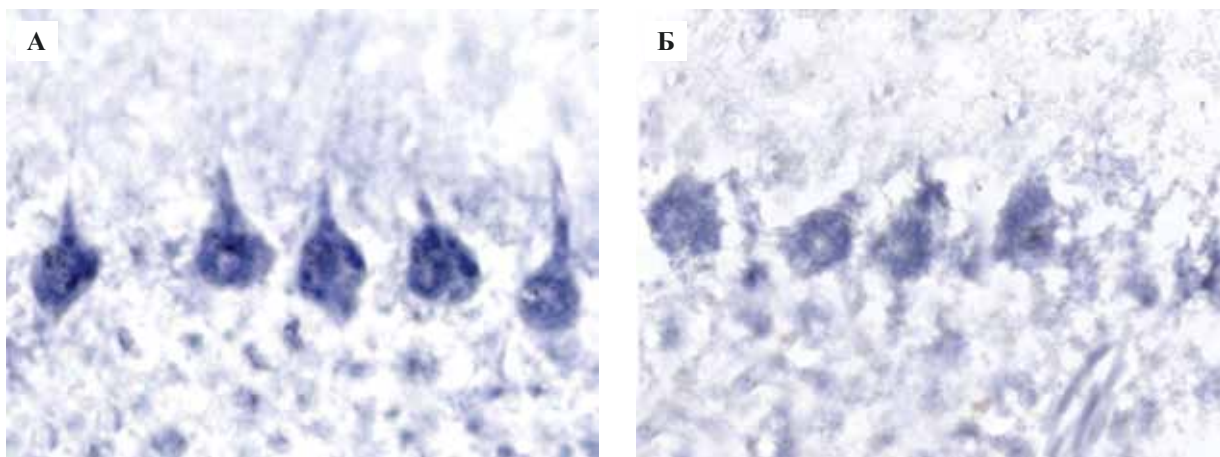


Рис. 1. Активность СДГ в клетках Пуркинье мозжечка крыс.

А – контроль (10 суток после ложной операции), уменьшение в опыте, Б – 10 суток холестаза. Окраска по методу Нахласа и соавт.,  $\times 300$

Fig. 1. SDH activity in Purkinje cells of the rat cerebellum.

А – control group (10 days after false surgery), B – decrease during experience (10 days of cholestasis). Stain by Nahlas et al. method,  $\times 300$

**Активность СДГ и НАДН-ДГ в перикарионах клеток Пуркинье мозжечка крыс в различные сроки после перевязки общего желчного протока (ед.×10<sup>3</sup>) (Me±IQR)**  
**The activity of SDH and NADH-DG in the Purkinje cell perikaryon in rat cerebellum at various times after common bile duct ligation (units × 10<sup>3</sup>) (Me ± IQR)**

Сутки	Группа	СДГ	НАДН-ДГ
2-е	контроль	457,58±36,09	611,65±30,05
	опыт	438,53±58,73	581,12±78,47
5-е	контроль	442,83±21,13	600,20±29,25
	опыт	432,20±71,11 * ↓	550,47±27,31 * ↓
10-е	контроль	457,32±27,71	587,04±36,67
	опыт	345,17±94,65 ** ↓	484,50±011,15 ** ↓
20-е	контроль	450,20±9,61	656,53±26,55
	опыт	342,92±69,27 ** ↓	583,74±29,92 ** ↓
45-е	контроль	454,76±38,93	601,16±34,96
	опыт	480,54±13,15 * ↑	578,87±74,40
90-е	контроль	448,66±34,42	604,56±15,93
	опыт	469,51±10,09	612,56±32,70

\* – p<0,05; \*\* – p<0,01 по сравнению с контролем: стрелками показаны направления изменений

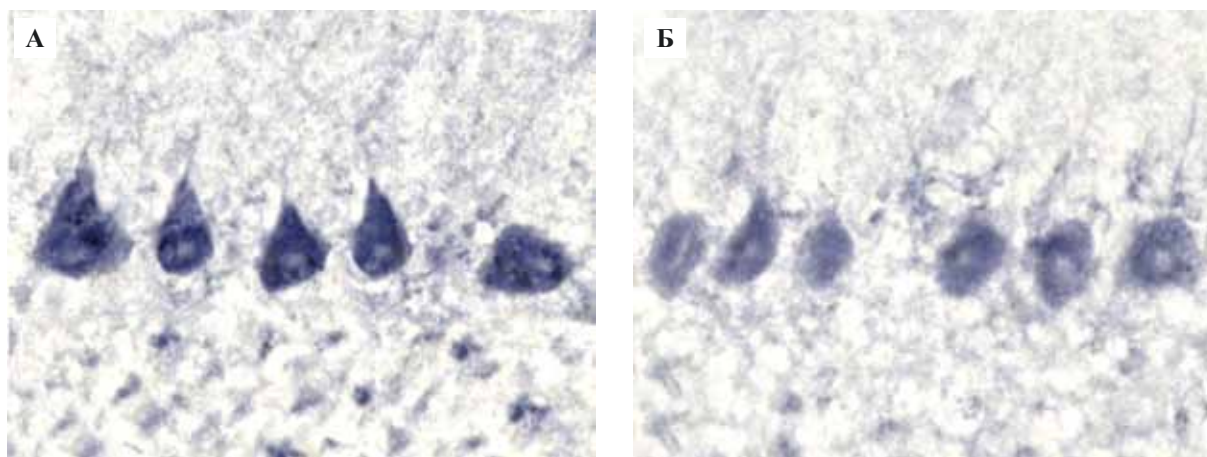


Рис. 2. Активность НАДН-ДГ в клетках Пуркинье мозжечка крыс.

А – контроль (10 суток после ложной операции), уменьшение ее в опыте, Б – 10 суток холестаза. Окраска по Нахласу, Уокеру, Зелигману, ×300

Fig. 2. NADH-DG activity in Purkinje cells of the rat cerebellum.

А – control (10 days after false surgery), B – decrease during experience (10 days of cholestasis). Stain by Nahlas, Walker, Zeligman, ×300

суток холестаза – снижение на 17%, а после 10 суток – на 27% (рис. 3, 4). После 20 суток холестаза сохраняется достоверное снижение иммунореактивности на 9,6%. Спустя 45 и 90 суток после перевязки/перерезки общего желчного протока иммунореактивность АТФ-синтазы в клетках Пуркинье нормализуется (рис. 4).

**Электронная микроскопия.** Спустя 10 суток холестаза практически во всех клетках Пуркинье наблю-

даются деструктивные (дегенеративные) изменения: от умеренных до тяжелых – сморщивание нейронов и появление клеток-теней. Матрикс многих митохондрий набухший (с просветлением), кристы и наружная мембрана частично или полностью разрушены. Иногда митохондрии имеют контакты с ядерной оболочкой клетки. Количество органелл на единицу площади цитоплазмы клеток Пуркинье и площадь митохондрий

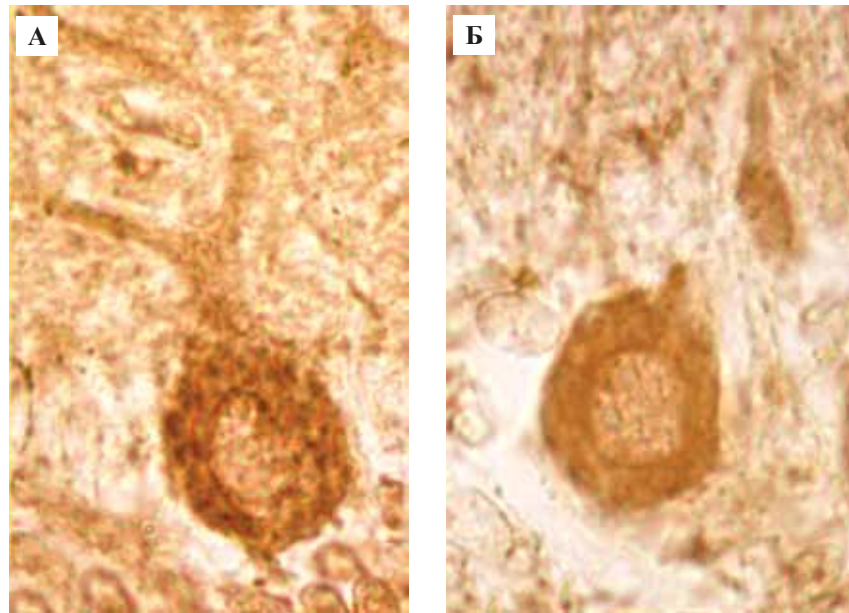


Рис. 3. Иммунореактивность АТФ-синтазы в клетках Пуркинью мозжечка крысы. А – контроль (10 суток после ложной операции) и уменьшение ее в опыте, Б – (10 суток холестаза). Иммуногистохимическая реакция на АТФ-синтазу,  $\times 800$   
 Fig. 3. ATP synthase immunoreactivity in Purkinje cells of the rat cerebellum.  
 A – in the control group (10 days after false surgery), B – decrease in the experiment (10 days of cholestasis). ATP synthase immunohistochemical reaction,  $\times 800$

уменьшаются – на 32% и 44%, соответственно. Степень набухания увеличивается на 29%, коэффициент фрагментации крист – на 31% (рис. 5, табл. 2).

### Обсуждение

Снижение активности маркерных ферментов митохондрий – СДГ и НАДН-ДГ – в перикарионах клеток Пуркинью мозжечка после перевязки/перерезки ОЖП

с 5-х суток (с максимумом на 10-е сутки) свидетельствует об угнетении функциональной активности митохондрий. Временное повышение иммунореактивности АТФ-синтазы в клетках Пуркинью мозжечка на 2-е сутки холестаза можно рассматривать как компенсаторный механизм, направленный на адаптацию нейронов к холестазау. Но затем на 5-е, 10-е, 20-е сутки она значительно снижается, что отражает срыв адаптации и нарушение

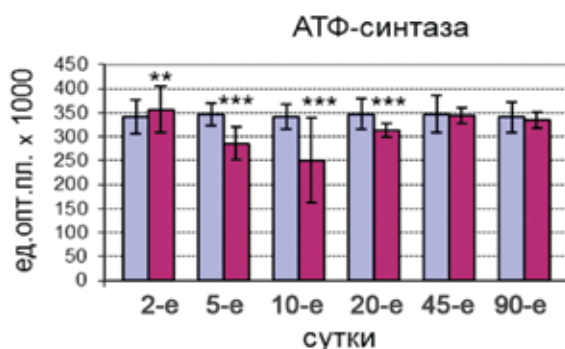


Рис. 4. Иммунореактивность АТФ-синтазы в клетках Пуркинью мозжечка контрольных крыс и в разные сроки после перевязки общего желчного протока (ед. $\times 10^3$ ) (Me $\pm$ IQR)  
 \*\*\* –  $p < 0,001$  по сравнению с контролем; \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с контролем

Fig. 4. ATP synthase immunoreactivity in Purkinje cells of the rat cerebellum in control group and at various times after the common bile duct ligation (units  $\times 10^3$ ) (Me  $\pm$  IQR)  
 \*\*\* –  $p < 0,001$  compared to the control; \*\* –  $p < 0,01$  compared to the control

Таблица 2 / Table 2

Показатели ультрамикроскопической морфометрии митохондрий клеток Пуркинью коры мозжечка крыс после десяти суток холестаза (Me $\pm$ IQR)  
 Ultramicroscopic morphometry indicators of Purkinje cell mitochondria in the cerebellar cortex in rat after 10 days of cholestasis (Me  $\pm$  IQR)

Показатель	Контроль (n=5)	Опыт (n=5)
Число митохондрий, в 1 мкм <sup>2</sup>	0,072 $\pm$ 0,014	0,049 $\pm$ 0,007 * ↓
Площадь митохондрии, мкм <sup>2</sup>	5,73 $\pm$ 0,590	3,226 $\pm$ 0,492 ** ↓
Степень набухания, усл. ед.	1,083 $\pm$ 0,038	1,40 $\pm$ 0,20 ** ↑
Коэффициент фрагментации крист, усл. ед.	0,712 $\pm$ 0,117	0,938 $\pm$ 0,125 * ↑

\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  по сравнению с контролем; стрелками показано направление изменений

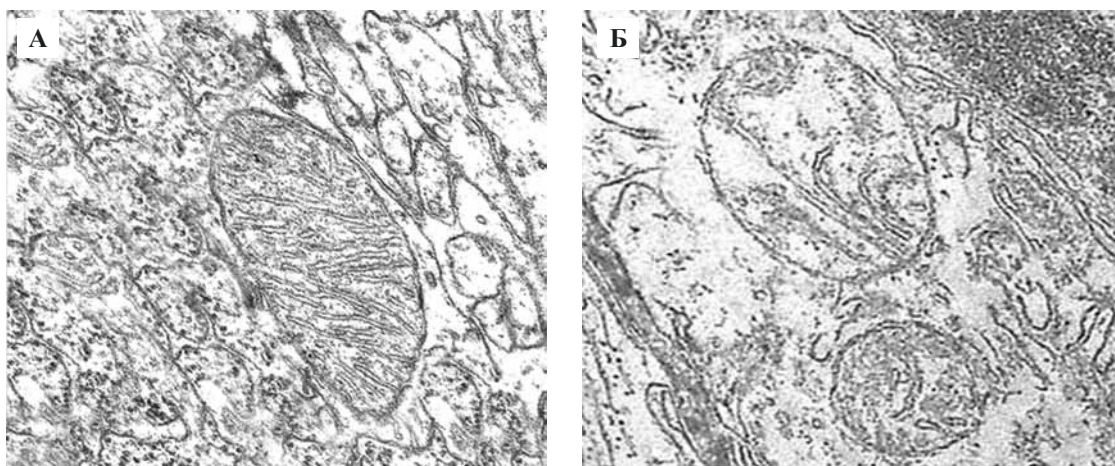


Рис. 5. Митохондрии клеток Пуркинью мозжечка.

А – контроль (10 суток после ложной операции), Б – холестаз 10 суток; митохондрии набухшие, кристы разрушены. Электронная микрофотография,  $\times 10\,000$

Fig. 5. Mitochondria of Purkinje cerebellum cells.

A – control (10 days after false surgery), B – 10 days of cholestasis; mitochondria are swollen, cristae are destroyed. Electron micrograph,  $\times 10\,000$

энергетических процессов в клетке, приводящих к гибели части нейронов [2, 4]. Возможно, это обусловлено нарастанием содержания в крови и в мозге нейротоксических веществ (билирубина) и как следствие нарушением биологических [11], в частности митохондриальных, мембран [6]. Это подтверждается и нашими электронно-микроскопическими данными о нарушении целостности митохондрий, их набухании с просветлением матрикса, разрушении крист и мембран оболочки митохондрий в цитоплазме клеток Пуркинью спустя 10 суток холестаза. Иногда встречаются гигантские митохондрии, что считают приспособительным явлением с целью восстановления энергетических возможностей клетки при массовом разрушении митохондрий [12].

Выявленные нарушения митохондрий коррелируют с деструктивными процессами в нервных клетках, включая клетки Пуркинью мозжечка, описанными нами ранее [2–4]. Они появляются на 2-е сутки и достигают максимума на 10–20-е сутки опыта. В отдаленные сроки (45 и 90 суток) у выживших животных происходит нормализация структурных и метаболических показателей нейронов, возможно, обусловленная восстановлением оттока желчи в результате прорастания обходных желчевыводящих путей и устранения холестаза [1].

Нейроны энергозависимы, поэтому выявленные нарушения митохондрий могут приводить к неврологическим и нейродегенеративным нарушениям в мозге и гибели нейронов [5]. Возможно, что описанные в клинике у пациентов с холестатическими состояниями двигательные расстройства связаны с нарушениями именно клеток Пуркинью мозжечка [13].

### Заключение

1. После перевязки/перерезки общего желчного протока у крыс активность маркерных ферментов

митохондрий СДГ и НАДН-ДГ в клетках Пуркинью мозжечка снижается на 5-е и особенно на 10-е сутки, а затем, на 20–90-е сутки, постепенно нормализуется.

2. Иммунореактивность белка АТФ-синтазы в клетках Пуркинью мозжечка крыс несколько увеличивается на 2-е сутки холестаза, затем на 5–20-е сутки происходит ее уменьшение (с минимумом на 10-е сутки), а на 45–90-е сутки она постепенно нормализуется.

3. Через 10 суток холестаза электронномикроскопически в клетках Пуркинью мозжечка уменьшаются число и размеры митохондрий, происходят просветление матрикса, разрушение и фрагментация их крист.

4. В совокупности полученные данные указывают на нарушения энергетического аппарата клеток Пуркинью мозжечка при холестазе у крыс.

### Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования – С.М.З., С.В.Е.

Сбор и обработка материала – О.А.К., С.В.Е.

Статистическая обработка данных – С.В.Е.

Написание текста – С.М.З.

Редактирование – С.М.З., О.А.К.

### Литература/References

1. Емельяничук С.В., Зиматкин С.М. К моделированию подпеченочного холестаза у крыс. *Новости медико-биологических наук.* 2018;17(2):56–61 [Emel'yanchik S.V., Zimatkin S.M. To modeling of subhepatic cholestasis in rats. *Novosti med-biol. nauk.* 2018;17(2):56–61 (In Russ.).]
2. Емельяничук С.В., Зиматкин С.М. Мозг при холестазе. Гродно: ГрГУ, 2011. 265 с. [Emel'yanchik S.V., Zimatkin S.M. Brain after cholestasis. Grodno: GrGU, 2011. 265 p. (In Russ.).]
3. Емельяничук С.В., Зиматкин С.М. Нарушения в мозге при холестазе и пути коррекции. Гродно: ГрГМУ, 2016. 224 с. [Emel'yanchik S.V., Zimatkin S.M. Disturbances in the brain

- with cholestasis and ways of correction. Grodno: GrGMU, 2016. 224 p. (In Russ.).
4. Емельянчик С.В., Зиматкин С.М. Структурные и гистохимические изменения в клетках Пуркинье мозжечка крыс при холестазах. *Морфология*. 2013;143(2):19–23 [Emel'yanchik S.V., Zimatkin S.M. Structural and histochemical changes in the rat cerebellum Purkinje cells after cholestasis. *Morfologiya*. 2013;143(2):19–23 (In Russ.)].
  5. Desai R, Frazier AE, Durigon R, Patel H, Jones AW, Dalla Rosa I et al. ATAD3 gene cluster deletions cause cerebellar dysfunction associated with altered mitochondrial DNA and cholesterol metabolism. *Brain*. 2017;140(6):1595–610. doi:10.1093/brain/awx094.
  6. Dhanda S, Sunkaria A, Halder A, Sandhir R. Mitochondrial dysfunctions contribute to energy deficits in rodent model of hepatic encephalopathy. *Metabolic Brain Disease*. 2018;33(1):209–23. doi: 10.1007/s11011-017-0136-8.
  7. Galluzzi L, Blomgren K, Kroemer G. Mitochondrial membrane permeabilization in neuronal injury. *Nature Reviews Neuroscience*. 2009;10(7):481–94. doi: 10.1038/nrn2665.
  8. Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*. 2006; 443(7113):787–95. doi: 10.1038/nature05292.
  9. Пирс Э. Гистохимия: Теоретическая и прикладная. М.: Издательство иностранной литературы, 1962. 962 с. [Pierce A. *Histochemistry: Theoretical and applied*. Moscow: Izdatel'stvo inostrannoy literature, 1962. 962 p. (In Russ.)].
  10. Морозов И.А. Топографические особенности ультраструктуры обкладочных клеток слизистой оболочки желудка (морфометрическое исследование). *Бюллетень эксперим. биол. и мед.* 1976;82(11):1390–4 [Morozov I.A. Topographic features of the ultrastructure of the lining cells of the gastric mucosa (morphometric study). *Bulleten' jeksperim. biol. i med.* 1976;82(11):1390–4 (In Russ.)].
  11. Watchko JF. Bilirubin-induced neurotoxicity in the preterm neonate. *Clinics in Perinatology*. 2016;43(2):297–311. doi: 10.1016/j.clp.2016.01.007.
  12. Yue W, Chen Z, Liu H, Yan C, Chen M, Feng D et al. A small natural molecule promotes mitochondrial fusion through inhibition of the deubiquitinase USP30. *Cell Res*. 2014;24:482–96. doi: 10.1038/cr.2014.20.
  13. Bostan AC, Dum RP, Strick PL. Functional anatomy of basal ganglia circuits with the cerebral cortex and the cerebellum. *Prog. Neurol. Surg*. 2018;33:50–61. doi: 10.1159/000480748.

#### Информация об авторах/Author information

Сергей Владимирович Емельянчик – кандидат медицинских наук, доцент кафедры зоологии и физиологии человека и животных Гродненского государственного университета им. Я. Купалы.

Sergey V. Emelyanchik – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Zoology and Human and Animal Physiology, Yanka Kupala State University of Grodno.

<https://orcid.org/0000-0003-2408-6729>.

Ольга Анатольевна Карнюшко – кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета.

Olga Anatolyevna Karnyushko – Candidate of Biological Sciences, Senior Lecturer, Department of Histology, Cytology and Embryology of Grodno State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0003-2309-1542>.

Сергей Михайлович Зиматкин – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии Гродненского государственного медицинского университета.

Sergey Mikhailovich Zimatkin – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Histology, Cytology and Embryology of Grodno State Medical University.

<https://orcid.org/0000-0001-5728-2588>.