

УДК 616.37-008.64:616.831-005.1-091

Т.М.Бойчук, Т.П.Савчук

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

УЛЬТРАСТРУКТУРНИЙ СТАН ЛІМБІКО-ГІПОТАЛАМІЧНИХ СТРУКТУР МОЗКУ ЩУРІВ З УСКЛАДНЕННЯМ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ ГОСТРИМ ПОРУШЕННЯМ КРОВООБІГУ В БАСЕЙНІ СОННИХ АРТЕРІЙ

Резюме. Установлено, що ускладнення експериментального цукрового діабету каротидною ішемією-реперфузією суттєво поглиблює зміни структурних компонентів нейронів та перикапілярних просторів у лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку.

Ключові слова: головний мозок, цукровий діабет, двобічна каротидна ішемія-реперфузія, електронна мікроскопія, експеримент.

За даними літератури, ранні патоморфологічні зміни, які виникають при ішемії-реперфузії головного мозку, можна розцінювати такими, що визначають шляхи подальшої загибелі структурних компонентів сірої речовини [1-3]. Зміни білоксинтезувальної системи нейронів і гліоцитів відбуваються в перші хвилини розвитку ішемії, а ступінь їх вираження пропорційний тривалості останньої [4]. Найвразливішими до ішемічних ушкоджень є ядра клітин, в яких уже при 5-хвилинній ішемії відбувається конденсація хроматину та ущільнення ядерця [2, 4]. Показано, що 20-хвилинна ішемія призводить до вираженого набухання ядер і цитоплазми ендотеліоцитів, ущільнення ядерця, агрегації хроматину, зменшення кількості рибосом і цистерн ендоплазматичної сітки, що пов'язують з розвитком ацидозу [2, 5, 6]. Отже, морфологічні зміни та їх динаміка в тканині мозку при її ішемічно-реперфузійних пошкодженнях вивчена достатньо добре, однак існує низка фонових захворювань, які можуть значно ускладнювати перебіг останніх. До таких фонових станів відноситься цукровий діабет (ЦД), який значно обтяжує наслідки ішемії-реперфузії мозку та підвищує рівень смертності у хворих з даним ускладненням.

Існуючі дослідження морфологічних критеріїв ушкодження мозку за умов поєднання ЦД та

ішемії-реперфузії стосуються традиційно найбільш чутливих його відділів – гіпокампа та нової кори [5, 6], а підкіркові утворення залишаються поза увагою дослідників. Між тим, лімбіко-гіпоталамічні структури мозку посідають центральне місце в системі стрес-реактивності, яка реагує на такі потужні стресори, як ішемія та ЦД. Крім того, є дані, що окремі ядра гіпоталамуса та чинники, які тут продукуються, регулюють чутливість до ішемії всього мозку [7-9]. Ці факти передбачають активну участь лімбіко-гіпоталамічних структур у перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку на тлі ЦД.

Мета дослідження: вивчити ультраструктурний стан тканин гіпоталамуса та лімбічних структур головного мозку при двобічній каротидній ішемії-реперфузії у щурів на тлі ЦД.

Матеріал і методи. У 5-місячних білих нелінійних щурів-самців контрольної групи та з ЦД (тривалістю 3 місяці) моделювали неповну глобальну ішемію-реперфузію головного мозку 20-хвилинним кліпсуванням сонних артерій, після чого протягом години здійснювали реперфузію [10]. ЦД відтворювали одноразовим внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг/кг) 2-місячним щурам [11]. Після декапітації забирали головний мозок, орієнтую-

чись на координати стереотаксичного атласу [11], виділяли блоки, що містили вентромедіальний гіпоталамус, преоптичну ділянку, перегородку мозку та мигдалеподібний комплекс ядер, фіксували їх у 2,5 % розчині глутаральдегіду (рН 7,3-7,4), через 60 хв переносили в буферний розчин на 20-30 хв і протягом години фіксували 1 % розчином чотирьохокисю осмію на буфері Міллонга. Після дегідратації в спиртах і ацетоні матеріал заливали в суміші епоксидних смол і аралдиту, виготовляли ультратонкі зрізи, фарбували їх 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю [12] та аналізували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К. Оперативні втручання та евтаназію проводили під внутрішньочеревинним наркозом (каліпсол, 75 мг/кг) згідно з Директивами ЄЕС № 609 від 24.11.86 та наказом МОЗ України № 690 від 23.09.09.

Результати дослідження. На рисунках 1, 2 показано субмікроскопічний стан нейронів вентромедіального гіпоталамуса та мигдалеподібного комплексу контрольних щурів. За умов експериментального ЦД в усіх досліджених структурах мозку субмікроскопічно виявлено багато нейроцитів у стані тигролізу, для яких характерна електроннопрозора нейроплазма з малою щільністю органел, що мають ознаки деструкції (рис. 3, 4). Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) нерівномірно розширені, частково фрагментовані. На їх мембранах мало рибосом і вільних полісом. Цистерни комплексу Гольджі потовщені, навколо них виявляють ся великі вакуолі і мало міхурців. Мітохондрій небагато, мітохондріальний матрикс світлий, наявна редукція частини крист. Ядра мають нерівні контури за рахунок інвагінацій каріолеми, каріоплазма світла, в

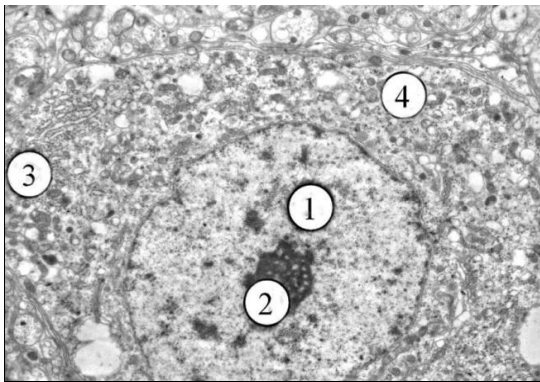


Рис. 1. Ультраструктура ядра і нейроплазми нейрона вентромедіального гіпоталамуса щура. Ядро (1) з великим ядерцем (2), каналці гранулярної ендоплазматичної сітки (3), секреторні гранули (4). Зб. 9000[×].

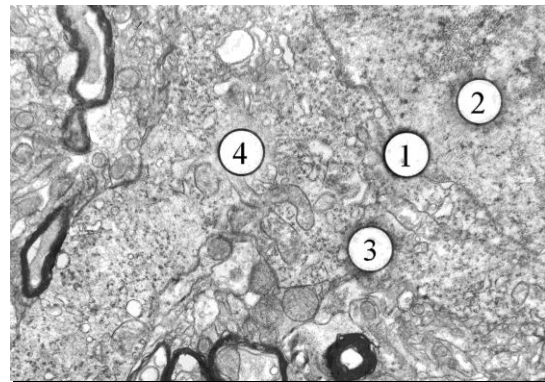


Рис. 2. Ультраструктура нейрона кортикомедіального ядра мигдалеподібного комплексу щура. Мембрана каріолеми (1), електроннопрозора каріоплазма (2), каналці гранулярної ендоплазматичної сітки (3), мітохондрії (4). Зб. 14000[×].

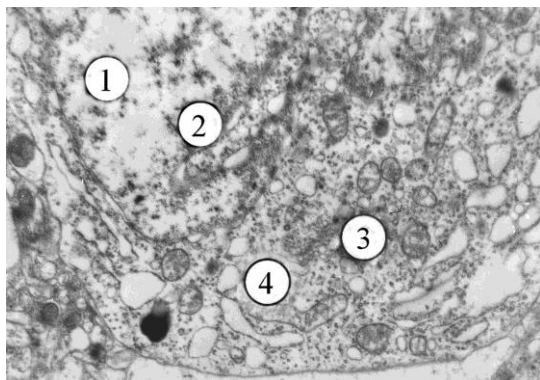


Рис. 3. Ультраструктурні зміни нейроцита вентромедіального гіпоталамуса щура при цукровому діабеті. Ядро зі світлою каріоплазмою (1) та інвагінаціями каріолеми (2), поодинокі секреторні гранули (3) в нейроплазмі, деструктивно змінені мітохондрії (4). Зб. 17000[×].

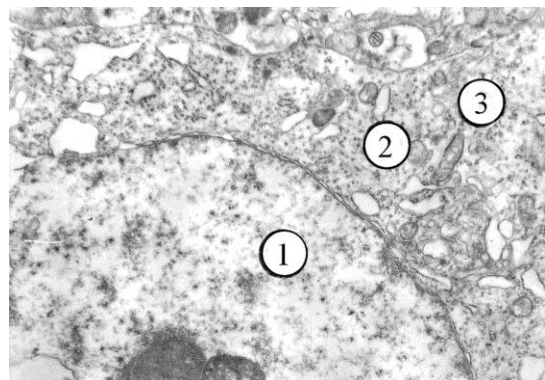


Рис. 4. Ультраструктурні зміни нейроцита кортикомедіального ядра мигдалеподібного комплексу при цукровому діабеті. Електроннопрозора каріоплазма ядра (1), деструктивно змінені органели (2) в нейроплазмі (3). Зб. 14000[×].

ній мало рибосомальних гранул, ядрця відсутні або невеликі.

Електронномікроскопічні дослідження лімбіко-гіпоталамічних структур за умов експериментальної ішемії-реперфузії виявили наявність нейронів та нейросекреторних клітин (у вентромедіальному гіпоталамусі) з осміюфільною каріоплазмою і нейроплазмою, зменшеними ядрами неправильної форми (рис. 5, 6). У каріоплазмі наявні інвагінації каріолеми, осміюфільні грудки конденсованого хроматину, ядрця відсутні, ядерні мембрани і ядерні пори нечіткі. У нейроплазмі мало секреторних гранул, каналці ГЕС нерівномірно потовщені, цистерни комплексу Гольджі фрагментовані. Мітохондрій мало, вони мають локально просвітлений матрикс, в таких ділянках кристи зруйновані. У нейроплазмі трапляються первинні

і вторинні лізосоми. Набряклі, світлі відростки астроцитів нейропіля розташовані близько від тіл нейронів. Електронномікроскопічні дослідження при поєднанні ЦД та каротидної ішемії-реперфузії встановили наявність значної осміюфільної каріо- і нейроплазми в більшості нейронів (рис. 7, 8). У нейроплазмі мало нейросекреторних гранул. Канальці ГЕС нерівномірно потовщені, частково фрагментовані. Цистерни і вакуолі комплексу Гольджі розширені, дезорганізовані. Наявні мітохондрії зі світлим матриксом, у них мало крист, є первинні і вторинні лізосоми. Неправильної форми ядра мають малу площу, нерівну каріолему, нерівномірно збільшені ділянки перинуклеарного простору. Нейросекреторні клітини оточені електроннопрозорими, розширеними ділянками цитоплазми гліальних клітин.

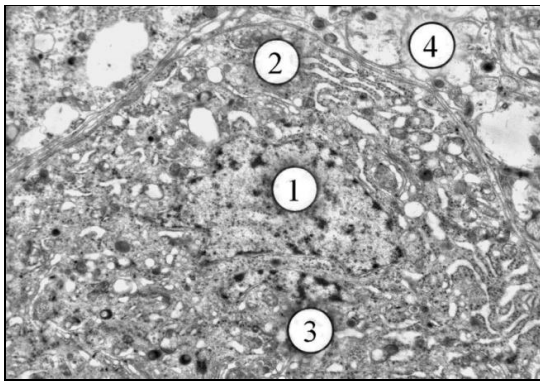


Рис. 5. Ультраструктура нейросекреторної клітини вентромедіального гіпоталамуса при ішемії-реперфузії. Грудки гетерохроматину в каріоплазмі (1), розширені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки (2), набряклі мітохондрії (3), змінений нейропіль (4). Зб. 10000^x.

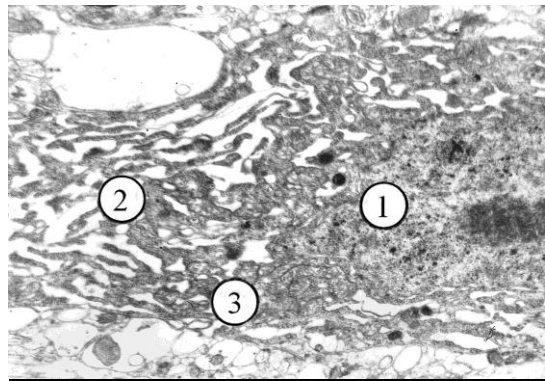


Рис. 6. Ультраструктура нейрона кортикомедіального ядра мигдалеподібного комплексу при ішемії-реперфузії. Осміюфільна каріоплазма (1), розширені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки (2), набряклі мітохондрії (3). Зб. 10000^x.

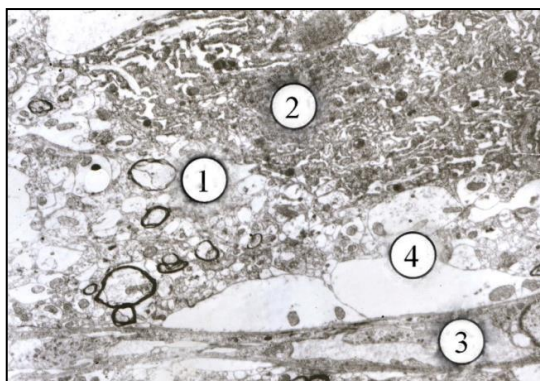


Рис. 7. Ультраструктура нейрона вентромедіального гіпоталамуса при поєднанні цукрового діабету та ішемії-реперфузії. Осміюфільна нейроплазма (1) і каріоплазма (2), гемокapіляр (3), світлі відростки глії (4). Зб. 6000^x.

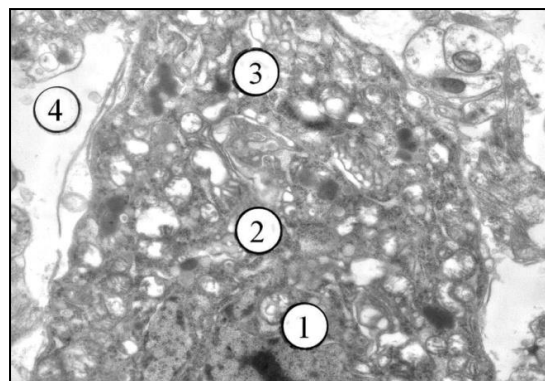


Рис. 8. Ультраструктура нейрона кортикомедіального ядра мигдалеподібного комплексу при поєднанні ЦД та ішемії-реперфузії. Осміюфільна каріоплазма (1) з хвилястою каріолемою (2), розширені каналці ГЕС (3), світлі відростки глії (4). Зб. 8000^x.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. Цукровий діабет та двобічне порушення каротидного кровообігу призводять до вагомих змін усіх структурних компонентів нейронів і зниження кількості клітинних органел, появи периваскулярного набряку. 2. Ускладнення ЦД ішемічно-реперфузійним ушкодженням мозку не

спричиняє якісно нових змін ультраструктури нейронів, проте значно поглиблює зміни, притаманні кожній експериментальній моделі, виконаній окремо. 3. З огляду на одержані результати доцільним вважаємо проведення порівняльного аналізу морфологічного стану нейронів та гліоцитів при зазначених експериментальних моделях.

Список використаної літератури

1. *Clinical and morphological correlations in acute ischemic stroke* / A.S.Slujitoru, A.L.Enache, I.L.Pintea [et al.] // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2012. – Vol. 53, № 4. – P. 917-926.
2. *Histopathological changes in acute ischemic stroke* / O.Mărgăritescu, L.Mogoantă, I.Pirici [et al.] // *Rom. J. Morphol. Embryol.* – 2009. – Vol. 50, № 3. – P. 327-339.
3. Mena H. *Human cerebral infarct: a proposed histopathologic classification based on 137 cases* / H.Mena, D.Cadavid, E.J.Rushing // *Acta Neuropathol.* – 2004. – Vol. 108, № 6. – P. 524-530.
4. *Neuroprotection by manganese superoxide dismutase (MnSOD) mimics: antioxidant effect and oxidative stress regulation in acute experimental stroke* / H.F.Huang, F.Guo, Y.Z.Cao [et al.] // *CNS Neurosci. Ther.* – 2012. – Vol. 18, № 10. – P. 811-818.
5. Ткачук С.С. *Морфологічні зміни кори лобової частки головного мозку за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії при експериментальному цукровому діабеті* / С.С.Ткачук, О.М.Леньков // *Клінічна анатомія та оперативна хірургія.* – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 102-107.
6. Ткачук С.С. *Ультраструктурні зміни тканини гіпокампа за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії при експериментальному цукровому діабеті в самців-цирків* / С.С.Ткачук, К.С.Волков, О.М.Леньков // *Здобутки клін. і експерим. мед.* – 2009. – № 2. – С. 73-77.
7. Brisson C.D. *A neuronal population in hypothalamus that dramatically resists acute ischemic injury compared to neocortex* / C.D.Brisson, R.D.Andrew // *J. Neurophysiol.* – 2012. – Vol. 108, № 2. – P. 419-430.
8. Harada S. *Orexin-A suppresses postischemic glucose intolerance and neuronal damage through hypothalamic brain-derived neurotrophic factor* / S.Harada, Y.Yamazaki, S.Tokuyama // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2013. – Vol. 344, № 1. – P. 276-285.
9. *Lateral hypothalamic area mediated the protective effects of microinjection of glutamate into interpositus nucleus on gastric ischemia-reperfusion injury in rats* / S.P.Zhu, S.J.Fei, J.F.Zhang [et al.] // *Neurosci Lett.* – 2012. – Vol. 525, № 1. – P. 39-43.
10. Скибо Г.Н. *Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга* / Г.Н.Скибо // *Патол.* – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 22-30.
11. König J.F. *The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem* / J.F.König, P.A.Klippel. – Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1963. – 162 p.
12. Reinolds E.S. *The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy* / E.S.Reinolds // *J. Cell. Biol.* – 1993. – Vol. 17. – P. 208-212.

УЛЬТРАСТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМБИКО-ГИПОТАЛАМИЧЕСКИХ СТРУКТУР МОЗГА КРЫС С ОСЛОЖНЕНИЕМ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО ДИАБЕТА ОСТРЫМ НАРУШЕНИЕМ КРОВООБРАЩЕНИЯ В БАСЕЙНЕ СОННЫХ АРТЕРИЙ
Резюме. Установлено, что осложнение экспериментального сахарного диабета каротидной ишемией-реперфузией существенно усугубляет изменения структурных компонентов нейронов и перикапиллярных пространств в лимбико-гипоталамических структурах мозга.

Ключевые слова: головной мозг, сахарный диабет, двусторонняя каротидная ишемия-реперфузия, электронная микроскопия, эксперимент.

ULTRASTRUCTURAL STATE OF THE BRAIN LIMBIC-HYPOTHALAMIC STRUCTURES OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS, COMPLICATED WITH ACUTE CIRCULATORY DISORDERS IN THE BASIN OF THE CAROTID ARTERIES

Abstract. It has been shown that experimental diabetes, complicated with carotid ischemia-reperfusion, significantly exacerbates changes of the structural components of neurocytes and the pericapillary spaces in the limbic-hypothalamic brain structures.

Key words: brain, diabetes mellitus, bilateral carotid ischemia-reperfusion, electron microscopy, experiment.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Надійшла 11.02.2013 р.
 Рецензент – проф. К.С.Волков (Тернопіль)