

УДК 616.37-008.64:616.831-005.1-091

С.С.Ткачук, О.В.Ткачук,
В.Ф.Мислицький, Т.І.Бойчук

Вищий державний навчальний заклад
України "Буковинський державний
медичний університет", м. Чернівці

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ПАМОРФОЛОГІЧНИХ НАСЛІДКІВ ІШЕМІЧНО-РЕПЕРFUZІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ НЕОКОРТЕКСА ДОРΟΣЛИХ І СТАРИХ ЩУРІВ

Ключові слова: двобічна каротидна ішемія-реперфузія, головний мозок, старі щури, патоморфологічні зміни.

Резюме. Двобічна каротидна ішемія-реперфузія призводить до змін форми, будови та вмісту нейроцитів і гліоцитів, перикапілярних просторів у структурах нової кори, суттєвіших у старих самців-щурів.

Вступ

Експериментальними та клінічними дослідженнями показано, що в процесі старіння звужується діапазон адаптаційних можливостей організму людини і тварин, знижується його стійкість до дії пошкоджувальних факторів, що зумовлює виникнення вікової патології [1, 9]. Найбільш значні зміни в старіючому організмі відбуваються в головному мозку, який із низки причин має особливо високу чутливість до гіпоксії навіть у молодому віці [1, 7]. При старінні збільшується ризик розвитку цереброваскулярної патології у зв'язку з віковими змінами в різних ланках системи регуляції церебральної та центральної гемодинаміки [3, 4], порушеннями гемодинаміки в різних судинах каротидного та вертебробазиллярного басейнів через зростання частоти їх стенозування внаслідок атеросклеротичних уражень [7, 11]. Крім того, цьому сприяють метаболічні зміни в нервовій тканині, які зумовлюють схильність до розвитку оксидативного стресу, порушення співвідношення гальмівних і збудливих амінокислот тощо [2, 5, 9]. Однак дані щодо реакції неокортекса старих тварин на ішемічно-реперфузійні впливи досі суперечливі, що свідчить про актуальність подібного наукового пошуку.

Мета дослідження

Здійснити порівняльний аналіз патоморфологічної реакції тканин кори лобової та потиличної часток головного мозку дорослих і старих самців-щурів на неповну глобальну ішемію-реперфузію.

Матеріал і методи

У дослідженнях використано п'яти- та 22-місячних білих нелінійних самців-щурів. Неповну глобальну ішемію-реперфузію головного мозку моделювали 20-хвилинним кліпсуванням обох загальних сонних артерій під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг внутрішньоочередно), реперфузію здійснювали впродовж однієї години [6]. Заби-

рали головний мозок, виділяли кору лобової (КЛЧ) та потиличної (КПЧ) часток орієнтуючись на координати стереотаксичного атласу [8]. Для світлооптичної мікроскопії забраний матеріал фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну й після відповідної гістологічної проводки заливали в парафін, робили гістологічні зрізи товщиною 10-15 мкм, зафарбовували їх толуїдиновим синім за методом Ніссля й вивчали за допомогою світлооптичного мікроскопа Биолам Ломо С11. Частину матеріалу з ідентичними структурами фіксували у 2,5 % розчині глутаральдегіду (рН 7,3-7,4), через 60 хв переносили в буферний розчин на 20-30 хв і протягом 1 год. фіксували 1 % розчином чотириокису осмію на буфері Міллонга. Після дегідратації в спиртах і ацетоні матеріал заливали в суміш епоксидних смол і аралдиту. За допомогою ультрамікротому УМППТ-7 виготовляли ультратонкі зрізи, забарвлювали їх 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю за методом Рейнольдса та аналізували за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К [10]. Вивчали вигляд, форму нейроцитів і гліоцитів, їх органел, здатність до зафарбовування.

Усі дослідження проводилися з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.

Обговорення результатів дослідження

При світлооптичній мікроскопії встановлено, що в КЛЧ і КПЧ дорослих контрольних щурів переважають нормохромні нейроцити. У пірамідних клітинах відносно рівномірно розташовані грудки базofil'ної речовини, ядра клітин округлої форми, світлі, пухирцевоподібні, з чітким ядерцем (рис.1). Субмікроскопічно більшість клітин мають електроннопрозорі ядра з чіткою каріолемою, вузьким, рівномірним перинуклеарним простором. Нейроплазма середньої щільності, каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулу (ГЕР) неширокі, на їх мембранах багато

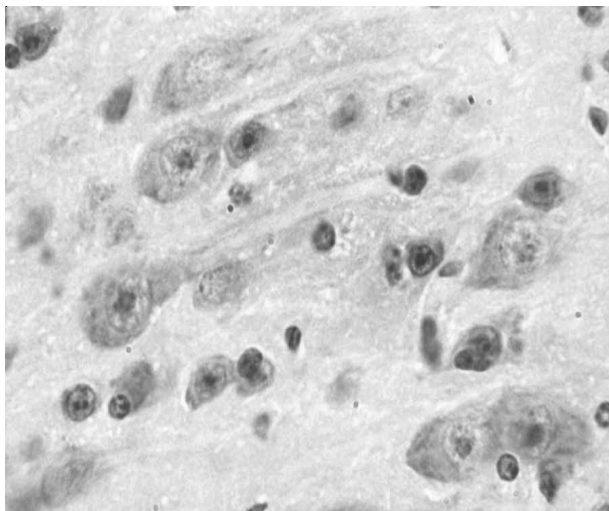


Рис. 1. Мікроскопічна будова кори потиличної частки дорослого контрольного щура. Забарвлення за Нісслем. Зб. х 400

рибосом. Багато вільних рибосом і полісом, є диктіосоми комплексу Гольджі. Мітохондрії з чіткими кристами та електроннопрозорим матриксом, лізосоми невеликі, круглі, осміюфільні (рис.2).

У нейропілі кори наявні невеликі відростчасті протоплазматичні астроцити з круглими електроннопрозорими ядрами, що займають більшу

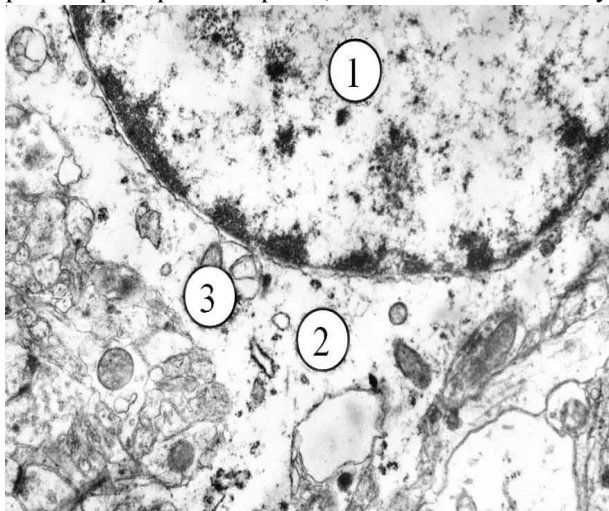


Рис. 3. Фрагмент протоплазматичного астроцита кори потиличної частки дорослого контрольного щура. Кругле ядро зі світлою каріоплазмою (1), електроннопрозора гіалоплазма (2), поодинокі органели (3). Зб. х 12 000

Олігодендрогліюцити невеликих розмірів, із вузькими відростками, темною цитоплазмою й каріоплазмою. Електронномікроскопічно в КЛЧ і КПЧ старих щурів виявлено "світлі" нейрцити, в їх електроннопрозорій гіалоплазмі знижена щільність органел, протяжність нерівномірно розширених, частково фрагментованих каналців ГЕР. Зменшена кількість рибосом на мембранах, віль-

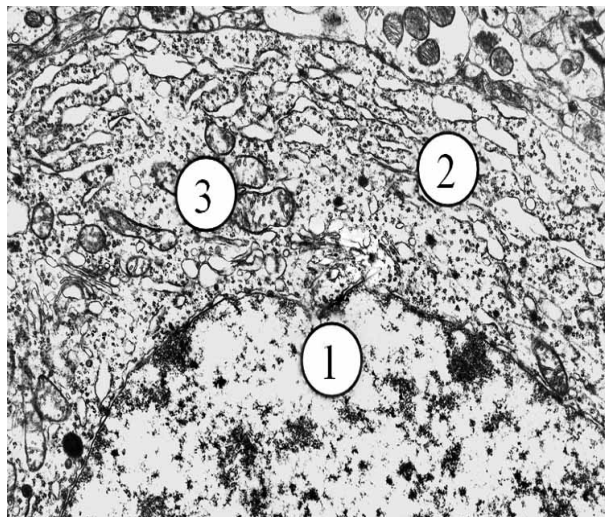


Рис. 2. Субмікроскопічна організація нейрона кори потиличної частки дорослого контрольного щура. Електроннопрозора каріоплазма (1), добре розвинені каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (2), мітохондрії (3). Зб. х 12 000

частину цитоплазми тіла, світла цитоплазма містить окремі органели (рис.3).

Світлооптична мікроскопія кори великого мозку старих щурів показала переважання нормохромних нейрцитів, однак є й гіпохромні, зі збільшеними тілами, світлою нейроплазмою і ядром, а також - гіперхромні зі зменшеними тілами, пікнотичними ядрами (рис. 4).

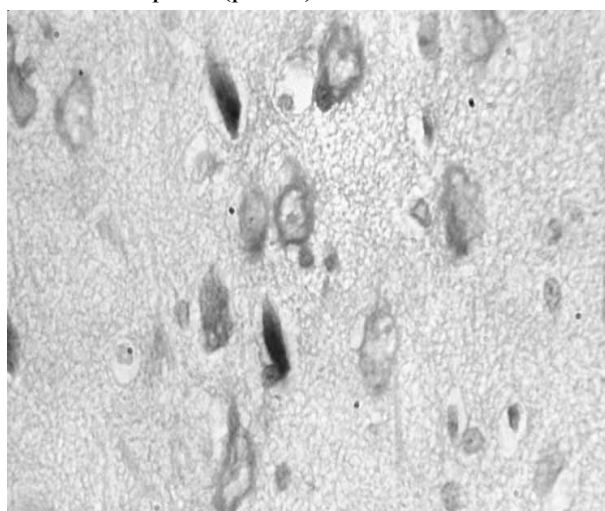


Рис. 4. Структурний стан кори потиличної частки мозку старого щура. Забарвлення за Нісслем. Зб. х 400

них полісом, мітохондрій. У комплексі Гольджі мало цистерн, вакуолей і пухирців (рис. 5).

В електроннопрозорій каріоплазмі мало рибосомальних гранул, ядерць, є включення ліпофусцину. Виявлено і гіперхромні нейрцити з неправильної форми ядрами і частковою деструкцією органел, зменшенням числа рибосом, полісом, мітохондрій, вогнищевим розширенням

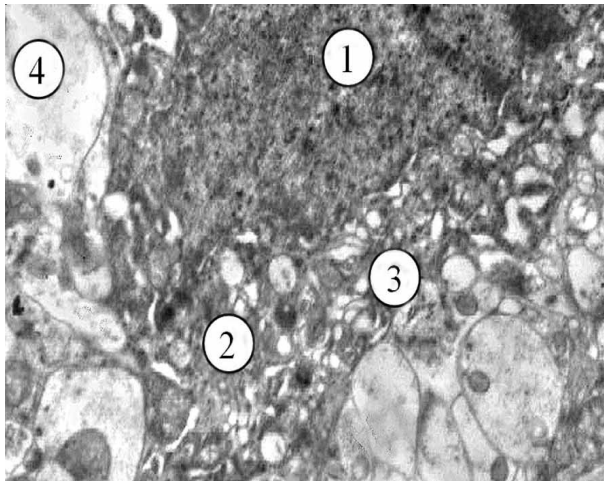


Рис. 5. Субмікроскопічний стан "темного" нейрона кори лобової частки старих щурів. Висока електронна щільність каріо- (1) і нейроплазми (2), розширення каналців гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (3), набряклі відростки глії (4). x 12 000

каналців ГЕР і цистерн комплексу Гольджі в нейроплазмі. Протоплазматичні астроцити мають збільшені тіла, малу кількість органел в гіалоплазмі, вакуолеподібні і осміофільні структури, невеликі грудки гетерохроматину в ядрах, частково розширені перинуклеарні простори (рис.6).

У КЛЧ і КПЧ дорослих щурів після ішемії-реперфузії світлооптично виявлено деструктивні зміни багатьох нейронів з ознаками гіпохромії різного ступеня, гіперхромії і пікнозу (рис. 7). Субмікроскопічно в обох ділянках кори виявлені нейрони з електроннопрозорою каріоплазмою, не-

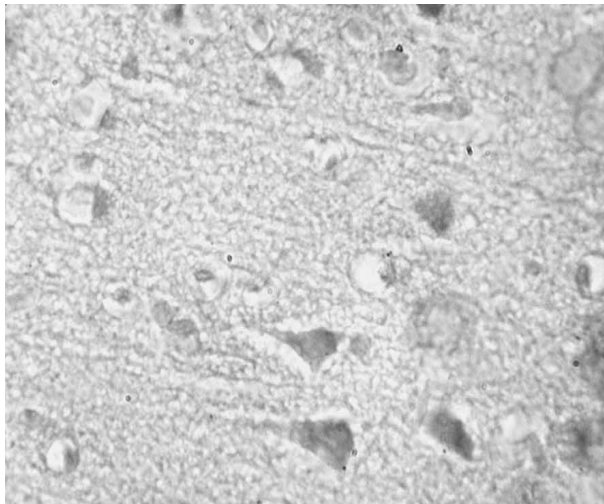


Рис. 7. Мікроскопічні зміни кори лобової частки дорослого щура при ішемії-реперфузії. Забарвлення за Нісслем. x 400

мембранами і ядерними порами, відсутніми ядерцями, що свідчить про пікнотичний стан ядра. Нейроплазма електроннощільна, з нерівномірно розширеними каналцями ГЕР та цистернами комплексу Гольджі (рис.9). Їх мітохондрії вакуолеподібні, зі світлим матриксом і

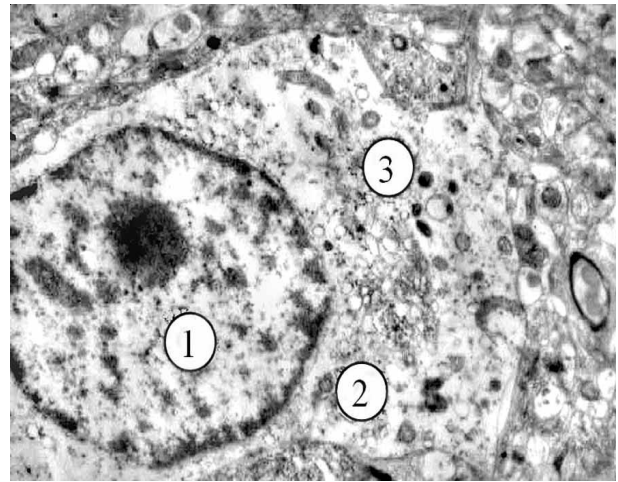


Рис.6. Субмікроскопічний стан протоплазматичного астроцита кори лобової частки старих щурів. Ядро (1), цитоплазма (2), вакуолеподібні і осміофільні структури (3). 36. x 12000

великими інвагінаціями каріолеми, зменшенням кількості ядерних пор, відсутністю ядерць, зменшенням у нейроплазмі кількості каналців ГЕР, рибосом, полісом, що відповідає тигролізу і гіпохромному стану нейронів при світлооптичному аналізі. Багато мітохондрій зі світлим матриксом, частково пошкодженими кристами, частина з них гіпертрофовані (рис.8).

В обох ділянках кори є "темні" нейрони, деформовані, з ядрами неправильної форми, зменшеної площі, нерівними контурами каріолеми, осміофільною каріоплазмою, нечіткими ядерними

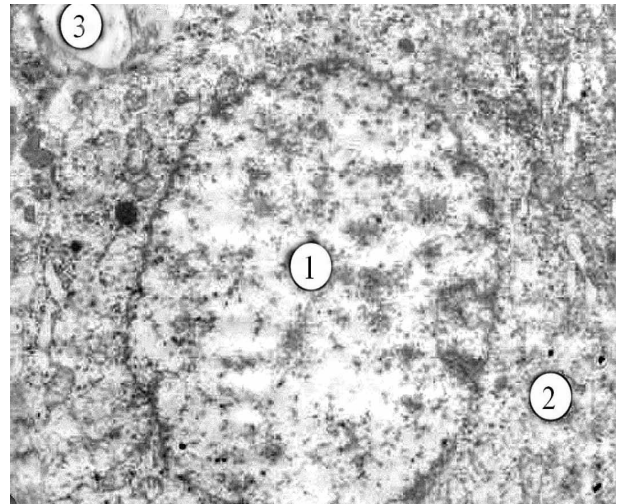


Рис. 8. Субмікроскопічний стан нейрона кори лобової частки при ішемії-реперфузії. Електроннопрозора каріоплазма (1) і нейроплазма (2), ніжка астроцита (3). x 12000

редукованими кристами. У нейроплазмі є первинні і вторинні лізосоми, місцями - мієліноподібні тільця. У нейропілі з ознаками набряку структур наявні різної форми і розмірів світлі відростки глії (рис.9).

Протоплазматичні астроцити мають набряклі

тіла і відростки, малу кількість органел у світлій цитоплазмі, електроннопрозорі ділянки каріоплазми та осміюфільні гетерохроматинові ділянки, переважно по периферії біля каріолеми (рис.10).

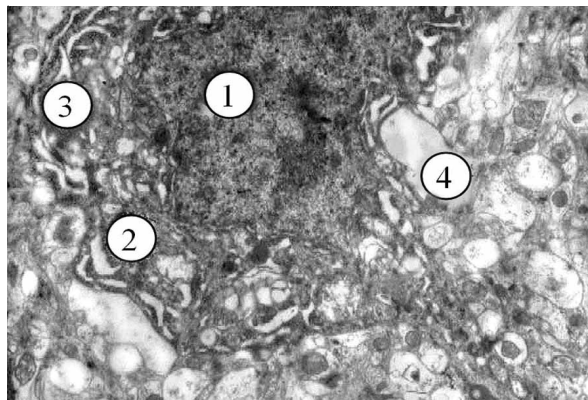


Рис. 9. Субмікроскопічні зміни нейрона кори потиличної частки дорослого щура при ішемії-реперфузії. Осміюфільна каріоплазма пікнотичного ядра (1), розширені каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (2), цистерни комплексу

Гольджі (3), змінений нейрофіл (4). x 12 000
нейрони зі значним ступенем тигролізу, а також значно виражений гіперхроматоз частини клітин (рис. 11). При електронній мікроскопії за цих умов виявлено "світлі" і "темні" клітини. "Світлі" - з круглими ядрами, відсутністю ядерців, інвагінаціями каріолеми, електроннопрозорою каріоп-

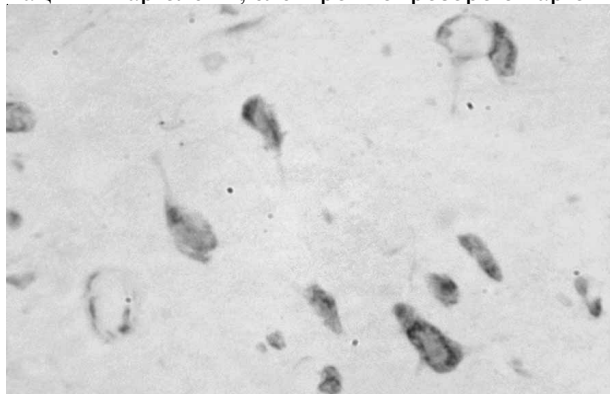


Рис.11. Мікроскопічні зміни кори лобової частки старого щура при ішемії-реперфузії. Забарвлення за Нісслем. x 100

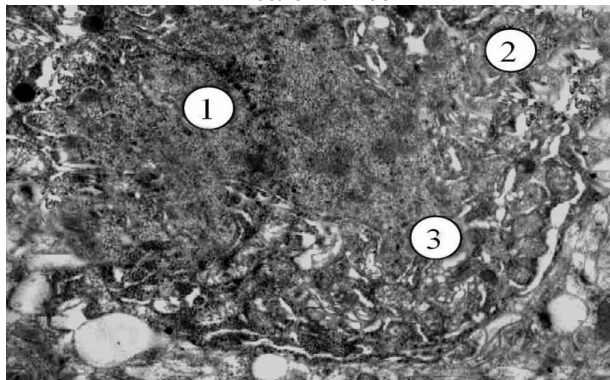


Рис. 13. Субмікроскопічні зміни нейрона кори потиличної частки при ішемії-реперфузії. Неправильної форми пікнотичне ядро (1), осміюфільна нейроплазма (2), розширені каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (3). x 12 000.

Світлооптично в КЛЧ і КПЧ мозку старих щурів після ішемії-реперфузії виявлено значні деструктивні зміни всіх структурних компонентів сірої речовини. Найвні гіпохромні і різко гіпохромні

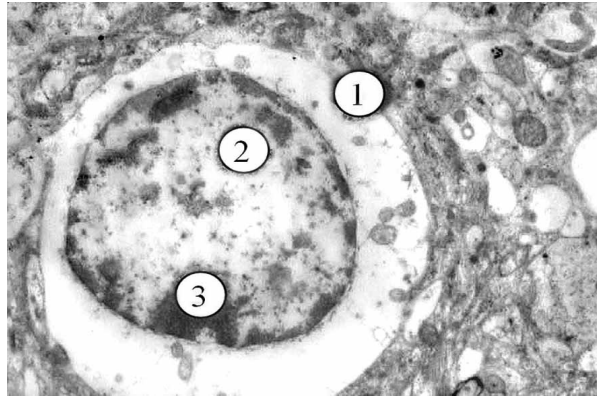


Рис. 10. Субмікроскопічні зміни гліальної клітини кори лобової частки дорослого щура при ішемії-реперфузії. Електроннопрозора цитоплазма (1) астроцита, кругле ядро (2) з ділянками гетерохроматину (3). x 12 000

лазною. У нейроплазмі органел мало, каналці ГЕР розширені, непротяжні, фрагментовані, на мембранах мало рибосом та полісом. Мітохондрії нечисельні, зі світлим матриксом і поодинокими кристами (рис.12). Цистерни і вакуолі комплексу Гольджі розширені та дезінтегровані.

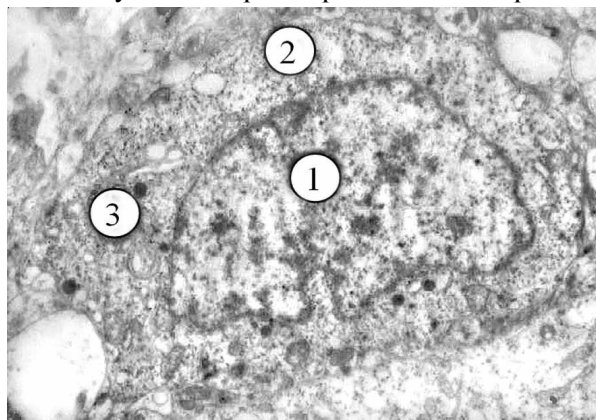


Рис. 12. Субмікроскопічні зміни нейрона кори лобової частки при ішемії-реперфузії. Електроннопрозора каріо- (1) і нейроплазма (2), деструктивно змінені органи (3).x12 000

У "темних" нейронів ядра зменшені, з нерівною каріолемою, вогнищево збільшеними ділянками перинуклеарного простору. Канальці ГЕР із потовщеннями, незначною кількістю рибосом на мембранах. Цистерни і вакуолі комплексу Гольджі розширені, дезорганізовані. Мітохондрії неправильної форми, з гомогенізованим матриксом і незначною кількістю крист. Виявляються вторинні осміюфільні лізосоми (рис. 13).

Висновки

1. Після 20-хвилинної ішемії з одногодинною реперфузією в корі лобової та потиличної часток

самців-щурів на світло- та електроннооптичному рівнях виявляються деструктивні зміни нейро- та гліоцитів, їх органел, поява гіпо-, гіперхромних та пікнотичних нейроцитів, периваскулярного набряку, з особливою вираженістю даних порушень у старих щурів.

Перспективи подальших досліджень

Доцільно провести порівняльний аналіз пріоритетних для обраних вікових груп шляхів загибелі нейронів за використаних експериментальних умов.

Література. 1. Анисимов В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения: - 2-е изд., перераб. и доп. СПб. : Наука, 2008. - Т.1. - 481 с. 2. Изменение состояния системы перекисного окисления липидов в тканях грызунов разных видов в процессе старения / Л.Н.Шишкина, М.А.Смолотряева, М.А.Климович [и др.] // Успехи геронтологии. - 2008. - Т.21, №3. - С. 513-515. 3. Кузнецов В.В. Возрастные особенности состояния мозгового кровообращения / В.В.Кузнецов, И.И.Глазовская, Ф.В.Юрченко // Пробл. старения и долголетия. - 2010. - Т.10, №3. - С.235. 4. Микрососудистые нарушения при старении. Роль эндотелиальной дисфункции / В.Ю.Лишнева, Н.Н.Коберник, Е.И.Парасюк, А.Б.Полетаев // Пробл. старения и долголетия. - 2010. - Т.10, №3. - С.239. 5. Особенности стрессорной модуляции системы глутатиона в мозге и сердце старых крыс / В.В.Давыдов, В.В.Руденко, А.В.Голобородько [и др.] // Пробл. старения и долголетия. - 2010. - Т.10, №3. - С.228. 6. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Н. Скибо // Патология. - 2004. - Т.1, №1. - С. 22-30. 7. Cardiac Index Is Associated With Brain Aging / A. L. Jefferson, J. J. Himali, A. S. Beiser [et al.] // Circulation. - 2010. - Vol.122, № 4. - P. 690-697. 8. Kunig J.F. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem / J.F.Kunig, P.A.Klippel - Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1963. - 162 p. 9. Pyramidal neurons of the prefrontal cortex in post-stroke, vascular and other ageing-related dementias / V. Foster, A.E. Oakley, J.Y. Slade [et al.] // Brain. - 2014. - Vol.137, Pt 9. - P. 2509-2521. 10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH

as an electronopaque stain in electron microscopy / E.S.Reynolds // J.Cell. Biol. -1993.-Vol.17.- P.208-212. 11. The impact of carotid artery stenting on cognitive function in patients with extracranial carotid artery stenosis / C.N. Antonopoulos, J.D. Kakisis, G.S. Sfyroeras [et al.] // Ann. Vasc. Surg. - 2015. - Vol.29, №3. - P. 457-469.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРFUЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕОКОРТЕКСА ВЗРОСЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС

С.С.Ткачук, О.В.Ткачук, В.Ф. Мыслицкий, Т.И.Бойчук

Резюме. Неполная глобальная ишемия-реперфузия головного мозга у самцов крыс приводит к изменениям формы, строения и содержания нейро- и гліоцитов, перикапиллярных пространств в структурах новой коры, более существенным у старых крыс.

Ключевые слова: двусторонняя каротидная ишемия-реперфузия, головной мозг, старые крысы, патоморфологические изменения.

A COMPARATIVE ANALYSIS OF PATHOMORPHOLOGICAL EFFECTS OF ISCHEMIC- REPERFUSING DAMAGE OF THE NEOCORTEX IN ADULT AND OLD RATS

S. S. Tkachuk, O.V. Tkachuk, V.F. Myslytsky, T. I. Boichuk

Abstract. Bilateral carotid ischemia-reperfusion results in changes of the form, structure and the content of neurocytes, glyocytes, the pericapillary spaces in the structures of the neocortex, they are more essential in old male rats.

Key words: bilateral carotid ischemia-reperfusion, brain, old rats, pathomorphological changes.

**Higher State Educational Establishment of Ukraine
"Bukovinian State Medical University", Chernivtsi**

Clin. and experim. pathol. - 2016. - Vol.15, №1 (55).-P.157-161.

Надійшла до редакції 10.02.2016

Рецензент – проф. І.І. Заморський

© С.С.Ткачук, О.В.Ткачук, В.Ф.Мыслицкий, Т.И.Бойчук, 2016