

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ КОРИ ЛОБОВОЇ ЧАСТКИ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА УМОВ ДВОБІЧНОЇ КАРОТИДНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРFUЗІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

С.С.Ткачук, О.М.Леньков

Кафедра фізіології (зав. – проф. С.С.Ткачук) Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

Резюме. Двобічна каротидна ішемія-реперфузія призводить до змін форми та структури нервових клітин і клітинних органел, набряку ендотеліоцитів гемокапілярів та перикапілярних просторів у корі лобової частки головного мозку при стрептозотозин-індукованому цукровому діабеті в самців-щурів.

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

Ішемічний інсульт визнаний однією з найважливіших проблем сучасної медицини, про що свідчить його місце в структурі загальної смертності [1]. Розвиток цієї недуги патогенетично пов'язаний з виникненням ішемічних ушкоджень головного мозку. Одним з таких фонових захворювань є цукровий діабет (ЦД), який призводить до цереброваскулярної патології через розвиток діабетичних судинних та метаболічних порушень [2]. Тому вивчення морфологічних, патофізіологічних та патохімічних аспектів взаємозв'язків цих захворювань є важливим завданням медичної науки. Вже накопичені певні патоморфологічні дані стосовно ішемічно-реперфузійних і діабетичних змін у головному мозку, зокрема в корі півкуль, що зумовлено великим об'ємом цієї структури та її значенням у вищій нервовій діяльності людини [3-7]. Проте дані про морфологічні зміни в корі кінцевого мозку за умов поєднання обох патологій в науковій літературі відсутні.

Мета дослідження. Вивчити в експерименті морфологічний стан кори лобової частки головного мозку при двобічній каротидній ішемії-реперфузії (ДКІР) за умов стрептозотозин-індукованого ЦД.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 44 самцях білих нелінійних щурів 4 груп: 1) контрольні; 2) щури, яким виконано ДКІР; 3) щури з ЦД; 4) щури з ЦД, яким виконано

ДКІР. ЦД моделювали методом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотозину (Sigma, Aldrich) у дозі 60 мг/кг у віці 2 міс. Тривалість ЦД – 3 міс. Для виконання ДКІР під внутрішньоочеревинним наркозом (каліпсол, 75 мг/кг) переднім середнім шийним доступом виділяли обидві загальні сонні артерії, які кліпсували на 20 хв, після чого кліпси знімали для реперфузії упродовж години. Забій тварин здійснювали декапітацією під каліпсоловим наркозом, забирали головний мозок, виділяли лобову частку. Частину матеріалу фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну і після відповідної гістологічної проводки заливали в парафін. Готували гістологічні зрізи товщиною 10-15 мкм, які фарбували толуїдиновим синім за методом Ніссля. Зафарбовані гістологічні препарати вивчали морфоскопічним та фотографічним методами за допомогою світлооптичного мікроскопа Биолам Ломо С11 та цифрового фотоапарата Canon Ixus 50. Іншу частину матеріалу фіксували у 2,5 % розчині глютаральдегіду (рН 7,3-7,4). Фіксований матеріал через 60 хв переносили в буферний розчин і промивали впродовж 20-30 хв, після чого здійснювали одногодинну фіксацію 1 % розчином чотирьохокису осмію на буфері Міллонга, а потім – дегідратацію в спиртах і ацетоні, заливали в суміші епоксидних смол і аралдиту. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамік-

ротомі УМПТ-7, фарбували 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю за методом Рейнольдса і вивчали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К [8]. Оцінювали загальний вигляд нейроцитів, їхню здатність до зафарбовування, форму і структуру клітинних компартментів. Всі дослідження проводили з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах (1986).

Результати дослідження та їх обговорення. При світлооптичному дослідженні кори контрольних тварин встановлено, що нейроцити розташовані впорядковано, утворюють 6 шарів. Переважають нормохромні нейроцити з рівномірно розташованими грудками базофільної речовини, світлими ядрами круглої форми з ядерцями. Наявні клітини нейроглії та гемокapіляри. На електронномікроскопічному рівні більшість нейроцитів мають круглі ядра з чіткою рівномірною каріолемою та осміофільні грудки гетерохроматину. Нейроплазма середньої щільності, з незміненими органелами. Гемокapіляри мають неширокі просвіти, в яких виявляються формені елементи крові. Ендотеліоцити містять видовжені ядра, мало органел, піноцитозні пухирці. Їхня нерівна цитолема має окремі мікроворсинки та кавеоли на люменальній поверхні. Базальну мембрану оточують світлі відростки астроцитів.

В умовах експериментальної ішемії-реперфузії гістологічні дослідження кори великого мозку виявили поліморфізм нервових клітин, наявність гіпохромних та різко гіпохромних, а також гіперхромних і навіть пікнотичних нейроцитів (рис. 1). Дослідження ультраструктур-

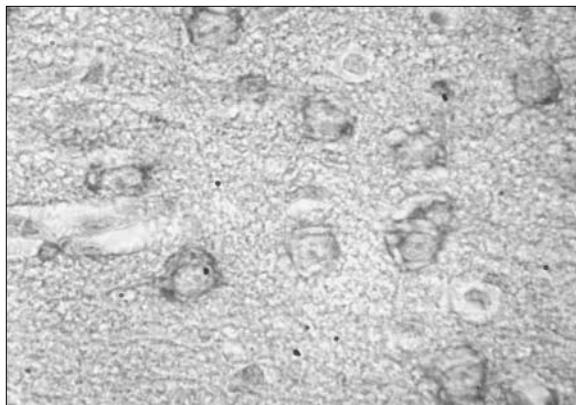


Рис. 1. Мікроскопічні зміни кори лобової частки головного мозку щура при ішемії-реперфузії. Забарвлення за методом Ніссля. Зб. 400 \times .

ного стану встановили, що частина нейроцитів має електроннопрозору каріоплазму, в каріолемі є невеликі інвагінації, мало ядерних пор, ядерця не виявляються. У світлій нейроплазмі небагато каналців гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (ГЕР), рибосом і полісом. Такий стан відповідає тигролізу та гіпохромії нервових клітин при світлооптичному дослідженні. Більшість мітохондрій мають світлий матрикс, частково пошкоджені кристи. Частина мітохондрій гіпертрофовані, також зі світлим матриксом і нечисленними кристами (рис. 2). Гемокapіляри мають невеликі просвіти, навколо них збільшені периваскулярні простори, утворені розширеними відростками астроцитів. Субмікроскопічно в корі великого мозку спостерігаються "темні" нейроцити (аналог гіперхромних клітин при світлооптичних дослідженнях). Зменшені за площею, неправильної форми ядра мають нерівну каріолему та осміофільну каріоплазму, ядерця відсутні, ядерні мембрани і ядерні пори нечіткі. Такі морфологічні особливості відповідають пікнотичному стану ядра. В електроннощільній нейроплазмі наявні нерівномірно розширені каналці ГЕР і цистерни комплексу Гольджі, що мають вигляд світлих порожнин неправильної форми. На мембранах ГЕР мало рибосом, наявні полісоми між каналцями. Вакуолоподібні мітохондрії мають світлий матрикс і редуковані кристи. У нейроплазмі є первинні і вторинні лізосоми, іноді спостерігаються мієліноподібні тільця. Тіла нейроцитів виглядають деформованими, зменшеними, а відростки – звуженими, можливо,

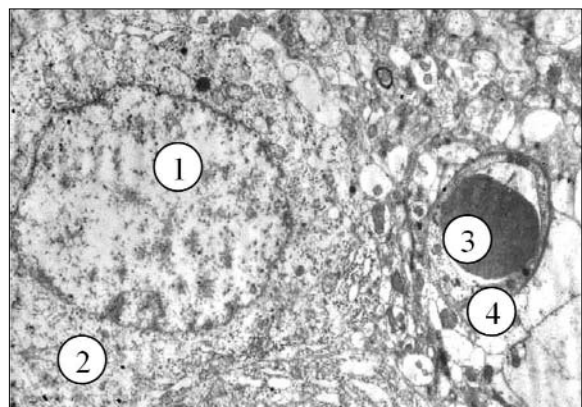


Рис. 2. Нейроцит і гемокapіляр лобової частки головного мозку щура при ішемії-реперфузії. Електроннопрозора каріоплазма (1) і нейроплазма (2), просвіт капіляра (3), периваскулярні ніжки астроцитів (4). Зб. 12000 \times .

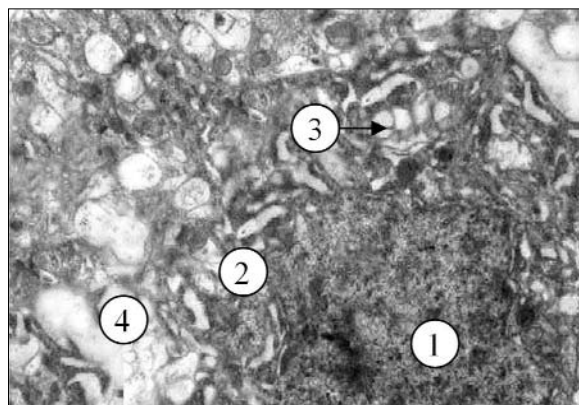


Рис. 3. Ультраструктурні зміни нейрона кори лобової частки головного мозку щура при ішемії-реперфузії. Осміофільна каріоплазма пікнотичного ядра (1), розширені каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (2), цистерни комплексу Гольджі (3), змінений нейрофіл (4). Зб. 12000^x.

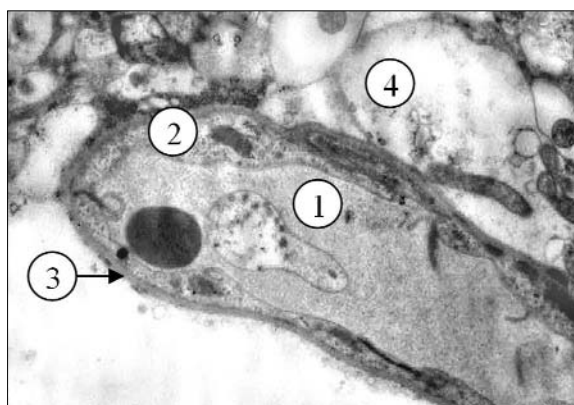


Рис. 4. Ультраструктурна організація гемокapіляра кори лобової частки головного мозку щура при ішемії-реперфузії. Вузький просвіт (1), цитоплазма ендотеліоцита (2), базальна мембрана (3), значний периваскулярний простір (4). Зб. 12000^x.

внаслідок набряку структур нейрофіла, в якому наявні різної форми і розмірів світлі відростки гліальних клітин (рис. 3). При ультраструктурних дослідженнях гемокapілярів виявляються великі периваскулярні простори, які є потовщеними світлими відростками астроцитів. Неширокі просвіти капілярів оточують розташовані на тонкій базальній мембрані ендотеліоцити, цитоплазматичні ділянки яких мають світлу набряклу гіалоплазму. Органел і піноцитозних пухирців в ендотеліоцитах мало, як і мікроворсинок на люменальній поверхні (рис. 4).

В умовах експериментального ЦД гістологічні дослідження на світлооптичному рівні кори великого мозку встановили, що для частини нейронів характерним є тигроліз, зменшення вмісту грудок базофільної речовини. Такі гіпохромні клітини мають збільшені округлі тіла, світлу нейроплазму і ядро, набряклі відростки. Частина нервових клітин майже не має базофільних грудок, наявні різко гіпохромні клітини. У корі присутні також гіперхромні й окремі різко гіперхромні нейрони зі зменшеними тілами, пікнотичними ядрами. Інтенсивне забарвлення нейроплазми і каріоплазми призводить до того, що ядра погано виявляються (рис. 5). Електронномікроскопічні дослідження кори лобової частки головного мозку в умовах експериментального ЦД виявили багато "світлих" нейронів. В їхній електроннопрозорій гіалоплазмі зменшується щільність органел. Канальці ГЕР вкорочені, нерівномірно розширені й частково фрагментовані. На їх мембранах

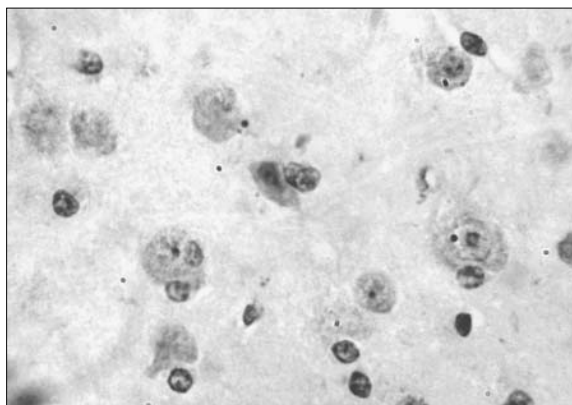


Рис. 5. Структурні зміни кори лобової частки головного мозку щура при цукровому діабеті. Забарвлення за методом Ніссля. Зб. 400^x.

мало рибосом, небагато й вільних полісом, що відповідає явищу тигролізу, встановленому на світлооптичному рівні. У складі комплексу Гольджі спостерігається небагато цистерн, вакуолей і пухирців, а самі цистерни потовщені. Мітохондрій стає мало, окремі з них гіпертрофовані, мають світлий матрикс і деструктивно змінені кристи. Округло-овальні ядра містять електроннопрозору каріоплазму, мало рибосомальних гранул, ядерця виявляються рідко (рис. 6, А). Частина нейронів мають осміофільні ядра і нейроплазму. У таких "темних" клітинах ядра мають неправильну форму внаслідок нерівної з інвагінаціями каріолеми. У нейроплазмі спостерігається деструкція органел. Канальці ГЕР нерівномірно розширені, як і цистерни комплексу Гольджі. Мітохондрій небагато, окремі з них гіпертрофовані, із пошкодженими кристами. Рибосом і полісом у таких

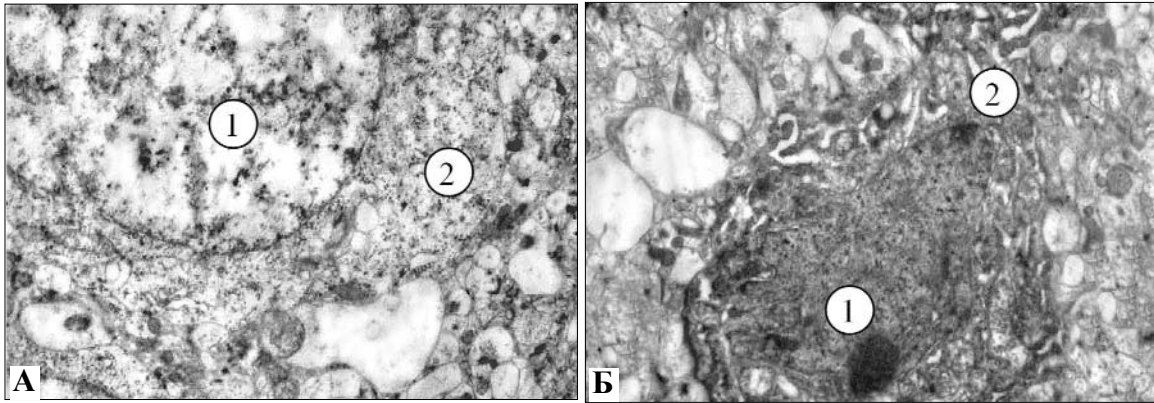


Рис. 6. Ультраструктурні зміни нейрона кори лобової частки головного мозку щура при цукровому діабеті. Зб. 12000 \times . А – світла каріоплазма ядра (1), змінені органели в нейроплазмі (2). Б – осміофільна каріоплазма в ядрі неправильної форми (1), порушена структура нейроплазми (2).

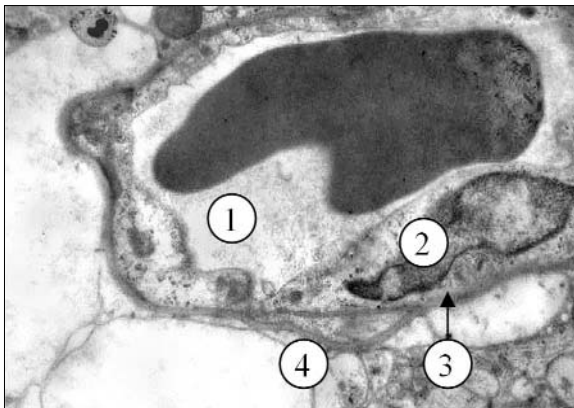


Рис. 7. Гемокapіляр кори лобової частки головного мозку щура при цукровому діабеті. Просвіт капіляра (1), ендотелій (2), базальна мембрана (3), широкі відростки астроцитів (4). Зб. 12000 \times .

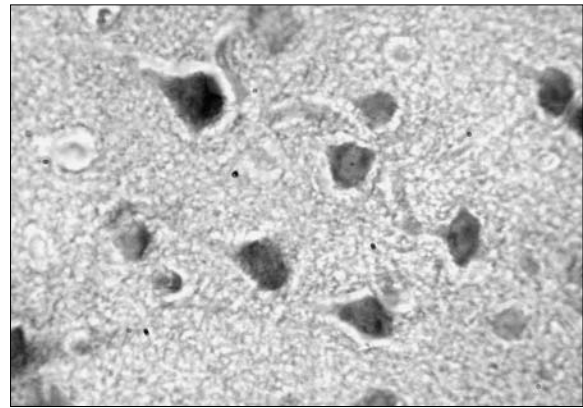


Рис. 8. Мікроскопічні зміни кори лобової частки головного мозку щура при цукровому діабеті та ішемії-реперфузії. Забарвлення за методом Ніссля. Зб. 400 \times .

нейронах мало. У нейропілі наявні розширені світлі відростки астроцитів (рис. 6, Б). У нейропілі, особливо поблизу нейронів, є світлі, розширені відростки астроцитів. Вони також наявні навколо гемокapілярів. Такі широкі астроцитарні ніжки-відростки створюють збільшені периваскулярні простори. Просвіти капілярів неширокі, у них наявні еритроцити. Ендотеліоцити мають видовжені, неправильної форми ядра, в їхній світлій набряклій цитоплазмі мало органел, піноцитозних пухирців. Базальна мембрана вузька, до неї щільно примикають широкі, світлі астроцитарні ніжки (рис. 7).

При експериментальному ЦД та ДКІР світлооптичні дослідження кори великого мозку виявили гіпохромні, різко гіпохромні з вираженим тигролізом і різко гіперхромні нейрони (рис. 8). Більша частина гемокapілярів має вузькі просвіти і значні периваскулярні простори. Електронномікроскопічні дослідження за даних ек-

периментальних умов встановили поліморфізм стану нейронів, наявні "світлі" і "темні" клітини. "Світлі" нервові клітини, що відповідають стану тигролізу, мають круглі ядра, каріолему з поодинокими інвагінаціями та електроннопрозору каріоплазму. Ядерця в них не виявляються. У нейроплазмі таких нейронів мало органел, короткі канальці ГЕР розширені, фрагментовані, на поверхні їх мембран мало рибосом. Кількість полісом також незначна. Цистерни і вакуолі комплексу Гольджі дезінтегровані, розширені. Мітохондрій мало, вони мають світлий матрикс і поодинокі кристи (рис. 9, А). При субмікроскопічних дослідженнях кори лобової частки головного мозку за умов поєднання ЦД та ДКІР спостерігалися також "темні" нейрони. Характерною для них була значна осміофільність каріо- і нейроплазми. Зменшені за площею ядра мають нерівну каріолему, вогнищево збільшені ділянки перинуклеарного простору.

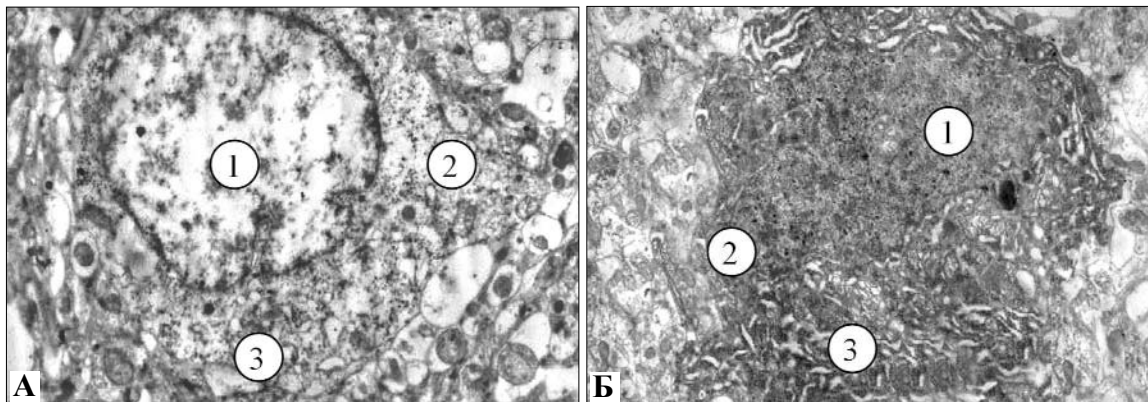


Рис. 9. Ультраструктурні зміни нейрона кори лобової частки головного мозку щура при цукровому діабеті та ішемії-реперфузії. Зб. 12000^x. А – "світлий" нейрон з електроннопрозорою каріоплазмою ядра (1) і нейроплазмою (2), деструктивно змінені органи (3). Б – неправильної форми пікнотичне ядро (1), осміофільна нейроплазма (2), розширені каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (3).

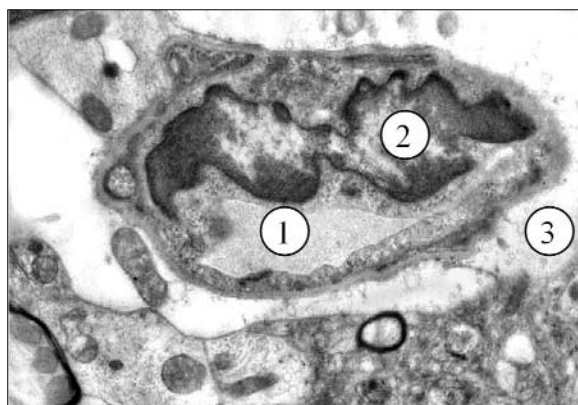


Рис. 10. Субмікроскопічний стан гемоканіляра кори лобової частки головного мозку щура при цукровому діабеті та ішемії-реперфузії. Вузкий просвіт (1), неправильної форми ядро (2) ендотеліоцита, значні периваскулярні простори (3). Зб. 12000^x.

Канальці ГЕР протяжні, нерівномірно потовщені, на їх мембранах мало рибосом. Цистерни і вакуолі комплексу Гольджі також розширені, дезорганізовані. Неправильної форми мітохондрії мають гомогенізований матрикс і мало крист. Наявні вторинні осміофільні лізосоми (рис. 9, Б). Ультраструктурні дослідження кровоносних капілярів кори великого мозку встановили, що більшість із них мають вузькі просвіти і значні

периваскулярні простори, утворені розширеними світлими відростками астроцитів. Ендотеліоцити містять неправильної форми видовжені ядра, каріолема яких має численні інвагінації. У цитоплазматичних ділянках ендотеліальних клітин мало органел та піноцитозних пухирців (рис. 10). Базальні мембрани мікросудин мають потовщені ділянки, місцями – нечіткі контури.

Висновок та перспективи подальших досліджень. 1. Двобічна каротидна ішемія-реперфузія за умов стрептозотонін-індукованого цукрового діабету в самців-щурів спричиняє значні деструктивні зміни всіх структурних компонентів сірої речовини лобової частки головного мозку на світло- та електроннооптичному рівнях у вигляді порушень внутрішньої будови та форми нервових клітин і появи нейронів з гіпо- та гіперхромією нейро- та каріоплазми різного ступеня вираженості, порушення структури клітинних органел і зниження їх кількості, зміни будови ендотеліоцитів і появи периваскулярного набряку. 2. Отримані дані вказують на доцільність вивчення відстрочених світло- та електроннооптичних змін кори лобової частки головного мозку при поєднаній дії цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку.

Література

1. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга / Е.И.Гусев, В.И.Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
2. Joslin's Diabetes Mellitus / [C.R.Kahn, C.W.Gordon, L.K.George et al.]. – [14th ed.]. – Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. – 1224 p.
3. Central Nervous System Complications of Diabetes in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: A Histopathological and Immunohistochemical Examination / A.Guven, O.Yavuz, M.Cam [et al.] // Int. J. Neurosci. – 2009. – Vol. 119, № 8. – P. 1155-1169.
4. Dendritic Spine Changes in Medial Prefrontal Cortex of Male Diabetic Rats Using Golgi-Impregnation Method / M.-T.Joghataie, M.Roghani, M.-R.Jalali [et al.] // Arch. of Iran. Med. – 2007. – Vol. 10, № 1 – P. 54-58.
5. Morphological changes in capillaries in the ischemic brain in Wistar rats

/ Y.Taguchi, S.Takashima, E.Sasahara [et al.] // Arch. Histol. Cytol. – 2004. – Vol. 67, № 3. – P. 253-61. 6. Structural and Ultrastructural Analysis of Cerebral Cortex, Cerebellum, and Hypothalamus from Diabetic Rats / J.P.Hernandez-Fonseca, J.Rincon, A.Pedreanez [et al.] // Exp. Diabetes Res. – 2009. – Vol. 1. – P. 1-12. 7. Ultrastructural and Immunochemical Studies of Glial Scar Formation in Diabetic Rats / M.Frontczak-Baniewicz, L.Struzynska, J.Andrychowski [et al.] // Brain Edema XIV, Acta Neurochirurgica Supplementum. – 2009. – Vol. 6. – P. 251-255. 8. 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.

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КО-
РЫ ЛОБНОЙ ДОЛИ ГОЛОВНОГО МОЗГА
В УСЛОВИЯХ ДВУСТОРОННЕЙ КАРО-
ТИДНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ
ДИАБЕТЕ**

Резюме. Двусторонняя каротидная ишемия-реперфузия приводит к изменениям формы и структуры нервных клеток и клеточных оргanelл, отеку эндотелиоцитов гемокapилляров и перикапиллярных пространств в коре лобной доли при стрептозотocин-индуцированном сахарном диабете у самцов-крыс.

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

**MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE
FRONTAL LOBE CORTEX OF THE BRAIN
CORTEX TISSUE UNDER THE INFLUENCE
OF BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-
REPERFUSION IN EXPERIMENTAL DIA-
BETES MELLITUS**

Abstract. Bilateral carotid ischemia-reperfusion leads to changes of te form and structure of neurons and neuronal organelles, edema of endotheliocytes of hemocapillaries and the pericapillary spaces in the cortex of the frontal lobe of the brain in male rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus.

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

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Надійшла 17.03.2010 р.
Рецензент – д. мед. н. Р.С.Булик (Чернівці)