

© Бобрик І.І., Бобрик М.І.

УДК 591.481.13:599.238]:616.379-008.64

УЛЬТРАСТРУКТУРА ЦЕНТРАЛЬНОГО ЯДРА ЗАДНІХ ГОРБИКІВ СЕРЕДНЬОГО МОЗКУ ЩУРА ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ

І.І.Бобрик, М.І.Бобрик

Кафедри анатомії людини (зав. – проф. В.Г.Черкасов) та ендокринології Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця, м. Київ

Резюме. В експерименті на щурах-самцях викликали стрептозотоциновий цукровий діабет. Наведено динаміку морфологічних змін центрального ядра задніх горбиків середнього мозку.

Ключові слова: стрептозотоциновий цукровий діабет, середній мозок, експеримент.

За даними ВООЗ, у світі на цукровий діабет (ЦД) хворіють близько 175 млн людей з кожним роком кількість хворих прогресивно зростає, сягаючи 7 % від загальної популяції [1].

При тривалому перебігу захворювання розвиваються діабетичні ушкодження судин, периферійних нервів, а також головного мозку. Прогресуючі зміни функцій та структури мозку, пов'язані з ЦД, відносять до "діабетичних енцефалопатій" [2-4].

Відомими дослідженнями [5-10] встановлено зміни в різноманітних відділах центральної нервової системи при експериментальному ЦД – в гіпоталамусі, гіпокампі, корі тощо. Але практично не вивчено вплив ЦД на функціональні та структурні характеристики органа слуху. Існують дані про те, що у хворих на ЦД порушення слуху трапляється частіше, ніж у здорових людей того ж віку [11, 12].

Мета дослідження. Вивчити вплив експериментального стрептозотоцинового ЦД на ультраструктуру однієї з ланок слухового шляху – задніх горбиків чотиригорбикової пластинки середнього мозку.

Матеріал і методи. Ультраструктура задніх горбиків чотиригорбикової пластинки у кішок вивчена докладно [13, 14]. Про-

те загально визнана модель ЦД відтворюється на щурах. Дослідження проводили на самцях щурів масою 180-220 г з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). ЦД викликали методом одноразового інтраперитонеального введення стрептозотоцину (СТЗ) в дозі 45 мг/кг, розчиненого в 0,5 мл стерильного цитратного буфера, рН 4,5. Таку ж кількість цитратного буфера без СТЗ вводили тваринам контрольної групи. Дослідження рівня глюкози в крові, одержаної з хвостової вени, здійснювали за допомогою приладу Glucocard II Super (ARKRAY, Японія). Евтаназію тварин проводили під анестезією каліпсолом (75 мг/кг, в/м) через 2, 4, 6, 8 і 10 тижнів після введення СТЗ. Якнайшвидше виділяли мозок, вирізану ділянку задніх горбиків чотиригорбикового тіла поміщали у фіксуючий 2,5 % розчин глютаральдегіду на фосфатному буфері на 2-3 год, попередньо порізавши на шматочки об'ємом не більше 1 мм³. Потім дофіксували протягом 1 год в 1 % розчині чотириоксиду осмію. Тканину зневоднювали у спиртах висхідної концентрації та абсолютному ацетоні і фіксували в суміші епок-

сидних смол епон-аралдит. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромомі LKB-8800 (Швеція) і контрастовані в уранілацетаті та цитраті свинцю, вивчали в електронному мікроскопі JEM-100 CX (Японія).

Результати дослідження та їх обговорення. У структурі задніх горбиків контрольних щурів виявлено три типи нейронів (великі, середні, малі), які відрізнялися не тільки за розміром, а й за ядерно-цитоплазматичними співвідношеннями, формою перикаріону, ультраструктурними особливостями їх органел, типом і числом аксосоматичних синаптичних контактів (рис. 1, А). Серед гліальних клітин, окрім астроцитів, поряд з великою кількістю мієлінізованих волокон часто траплялися олігодендроцити. Судини мікроциркуляторного русла задніх горбиків мали звичайну для гематоенцефалічного бар'єру структуру. Внутрішню вис-

тилку капілярів становив шар ендотеліальних клітин, які утворювали тонкі цитоплазматичні відростки. Під ендотелієм розташовані тонкі безперервні базальні мембрани, до яких щільно прилягають перичити та астроцитарні відростки.

Через 2 тиж. після введення СТЗ рівень глюкози в крові становив $18,7 \pm 1,5$ ммоль/л. В ультраструктурі нижніх горбиків розвивалися помітні зміни. Спостерігалось просвітлення (набрякання) цитоплазматичного матриксу великих нейронів і терміналей, які утворювали синаптичні контакти із сомою нейрона (рис. 1, Б). Мітохондрії в нейронах збільшеного розміру, іноді видовженої або гантелеподібної форми, каріоплазма частіше просвітлена. Проте в деяких клітинах спостерігалась різко виражена конденсація хроматину. Малі нейрони змінювалися меншою мірою. У нейропілі частина дендритів розширена та набрякла. Спосте-

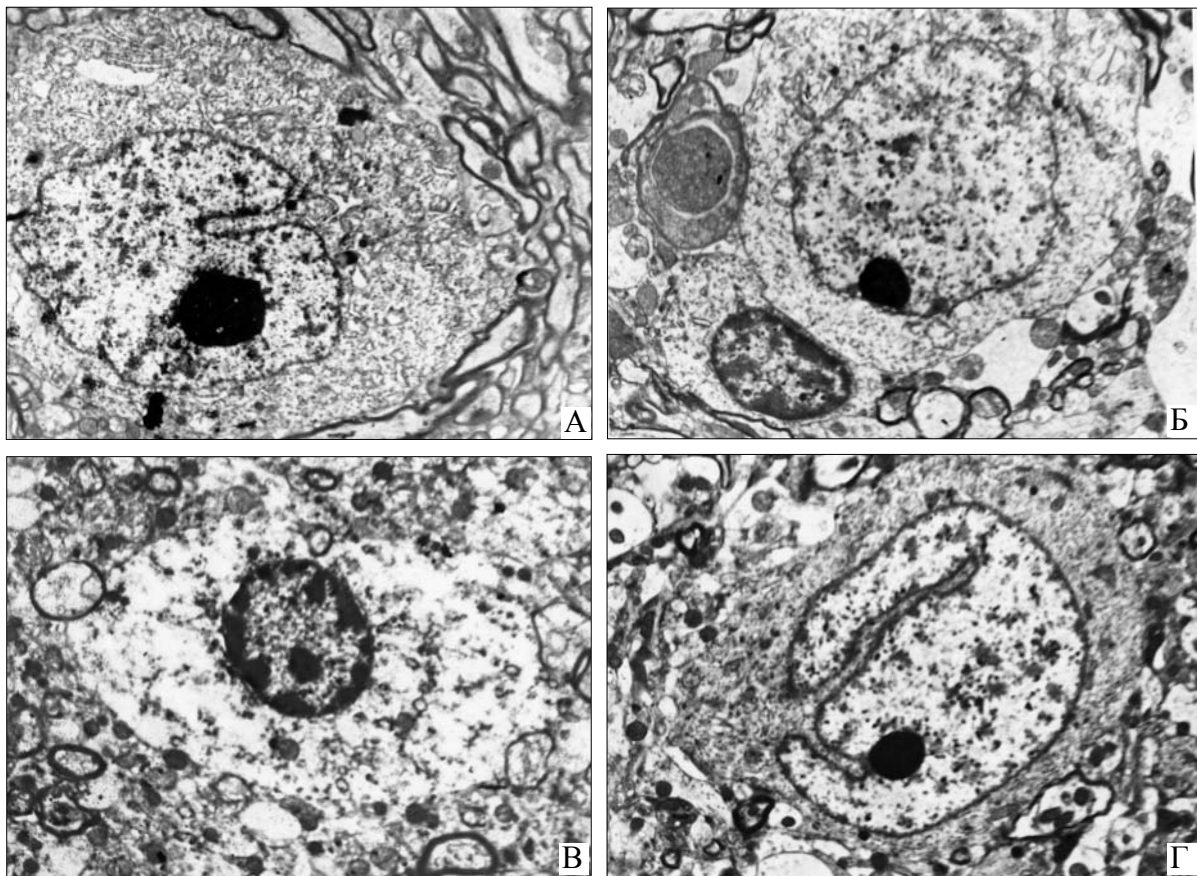


Рис. 1. Ультраструктура нейронів центрального ядра задніх горбиків середнього мозку контрольного щура (А) та через 2 (Б), 4 (В) і 10 (Г) тижнів після введення стрептозотоцину. Зб. $12000\times$.

рігалися зміни в олігодендроцитах різного ступеня: від конденсації хроматину до каріопікнозу і дегенерації клітин за темним типом. У капілярах настала вакуолізація цитоплазми ендотеліоцитів, збільшена осміофільність базальних мембран, що свідчить про зміни фізико-хімічного стану основної речовини базальних мембран. У деяких ділянках спостерігається розшарування єдиної пограничної базальної мембрани на два листки, між якими накопичувався електронно прозорий вміст. Виявлені дегенеративні зміни в перичитах. Привертає увагу виражений набряк астроцитарних ніжок, прилеглих до стінки капілярів, що вказувало на збільшення гідрофільності та набряк перикапілярного простору (рис. 2, А). Отже, через 2 тиж. експериментального ЦД вже спостерігаються зміни тонкої структури нейронів, гліальних клітин, провідних шляхів та мікроциркуляторного русла ниж-

ніх горбиків слухового центру.

Через 4 тиж. після уведення щурам СТЗ в нижніх горбиках наростали дегенеративні зміни в структурі нейронів, астроглії, нейропілі і судинної стінки. Збільшилися кількість та розміри лізосом у нейронах і їх активація, утворення вторинних лізосом. При цьому настав різкий набряк цитоплазми, що виражається її просвітленням, частковою деструкцією або повним цитолізом цитоплазматичного матриксу з утворенням залишків аморфних мас, деструкцією клітинних органел, порушенням цілісності плазматичної мембрани – загибель нейронів за некротичним типом (рис. 1, В). В ядрі спостерігається маргінація конденсованого хроматину. У частини нейронів ушкодження менш виражені. В нейропілі спостерігається різко виражений набряк дендритів та мієлінізованих відростків аксонів. У стінці мікросудин виявлені фрагментація та ва-

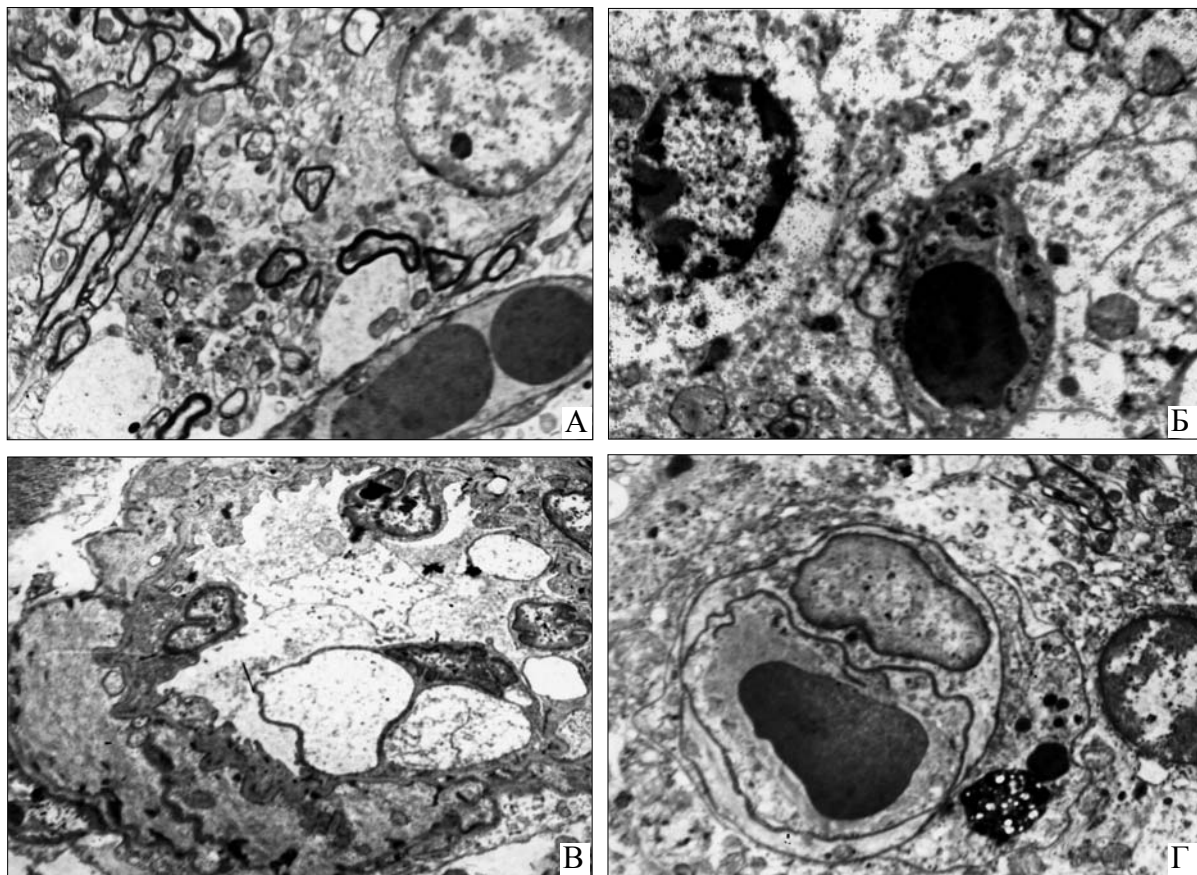


Рис. 2. Ультраструктура мікроциркуляторного русла центрального ядра задніх горбиків середнього мозку щурів після введення стрептозотозину: А – через 2 тижні; Б – через 4 тижні; В – через 8 тижнів; Г – через 10 тижнів. Зб. 12000^x.

куолізація цитоплазми ендотеліоцитів, ущільнення базальних мембран. Виражений набряк астроцитарних відростків, пошкодження їх мембран створювали значний перикапілярний набряк (рис. 2, Б). Дегенеративні зміни в мієлінових оболонках призводили до подальшого зменшення їх товщини.

На 6-му тижні експериментального ЦД виявлено більш виражені дегенеративні зміни нейронів, аксосоматичних контактів та гліальних клітин. У нейронах утворилися дрібні вакуолі в цитоплазмі, наявні розширення і вакуолізація цистерн ендоплазматичного ретикулуму та апарату Гольджі, конденсація ядерного хроматину. Окремі нейрони містять велику кількість вторинних лізосом або залишкові тільця з продуктами деградації фосфоліпідних мембран, що свідчить про термінальні стадії деструкції цих клітин. Для ендотелію мікросудин характерні численні цитоплазматичні везикули, поява просвітлених розширених ділянок локального набряку. Спостерігається набряк мітохондрій, фрагментація та лізис крист. Базальні мембрани значно потовщені, місцями розшаровані, містять електронно прозорий матеріал, скоріш за все гідропічного характеру, а також включення із електронно щільного матеріалу, що вказує на дегенерацію астроцитів та перицитів. Прилегли до базальних мембран ділянки містять неструктурований грубозернистий матеріал, який є, очевидно, залишком дегенеруючих астроцитів.

Через 8 тиж. експериментального ЦД в структурах задніх горбиків настало помітне зменшення явищ набряку. В нейронах, що вижили, спостерігаються ознаки активації метаболічних процесів. Цитоплазма нейронів мала середню електронну щільність, значну кількість дрібних мітохондрій, рибосом. В ядрах нейронів з'явився дрібногранулярний різкоосміофільний хроматиновий матеріал, розташований нерівномірно по всьому зрізу ядра, що, мабуть, є ознакою де-

спіралізації ДНК. Решта хроматину, в основному конденсованого, розташована маргінально. У капілярах спостерігається пошкодження ендотелію – набряк цитоплазматичних відростків та мітохондрій. В артеріолах в ендотеліальному шарі виявлено ділянки локального набряку, так звані, гігантські вакуолі. Гладеньком'язові клітини перебувають у скороченому (спастичному) стані (рис. 2, В). Спостерігається значне потовщення базальних мембран у мікроциркуляторному руслі, набряк та деструкція астроглії.

На 10-му тиж. ЦД в нейронах спостерігаються дегенеративні процеси, набряк і вакуолізація цитоплазми та деструкція клітинних органел (рис. 1, Г). Набрякові явища поширилися на терміналі, які виглядали різко розширеними. Мієлінізовані волокна теж зазнавали деструктивного впливу, спостерігався набряк аксоплазми, мієлінові оболонки розволоknені, неправильної орієнтації, стоншені і нерівномірні. Особливих змін зазнали мікросудини. Спостерігається різке набрякання ендотеліоцитів та їх випинання зі значним зменшенням просвіту і стазом крові в капілярах. Електронно щільні базальні мембрани утворювали внутрішній та зовнішній листки, простір між якими заповнений перицитами або волокнистими структурами (рис. 2, Г). В астроцитарних ніжках сконцентровані лізосоми та ліпофусцинові тільця. В нейропілі трапляються залишки некротизованих клітин.

Вважається [15], що хронічна гіперглікемія виявляє пряму дію на функцію мітохондрій клітин мозку, активуючи продукцію вільних радикалів. Оксидативний стрес, у свою чергу, відіграє провідну роль в ушкодженні тканин при ЦД. Крім збільшення вільних кисневих радикалів, виявлено збільшення рівня оксиду азоту та експресії мітохондріальної NO-синтази. З часом ЦД викликає хронічний генералізований патологічний процес у мозку щурів, зокрема, у слуховому центрі, що пов'язаний як із судинною патологією, так і пошкодженням

мозкової тканини та загибеллю нейронів внаслідок оксидативно-метаболического стресу.

Висновки. 1. При експериментальному стрептозотоциновому цукровому діабеті у структурі задніх горбиків чотиригорбикової пластинки відбуваються зміни як з боку нейронів і гліальних елементів, так і в мікроциркуляторному руслі, які динамічно

прогресують. 2. Ультраструктурні порушення на ранніх стадіях розвитку експериментального цукрового діабету свідчать не тільки про метаболічні зміни в судинній стінці при гіперглікемії, а також про реактивну відповідь мозкової тканини (нейронів і глії) та судинного компоненту на вторинну тканинну гіпоксію.

Література

1. *Harrison's Endocrinology* / Ed. by J.Larry Jameson. – McGraw-Hill, 2006. – 536 p.
2. *Basic & Clinical Endocrinology: 7th. ed.* / Ed. by Francis S.Greenspan, David G.Gardner. – McGraw-Hill Companies, 2004. – 976 p.
3. *Cerebral function in diabetes mellitus* / G.J.Biessels, A.C.Kappelle, B.Bravenboer [et al.] // *Diabetologia*. – 1994. – Vol. 37. – P. 643-650.
4. *Biessels G.J. The impact of diabetes on cognition: What can be learned from rodent models?* / G.J.Biessels, W.H.Gispens // *Neurobiology of Aging*. – 2005. – Vol. 26. – P. 36-41.
5. *Dheen S.T. Ultrastructural changes in the hypothalamic supraoptic nucleus of the streptozotocin-induced diabetic rat* / S.T.Dheen, S.S.W.Tay, W.C.Wong // *J. Anat.* – 1994. – Vol. 184. – P. 615-623.
6. *Electron microscopy studies on experimental diabetes and cerebral ischemia in the rat brain* / P.Piotrowski, B.Gajkowska, H.Olszewska, M.Smialek // *Folia Neuropathol.* – 1999. – Vol. 37, № 4. – P. 256-263.
7. *Piotrowski P. Neuronal death in the rat hippocampus in experimental diabetes and cerebral ischaemia treated with antioxidants* / P.Piotrowski, K.Wierzbicka, M.Smialek // *Folia Neuropathol.* – 2001. – Vol. 39, № 3. – P. 147-154.
8. *Neuronal and astroglial alterations in the hippocampus of a mouse model for type 1 diabetes* / Y.Revsin, F.Saravia, P.Roig [et al.] // *Brain Res.* – 2005. – Vol. 1038, № 1. – P. 22-31.
9. *Martinez-Tellez R. Alteration in dendritic morphology of cortical neurons in rats with diabetes mellitus induced by streptozotocin* / R.Martinez-Tellez, J.Gomez-Villalobos Mde, G.Flores // *Brain Res.* – 2005. – Vol. 1048, № 1-2. – P. 108-115.
10. Орловський М. Загибель нейронів гіпокампу при стрептозотоциновому цукровому діабеті / М.Орловський, Г.Г.Скибо // *Вісн. наук. досліджень*. – 2006. – № 3. – С. 57-60.
11. *Brainstem auditory-evoked potential examinations in diabetic patients* / F.Toth, T.T.Varkonyi, J.G.Kiss [et al.] // *Scand. Audiol. Suppl.* – 2001. – Vol. 52. – P. 156-159.
12. *Evaluation of asymptomatic central neuropathy in type I diabetes mellitus* / N.Uzun, D.Uluduz, S.Mikla, A.Aydin // *Electromyogr. Clin. Neurophysiol.* – 2006. – Vol. 46, № 3. – P. 131-137.
13. *Meininger V. The cytoarchitecture of the inferior colliculus in the cat. A Stereological Approach* / V.Meininger, M.Baudrimont // *J. Neurol. Sci.* – 1977. – Vol. 34. – P. 25-36.
14. *Oliver D.L. Neuron types in the central nucleus of the inferior colliculus that project to the medial geniculate body* / D.L.Oliver // *Neuroscience*. – 1984. – Vol. 2, № 2. – P. 409-424.
15. *Oxidative and nitrosative stress in brain mitochondria of diabetic rats* / R.Mastrocola, F.Restivo, I.Vercellinato [et al.] // *J. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 187, № 1. – P. 37-44.

УЛЬТРАСТРУКТУРА ЦЕНТРАЛЬНОГО ЯДРА ЗАДНИХ ХОЛМИКОВ СРЕДНЕГО МОЗГА КРЫСЫ ПРИ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

THE ULTRASTRUCTURE OF THE CENTRAL NUCLEUS OF THE POSTERIOR COLICULI OF THE MIDBRAIN IN STREPTOZOTOCIN DIABETES MELLITUS

Резюме. В експерименте на крысах-самцах моделировали стрептозотоциновый сахарный диабет. Приведена динамика морфологических изменений центрального ядра задних холмиков среднего мозга.

Ключевые слова: стрептозотоциновый сахарный диабет, средний мозг, эксперимент.

Abstract. Streptozotocin diabetes mellitus was simulated in an experiment on male rats. The dynamics of morphologic changes of the central nucleus of the posterior coliculi of the midbrain is presented.

Key words: streptozotocin diabetes mellitus, midbrain, experiment.

O.O.Bohomolets' National Medical University (Kyiv)

Надійшла 13.05.2008 р.
Рецензент – проф. К.С.Волков (Тернопіль)