

УДК 612.017.2.8:57.012.4:599.323.4

Кулик В. В., Бабийчук В. Г.

## ДИНАМИКА УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ПЕРЕСТРОЕК ГИППОКАМПА МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС ДО И ПОСЛЕ РИТМИЧЕСКИХ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ХОЛОДОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ (-120°С)

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков)

biovladimir91@mail.ru

Данная работа выполнена в рамках научной темы ИПК и К НАН Украины на 2016-2020 гг. шифр 2.2.6.103 «Формування адапційних реакцій організму експериментальних тварин в умовах дії штучного охолодження та криоконсервованих ядровмісних клітин кордової крові при старінні і патологічних станах».

**Вступление.** В настоящее время изучение причин, определяющих темпы старения и продолжительность жизни, является важным направлением медико-биологических исследований. В динамике старения организма отмечается постепенное уменьшение функциональных возможностей головного мозга, что проявляется нарушением процессов мышления, памяти, дезориентацией во времени и пространстве, снижением способности к обучению [1].

Скорость старения обусловлена влиянием на организм множества факторов, таких как стрессы, сопутствующие заболевания, которые активируют свободнорадикальные процессы, приводящие к смещению в клетке прооксидантно-антиоксидантного баланса, что в свою очередь, может вызывать развитие клеточных и тканевых повреждений [5,8]. Указанные изменения, происходящие с возрастом, в большей степени возникают из-за нарушений в генетическом аппарате и сопровождаются снижением адаптационных возможностей функциональных систем организма [9].

Многочисленные физиологические исследования указывают на важную роль гиппокампа в фиксации и воспроизведении следов памяти, способности генерировать регулярную медленную активность – тета-ритма, частота и амплитуда которого, коррелирует с изменением поведенческих реакций. Установлено участие гиппокампа в регуляции краткосрочной памяти на недавние события, контроле хранения и отработки пространственной информации [3]. По мнению [11] различные поля гиппокампа вовлечены в реализацию процессов приобретения следов памяти, которые зависят от активности разных медиаторных систем гиппокампа.

Параллельно с возникновением нарушений в физиологии процессов памяти, мышления, поведения определяются изменения морфологической структуры в определенных областях центральной нервной системы (ЦНС), например, таких как СА1, СА3 регионы гиппокампа [7]. Это приводит к разрыву связей между отделами ЦНС, дисбалансу в синтезе и выделении соответствующих нейромедиаторов [4,12]. Снижение с возрастом процессов

нейрогенеза способствует развитию нейродегенеративных заболеваний [10].

В связи с проблемой преждевременного старения мозга и развития ассоциированных с ним заболеваний, изучение и поиск новых методов воздействия на организм направленных на увеличение продолжительности жизни людей пожилого возраста приобретает особую актуальность.

В работах [2] обоснована возможность использования ритмических экстремальных холодных воздействий (РЭХВ) (-120°С) для стимуляции и улучшения деятельности ЦНС, особенно у старых животных, за счет активации функционирования гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), унификации действия вторичных ретроградных мессенджеров с целью восстановления функциональной активности физиологических систем организма, активации компенсаторных и адаптационных возможностей, повышающих устойчивость организма к действию неблагоприятных факторов.

Метод РЭХВ способствует более быстрому восстановлению соотношения функций симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы, замедлению или ускорению сердечного ритма в зависимости от потребностей организма, в результате чего значительно повышаются адаптационные возможности у старых животных.

Было показано [6], что РЭХВ существенно улучшают интенсивность метаболических внутриклеточных процессов, показатели долговременной пространственной памяти у старых крыс, за которую отвечает гиппокамп.

Учитывая тот факт, что при биологическом старении наблюдаются дистрофические и дегенеративные изменения гиппокампа на клеточном и органном уровне, перспективным представляется исследовать особенности его субмикроскопической архитектоники в условиях действия ритмического экстремального охлаждения как метода коррекции возрастных морфофункциональных нарушений.

**Цель исследования** – изучить динамику ультраструктурных перестроек полей СА 1 и СА 3 гиппокампа молодых и старых крыс до и после ритмических экстремальных холодных воздействий (-120°С).

**Объект и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 6 и 24 месячных нелинейных крысах самцах. Исследования на животных проведены в соответствии с Общими принципами работы на

животных, одобренными 1-м Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, Украина, 2001) и согласованными с положением Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, Франция, 1985).

Каждая возрастная группа животных была разделена на две подгруппы (по 7 крыс в каждой): первая подгруппа – 6 и 24 месячные интактные крысы; вторая подгруппа – 6 и 24 месячные крысы после 9 сеансов РЭХВ.

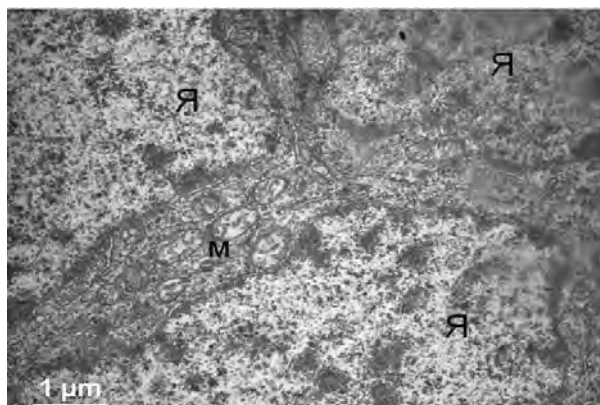
РЭХВ проводились в криокамере для экстремального охлаждения экспериментальных животных [7]. Крыс охлаждали по следующей программе. В условиях криокамеры при температуре (-120°C) животные находились в течение 2 минут. По истечении 2 мин крыс вынимали из камеры и содержали при комнатной температуре (+24°C) 5 мин, после процедуру охлаждения повторяли, согревали на протяжении 5 мин., затем по аналогичной программе проводили цикл охлаждения. Таким образом, в течение короткого периода времени животные получали три процедуры РЭХВ. Через день РЭХВ повторяли, с последующим повторением процедуры охлаждения еще через день. Всего животные охлаждались 9 раз по 2 мин.

На следующие сутки после последнего сеанса РЭХВ крыс выводили из эксперимента путем декапитации и производили забор кусочков ткани гиппокампа, которые подвергали предварительной фиксации в 2,5%-ном забуференном растворе глутарового альдегида в течении 5-6 часов при температуре 4°C. Окончательную фиксацию проводили в 1%-ном забуференном растворе четырехоксида осмия в течении 2-3 часов при температуре 4°C. Затем ткань обезжировали в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне и заключали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков осуществляли в термостате при температуре 60°C в течении двух суток.

Из полученных блоков, на ультрамикротоме УМТП-3, изготавливали ультратонкие срезы, которые после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР.

### Результаты исследований и их обсуждение.

Электронно-микроскопическое исследование гиппокампа молодых контрольных крыс свидетельствовало о его высокой структурно-функциональной активности. Основные клеточные элементы были представлены типичными пирамидными нейронами с длинными апикальными дендритами. В поле СА 1 плотно расположенные клетки образовывали два слоя – поверхностный и глубокий. Размеры их составляли около 15 мкм. Кроме пирамидных клеток в гиппокампе определялся слой полиморфных нейронов с короткими аксонами – корзинчатые клетки, имеющие широко разветвленные горизонтальные дендриты и образующие мощные корзинчатые сплетения вокруг тел пирамидных клеток. Тела пирамидных клеток поля СА 1 содержали обычные органеллы в небольшом количестве. Митохондрии имели округлую форму с матриксом средней

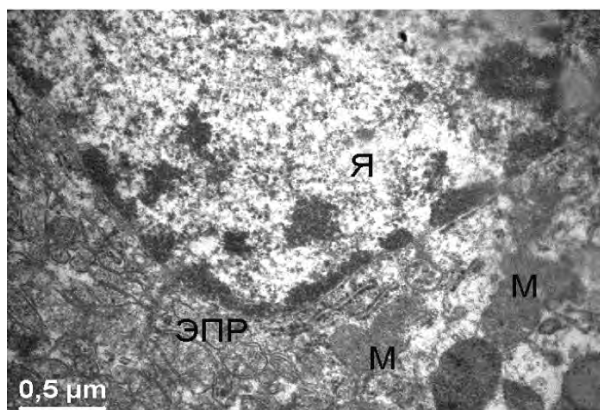


**Рис. 1. Ультраструктура нейронов поля СА 1 гиппокампа молодых контрольных крыс. Обозначения: Я – ядро; М – митохондрии. х 37 000.**

электронной плотности и четко выраженными кристаллами (рис. 1).

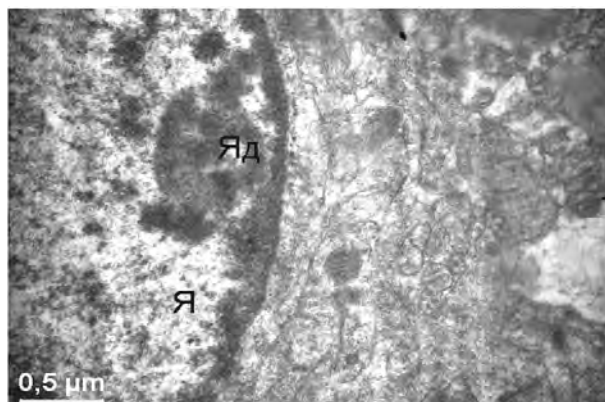
Иногда встречались плотные митохондрии с везикулярными кристаллами. Гранулярный эндоплазматический ретикулум (ЭПР) был представлен узкими канальцами, на мембранах которых располагались рибосомы. В цитоплазме имелись единичные полисомы и лизосомы. Основной объем ядер занимал эухроматин, а гетерохроматин небольшими островками располагался по всему ядру и вдоль внутренней ядерной мембраны.

В поле СА 3 ультраструктура нейронов характеризовалась высокой структурно-функциональной активностью, на что указывало наличие большого количества митохондрий с отчетливыми кристаллами, которые располагались в различных областях цитоплазмы. Гранулярный ЭПР был хорошо выражен в виде цистерн и канальцев (рис. 2).



**Рис. 2. Ультраструктура нейронов поля СА 3 гиппокампа молодых контрольных крыс. Обозначения: Я – ядро; М – митохондрии; ЭПР – эндоплазматический ретикулум. х 38 000.**

Обнаруживалось много полисом, что свидетельствовало об активном нуклеопротеиновом синтезе. Аппарат Гольджи был представлен вытянутыми цистернами, средними и мелкими везикулами, окруженными мембранами. Межнейронные контакты осуществлялись с помощью инвагинаций веточек дендрита в аксон, а также синапсов на шипиках

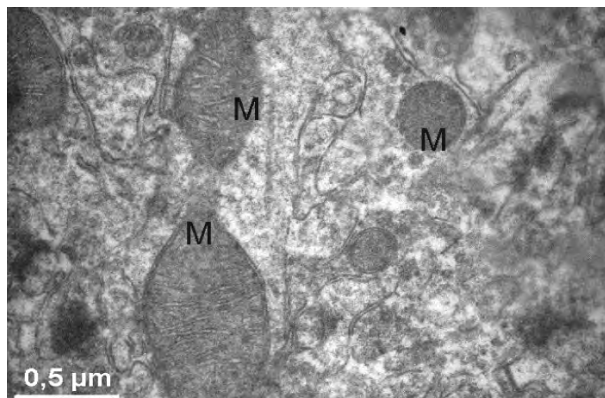


**Рис. 3.** Ультраструктура нейронов поля СА 1 гиппокампа молодых крыс после 9 сеансов РЭХВ. Примембранная локализация ядрышка. Обозначения: Я – Ядро; Яд – ядрышко. x 38 000.

апикальных дендритов. Часть шипиков содержала шипиковый аппарат, представленный стопкой мембран. Большая часть синапсов имела электронно-светлые синаптические пузырьки, окруженные мембраной.

У молодых крыс через сутки после 9 сеансов РЭХВ в ультраструктуре пирамидных нейронов полей СА 1 и СА 3 гиппокампа отмечались признаки высокой структурно-функциональной активности. Об этом свидетельствовало преобладание ядер с электронно-светлым матриксом, заполненным, главным образом эухроматином, примембранная локализация ядрышка (рис. 3) и расширение ядерных пор.

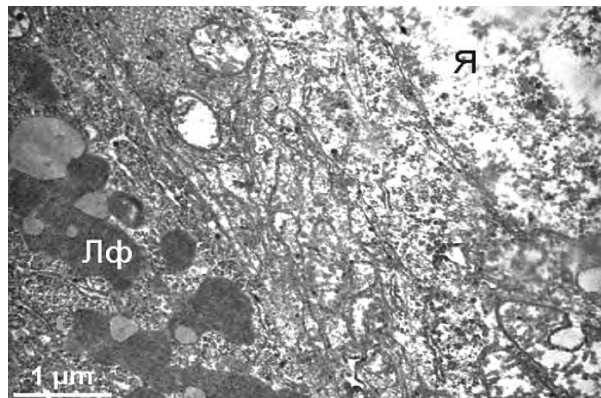
Определялись делящиеся митохондрии, что свидетельствовало об активном энергетическом метаболизме нейронов (рис. 4).



**Рис. 4.** Ультраструктура нейронов поля СА 3 гиппокампа молодых крыс после 9 сеансов РЭХВ. Делящаяся митохондрия в цитоплазме нейронов. Обозначения: М – митохондрия. x 67 000.

Наблюдалось большое количество синапсов в обоих полях гиппокампа. В некоторых участках количество синаптических везикул пресинаптических бутонов было снижено при сохранении активных зон синапсов.

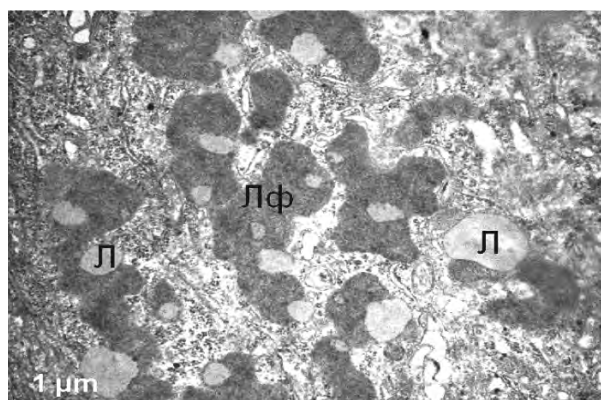
Ультраструктура пирамидных нейронов поля СА 1 гиппокампа старых контрольных крыс характеризовалась наличием большого количества дегенера-



**Рис. 5.** Ультраструктура пирамидных нейронов поля СА 1 гиппокампа старых контрольных крыс. Различная степень выраженности дегенеративных изменений нейронов. Обозначения: М – митохондрии светлого нейрона; Я – ядро светлого нейрона; Лф – липофусциновые гранулы в цитоплазме темного нейрона. x 38 000.

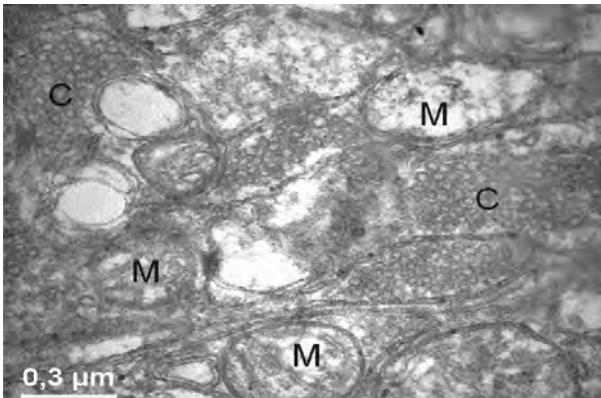
тивно измененных клеток различной степени выраженности (рис. 5).

Определялись крупные ядра нейронов с мелко-гранулярным хроматином, в которых иногда наблюдалось расширение перинуклеарного пространства и увеличение количества ядерных пор. Иногда обнаруживались ядра с просветленными участками в кариоплазме. В цитоплазме нейронов имели место немногочисленные митохондрии с матриксом средней электронной плотности и укороченными кристами. Отмечалось небольшое количество свободных рибосом. Часть канальцев были изогнуты и резко расширены. В цитоплазме обнаруживался комплекс Гольджи в виде стопки уплотненных цистерн, вакуолей и мелких везикул, часто подвергавшихся набуханию. В цитоплазме нейронов определялись гранулы липофусцина, множественные вакуоли, лизосомы и липидные включения (рис. 6).



**Рис. 6.** Ультраструктура пирамидных нейронов поля СА 1 гиппокампа старых контрольных крыс. Скопления гранул липофусцина и липидных включений в цитоплазме пирамидного нейрона. Обозначения: Лф – липофусциновые гранулы; Л – липидные включения. X 36 000.

Синаптические образования гиппокампа различались по структуре и уровню размещения. Отмечалось большое количество синаптических пузырьков

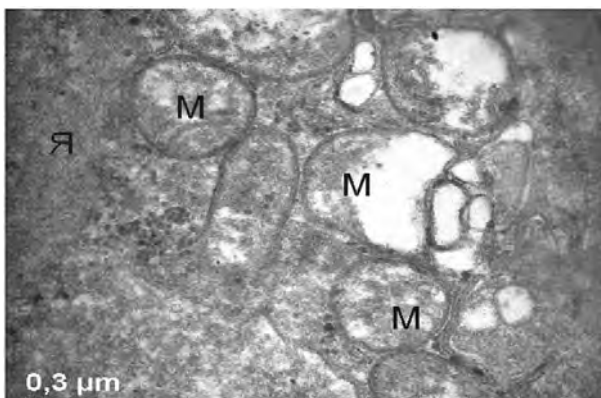


**Рис. 7.** Ультраструктура пирамидных нейронов поля СА 1 гиппокампа старых контрольных крыс. Набухание митохондрий. Обозначения: С – синаптические везикулы; М – митохондрии. X 48 000.

ков, которые плотно прилегали друг к другу, а также обнаруживалась агглютинация везикул. У других синапсов синаптические пузырьки были немногочисленны и распределялись хаотично (рис. 7).

Для участка СА 3 гиппокампа старых контрольных крыс было характерно снижение численности пирамидных нейронов. Они имели более крупные размеры и располагались не так плотно, как в зоне СА 1.

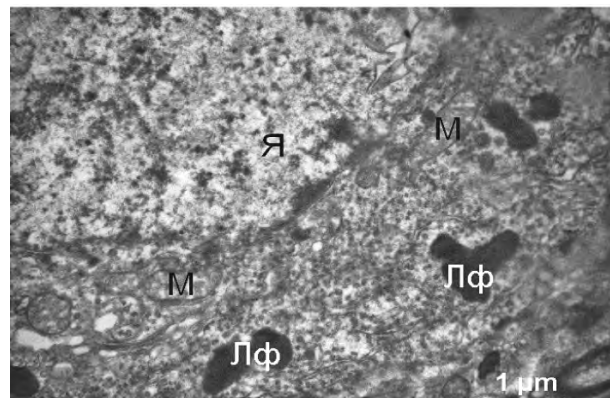
Выявлялись признаки возрастной дегенерации, о чем свидетельствовало наличие внутриядерных включений в виде пучков филаментов, а также окруженные единичной мембраной вакуолеобразные структуры (рис. 8). В нейронах зоны СА 3 наблюда-



**Рис. 8.** Ультраструктура пирамидных нейронов поля СА 3 гиппокампа старых контрольных крыс. Филаментозные и вакулеобразные внутриядерные включения. Обозначения: Я – ядро; М – митохондрии. X 68 000.

лось много полисом и митохондрий, которые характеризовались частичной деструкцией внутренних мембран. В цитоплазме часто обнаруживались скопления липофусциновых гранул и липидных включений (рис. 9).

Определялись синаптические окончания с признаками деструкции и дегенерации в том числе и в виде агглютинации синаптических везикул, деструкции и дезорганизации митохондрий, вакуоли-



**Рис. 9.** Ультраструктура пирамидных нейронов поля СА 3 гиппокампа старых контрольных крыс. Липофусциновые гранулы в цитоплазме пирамидного нейрона. Обозначения: Я – ядро; Лф – липофусциновые гранулы; М – митохондрии. X 37 000.

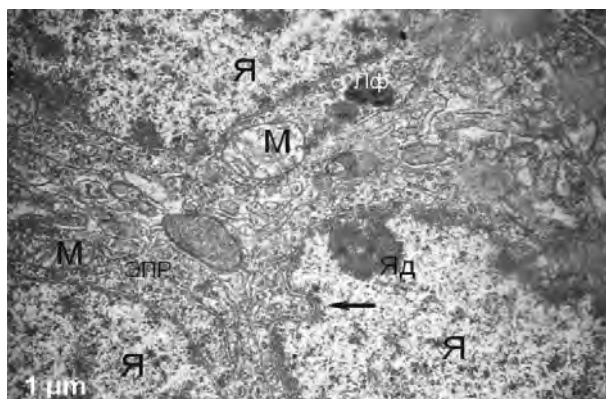
зации дендритных веточек, нарушения упорядоченности мембран шипикового аппарата.

Через сутки после 9 сеансов РЭХВ в гиппокампе старых крыс в зонах СА 1 и СА 3 в меньшей степени по сравнению с контрольными животными наблюдались явления дегенеративных, и более ярко выраженные признаки развития репаративных процессов в клеточных элементах, структуре синапсов, а также микрогемоциркуляторном русле.

Одним из признаков структурных изменений нейронов являлось увеличение складчатости ядерной поверхности за счет инвагинаций кариолеммы. В инвагинированных участках цитоплазмы обнаруживались митохондрии, рибосомы и полисомы. На наружной ядерной мембране, связанной с гранулярным ЭПР, находилось много рибосом, что свидетельствовало об активном синтезе белка в этих клетках. Такие изменения конфигурации ядер считаются проявлением адапционных реакций, приводящих к увеличению площади контакта ядра и цитоплазмы для поддержания определенного уровня метаболизма. В ядрах обнаруживались ядрышки примембранной локализации, что можно рассматривать как проявление адапционных перестроек, направленных на поддержание синтеза белка (рис. 10).

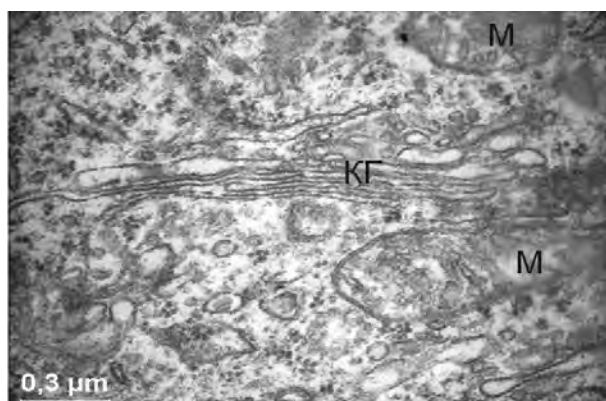
Количество внутриядерных включений, часто встречавшихся в ядрах нейронов старых контрольных крыс, уменьшалось после РЭХВ. Наряду с редукцией, фрагментацией цистерн ЭПР, встречались клетки с хорошо развитым гранулярным ЭПР, сопряженным с митохондриями. В ультраструктуре мембранных и везикулярных элементов комплекса Гольджи преобладали адапционные перестройки – гиперплазия и гипертрофия, поскольку комплекс Гольджи является наиболее устойчивой органеллой в процессе физиологического старения (рис. 11).

Митохондрии – наиболее лабильные органеллы клеток, изменяющиеся при старении, а также под влиянием температурных воздействий. В цитоплазме многих нейронов перестройки ультраструктуры митохондрий носили адапционный характер, что проявлялось в небольшом просветлении матрикса с сохранением крист.



**Рис. 10. Ультраструктура нейронов поля СА 3 гиппокампа старых крыс после 9 сеансов РЭХВ.**  
**Обозначения:** Я – ядро; Яд – ядрышко; М – митохондрии; Лф – липофусциновые гранулы; ЭПР – эндоплазматический ретикулум; И – инвагинация кариолеммы. X 38 000.

Кроме того, обнаруживались митохондрии с уплотнением матрикса, вакуольной трансформацией и начальными стадиями миелинизации мембран. Такая неравномерность изменений митохондрий может быть функционально обусловлена и отражает гетерогенность структурных проявлений старения нейронов.



**Рис. 11. Ультраструктура нейронов поля СА 3 гиппокампа старых крыс после 9 сеансов РЭХВ.**  
**Гипертрофия комплекса Гольджи. Обозначения:** КГ – комплекс Гольджи; М – митохондрии. X 47 000.

Видоизмененные митохондрии часто располагались вблизи гранул липофусцина, которые являлись основным звеном клеточной дегенерации.

Обнаруживались изменения в постсинаптической области, в шипиковом аппарате, где видны его деструкция и дезинтеграция, указывающая на временное нарушение информационного потока. В то же время отмечалось и наличие шипиковых аппаратов с образованием мембранных комплексов с большой протяженностью.

Возрастная потеря синапсов, возможно, связана с неспособностью пресинаптических элементов поддерживать структурную целостность синаптического аппарата, что в свою очередь может быть связано с нарушением транспортных систем аксонов.

Количество синапсов и общая площадь поверхности синаптических контактов у старых животных

на фоне РЭХВ уменьшались, однако средняя площадь отдельного синапса увеличивалась, что можно интерпретировать как компенсацию уменьшения их общего числа. В ответ на деструктивные процессы в нервных отростках и синапсах развивались реактивные изменения в астроцитах, приводившие к их компенсаторной гипертрофии.

Таким образом, субклеточные процессы в нейронах полей СА 1 и СА 3 гиппокампа старых крыс после РЭХВ характеризовались разным уровнем структурно-функциональной активности, связанной с возрастными и адаптационными изменениями.

#### Выводы

1. Электронно-микроскопическое исследование гиппокампа молодых контрольных крыс свидетельствовало о характерной для данного возраста его структурно функциональной активности, что подтверждалось наличием большого количества митохондрий с отчетливыми кристами, которые располагались в различных областях цитоплазмы.

2. Ритмическое экстремальное охлаждение молодых животных не вызывало существенных изменений в ультраструктуре пирамидных нейронов регионов СА1 и СА3 гиппокампа. Отмечались признаки высокой структурно-функциональной активности. Об этом свидетельствовало преобладание ядер с электронносветлым матриксом, заполненным, главным образом эухроматином, примембранная локализация ядрышка и расширение ядерных пор.

3. Ультраструктура пирамидных нейронов поля СА 1 гиппокампа старых контрольных крыс характеризовалась наличием большого количества дегенеративно измененных клеток различной степени выраженности. В цитоплазме определялось незначительное число митохондрий и свободных рибосом. В регионе СА3 снижалась численность пирамидных нейронов. В цитоплазме наблюдалось много липофусциновых гранул и липидных включений.

4. После 9 сеансов РЭХВ в гиппокампе старых крыс в зонах СА 1 и СА 3 в меньшей степени по сравнению с контрольными животными наблюдались явления дегенеративных, и более ярко выраженные признаки развития репаративных процессов в клеточных элементах, структуре синапсов, а также микрогеоциркуляторном русле. Отмечалось наличие шипиковых аппаратов с большой протяженностью. Увеличивалась средняя площадь отдельного синапса, что можно интерпретировать как компенсацию уменьшения их общего числа.

#### Перспективы дальнейших исследований.

В дальнейших экспериментальных исследованиях планируется оценить динамику изменений биохимических показателей сыворотки крови молодых и старых крыс до и после ритмических экстремальных холодových воздействий (-120°C).

## Література

1. Anisimov V.N. Eksperimentalnaya gerontologiya: tseli, zadachi i prioritetye napravlenniya issledovaniy / V.N. Anisimov // Gerontologiya in Silico: stanovlenie novoy distsipliny. Matematicheskie modeli, analiz daniy i vychislitelnye eksperimenty. – M.: Binom, 2012. – S. 10-51.
2. Babychuk V.G. Mehanizmy deystviya ekstremalno nizkikh temperatur na strukturno-funktsionalnoe sostoyanie tsentralnoy nervnoy i serdechno-sosudistoy sistem u zhivotnykh razlichnykh vozrastnykh grupp: dis. ... dokt. med. nauk: spets. 14. 01. 35 «Kriomeditsina» / V.G. Babychuk. – H., 2010. – 335 s.
3. Vinogradova O.S. Gippokamp i pamyat / O.S. Vinogradova. – M.: Nauka, 1975. – 239 s.
4. Vinogradova O.S. Neyronauka kontsa vtorogo tysyacheletiya: smena paradig / O.S. Vinogradova // Zhurn. vysshey nervnoy deyatel'nosti. – 2000. – T. 50, № 5. – S. 743-774.
5. Vladimirov Yu.A. Narushenie barernykh svoystv vnutrenney i naruzhnoy membran mitohondriy, nekroz i apoptoz / Yu.A. Vladimirov // Biologicheskie membrany. – 2002. – T. 19, № 5. – S. 356-377.
6. Kulik V.V. Vliyaniye ritmicheskikh ekstremalnykh holodovykh vozdeystviy na formirovaniye dolgovremennoy prostranstvennoy pamyati u starykh kryis / V.V. Kulik, G.A. Babychuk // Aktualni pitannya rozvitku biologiyi ta ekologiyi. materialy mizhnarodnoyi naukovo-praktichnoyi konferentsiyi (3-7 zhovtnya 2016 r., Vinnitsya, Ukrayina). – Vinnitsya, TOV «NIIan-LTD». – 2016. – S. 428-431.
7. Pat. 40168 Ukrayina, MPK A61V 18/00. Kriokamera dlya eksperimentalnogo oholodzhennya laboratornykh tvarin / Babychuk G.O., Kozlov O.V., Lomakin I.I., Babychuk V.G.; vlasnik Institut problem kriobiologiyi i kriomeditsini NAN Ukrayini. – u200812930; zayavl. 06.11.2008; opubl. 25.03.2009. – Byul. № 6.
8. Havinson V.H. Peptidy i molekulyarnyye markery stareniya CCL11 i HMBG1: obzor literatury i sobstvennykh daniy / V.H. Havinson [i dr.] // ADVANCES. – 2014. – T. 27, № 3. – S. 399-406.
9. Havinson V.H. Epigeneticheskie aspekty peptidnoy regulatsii stareniya / V.H. Havinson, A.Yu. Solov'ev, D.V. Zhilinskiy // Uspehi gerontologii. – 2012. – № 1. – S. 11-22.
10. Bakker A. Reduction of hippocampal hyperactivity improves cognition in amnesic mild cognitive impairment / A. Bakker, G.L. Krauss, M.S. Albert // Neuron. – 2012. – Vol. 74, № 3. – P. 467-474.
11. Daumas S. Encoding, consolidation, and retrieval of contextual memory: differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions / S. Daumas, H. Halley, B. Franc'ois, J.M. Lassalle // Learn. Mem. – 2005. – Jul.-Aug. – Vol. 12 (4). – P. 375-382.
12. Geinisman Y. Associative learning elicits the formation of multiplesynapse boutons / Y. Geinisman, R.W. Berry, J.F. Disterhoff, J.M. Power, E.A. Van der Zee // J Neurosci. – 2013. – Aug. – Vol. 21 (15). – P. 5568-5573.
13. Rosenzweig E.S. Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition / E.S. Rosenzweig, C.A. Barnes // Prog. Neurobiol. – 2003. – Feb. – Vol. 69 (3). – P. 143-179.

УДК 612.017.2.8:57.012.4:599.323.4

### **ДИНАМІКА УЛЬТРАСТРУКТУРНИХ ПЕРЕБУДОВ ГІПОКАМПУ МОЛОДИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ДО ТА ПІСЛЯ РИТМІЧНИХ ЕКСТРЕМАЛЬНИХ ХОЛОДОВИХ ВПЛИВІВ (-120 °С)**

**Кулик В. В., Бабійчук В. Г.**

**Резюме.** Електронно-мікроскопічне дослідження гіпокампу молодих тварин після РХВ не виявило суттєвих змін в ультраструктурі пірамідних нейронів регіонів CA1 і CA3. Ультраструктура пірамідних нейронів поля CA1 гіпокампу старих контрольних щурів характеризувалася наявністю великої кількості дегенеративно змінених клітин різного ступеня вираженості. У цитоплазмі визначалася незначна кількість мітохондрій і вільних рибосом. В регіоні CA3 знижувалася чисельність пірамідних нейронів. У цитоплазмі спостерігалось багато ліпофусцинових гранул і ліпідних включень.

Після 9 сеансів РХВ в гіпокампі старих щурів в зонах CA1 і CA3 в меншій мірі в порівнянні з контрольними тваринами спостерігалися явища дегенеративних, і більш яскраво виражені ознаки розвитку репаративних, процесів в клітинних елементах, структурі синапсів, а також мікрогемоциркуляторному руслі.

**Ключові слова:** ритмічні екстремальні холодові впливи, гіпокамп, мітохондрії.

УДК 612.017.2.8:57.012.4:599.323.4

### **ДИНАМИКА УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ПЕРЕСТРОЕК ГИПОКАМПА МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС ДО И ПОСЛЕ РИТМИЧЕСКИХ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ХОЛОДОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ (-120°С)**

**Кулик В. В., Бабийчук В. Г.**

**Резюме.** Электронно-микроскопическое исследование гиппокампа молодых животных после РХВ не показало существенных изменений в ультраструктуре пирамидных нейронов регионов CA1 и CA3. Ультраструктура пирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа старых контрольных крыс характеризовалась наличием большого количества дегенеративно измененных клеток различной степени выраженности. В цитоплазме определялось незначительное число митохондрий и свободных рибосом. В регионе CA3 снижалась численность пирамидных нейронов. В цитоплазме наблюдалось много липофусциновых гранул и липидных включений.

После 9 сеансов РХВ в гиппокампе старых крыс в зонах CA1 и CA3 в меньшей степени по сравнению с контрольными животными наблюдались явления дегенеративных, и более ярко выраженные признаки развития репаративных процессов в клеточных элементах, структуре синапсов, а также микрогемоциркуляторном русле.

**Ключевые слова:** ритмические экстремальные холодовые воздействия, гиппокамп, митохондрии.

UDC 612.017.2.8:57.012.4:599.323.4

### **INFLUENCE OF RHYTHMIC EXTREME COLD EXPOSURE (-120 °C) ON FEATURES ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF CEREBRAL CORTICAL NEURONS YOUNG AND OLD RATS**

**Kulik V. V., Babiychuk V. G.**

**Abstract.** Electron microscopic examination of the hippocampus of young animals after RECE showed no significant changes in the ultrastructure of the pyramidal neurons of CA1 and CA3 regions. The ultrastructure of the pyramidal neurons of the CA 1 hippocampal field of the old control rats was characterized by the presence of a large number of degenerate cells of varying degrees of severity. In the cytoplasm, an insignificant number of mitochondria and free ribosomes were detected. In the CA3 region, the number of pyramidal neurons decreased. A lot of lipofuscin granules and lipid inclusions were observed in the cytoplasm.

*Object and methods.* The experiments were performed on the 6 and 24 - month non-linear male rats. Each age group of animals was divided into two subgroups (7 rats each): one subgroup - 6 and 24 - month intact rat; second subgroup - 6 and 24 month rat after 9 sessions RECE. RECE conducted in the cryochamber for extreme cooling of experimental animals. On the next day after the last session the rats were taken out and the experiment was performed by decapitation fence hippocampus tissue. The resulting material was examined under an electron microscope EMW-100BR.

*Results and discussion.* Electron microscopic examination of the hippocampus of young control rats indicated a characteristic structural activity for a given age, which was confirmed by the presence of a large number of mitochondria with distinct cristae that were located in various regions of the cytoplasm. Rhythmic extreme cooling of young animals did not cause significant changes in the ultrastructure of pyramidal neurons of CA1 and CA3 regions of the hippocampus. There were signs of high structural and functional activity. This was evidenced by the predominance of nuclei with an electron-bright matrix, filled mainly with euchromatin, an acceptor localization of the nucleolus, and expansion of nuclear pores. The ultrastructure of the pyramidal neurons of the CA 1 hippocampal field of the old control rats was characterized by the presence of a large number of degenerate cells of different degrees of severity. In the cytoplasm, an insignificant number of mitochondria and free ribosomes were detected. In the CA3 region, the number of pyramidal neurons decreased. A lot of lipofuscin granules and lipid inclusions were observed in the cytoplasm. After 9 sessions of EChV in the hippocampus of old rats in the CA 1 and CA 3 regions, degenerative events were observed to a lesser degree compared to control animals, and marked signs of the development of reparative processes in cell elements, the structure of the synapses, and also the microhemocirculatory bed. There was a presence of spinules with a large length. The average area of a single synapse increased, which can be interpreted as compensation for a decrease in their total number.

**Keywords:** rhythmic extreme cold effects, hippocampus, mitochondria.

*Рецензент – проф. Білаш С. М.  
Стаття надійшла 02.06.2017 року*