

УДК 611.814.1 + 611.814.3

**О.Я. Жураківська***ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»***СТРУКТУРНІ ОСНОВИ СТАРЕЧИХ ЗМІН  
ГІПОТАЛАМО-НЕЙРОГІПОФІЗАРНОЇ СИСТЕМИ**

Вивчали морфофункціональну організацію гіпоталамо-нейрогіпофізарної системи в старечому віці. Було встановлено, що у 24-місячних щурів відбувається перебудова структури надзорового та пришлуночкового ядер, що проявляється зменшенням чисельної щільності нейронів і капілярів на тлі зростання гліоцитів. Спостерігаються процеси сателітозу, що є однією із ознак старіння нервової системи. Перебудова гематоенцефалічного бар'єра (вікові дистрофічні зміни в ендотеліоцитах, перицитах, астроцитах) призводить до гіпоксії нейронів і дистрофічно-деструктивних змін у них, збільшується кількість апоптозних нейронів. Вікові зміни у нейроендокринних клітинах призводять до зниження їх функціональної активності, що морфологічно проявляється зменшенням об'ємної щільності в них нейросекреторних гранул. За таких умов у терміналях аксонів нервової частки нейрогіпофіза відмічається зниження об'ємної щільності нейросекреторних гранул за рахунок молодих і зрілих. Перикапілярні простори в нервовій частці нейрогіпофіза розширені, в них наявні колагенові волокна, фібробласти та відростки пітуїцитів. Така перебудова перикапілярного простору призводить до зменшення чисельності аксозазальних синапсів і затримує виділення нейросекрету в кров. Старечі структурні зміни складових компонентів гіпоталамо-нейрогіпофізарної системи вказують на зменшення її функціональної активності у старечому віці.

**Ключові слова:** надзорове ядро, пришлуночкове ядро, нейрогіпофіз.

На сьогодні доведено, що вікові зміни гіпоталамуса є однією з головних причин старіння всього організму [1], а сам гіпоталамус являє собою своєрідний пейсмейкер, або годинник старіння. З віком змінюється чутливість окремих гіпоталамічних структур до нервової імпульсації, гормонів, медіаторів, що викликає «помилки» інформації як про стан внутрішнього середовища організму, так і про регуляцію гомеостазу [2]. При цьому неузгодженість у надходженні «нервової» і «гуморальної» інформації призводить до порушень процесів адаптації в організмі та є головною причиною виникнення тривалих метаболічних і функціональних реакцій у старості [2, 3].

Метою дослідження є встановлення морфофункціональних особливостей будови гіпоталамо-нейрогіпофізарної системи у 24-місячних щурів.

**Матеріал і методи.** Матеріалом для дослідження послужив гіпоталамус і гіпофіз 20 щурів-самців лінії Вістар 12- та 24-місячного віку. Використали гістологічний (забарвлення за Нісслем), гістохімічний (альдегід-фуксином

за Гоморі), імуногістохімічний (для виявлення апоптичних клітин – TUNEL-метод, Apop Tag Plus Peroxidase in Situ Apoptosis Detection Kit, виробник Milliporen, USA, електронно-мікроскопічний методи дослідження. Гістологічні препарати вивчали під світловим мікроскопом МС 300 (ТХР) та фотографували за допомогою Digital camera for microscope DCM 900. Морфометрію здійснювали на вказаних препаратах за допомогою програмного забезпечення NIH USA «Image J» в ручному режимі з урахуванням збільшень. Структурні зміни на певному етапі дослідження аналізували в 50 полях зору і визначали чисельну щільність нейронів/нейроендокринних клітин (ЧЩН/НК), глії (ЧЩГ), капілярів (ЧЩК) і гліальний індекс на площі 0,01 мм<sup>2</sup> надзорового та пришлуночкового ядер. Визначали площу профільного поля нейронів, їх ядер і коефіцієнт форми останніх та ядерно-цитоплазматичний індекс. Нейросекреторний процес оцінювали за показниками об'ємної щільності нейросекреторних гранул у нейронах ( $V_i = P_i / P_t$  [4]). Рахували кількість апоптозних ядер нейроендокринних клітин на площі

© О.Я. Жураківська, 2014

0,5 мм<sup>2</sup> надзорового і пришлуночкового ядер. Визначали апоптозний індекс, який характеризує кількість апоптозних ядер нейроендокринних клітин, в перерахунку на 100 досліджених ядер нейроендокринних клітин з наступним обчисленням відсотка. Цифрові дані статистично обробили.

**Результати та їх обговорення.** У 24-місячних тварин у надзоровому і пришлуночковому ядрах, порівняно з 12-місячними тваринами, зростає чисельна щільність вакуолізованих нейронів, при цьому вакуолі розташовуються на одному із полюсів клітини. У нормохромних нейронах із збереженим ядром речовина Ніссля розташована на периферії клітини у вигляді грубої зернистості. Часто спостерігається хроматоліз, який супроводжується вакуолізацією нейронів. У деяких нейронах дистрофічно-деструктивні зміни є незворотними, що призводить до цитолізу і утворення «клітин-тіней». Зустрічаються поодинокі апоптозні нейроендокринні клітини.

Порівняно з показниками 12-місячних тварин у 24-місячних ЧЩН і ЧЩК знижуються, при цьому чисельна щільність як глії, так і вакуолізованих нейронів значно зростає (табл. 1). Спостерігається попарне і потрійне розташування гліоцитів навколо нервових клітин і капілярів.

$r_s = 0,89$  ( $p < 0,001$ ) і  $r_s = 0,71$  ( $p < 0,05$ ), у пришлуночкових –  $r_s = 0,86$  ( $p < 0,001$ ) і  $r_s = 0,78$  ( $p < 0,01$ ).

Кількість апоптозних нейроендокринних клітин у 24-місячних тварин зростає порівняно з такою у 12-місячних тварин: у надзорових ядрах до  $0,66 \pm 0,21$  ( $0,33 \pm 0,21$ ;  $p < 0,05$ ), у пришлуночкових – до  $0,67 \pm 0,18$  ( $0,22 \pm 0,19$ ;  $p < 0,05$ ).

В надзоровому і пришлуночковому ядрах середня площа нейронів, порівняно з 12-місячними тваринами, достовірно не змінюється, тоді як площа ядер нейроендокринних клітин зменшується, що призводить до зменшення ядерно-цитоплазматичного індексу (табл. 2). Такі цитокаріометричні зміни вказують на зменшення функціональної активності нейроендокринних клітин.

Виявляються вікові дистрофічно-деструктивні зміни і на ультраструктурному рівні. Ядра світлих нейроендокринних клітин, ендотеліоцитів і перицитів характеризуються низькою електронною щільністю, натомість у темних нейроендокринних клітин відмічаються каріорексис і каріолізис. У нейроендокринних клітинах і гліоцитах виявляються просвітлення матриксу мітохондрій і руйнування їх крист, наявні вакуолі різних розмірів і величини. У нейроплазмі з'являються м'ялиноподібні та інші

Таблиця 1. Структура надзорових і пришлуночкових ядер гіпоталамуса тварин репродуктивного віку ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Чисельна щільність	Ядра тварин віком, міс			
	12		24	
	надзоріві	пришлуночкові	надзоріві	пришлуночкові
Нейронів	$6,3 \pm 0,30$	$9,2 \pm 0,42$	$4,9 \pm 0,31^*$	$7,5 \pm 0,34^*$
світлих	$5,6 \pm 0,16$	$8,4 \pm 0,27$	$3,8 \pm 0,42^*$	$6,8 \pm 0,29^*$
темних	$0,7 \pm 0,21$	$0,8 \pm 0,20$	$1,1 \pm 0,28$	$0,7 \pm 0,29$
вакуолізованих	$0,5 \pm 0,22$	$0,6 \pm 0,22$	$3,1 \pm 0,31^*$	$4,7 \pm 0,31$
Глії	$4,7 \pm 0,21$	$6,6 \pm 0,37$	$6,9 \pm 0,31^*$	$9,9 \pm 0,86^*$
Капілярів	$4,1 \pm 0,26$	$6,4 \pm 0,22$	$3,5 \pm 0,31^*$	$4,8 \pm 0,33^*$
Гліальний індекс	$0,74 \pm 0,02$	$0,71 \pm 0,02$	$1,4 \pm 0,12^*$	$1,32 \pm 0,14^*$

Примітка. \*  $p < 0,05$ , різниця між показниками 12- і 24-місячних тварин.

Отримані нами морфологічні критерії старіння гіпоталамуса, а саме вікова втрата нейронів і вираженість процесів сателітозу підтверджуються даними дослідників [5, 6].

У групах 12- і 24-місячних тварин встановлений позитивний кореляційний зв'язок між ЧЩК і ЧЩН: у надзорових ядрах відповідно

включення, виявляються лізосоми, аутофагозоми, ліпофусцинові тільця. Останні є кінцевим продуктом перекисного окиснення ліпідів, і це вважається постійною і універсальною ознакою старіння [7]. Нагромадження ліпофусцину призводить до погіршення внутрішньоклітинного руху нейроплазми, а акумуля-

Таблиця 2. Морфометричні показники нейроендокринних клітин надзорових і пришлуночкових ядер 12- і 24-місячних тварин ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показник	Ядра тварин віком, міс			
	12		24	
	надзорові	пришлуночкові	надзорові	пришлуночкові
Площа клітини, $\mu\text{м}^2$	416,99 $\pm$ 12,47	372,44 $\pm$ 11,35**	401,86 $\pm$ 723,09	378,68 $\pm$ 3,77
Площа ядра, $\mu\text{м}^2$	76,52 $\pm$ 1,95	65,58 $\pm$ 1,42*	62,74 $\pm$ 4,74***	60,86 $\pm$ 1,29***
Коефіцієнт форми ядра	0,82 $\pm$ 0,01	0,83 $\pm$ 0,01	0,84 $\pm$ 0,03	0,85 $\pm$ 0,01
Ядерно-цитоплазматичний індекс	0,23 $\pm$ 0,01	0,23 $\pm$ 0,01	0,18 $\pm$ 0,01**	0,19 $\pm$ 0,10*

Примітка. \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ; різниця між показниками 12- і 24-місячних тварин.

ція пігменту в дендритах перешкоджає цитоплазматичному транспорту, викликаючи деструкцію і втрату клітинних відростків. Збільшення ліпофусцину в нейронах корелює зі зменшенням у них кількості мітохондрій і розмірів самих клітин [6, 8].

У темних нейроендокринних клітинах цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки розширені, на їх поверхні практично не виявляються рибосоми. Об'ємна щільність нейросекреторних гранул у світлих нейроендокринних клітинах достовірно не відрізняється від такої у 12-місячних тварин і становить у надзорових ядрах (0,64 $\pm$ 0,02) %, у пришлуночкових ядрах (0,62 $\pm$ 0,02) %, у темних нейроендокринних клітинах вона зменшується у 2,5 раза і становить відповідно (0,88 $\pm$ 0,14) % ( $p < 0,001$ ) та (0,77 $\pm$ 0,11) % ( $p < 0,001$ ). Поряд зі зміненими нейронами зустрічаються і такі, будова яких не відрізняється від будови 12-місячних тварин.

У нейропілі досліджуваних ядер відмічається укорочення дендритів, зменшення їх галуження та кількості шипиків на верхівці. З боку гліальних клітин виявлені зміни в олігодендроцитах, які проявляються помірним розширенням цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, деструктивними змінами мітохондрій. У перикапілярних астроцитах спостерігаються каріопікноз, гіперплазія фібрилярних структур, накопичення лізосом і аутофагосом. Базальна мембрана капілярів потовщується і стає більш гомогенною. В цитоплазмі ендотеліоцитів спостерігаються лізосоми, мітохондрії з частковою деструкцією крист, невеликі вакуолі, поодинокі мікропіно-

цитозні пухирці. Ядровмісна зона ендотеліоцитів різко випинає в просвіт капіляра, частково прикриваючи його. Не виключено, що зміни ендотеліоцитів, базальної мембрани і перикапілярних астроцитів у процесі старіння призводять до порушення функціонування гематоенцефалічного бар'єра.

У 12-місячних тварин нервова частка нейрогіпофіза на ультраструктурному рівні представлена безмієліновими нервовими волокнами, пітуїцитами та їх відростками, а також фібробластами, які розмішуються за ходом гемокапілярів. Безмієлінові нервові волокна – це терміналі аксонів нейроендокринних клітин гіпоталамуса. Їх світла аксоплазма містить нейрофібрили, округлої та овальної форми мітохондрії з чітко вираженими поперечно орієнтованими кристами, нейросекреторні гранули, невелику кількість синаптичних пухирців і вільних рибосом. Нейросекреторні гранули мають матрикс різної електронно-оптичної щільності – від помірної до високої, чітко виражену мембрану і підмембранний світлий обідок. Серед них можна виділити 4 типи: 1-й тип (молоді) має матрикс високої електронно-оптичної щільності, мембрану, підмембранний обідок у них відсутній; 2-й тип (зрілі) – матрикс помірної електронно-оптичної щільності та вузький підмембранний обідок, який може бути відсутнім; 3-й тип (дифундуючі) – невелику серцевину помірної електронно-оптичної щільності та широкий підмембранний обідок; 4-й (залишкові або пусті гранули) – у більшості випадків утворені тільки однією мембраною і ще називаються empty vesicles. У сусідніх аксонах кількість нейросекретор-

них гранул і синаптичних пухирців є різною. Існують аксони, в яких нейросекреторні гранули відсутні, а наявні тільки синаптичні пухирці, і навпаки. На нашу думку, це пов'язано з різними рівнями проведеного зрізу. Об'ємна щільність нейросекреторних гранул у терміналях аксонів нейроендокринних клітин 12-місячних тварин становить  $(13,44 \pm 0,15) \%$ , із них 1-го типу –  $(3,41 \pm 0,05) \%$ , 2-го –  $(6,77 \pm 0,13) \%$ , 3-го –  $(2,45 \pm 0,04) \%$ , 4-го –  $(0,77 \pm 0,02) \%$ . Таким чином, у 12-місячних тварин процеси накопичення нейросекрету переважають над його виведенням.

У нервовій частці нейрогіпофіза 24-місячних тварин спостерігаються варикозоподібні потовщення за ходом нервових волокон. На ультраструктурному рівні в більшості безмієлінових нервових волокон відмічаються нейрофібрили, округлої і овальної форми мітохондрії з частково просвітленим матриксом, невелика кількість нейросекреторних гранул, синаптичні пухирці зустрічаються рідко. Тільця Герінга містять невелику кількість нейросекреторних гранул переважно 3-го і 4-го типів. Об'ємна щільність нейросекреторних гранул, порівняно з такою у 12-місячних тварин, зменшується до  $(9,34 \pm 0,41) \%$  ( $p < 0,001$ ) за рахунок нейросекреторних гранул 1-го  $[(1,86 \pm 1,16) \%$ ;  $p < 0,001$ ] і 2-го  $[(4,39 \pm 0,27) \%$ ;  $p < 0,001$ ] типів, тоді як об'ємна щільність нейросекреторних гранул 3-го і 4-го типів статистично достовірно не змінюється і становить відповідно  $(2,32 \pm 0,09) \%$  і  $(0,76 \pm 0,02) \%$ . Ультраструктура пітуїцитів свідчить про їх високу функціональну активність: ядра округлої або овальної форми, з дифузно розміщеним еухроматином. В цитоплазмі містяться мітохондрії, гіперплазований комплекс Гольджі, поодинокі розширені цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки. Разом з тим, зустрічаються пітуїцити із вторинними лізосомами, вакуолями, частково зруйнованими кристами мітохондрій. У кровоносних капілярах збільшується товщина ендотелію.

Ділянки стоншеної цитоплазми чергуються з потовщеннями, в яких наявні мітохондрії, мікропіноцитозні пухирці, вільні рибосоми. Перикапілярні простори розширені, в них наявні колагенові волокна, фібробласти та відростки пітуїцитів. Така перебудова перикапілярного простору в деякій мірі зменшує кількість аксовазальних синапсів і затримує виділення нейросекрету в кров.

#### Висновки

1. У 24-місячних тварин відбувається перебудова структури надзорових і пришлуночкових ядер у бік зменшення нейроендокринних клітин і капілярів на тлі зростання гліоцитів. Перебудова гематоенцефалічного бар'єра призводить до гіпоксії нейроендокринних клітин і дистрофічно-деструктивних змін у них. В окремих нейронах ці процеси носять незворотний характер, що призводить до утворення «клітин-тіней». Збільшується кількість апоптозних нейронів.

2. До складу структурних елементів нервової частки нейрогіпофіза 12-місячних тварин входять пітуїцити різних типів, безмієлінові нервові волокна, аксовазальні синапси. Нами вперше в термінальних розгалуженнях аксонів нейроендокринних клітин виділено чотири типи нейросекреторних гранул (молоді, зрілі, дифундуючі та залишкові), які вказують на послідовні стадії накопичення та виведення нейросекрету. У нейрогіпофізі 24-місячних тварин відмічається зниження об'ємної щільності нейросекреторних гранул за рахунок молодих і зрілих нейросекреторних гранул. Відбуваються склероз стінки капілярів і розширення перикапілярних просторів.

Перспективними є дослідження змін гіпоталамо-нейрогіпофізарної системи при різних захворюваннях у різні періоди постнатального онтогенезу, що розширить і поглибить знання про патогенетичні механізми порушення вікових нейрогуморальних процесів у організмі при них.

#### Література

1. Анисимов В.Н. Эпифиз, биоритмы и старение организма / В.Н. Анисимов // Успехи физиол. наук. – 2008. – Т. 39, № 4. – С. 40–65.
2. Everitt A.V. Neuroendocrine function and aging / A.V. Everitt // Adv. Exp. Med. Biol. – 1980. – Vol. 129. – P. 233–242.
3. Hypothalamic neural projections are permanently disrupted in diet-induced obese rats / S.G. Bouret, J.N. Gorski, C.M. Patterson [et al.] // Cell Metab. – 2008. – Vol. 7, № 2. – P. 179–185.

4. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г.Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.

5. Масловский С.Ю. Особенности клеточных соотношений в энторинальной области головного мозга человека / С.Ю. Масловский, Н.Е. Пирятинская // Медицина сьогодні і завтра. – 2008. – № 2. – С. 97–100.

6. Михальский С.А. Изменение количества нейронов и глиальных клеток в вентромедиальном ядре и латеральной области гипоталамуса крыс при старении / С.А. Михальский, Т.Ю. Квитницкая-Рыжова // Биологические механизмы старения : III Междунар. симпоз., май 1998 г. : тез. докл. – Харьков, 1998. – С. 53.

7. Effects of calorie restricted diet on structural characteristics of adult and old rats / T.Yu. Kvitnitskaya-Ryzhova, A.S. Sturina, S.A. Mikhalsky [et al.] // Успехи геронтологии. – 2000. – Т. 5. – С. 63.

8. Квитницкая-Рыжова Т.Ю. Морфофункциональные изменения в эмоциогенных зонах гипоталамуса при старении и в условиях стресса / Т.Ю. Квитницкая-Рыжова, С.А. Михальский // Морфология. – 2006. – Т. 129, № 2. – С. 45–46.

**О.Я. Журакивская**

#### **СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ СТАРЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГИПОТАЛАМО-НЕЙРОГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЫ**

Изучали морфофункциональную организацию гипоталамо-нейрогипофизарной системы в старческом возрасте. Установлено, что у 24-месячных крыс происходит перестройка структуры супраоптического и паравентрикулярного ядер, что проявляется уменьшением численной плотности нейронов и капилляров на фоне роста глиоцитов. Наблюдаются процессы сателитоза, что является одним из признаков старения нервной системы. Перестройка гематоэнцефалического барьера (возрастные дистрофические изменения в эндотелиоцитах, перичитах, астроцитах) приводит к гипоксии нейронов и дистрофически-деструктивным изменениям в них, увеличивается количество апоптотических нейронов. Возрастные изменения в нейроэндокринных клетках приводят к снижению их функциональной активности, морфологически проявляется уменьшение объемной плотности в них нейросекреторных гранул. При таких условиях в аксонах нервной доли нейрогипофиза наблюдается снижение объемной плотности нейросекреторных гранул за счет молодых и зрелых. Околокапиллярные пространства в нервной части нейрогипофиза расширены, в них имеются коллагеновые волокна, фибробласты и отростки питуицитов. Такая перестройка околокапиллярного пространства приводит к уменьшению численности аксовазальных синапсов и задерживает выделение нейросекрета в кровь. Старые структурные изменения составляющих компонентов гипоталамо-нейрогипофизарной системы указывают на уменьшение ее функциональной активности в старческом возрасте.

**Ключевые слова:** супраоптическое ядро, паравентрикулярное ядро, нейрогипофиз.

**О. Ya. Zhurakivska**

#### **STRUCTURAL BASES OF SENILE CHANGES OF THE HYPOTHALAMIC-NEUROHYPOPHYSEAL SYSTEM**

Scientific research is devoted to studying of morphofunctional organization of hypothalamic-neurohypophyseal system in old age. It was established that in 24 month old rats takes place the restructuring of supraoptic and paraventricular nuclei toward decrease of neurons (neuroendocrine cells) and capillaries on the background of increase of gliocytes. Are observed processes of gliosis, which is one of the signs of aging of the nervous system. Restructuring of the blood-brain barrier (age degenerative changes in the endothelial cells, sericite, astrocytes) leads to hypoxia of neurons and dystrophic-destructive changes in them, the number of apoptotic neurons increases. Age-related changes in neuroendocrine cells reduce their functional activity, that morphologically is manifested by reduction of neurosecretory granules volume density in them. Under such conditions in the terminals of neurohypophysis nervous share axons also is observed decrease of volume density of neurosecretory granules due to young and mature, while the volume density of diffusing and residual statistically is not different from 12-month-old rats. In addition, the capillary spaces in the nervous lobe of neurohypophysis are extended. in them are present collagen fibers, fibroblasts and processes of pituicyte. Such restructuring of precapillary space to some extent reduces the number of axovasal synapses and delays excretion of neurosecret into the blood. Thus senile structural changes of the components of the hypothalamicneurohypophysial system indicate a decrease in its functional activity.

**Key word:** supraoptic nucleus, paraventricular nucleus, neurohypophysis.

Поступила 11.04.14