

УДК: 611.814.1 + 591.481.2+591.3

*Жураківська О.Я.***Морфологічні критерії старіння гіпоталамуса**

Кафедра анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії

Івано-Франківський національний медичний університет, Україна

e-mail: peretaoua@mail.ru

**Резюме.** Наукова робота присвячена питанням вивчення морфофункціональної організації велико- і дрібноклітинних ядер гіпоталамуса в постнатальному періоді онтогенезу. Матеріалом для дослідження послужив гіпоталамус 20 щурів-самців лінії Вістар віком 3 та 24 місяці. Використали наступні методи дослідження: гістологічний (матеріал фіксували в розчині спирт-формолу, виготовляли парафінові блоки, зрізи забарвлювали за Нісслем), електронно-мікроскопічний та імуногістохімічний (виявлення апоптичних клітин методом TUNEL-маркування (Apop Tag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit), виробник «Millipore», USA).

Встановлено основні морфологічні критерії старіння велико- і дрібноклітинних ядер гіпоталамуса, а саме: зменшення чисельної щільності нейронів і капілярів на тлі зростання чисельної щільності глії і гліального індексу; зростання рівня ТБК-активних продуктів на тлі зменшення активності каталази і церулоплазміну, що призводить до збільшення кількості вакуолізованих нейронів. Порушення нейроно-гліально-капілярних співвідношень та активація процесів пероксидації ліпідів стають причиною зростання кількості апоптозних нейронів і апоптозного індексу в гіпоталамусі, а саме: у 24-місячних тварин, порівняно з 3-місячними, кількість апоптозних нейронів зростає у надзоровому ядрі до  $0,66 \pm 0,21$  ( $p=0,019$ ), у пришлуночковому ядрі – до  $0,50 \pm 0,22$  ( $p=0,045$ ), у дугоподібному ядрі – до  $1,17 \pm 0,16$  ( $p=0,006$ ), у вентромедіальному ядрі – до  $1,33 \pm 0,21$  ( $p=0,014$ ). Апоптозний індекс у великоклітинних ядрах гіпоталамуса (надзоровому і пришлуночковому) коливається в межах 0-1%, натомість у дрібноклітинних ядрах (дугоподібному і вентромедіальному) він зростає до 1-2%. Таким чином, процеси старіння є більш вираженими у дрібноклітинних ядрах гіпоталамуса.

**Ключові слова:** онтогенез, нейросекреторні клітини, апоптоз.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.**

Старіння є складним багатофакторним процесом, який асоціюється зі змінами в експресії генів у різних тканинах ссавців [1]. Як відомо, старіння організму залежить від змін нейроендокринної регуляції. На даний час доведено, що вікові зміни гіпоталамуса є однією із головних причин старіння всього організму, а сам гіпоталамус представляє собою своєрідний пейсмейкер, або годинник старіння [1, 3, 5]. Експериментально було доведено, що видалення вентромедіального ядра (ВМЯ) гіпоталамуса у новонароджених щурів викликає збільшення маси тіла, гіперчутливість до глюкози, ліпідемію і ниркову недостатність [1, 3]. У той же час, хронічне електричне подразнення латеральної гіпоталамічної ділянки старих щурів забезпечувало максимальну тривалість життя цих тварин. Серед багатьох причин старіння клітин найбільша кількість публікацій в останні роки присвячена апоптозу [6, 7, 8].

Виходячи з цього метою дослідження стало вивчення морфологічних критеріїв старіння нейросекреторних клітин гіпоталамуса в постнатальному періоді онтогенезу.

**Матеріал і методи дослідження**

Матеріалом для дослідження послужив гіпоталамус 20 щурів-самців лінії Вістар віком 3 та 24 місяці.

Для гістологічного дослідження матеріал фіксували в розчині спирт-формолу, виготовляли парафінові блоки, зрізи забарвлювали за Нісслем.

Для виявлення апоптичних клітин використали метод TUNEL-маркування (Apop Tag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit), виробник «Millipore», USA.

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 2% розчині чотириокису осмію, проводили та контрастували за загальноприйнятим методом. Вивчення матеріалу проводили на електронному мікроскопі ПЕМ-125 К, при

напрузі прискорення 75 кВ, з наступним фотографуванням при збільшеннях від 1200 до 12000 разів. Напівтонкі зрізи, товщиною 1 мкм, фарбували 1% розчином метиленової синьки. Гістологічні препарати і напівтонкі зрізи 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 автоматичному або ручному режимі з урахуванням збільшень. Структурні зміни на певному етапі дослідження аналізували в 50 полях зору і визначали чисельну щільність нейронів (ЧЦН), глії (ЧЦГ), капілярів (ЧЦК) і гліальний індекс (ГІ) на площі  $0,01 \text{ мм}^2$  надзорового (НЯ), пришлуночкового (ПЯ), вентромедіального (ВМЯ) та дугоподібного ядер (ДЯ). Визначали апоптозний індекс, який характеризує кількість апоптозних нейронів (АН) в перерахунку на 100 досліджених клітин із наступним обчисленням відсотка. Підраховували кількість апоптозних нейронів на  $0,5 \text{ мм}^2$  досліджуваних ядер.

Комп'ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою статистичного пакету Stat.Soft.Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 6. Використовували непараметричний метод дослідження (критерій Уїлкоксона, Манна-Уїтні, коефіцієнт рангової кореляції Спірмена).

**Результати дослідження та їх обговорення**

У 3-місячних щурів цитоміелоархітектоніка великоклітинних ядер гіпоталамуса відрізняється. У пришлуночковому ядрі (ПЯ) щільність розташування нейронів є достовірно вищою, порівняно з надзоровим ядром (НЯ) (табл. 1), за рахунок світлих нейросекреторних клітин. Це стосується і гліальних клітин. Натомість чисельна щільність капілярів і гліального індексу достовірно не відрізняються (табл. 1). У 3-місячних тварин у НЯ і ПЯ зустрічаються нормохромні і гіперхромні нейрони овальної форми. В центрі клітини розташоване ядро з темним ядрцем. Нейроплазма перикаріонів рівномірно наповнена речовиною Ніссля. Нами виявлений позитивний кореляційний зв'язок між чисельною щільністю капілярів і нейронів: у НЯ -  $r_s = 0,68$  ( $p=0,013$ ), у ПЯ -  $r_s = 0,75$  ( $p=0,012$ ).

Достовірної різниці між показниками цитоміелоархітектоніки вентромедіального (ВМЯ) і дугоподібного ядер (ДЯ) нами не виявлено, проте чисельна щільність нейронів і гліальних клітин є достовірно вищою, порівняно з великоклітинними ядрами, а чисельна щільність капілярів є меншою (див. табл. 1). На відміну від великоклітинних ядер, у дрібноклітинних ядрах у цей термін постнатального онтогенезу з'являються вакуолізовані нейрони (див. табл. 1). Виявити достовірну взаємозалежність між чисельною щільністю капілярів і нейронів у ВМЯ і ДЯ нам не вдалось.

ДЯ складається з світлих і темних НК веретеноподібної або трикутної форми, які оточені клітинами глії, але подекуди між собою контактують. ВМЯ містить у центрі більш крупні клітини, а по периферії – дрібні. На відміну від нейронів ДЯ, вони всі округлої форми і часто контактують між собою. Ядра нейронів великі, округлі, світлі містять темне ядрце, яке розташовується, переважно, екстрентрично. Цитоплазма перикаріонів містить яскраво забарвлені грудки тигроїду, що накопичуються в основі аксона або розподілені рівномірно.

Використовуючи метод TUNEL-маркування нам не вдалось виявити АН в НЯ і ПЯ 3-міс. тварин. У дрібноклітинних ядрах спостерігаються поодинокі АН, в ядрах яких відбувається нік-мічення одно- та дwonиткових розривів ДНК з дезоксирибонуклеотид трансферазою, і вони забарвлюються в коричневий колір. Кількість АК у ВМЯ і ДЯ статистично достовірно не відрізняється і складає відповідно  $0,33 \pm 0,21$

Таблиця 1. Кількісна характеристика цитомієлоархітектоніки НЯ, ПЯ, ДЯ і ВМЯ в постнатальному періоді онтогенезу (M±m, n=8)

Вік тварин	Ядра гіпоталамуса	ЧЩН	ЧЩН			ЧЩГ	ЧЩК	ГІ
			світлі	темні	вакуолізовані			
3-місячні	НЯ	6,5±0,21	6,1±0,11	0,4±0,16	0	3,5±0,16	4,2±0,21	0,54±0,03
	ПЯ	8,7±0,26	8,4±0,22	0,4±0,16	0	4,9±0,23	4,6±0,22	0,55±0,02
	ДЯ	17,3±0,37 <sup>*,###</sup>	16,1±0,45 <sup>*,###</sup>	1,2±0,16 <sup>*,###</sup>	0,6±0,29	10,2±0,29 <sup>*,###</sup>	2,3±0,15 <sup>*,###</sup>	0,55±0,01
	ВМЯ	17,9±0,31 <sup>*,#</sup>	17,3±0,37 <sup>*,#</sup>	0,6±0,22	0,5±0,33	9,9±0,23 <sup>*,#</sup>	2,2±0,13 <sup>*,#</sup>	0,59±0,01
24-місячні	НЯ	4,9±0,31 <sup>×</sup>	3,8±0,41 <sup>×</sup>	1,1±0,28 <sup>×</sup>	3,1±0,31 <sup>×</sup>	6,9±0,31 <sup>×</sup>	3,5±0,31	1,46±0,12 <sup>×</sup>
	ПЯ	7,5±0,34 <sup>×</sup>	6,8±0,29 <sup>×</sup>	0,7±0,21	4,7±0,32 <sup>×</sup>	9,9±0,86 <sup>×</sup>	4,8±0,33 <sup>×</sup>	1,32±0,11 <sup>×</sup>
	ДЯ	14,8±0,21 <sup>×</sup>	13,4±0,27 <sup>×</sup>	1,3±0,15	4,3±0,15 <sup>×</sup>	12,3±0,21 <sup>×</sup>	0,83±0,25 <sup>×</sup>	1,25±0,04 <sup>×</sup>
	ВМЯ	15,2±0,22 <sup>×</sup>	14,1±0,37 <sup>×</sup>	1,1±0,18	3,7±0,33 <sup>×</sup>	12,5±0,28 <sup>×</sup>	1,1±0,29 <sup>×</sup>	1,17±0,06 <sup>×</sup>

Примітки: \* - різниця між показниками НЯ і ВМЯ 3-місячних тварин, p<0,05; \*\* - різниця між показниками НЯ і ДЯ 3-місячних тварин, p<0,05; # - різниця між показниками ПЯ і ВМЯ 3-місячних тварин, p<0,05; ### - різниця між показниками ПЯ і ДЯ 3-місячних тварин, p<0,05; × - різниця між показниками 3-місячних і 24-місячних тварин в межах одного ядра, p<0,05

та 0,17±0,16, апоптозний індекс коливається в межах 0-1%.

У 3-місячних тварин процеси пероксидації ліпідів ми оцінювали за рівнем ТБК-активних продуктів, які становлять 3,54±0,05 нмоль/мл, а антиоксидантний захист – за активністю каталази і церулоплазміну, які відповідно склали 9,92±0,18 перекису водню/мл і 45,14±1,28 у.о. Нами виявлена пряма взаємозалежність між кількістю вакуолізованих нейронів і рівнем ТБК-активних продуктів, яка у ВМЯ становить  $r_s - 0,86$  (p=0,019), у ДЯ -  $r_s - 0,89$  (p=0,018).

У 3-місячних тварин на ультраструктурному рівні розрізняють світлі і темні НК. У центрі НК знаходиться округле ядро з дифузно розсіяними гранулами хроматину та ексцентрично розміщеним електронно-щільним ядром. У світлих клітинах біля ядра розташований добре розвинений комплекс Гольджі, до складу якого входять диктїосоми та пухирці. Саме тут спостерігається утворення нейросекреторних гранул, які побудовані з матриксу помірної електронно-оптичної щільності, мембрани та світлого вузького підмембранного обідка, останній прослідковується не завжди. Окремі нейросекреторні гранули зустрічаються поблизу нейролеми, аксонного горбика, а значна кількість спостерігається у аксоплазмі. Цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки поодинокі. На їх зовнішній поверхні знаходиться невелика кількість рибосом, більшість їх розміщена в міжцистерновій гіалоплазмі у вигляді полісом. У НК зустрічаються зрілі та молоді мітохондрії. Перші є овальної форми, з матриксом помірної електронно-оптичної щільності і паралельно орієнтованими кристами. Другі дрібні, мають видовжену паличкоподібну форму, підвищеної електронно-оптичної щільності матрикс і чіткі контуровані кристи. Дендрити нейросекреторних клітин містять світлу цитоплазму, поодинокі мітохондрії, невелику кількість трубочок; на їх верхівці розрізняють шипики. Аксоплазма нейросекреторних клітин містить невелику кількість нейрофібрил і нейрогобул, мітохондрії, цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, нейросекреторні гранули, синаптичні пухирці.

Ядра темних НК є підвищеної електронно-оптичної щільності, а їх каріолема утворює значні інвагінації. Значну частину нейроплазми перикаріона займає гранулярна ендоплазматична сітка, яка представлена овальними та видовженими цистернами, на поверхні яких прикріплена велика кількість рибосом.

У досліджуваних ядрах гіпоталамуса 24-місячних тварин, порівняно з 3-місячними, достовірно зменшується чисельна щільність нейронів за рахунок світлих НК. При цьому чисельна щільність темних і вакуолізованих достовірно зростає (табл. 1). Спостерігаються явища сателітозу, що підтверджується і морфометрично збільшенням ЧЩГ у досліджуваних ядрах, що призводить до зростання гліального індексу (табл. 1).

У світлих нейронах НЯ і ПЯ із збереженим ядром речовина Ніссля розташована на периферії клітини у вигляді грубої зернистості. У дрібноклітинних ядрах спостерігається

хроматоліз, який супроводжується вакуолізацією нейронів. Зустрічаються слабо забарвлені нейрони, що пояснюється каріопікнозом, значною вакуолізацією і тигролізом нейроплазми. Такі клітини мають ледь помітні обриси і утворюють так звані "клітини-тіні".

Чисельна щільність капілярів у НЯ і ПЯ достовірно не змінюється (див. табл. 1). Як і у 3-місячних тварин, у 24-місячних існує позитивний кореляційний зв'язок між чисельною щільністю капілярів і нейронів: у НЯ -  $r_s = 0,71$  (p=0,022), у ПЯ -  $r_s = 0,78$  (p=0,007). У ВМЯ і ДЯ чисельна щільність капілярів, порівняно з 3-місячними тваринами, зменшується (табл. 1).

У 24-місячних тварин, порівняно з 3-місячними кількість АН зростає у НЯ до 0,66±0,21 (p=0,019), у ПЯ - 0,50±0,22 (p=0,045), у ДЯ - 1,17±0,16 (p=0,006), у ВМЯ - 1,33±0,21 (p=0,014). Ядра таких клітин округлі і забарбовуються в коричневий колір (рис. 1). Апоптозний індекс у НЯ і ПЯ коливається в межах 0-1%, в ДЯ і ВМЯ 1-2%.

У 24-місячних щурів звертає на себе увагу значне зниження в крові активності каталази і церулоплазміну, порівняно з 3-місячними тваринами, до 6,06±0,09 мг перекису водню/мл (p=0,004) та 41,38±0,63 у.о (p=0,037), на тлі зростання ТБК-активних продуктів до 4,91 ±0,07 нмоль/мл (p=0,003). Як і у попередньому терміні спостереження, виявляється пряма кореляція між кількістю вакуолізованих нейронів і рівнем ТБК-активних продуктів, яка становить: у НЯ  $r_s - 0,83$  (p=0,042), у ПЯ  $r_s - 0,82$  (p=0,041), у ВМЯ  $r_s - 0,88$  (p=0,018), у ДЯ -  $r_s - 0,83$  (p=0,042).

Вікові дистрофічно-деструктивні зміни у НК спостерігаються і на ультраструктурному рівні. Відзначається про-світлення матриксу та руйнування крист мітохондрій, розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, зменшення кількості каналців і пухирців комплексу Гольджі. У нейроплазмі з'являються лізосоми, аутофагосоми, ліпофусцинові тільця, pojawiaються мієліноподібні та інші вclusions.

У темних НК відбувається зморщення та конденсація ядерного хроматину з подальшою фрагментацією ядер та утворенням апоптозних тілець. Цистерни ГЕС у більшості нейронів розширені, а у міжцистерновій гіалоплазмі виявляються великі вакуолі. У нейроплазмі виявляються аутофагосоми, гранули ліпофусцину, мультівезикулярні тільця. У деяких клітинах спостерігались явища нейронофагії.

### Обговорення

Виявлені нами світлооптичні та ультраструктурні зміни нейросекреторних клітин у 24-місячних тварин залежать від явищ сателітозу, вираженості процесів пероксидації ліпідів. На останню взаємозалежність вказують й інші автори, які в експерименті на мишах довели, що оксидативний стрес може викликати розвиток апоптозу в нейросекреторних клітинах за рахунок збільшення синтезу с-фос білка [1, 2]. Цими ж авторами описані два каспазо-залежні шляхи загибелі НК. Один з них ззовні, внаслідок активації caspase-8 рецепто-

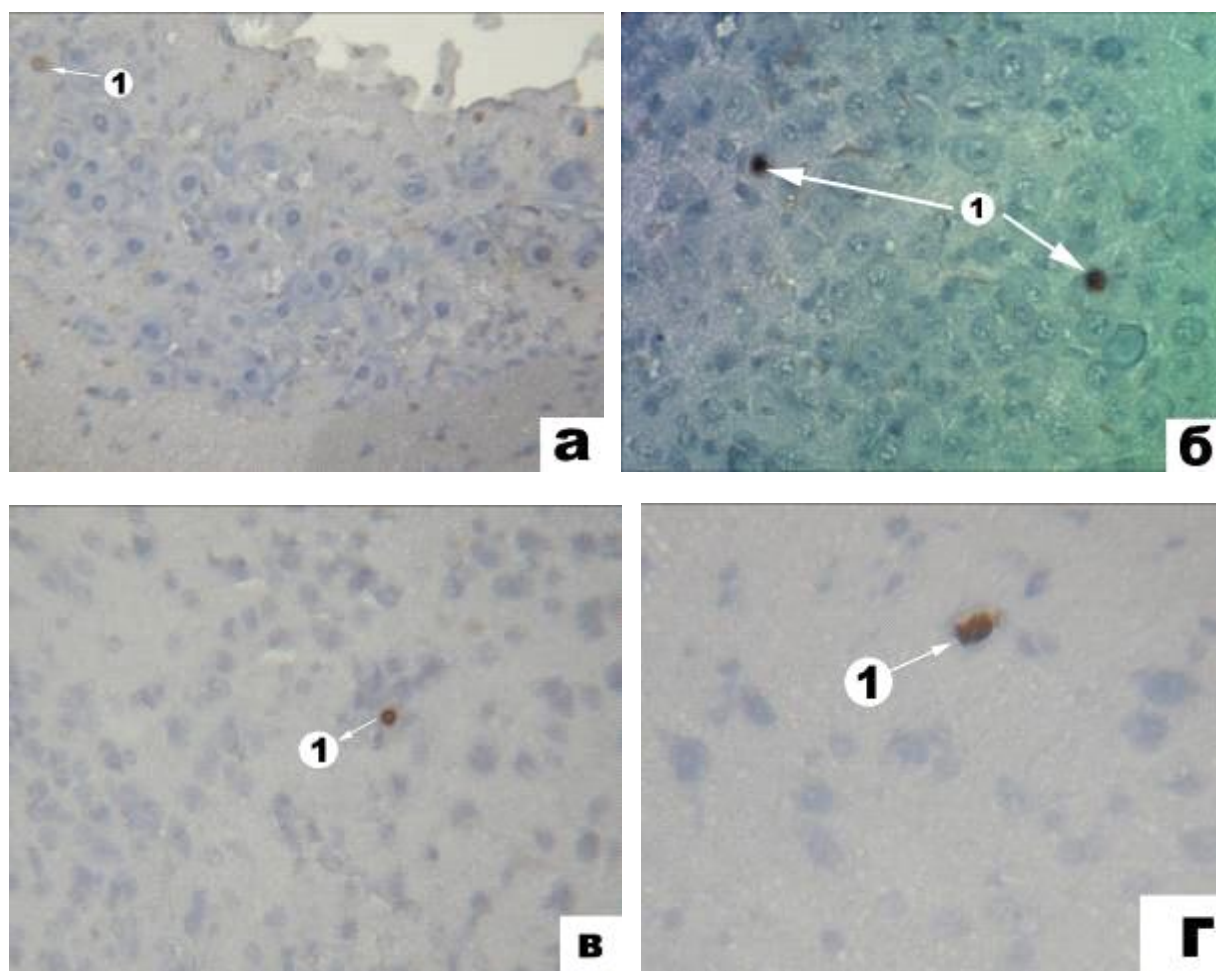


Рис. 1. Апоптотні клітини (1) в НЯ (а), ПЯ (б), ВМЯ (в) та ДЯ (г) гіпоталамуса 24-місячних тварин. TUNEL-маркування. Зб.: а, в, г) об. 40, ок. 7, б) об. 100, ок. 7

рами клітини, інший є внутрішнім і зв'язаний з вивільненням цитохрому С і активацією АРАФ-1 і caspase-9. Як відомо, вивільнення цитохрому безпосередньо пов'язано з утворенням пор у мітохондріях, яким і відводять основну роль в ініціації пошкоджень ДНК [6, 7, 8]. Нами ж були виявлені значні ультраструктурні зміни зі сторони мітохондрій у НК 24-місячних шурів.

З віком у різних ядрах гіпоталамуса нами виявлено зниження чисельної щільності нейронів на фоні зростання вакуолізованих НК і гліальних клітин. Щодо цього в літературі існують певні розбіжності. Наші дані підтверджують й інші дослідники [3, 4], які вважають, що одним із загальноприйнятих критеріїв старіння мозку є ступінь вікової втрати нейронів та вираженість процесів сателітозу. Натомість Михальський [5], досліджуючи ВМЯ 8 і 32-місячних шурів спостерігав зниження чисельної щільності нейронів у 1,4 рази. При цьому він не виявив різниці між чисельною щільністю глії і гліальним індексом, що навело автора на думку про стабільність нейроно-гліально-капілярних взаємовідношень у цьому ядрі і, як наслідок, збереження функціональної активності нейронів.

#### Висновки

Узагальнюючи результати наших досліджень, морфологічними критеріями старіння велико- і дрібноклітинних ядер гіпоталамуса можна вважати: зменшення чисельної щільності нейронів і капілярів на тлі зростання чисельної щільності глії і гліального індексу; зростання рівня ТБК-активних продуктів на тлі зменшення активності каталази і церулоплазміну, що призводить до збільшення кількості

вакуолізованих нейронів. Порушення нейроно-гліально-капілярних співвідношень та активація процесів пероксидації ліпідів приводять до зростання кількості АН й апоптотного індексу. Ці процеси є більш вираженими у дрібноклітинних ядрах гіпоталамуса.

#### Перспективи подальших досліджень

Перспективними є подальші дослідження структури велико- і дрібноклітинних ядер гіпоталамуса в постнатальному онтогенезі при різних захворюваннях, що допоможе розкрити основні патогенетичні механізми порушення вікової нейрогуморальної регуляції внутрішніх органів при них.

#### Література

1. Бажанова Е. Д. Апоптоз нейросекреторных клеток гипоталамуса при стрессе и старении: роль иммуномодуляторов / Е. Д. Бажанова // Российский физиологический журнал. – 2012. – № 4. – С. 542–550.
2. Влияние водной депривации и б-токоферола ацетата на экспрессию белков-маркеров апоптоза // Ю. В. Азизова, Д. Л. Теплый, Е. Д. Бажанова [и др.] // Успехи геронтологии. 2011. – № 2. – С. 220–224.
3. 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.
4. Масловский С. Ю. Возрастные особенности нейроно-гліально-капілярных взаимоотношений в парагиппокампальной извилине головного мозга человека / С. Ю. Масловский, Н. Е. Пирятинская // Таврический медико-биологический вестник. – 2008. – Т. 11, № 3(Ч. 2). – С. 111–114.
5. Михальский С. А. Изменение ультраструктуры вентро-

медиального ядра гипоталамуса при старении // Проблемы старения и долголетия. – 1999. – Т. 8, № 2. – С. 144–148.

6. Abramova M. A. Noradrenergic afferents modulation of tyrosine hydroxylase expression in rat supraoptic nucleus vasopressinergic neuron during ontogenesis / M. A. Abramova, M. V. Ugriumov, A. Calas // Zh Evol. Biokhim. Fiziol. – 2006. – Vol. 42, № 2. – P.140–145.

7. Effect of hypothalamic proline-rich peptide (PRP-1) on neuronal and bone marrow cell apoptosis / A. A. Galoyan, J. Krieglstein, S. Klumpp [et al.] // Neurochem. Res. – 2007. – Vol. 32, № 11. – P.1898–1905.

8. Hydrogen peroxide preconditioning protects PC12 cells against apoptosis induced by dopamine / T. Xiao-Qing, Z. Jun-Li, C. Yu [et al.] // Life Sci. – 2005. – Vol. 78, № 1. – P. 61–66.

*Журакивская О.Я.*

#### **Морфологические критерии старения гипоталамуса**

Кафедра анатомии человека, оперативной хирургии и топографической анатомии

Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Украина

e-mail: peretaoya@mail.ru

**Резюме.** Научная работа посвящена вопросам изучения морфо-функциональной организации крупно- и мелкоклеточных ядер гипоталамуса в постнатальном периоде онтогенеза. Материалом для исследования послужил гипоталамус 20 крыс-самцов линии Вистар в возрасте 3 и 24-месяца. Использовали следующие методы исследования: гистологический (материал фиксировали в растворе спирт-формола, изготавливали парафиновые блоки, срезы окрашивали по Нисслю), электронно-микроскопический и иммуногистохимический (выявление апоптотических клеток методом TUNEL- маркировки Apop Tag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit, производитель «Milliporen», USA).

Установлены основные морфологические критерии старения крупно- и мелкоклеточных ядер гипоталамуса, а именно: уменьшение численной плотности нейронов и капилляров на фоне роста численной плотности глии и глиального индекса; рост уровня ТБК-активных продуктов на фоне уменьшения активности каталазы и церулоплазмينا, что ведет к увеличению количества вакуолизованных нейронов. Нарушение нейроно-глиально-капиллярных соотношений и активация процессов перекисидации липидов приводят к росту количества апоптотических нейронов и апоптотического индекса в гипоталамусе, а именно: у 24-месячных животных, по сравнению с 3-месячными, количество апоптотических нейронов в ядрах возрастает в надзрительном до  $0,66 \pm 0,21$  ( $p = 0,019$ ), в паравентрикулярном - до  $0,50 \pm 0,22$  ( $p = 0,045$ ), в аркватном - до  $1,17 \pm 0,16$

( $p=0,006$ ), в вентромедиальном - до  $1,33 \pm 0,21$  ( $p=0,014$ ). Апоптотический индекс в крупноклеточных ядрах гипоталамуса (надзрительном и паравентрикулярных) колеблется в пределах 0-1%, тогда как в мелкоклеточных ядрах (аркватном и вентромедиальном) он возрастает до 1-2%. Таким образом, процессы старения более выражены в мелкоклеточных ядрах гипоталамуса.

**Ключевые слова:** онтогенез, нейросекреторные клетки, апоптоз.

*O.Ya. Zhurakivska*

#### **Morphological Criteria of Hypothalamus Aging**

Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Topographic Anatomy

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ukraine

**Abstract.** Scientific research is devoted to the study of the morphological and functional organization of hypothalamus magno- and parvocellular nuclei in postnatal ontogenesis. Material for the study was the hypothalamus of 20 male rats Wistar line 3 and 24 months old. The following methods were used: histological (material was fixed in formol-alcohol solution, paraffin blocks were produced, sections were stained according to Nissl), electron-microscopic and immunohistochemical (detection of apoptotic cells by TUNEL-method (Apop Tag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit), made by «Milliporen», USA).

The main morphological criteria of magno- and parvocellular nuclei aging were found, namely the decrease of neurons and capillaries numerical density on the background of glial cells and glial index numerical density decrease; increase of TBA-active production on the background of catalase and ceruloplasmin activity decrease that leads to an increase in the number of vacuolated neurons. Violation of neuron-glia-capillary ratio and activation of lipid peroxidation processes leads to an increase in the apoptotic neurons number and apoptotic index in the hypothalamus, namely in the 24-month-old animals compared to 3-month-old the number of apoptotic neurons increases in insupraoptic nucleus to  $0.66 \pm 0.21$  ( $p = 0.019$ ) in paraventricular nucleus to  $0.50 \pm 0.22$  ( $p = 0.045$ ), in the arcuate nucleus to  $1.17 \pm 0.16$  ( $p = 0.006$ ), in ventromedial nuclei – to  $1.33 \pm 0.21$  ( $p=0.014$ ). Apoptotic index in hypothalamus magnocellular nucleus (supraoptic and paraventricular) ranges between 0-1%, while in parvocellular nuclei (arcuate and ventromedial) it increases to 1-2%. Thus, the aging process is more distinct in parvocellular nuclei of the hypothalamus.

**Keywords:** ontogenesis, neurosecretory cells, apoptosis.

Надійшла 24.11.2014 року.

УДК: 616.24-007.271-036.12-02:616.24-002/.5-036.86]-036-07

*Льницький І. Г., Костик О. П., Вольницька Х. І.*

#### **Діагностична інформативність цитокінів при хронічному обструктивному захворюванні легень та бронхіальній астмі у хворих фтизіопульмонологічного профілю**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

christinka-rud@yandex.ru

**Резюме.** Питання регуляції цитокінів Т-лімфоцитами периферичної крові та бронхоальвеолярного лаважу (БАЛ) при запальних захворюваннях легень вимагають подальшого дослідження, особливо в плані використання їх як критеріїв для диференційної діагностики, а також, як маркерів тяжкості захворювання.

**Мета дослідження:** вивчення особливостей цитокінового профілю периферичної крові та бронхоальвеолярного лаважу для диференціації хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ) і бронхіальної астми (БА) у хворих фтизіопульмонологічного профілю.

**Матеріали та методи.** У 62 хворих на хронічне обструктивне захворювання легень та 32 хворих на бронхіальну астму проведено визначення рівнів прозапальних інтерлейкінів (ІЛ) ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-6, TNF- $\alpha$  та протизапального ІЛ-4 методом імуноферментного аналізу в сироватці крові та бронхоальвеолярних змивах, які отримували при проведенні фібробронхоскопії на рівні бронхів другого

та третього порядку.

**Результати та обговорення.** У обстежених хворих встановлено дисбаланс інтерлейкінів, який характеризувався у хворих на ХОЗЛ зниженням рівня ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-2, зростанням рівня ІЛ-6 та TNF- $\alpha$ , який в 4,5 разів перевищував дані у здорових донорів і значним зниженням рівня ІЛ-4. На противагу цьому у хворих на БА рівень ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-2 перевищував показники у здорових осіб, значення ІЛ-6 було вищим, ніж у хворих на ХОЗЛ, а рівень TNF- $\alpha$  був нижчий. Рівень ІЛ-4 у хворих на БА перевищував його значення як у здорових донорів, так і у хворих на ХОЗЛ.

**Висновки** Інтенсивність експресії інтерлейкінів, особливо прозапального ряду, відображає гостроту запалення за рівнем показників “гострофазових” білків системи протеолізу-антипротеолізу та дає можливість застосовувати їх в якості додаткових критеріїв обґрунтування оптимізації лікувальних заходів та попередження хронізації патологічного процесу, незалежно від причин