

Жураківська О. Я.,

*доцент кафедри анатомії людини, оперативної хірургії та топографічної анатомії
ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»*

СТАНОВЛЕННЯ НЕЙРОН-ГЛІО-КАПІЛЯРНИХ СПІВВІДНОШЕНЬ У ВЕНТРОМЕДІАЛЬНОМУ ЯДРІ ГІПОТАЛАМУСА В ПОСТНАТАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ ОНТОГЕНЕЗУ

Анотація. У новонароджених щурів у вентромедіальному ядрі гіпоталамуса виявляються нормохромні нейрони, які містять поодинокі нейросекреторні гранули. Із збільшенням віку тварин нейрони диференціюються на світлі і темні нейроендокринні клітини, які містять добре розвинений білок-синтезуючий апарат, спостерігається зменшення чисельної щільності нейронів.

Ключові слова: вентромедіальне ядро, онтогенез, нейроендокринні клітини.

Постановка проблеми. В статті використано матеріал дисертаційного дослідження, яке виконується відповідно до плану Івано-Франківського національного медичного університету і є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини «Морфофункціональна характеристика деяких органів та функціональних систем при цукровому діабеті в постнатальному періоді онтогенезу» (номер держреєстрації 0109U001106).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Проблема становлення і функціонування ендокринних залоз на етапах постнатального періоду онтогенезу складає один із найбільш цікавих розділів теорії індивідуального розвитку організмів. Особливої уваги заслуговують знання морфофункціональних особливостей гіпоталамо-гіпофізарної системи, яка є вищим вегетативним центром та забезпечує гуморальну регуляцію різних ендокринних залоз [1; 2; 3]. У літературі є поодинокі роботи, що висвітлюють нейросекреторну активність медіобазального гіпоталамуса в ранньому постнатальному періоді онтогенезу. Моноаміни з'являються у щурів на 16-й день внутрішньоутробного розвитку в пришлуночковому, наволошлуночковому та дугоподібному ядрах. Кількість флуоресцентного матеріалу в нейронах дугоподібного ядра різко зростає після народження і до семиденного віку відповідає дорослим тваринам [2; 4], тоді як, за даними інших дослідників, поява моноамінергічних структур у серединному підвищенні у 12-, 15-денних ембріонів не виявляється, а спостерігається у новонароджених і 15-денних тварин у зоні мантийного сплетення [5]. Проте ці поодинокі роботи не висвітлюють вікову морфофункціональну перебудову вентромедіального ядра (ВМЯ) гіпоталамуса в ранньому постнатальному періоді онтогенезу.

Формування мети статті. Враховуючи вищесказане, метою нашого дослідження є встановлення морфофункціональних особливостей нейрон-гліо-капілярних співвідношень вентромедіального ядра гіпоталамуса в постнатальному періоді онтогенезу.

Матеріали та методи дослідження. Матеріалом для дослідження послужив гіпоталамус 20 щурів-самців лінії Вістар віком 1, 15, 30 та 120 днів. Для гістологічного дослідження використали забарвлення за Нісслем та альдегід-фуксином за Гоморі з дозабарвленням азаном за Гейденгайном. Для електронномікроскопічного дослідження шматочки матеріалу фіксували у 2% розчині чотириокису осмію, проводили та контрастували за загально прийнятим методом. Виготовляли ультратонкі зрізи, які вивчали під електронним мікроскопом ПЕМ-125 К, при прискорюючій напрузі 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 ручному режимі із урахуванням збільшень. Структурні зміни на певному етапі дослідження аналізували в 50 полях зору і визначали чисельну щільність нейронів (ЧЩН), глії (ЧЩГ), капілярів (ЧЩК) і гліальний індекс (ГІ) на площі 0,01 мм² ВМЯ. Визначались площа профільного поля нейронів, їх ядер і коефіцієнт форми (к/ф) останніх та ядерно-цитоплазматичний індекс (ЯЦІ). Нейросекреторний процес оцінювали за показниками об'ємної щільності нейросекреторних гранул у нейронах ($V_i = P_i / P_t$ [6]). Комп'ютерне опрацювання даних проводилося за допомогою статистичного пакету Stat.Soft.Inc; Tulsa, OK, USA; Statistica 6.

Результати дослідження та їх обговорення. Вентромедіальне ядро (ВМЯ) займає значну частину туберальної ділянки гіпоталамуса і межує знизу та присередньо з дугоподібним ядром (ДЯ), присередньо – з наволошлуночковим, зверху – з дорзоприсередніми ядрами та латерально – із латеральною гіпоталамічною ділянкою.

У новонароджених щурів нейроендокринні клітини (НК), тобто нейрони, мають великі ядра з одним, часто з двома та трьома ядерецями та вузький обідок цитоплазми. Світлі НК складають переважно більшість досліджуваного ядра, а темні НК є поодинокими. Часто спостерігаються безпосередні контакти світлих і темних НК, що підтверджується даними інших дослідників [2; 7], проте суперечить даним В. Г. Бабийчук, В. С. Марченко (2005) [8], які вважають, що нейросекреторні клітини оточені з усіх боків клітинами глії і контактують тільки за допомогою синапсів. Чисельна щільність світлих нейронів на 0,01 мм² площі ВМЯ є достовірно вищою порівняно з темними (табл. 1).

Середні площі нейронів та їх ядер є статистично достовірно меншими, ніж у нестатевозрілих тварин, а їх ЯЦІ в 2

рази більші (табл. 2), що свідчить про високу функціональну активність цих клітин.

Таблиця 1

Кількісна характеристика цитомієлоархітекτονіки ВМЯ в постнатальному періоді онтогенезу ($M \pm m$, $n=10$)

Вік тварин	ЧЩН	ЧЩН					ГІ
		світлі	темні	вакуолізовані	ЧЩГ	ЧЩК	
новона-роджені	26,2 $\pm$ 0,84	26,2 $\pm$ 0,84	0,1 $\pm$ 0,01	–	13,2 $\pm$ 0,42	2,9 $\pm$ 0,42	0,5 $\pm$ 0,01
15 денні	20,1 $\pm$ 0,54*	19,2 $\pm$ 0,59*	0,9 $\pm$ 0,25	–	9,9 $\pm$ 0,72*	2,7 $\pm$ 0,26	0,5 $\pm$ 0,01
1-міс.	18,3 $\pm$ 0,49*	17,7 $\pm$ 0,52	0,6 $\pm$ 0,27	–	9,2 $\pm$ 0,33	2,3 $\pm$ 0,15	0,5 $\pm$ 0,02
3-міс.	17,9 $\pm$ 0,31	17,3 $\pm$ 0,37	0,6 $\pm$ 0,22	0,5 $\pm$ 0,33*	9,9 $\pm$ 0,23	2,2 $\pm$ 0,13	0,6 $\pm$ 0,02

Примітка * – різниця між показниками ВМЯ порівняно з попереднім терміном спостереження, $p < 0,05$.

Таблиця 2

Зміни морфометричних показників НК ДЯ та ВМЯ у постнатальному періоді онтогенезу ($M \pm m$, $n=10$)

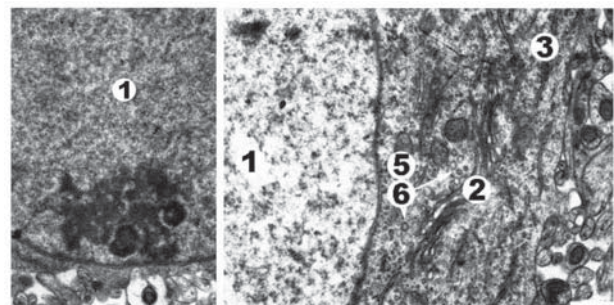
Вік тварин	Площа ядра(мкм ²)	К/ф ядра	Площа клітини (мкм ²)	ЯЦІ
новона-роджені	43,39 $\pm$ 2,77	0,82 $\pm$ 0,02	84,53 $\pm$ 4,84	1,23 $\pm$ 0,19
15-денні	63,49 $\pm$ 3,59 *	0,86 $\pm$ 0,01	125,64 $\pm$ 7,75 *	1,17 $\pm$ 0,19
1-місячні	76,84 $\pm$ 2,18 *	0,73 $\pm$ 0,03 *	134,79 $\pm$ 4,03	1,46 $\pm$ 0,18*
3-місячні	78,99 $\pm$ 1,92	0,71 $\pm$ 0,02	143,59 $\pm$ 3,03	8,24 $\pm$ 0,06*

Примітка: * – різниця між показниками ВМЯ порівняно з показниками попередніх термінів спостереження, $p < 0,05$.

На ультраструктурному рівні НК мають нейроплазму помірної електронно-оптичної щільності і з усіх сторін оточені гліальними клітинами з вузьким обідком цитоплазми. Ядра нейронів є світлими, з дифузно розміщеними гранулами хроматину та електронно-щільним ядрцем, каріолема утворює незначні інвагінації. Інколи в ядрі можна спостерігати конденсовані мітотичні хромосоми (рис. 1а), що може бути свідченням того, що НК здатні до поділу у ранньому постнатальному періоді онтогенезу. В перикаріоні відмічається багато молодих мітохондрій з електроннощільним матриксом та поперечно орієнтованими кристами. Цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) розташовуються паралельно до каріолеми та густо всіяні рибосомами. По всій нейроплазмі розміщені вільні рибосоми, полісоми та поодинокі нейросекреторні гранули (НГ), які містять щільний матрикс, оточений мембраною, проте підмембранний світлий обідок відсутній. В аксонах НК містяться мікротрубочки, нейрофіламенти, НГ, мітохондрії та синаптичні пухирці. Об'ємна щільність НГ у світлих і темних клітинах не відрізняється і становить (0,15 $\pm$ 0,02)% та (0,16 $\pm$ 0,02)%.

Серед гліальних клітин не можна чітко віддиференціювати астроцити та олігодендроцити. Більшість гліоцитів містить витягнутої форми мітохондрії з щільно розміщеними кристами, слабо розвинений комплекс Гольджі (КГ) та поодинокі каналці ГЕС. В нейропілі розташовується багато безміслінових нервових волокон, аксо-соматичні та аксо-дендритичні синапси.

Гемомікроциркуляторне русло представлене соматичними капілярами. Цитоплазма ендотеліоцитів та перицитів є підвищеної електронно-оптичної щільності, містить багато молодих мітохондрій, поодинокі лізосоми та мікропіноцитозні пухирці. Ядра їх овальної або веретеноподібної форми, з дифузно розсіяними гранулами хро-



Субмікроскопічна організація ВМЯ гіпоталамуса новонароджених (а), 1-місячного (б) тварин. Зб.: а, б) 12000.

1 – ядро НК, 2 – КГ, 3 – ГЕС, 4 – НГ, 5 – мітохондрії, 6 – синаптичні пухирці.

тину. Люмінальна поверхня плазмолемі ендотеліоцитів утворює різної форми випинання в просвіт капіляра. Між ендотеліоцитами та перицитами розміщена тришарова базальна мембрана. Гематоенцефалічний бар'єр, який у статевозрілих тварин включає в себе ендотеліоцити, базальну мембрану, перицити та відростки астроцитів, чітко прослідковується по всьому периметру капіляра. Хоча деякі автори стверджують, що між ендотелієм капілярів і тілами нейроендокринних клітин глія відсутня [5].

На 15-й день життя у ВМЯ відмічається збільшення площі профільного поля перикаріонів та їх ядер порівняно з новонародженими тваринами, при цьому ЯЦІ не змінюється (див. табл. 2). ЧЩН зменшується порівняно з новонародженими (див. табл. 1), за рахунок світлих НК, тоді як кількість темних нейронів зростає. ЧЩГ зменшується, а ГІ залишається незмінним. ЧЩК недостовірно зменшується порівняно з новонародженими (див. табл. 1). Темні

НК є неправильної форми і містять у ядрі темне ядро. Ядра світлих НК мають 1 або 2 ядра, а перикаріони містять дифузно розсіяні зерна Ніссля. У темних НК речовина Ніссля інтенсивно забарвлюється і заповнює вузький обідок цитоплазми перикаріона.

На ультраструктурному рівні у ВМЯ можна виділити 2 типи нейронів. Одні з них мають світлу нейроплазму, а інші – помірної електронно-оптичної щільності. Світлі НК в центрі містять світле ядро з дифузно розміщеними гранулами хроматину та темне ядро. Каріолема має пори та утворює інвагінації. Біля ядра розташовані короткі цистерни КГ, ГЕС представлена поодинокими цистернами. Біля аксонного горбика можна побачити 4-6 НГ. У нейронах помірної електронно-оптичної щільності біля ядра розташований добре розвинений КГ, який складається з декількох рядів паралельно розташованих цистерн мішечків і пухирців. ГЕС представлена округлими і видовженими цистернами, які густо всіяні рибосомами. Об'ємна щільність НГ у світлих і темних НК, порівняно з новонародженими тваринами зростає до $(0,22 \pm 0,05)\%$ ($p < 0,01$) та $(0,47 \pm 0,08)\%$ ($p < 0,001$).

Серед гліальних клітин в цій групі тварин можна розрізнити волокнисті та протоплазматичні астроцити, олігодендроцити та мікрогліальні клітини. Астроцити мають добре розвинену систему ендоплазматичних сіток, пухирці та невеликі лізосоми, що є ознакою їх високої метаболічної активності.

На 30-й день життя площа профільного поля НК та їх ядер порівняно з 15-денними тваринами зростають (див. табл. 2). У 3-міс. тварин спостерігається подальше зростання площі профільного поля перикаріонів. ЧЦН продовжує зменшуватись за рахунок світлих НК, а це при незмінній кількості гліальних клітин призводить до зростання ГІ (див. табл. 1). У 3-міс. тварин з'являються поодинокі вакуолізовані НК.

У місячних тварин нейроплазма перикаріонів НК містить яскраво забарвлені грудки тигроїда, які рівномірно по ній розподіляються або накопичуються в основі аксона. У 3-міс. тварин зустрічаються поодинокі вакуолізовані нейрони, а також нейрони з навколядерним хроматолізом речовини Ніссля. Нейроплазма темних НК інтенсивно забарвлена крезіл-фіолетом.

На ультраструктурному рівні в ВМЯ гіпоталамуса спостерігаються два типи НК: світлі та темні, які подекуди між собою контактують. Біля ядра розташований добре розвинений КГ, до складу якого входять диктіосоми, пухирці та вакуолі. Останні найбільш численні та виповнені електронно-прозорим матриксом. У зоні КГ можна побачити поодинокі НГ, які містять гомогенний електронно-щільний матрикс, мембрану. У периферійних відділах перикаріона зустрічаються паралельно розташовані цистерни ГЕС, поверхня яких густо всіяна рибосомами. Поряд із НГ з матриксом помірної електронно-оптичної щільності, зустрічаються НГ з обідком і світлим матриксом, які за будовою нагадують синаптичні пухирці (рис. 1 б). У темних НК значну частину периферійної зони цитоплазми займає ГЕС. Об'ємна щільність НГ у 1- і 3-міс. щурів у світлих НК достовірно не відрізняється між собою і від такої у 15-денних тварин і становить відповідно $0,23 \pm 0,03\%$, $0,26 \pm 0,03\%$, натомість у темних НК вона зростає до $0,89 \pm 0,04\%$ ($p < 0,001$) та $1,12 \pm 0,09\%$ ($p < 0,01$).

Серед клітин глії, за ультраструктурною організацією, виявляються протоплазматичні (складають переважну більшість) та волокнисті астроцити, поодинокі олігодендроцити та мікрогліальні клітини. У нейропілі виявляються мієлінові і безмієлінові нервові волокна. Стінка капілярів порівняно з попереднім терміном спостереження витоншується, а просвіт збільшується. У цитоплазмі ендотеліоцитів виявляються мікропіноцитозні пухирці. Ядра ендотеліоцитів і перицитів округлої або овальної форми, з дифузно розташованими гранулами хроматину. Базальна мембрана тришарова і чітко диференціюється по периметру ендотеліоцита. Зовні від неї і перицитів спостерігаються відростки астроцитів. Таким чином, у 1- і 3-міс. тварин у досліджуваних ядрах є добре сформованим гематоенцефалічний бар'єр.

Висновки. У новонароджених щурів виявляються нормохромні і гіперхромні нейрони, які містять поодинокі НГ. Гліальні клітини мало диференційовані, а в нейропілі виявляються тільки безмієлінові нервові волокна, аксо-смаптичні та аксо-дендритичні синапси. Із збільшенням терміну постнатального періоду онтогенезу зростає площа нейронів та їх ядер, але зменшуються ЯЦІ. Нейрони диференціюються на світлі і темні НК, які містять добре розвинений білок-синтезуючий апарат. Об'ємна щільність НГ зростає і у світлих НК 15-денних тварин не відрізняється від 1-міс. і 3-міс. тварин. ЧЦК і ЧЦН з віком зменшується, а ГІ зростає. У ВМЯ в усі терміни постнатального онтогенезу є більше темних НК, ніж світлих, а в 3-міс. віці в досліджуваному ядрі з'являються поодинокі вакуолізовані нейрони.

Перспективи подальших пошуків у цьому науковому напрямку. Перспективними є подальші дослідження структури ВМЯ у старечому віці, що допоможе розкрити основні патогенетичні механізми порушення вікової нейрогуморальної регуляції внутрішніх органів.

Література:

1. Валов С. Влияние гуморальных факторов нонапептидергических центров гипоталамуса на гисто- и органотипические потенции пищеварительных желез различного генеза в условиях культивирования по Ф. Лазаренко / С. Валов, А. Стадников // *Морфология*. – 2005. – Т. 128. – № 6. – С. 50–54.
2. Becquet D. Ultrastructural plasticity in the rat suprachiasmatic nucleus. Possible involvement in clock entrainment / D. Becquet, C. Girardet, F. Guillaumond // *Glia*. – 2008. – V. 56. – № 3. – P. 294–305.
3. Hypothalamic control of mitogen-induced proliferative responses and luteinizing hormone-releasing hormone levels in thymus and peripheral blood of rat fetuses / L. Zakharova, I. Ermilova, V. Melnikova et al. // *Neuroimmunomodulation*. – 2005. – № 12 (2). – P. 85–91.
4. Belenky M. Heterogeneous expression of gamma-aminobutyric acid and gamma-aminobutyric acid-associated receptors and transporters in the rat suprachiasmatic nucleus / M. Belenky, Y. Yarom, G. Pickard // *J. Comp. Neurol.* – 2008. – Vol. 506. – № 4. – P. 708–732.
5. Войткевич А. Ультраструктурные основы гипоталамической нейро-секреции / А. Войткевич, И. Дедов. – М.: Медицина, 1972. – 240 с.
6. Автандилов Г. Медицинская морфометрия: руководство / Автандилов Г. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
7. Михальский С. Изменение ультраструктуры вентромедиального ядра гипоталамуса при старении // *Пробл. старения и долголетия*. – 1999. – Т. 8. – № 2. – С. 144–148.
8. Бабийчук В. Структурно-функциональное состояние гематоэнцефалического барьера гипоталамуса старых крыс при действии экстремального охлаждения / В. Бабийчук, В. Марченко // *Світ медицини та біології*. – 2005. – № 3. – С. 91–94.

Журакивская О. Я. Становление нейрон-глио-капиллярных соотношений в вентромедиальном ядре гипоталамуса в постнатальном периоде онтогенеза

Аннотация. У новорожденных крыс в вентромедиальном ядре гипоталамуса наблюдаются нормохромные нейроны, которые содержат единичные нейросекреторные гранулы. С увеличением возраста животных нейроны дифференцируются на светлые и темные нейроэндокринные клетки, которые имеют хорошо развит белок-синтезирующий аппарат, наблюдается уменьшение численной плотности нейронов.

Ключевые слова: вентромедиальное ядро, онтогенез, нейроэндокринные клетки.

Zhurakivska O. The formation of neuron-ghio-capillary ratios of ventromedial nucleus of the hypothalamus in postnatal ontogenesis

Summary. In newborn rats in ventromedial nucleus of the hypothalamus are revealed normochromal neurons that contain isolated neurosecretory granules. With the increase of the animals age neurons are differentiated to light and dark neuroendocrine cells that contain well-developed protein-synthesizing apparatus, a decrease in the numerical density of neurons is observed.

Key words: ventromedial nucleus, ontogeny, neuroendocrine cells.