

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ РЕАКЦІЇ ДРЕВНЬОЇ ТА НОВОЇ КОРИ НА ГОСТРЕ ПОРУШЕННЯ КРОВООБІГУ В БАСЕЙНІ СОННИХ АРТЕРІЙ НА ТЛІ ДІАБЕТИЧНОЇ ЕНЦЕФАЛОПАТІЇ В ЩУРІВ

О.В. Ткачук, С.С.Ткачук, В.Ф. Мислицький, О.В. Ясінська, М.А. Повар, О.М. Леньков

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Ключові слова:

двобічна каротидна ішемія-реперфузія, цукровий діабет, неокортекс, гіпокамп, електронна мікроскопія.

Клінічна та експериментальна патологія Т.17, №2 (64). С.107-113.

DOI:10.24061/1727-4338.XVII.2.64.2018.114

E-mail: ajnora14@rambler.ru

Мета роботи - здійснити порівняльний аналіз ультраструктурної реакції тканин неокортекса та полів гіпокампа мозку щурів із діабетичною енцефалопатією на гостре порушення кровообігу в басейні сонних артерій.

Матеріал і методи. Цукровий діабет моделювали одноразовим внутрішньочеревним введенням самцям білих нелінійних щурів віком два місяці стрептозоцину (Sigma, Aldrich, 60 мг/кг), а гостре порушення мозкового кровотоку - 20-хвилинним кліпсуванням обох загальних сонних артерій під внутрішньочеревним наркозом з реперфузією впродовж 1 години. Забирали фрагменти мозку, що містили гіпокамп та кору лобової і потиличної часток і після відповідної фіксації та проводки виготовляли ультратонкі зрізи, забарвлювали 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю та вивчали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К.

Результати. Діабетична енцефалопатія в щурів поглиблює деструктивні зміни всіх структурних компонентів сірої речовини кори досліджених часток та полів гіпокампа у вигляді порушень внутрішньої будови та форми нервових клітин і появи нейроцитів з гіпо- та гіперхромією нейро- та каріоплазми різного ступеня вираженості, порушення структури клітинних органел і зниження їх кількості, появи периваскулярного набряку, спричинені ішемією-реперфузією головного мозку. Найменш чутливими до зазначеного втручання серед вивчених структур є поле гіпокампа СА3.

Висновки. Діабетична енцефалопатія створює патоморфологічні передумови погіршеного перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку, зокрема, кори лобової та потиличної часток і полів гіпокампа СА1 і СА2.

Ключевые слова:

двусторонняя каротидная ишемия-реперфузия, сахарный диабет, неокортекс, гиппокамп, электронная микроскопия.

Клиническая и экспериментальная патология Т.17, №2 (64). С.107-113.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ РЕАКЦИИ ДРЕВНЕЙ И НОВОЙ КОРЫ НА ОСТРОЕ НАРУШЕНИЕ КРОВООБРАЩЕНИЯ В БАСЕЙНЕ СОННЫХ АРТЕРИЙ НА ФОНЕ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ У КРЫС

А.В. Ткачук, С.С. Ткачук, В.Ф. Мыслицкий, Е.В. Ясинская, М.А. Повар, А.М. Леньков

Цель работы - осуществить сравнительный анализ ультраструктурной реакции тканей неокортекса и полей гиппокампа мозга крыс с диабетической энцефалопатией на острое нарушение кровообращения в бассейне сонных артерий.

Материал и методы. Сахарный диабет моделировали однократным внутрибрюшным введением самцам белых нелинейных крыс в возрасте двух месяцев стрептозоцину (Sigma, Aldrich, 60 мг / кг), а острое нарушение мозгового кровотока - 20-минутным клипсованием обеих общих сонных артерий под внутрибрюшным наркозом с реперфузией в течение 1 часа. Забирали фрагменты мозга, содержащие гиппокамп и кору лобной и затылочной долей и после соответствующей фиксации и проводки изготавливали ультратонкие срезы, окрашивали 1% водным раствором уранилацетата, контрастировали цитратом свинца и изучали с помощью электронного микроскопа ПЭМ-125К.

Результаты. Диабетическая энцефалопатия у крыс углубляет деструктивные изменения всех структурных компонентов серого вещества коры исследованных долей и полей гиппокампа в виде нарушений внутреннего строения и формы нервных клеток и появления нейронов с гипо- и гиперхромией нейро- и каріоплазми различной степени выраженности, нарушения структуры клеточных органелл и снижения их количества, появления периваскулярного отека, вызванные ишемией-реперфузией головного мозга. Наименее чувствительными к указанному вмешательству среди изученных структур является поле гиппокампа СА3.

Выводы. Диабетическая энцефалопатия создает патоморфологические предпосылки ухудшенного течения ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга, в частности - коры лобной и затылочной долей и полей

THE COMPARATIVE ANALYSIS OF THE ULTRASTRUCTURAL REACTION OF NEO- AND PALLEOCORTEX OF BRAIN ON ACUTE CEREBRAL DISORDER IN BASSIN OF CAROTID ARTERIES ON BACKGROUND OF DIABETIC ENCEPHALOPATHY IN RATS

O.V. Tkachuk, S.S. Tkachuk, Myslytskiy V.F., O.B. Ясіньська, M.A. Povar, O.M. Lenkov

Objective - the objective is to perform the comparative analysis the ultrastructural reactions of tissues of neocortex and fields of hippocampus in rats with diabetic encephalopathy to acute cerebrovascular disorder in the basin of carotid arteries.

Material and methods. Diabetes mellitus was modeled by single intraperitoneal administration of the streptozotocin (Sigma, Aldrich, 60 mg / kg) to white nonlinear male rats in age two months, and acute cerebrovascular disorder was performed by a 20-minute clipping of both common carotid arteries under intraperitoneal anesthesia, with reperfusion for 1 hour. The fragments of the brain containing the hippocampus and the cortex of the frontal and occipital brain lobes were taken, and after appropriate fixation and wiring, ultrathin sections were made, which were stained with 1% aqueous uranyl acetate solution, contrasted by lead citrate and studied using an electron microscope PEM-125K.

Results. The diabetic encephalopathy in rats exacerbates destructive changes of all structural components of the gray matter of the cortex of the investigated brain lobes and the fields of the hippocampus in the form of violations of the internal structure and shape of the nerve cells and the appearance of neurocytes with hypo and hyperchromia of neuro- and karyoplasma in varying degrees of severity, violation of the structure of cellular organelles and decrease their number, appearance of perivascular edema, that is caused by ischemia-reperfusion of the brain. Among the all studied structures, the field of the hippocampus CA3 is the least sensitive to the indicated intervention.

Conclusions. Diabetic encephalopathy creates pathomorphological preconditions for the deteriorated course of ischemic-reperfusion injury of the brain, especially in the structures of the neocortex and the fields of the hippocampus CA1 and CA2.

Key words:
bilateral carotid
ischemia-
reperfusion,
diabetes mellitus,
neocortex,
hippocampus,
electron
microscopy.

Clinical and
experimental
pathology. Vol.17,
№2 (64). P.107-113.

Вступ

Діабетична енцефалопатія є підґрунтям ризику гострих порушень церебрального кровообігу [1, 2]. Серед структур головного мозку гіпокамп та різні частки неокортексу вважаються найбільш чутливими до цукрового діабету (ЦД), про що свідчить швидке формування когнітивних розладів у хворих на діабет [3-7]. Не менш чутливими ці структури є до ішемії-реперфузії [8-10]. Структурні зміни в цих відділах мозку при окремо взятому ЦД та ішемії-реперфузії достатньо вивчені, однак порівняльний аналіз схильності до ішемії-реперфузії на тлі наявної діабетичної енцефалопатії цих філогенетично різних утворень кори головного мозку відсутній, що обумовлює актуальність такого дослідження.

Мета роботи

Здійснити порівняльний аналіз ультраструктурної реакції тканин неокортекса та полів гіпокампа мозку шурів із діабетичною енцефалопатією на гостре порушення кровообігу в басейні сонних артерій.

Матеріал і методи дослідження

ЦД моделювали одноразовим внутрішньочеревним введенням самцям білих нелінійних шурів віком два місяці стрептозоточину (Sigma, Aldrich, 60 мг/кг) [11], а гостре порушення мозкового кровотоку - 20-хвилинним кліпсуванням обох загальних сонних артерій [12] під внутрішньочеревним наркозом (каліпсол, 75 мг/кг) з подальшою реперфузією впродовж однієї години. Тривалість ЦД становила 4 міс, що достатньо для фор-

мування діабетичної енцефалопатії [11]. Забій тварин здійснювали декапітацією під каліпсоловим наркозом. Одразу після забору головного мозку вирізали фрагменти, що містили гіпокамп та кору лобової і потиличної часток [13] і фіксували їх у 2,5 % розчині глутаральдегіду (рН 7,3-7,4), через 60 хвилин переносили в буферний розчин, промивали 20-30 хвилин, здійснювали фіксацію 1 % розчином чотириокису осмію на буфері Міллонга впродовж 60 хвилин, а потім - дегідратацію в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол і аралдиту. Виготовлені ультратонкі зрізи забарвлювали 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю згідно з методом Рейнольдса та вивчали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К [14]. Усі дослідження проводилися з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.

Результати та їх обговорення

Електронномікроскопічний аналіз показав, що в корі досліджених часток інтактних шурів переважають нейрони з круглими ядрами та чіткою каріолею, наявністю окремих осміофільних грудок гетерохроматину. Нейроплазма середньої щільності, органели незмінні. Цитолема нерівна, з окремими мікроворсинками та кавеолами на люменальній поверхні. Базальну мембрану оточують світлі відростки астроцитів (рис. 1). У полях гіпокампа CA1 та CA2 інтактних тварин нейрони мають округло-овальні ядра з великими ядерцями

Клінічна та експериментальна патологія. 2018. Т.17, №2 (64)

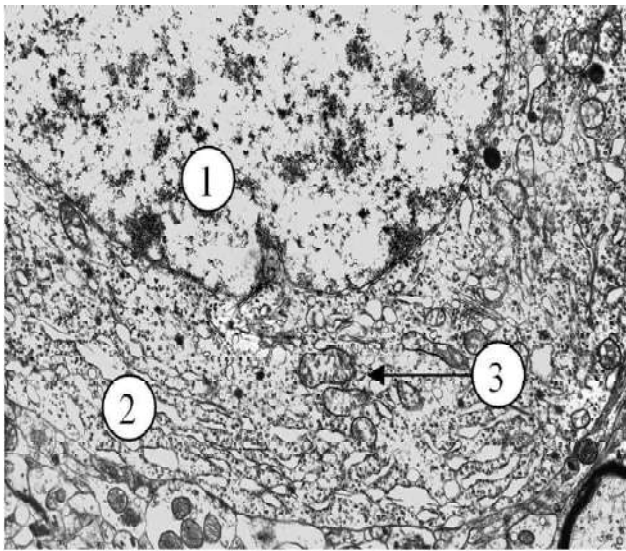


Рисунок 1. Субмікроскопічна організація нейрона кори лобової частки мозку щура контрольної групи. Електроннопрозора каріоплазма (1), добре розвинені каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулуму (2), мітохондрії (3). 3б. x12000.

та електроннопрозорою каріоплазмою, в якій переважає еухроматин. Каріолема, перинуклеарний простір та ядерні пори чіткі. Площа нейроплазми невелика. Щільність органел помірною, однак рибосом і полісом багато (рис. 2). Нейроцити поля СА3 мають більші розміри тіл і площу нейроплазми, вищу щільність органел, кількість гетерохроматину в ядрах. Каріолема на окремих ділянках нерівна, утворює невеликі інвагінації.

Після ішемії-реперфузії субмікроскопічно в неокортексі наявні "темні" нейроцити, їх ядра з ознаками пікнозу (площа зменшена, форма неправильна, каріолема нерівна, каріоплазма осміофільна, ядерця відсутні, ядерні пори і мембрани нечіткі). Нейроплазма електроннощільна, з нерівномірно розширеними каналцями гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) і цистер-

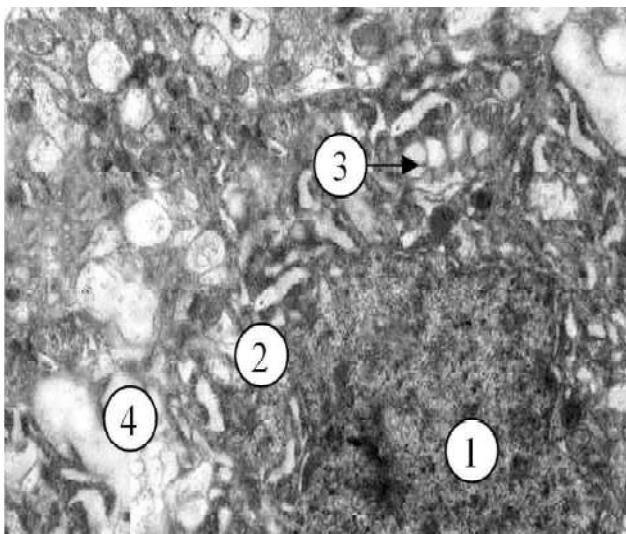


Рисунок 3. Ультраструктурні зміни нейрона кори лобової частки головного мозку щура при ішемії-реперфузії. Осміофільна каріоплазма пікнотичного ядра (1), розширені каналці ГЕС (2), цистерни комплексу Гольджі (3), змінений нейрофіл (4). 3б. 12000х.

Клінічна та експериментальна патологія. 2018. Т.17, №2 (64)

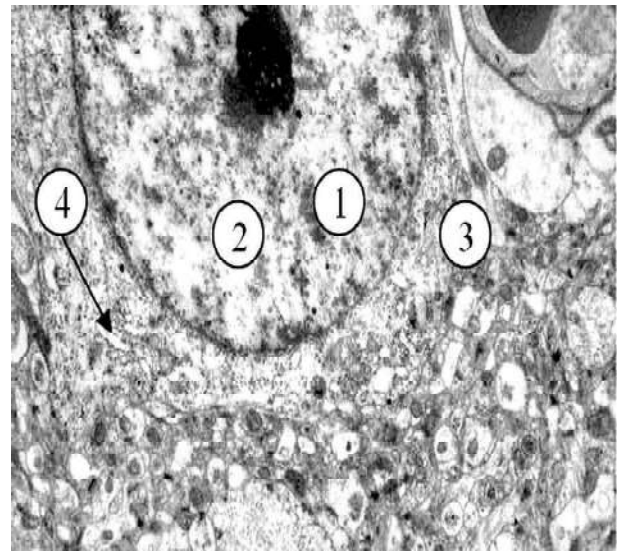


Рисунок 2. Ультраструктура нейрона поля СА1 гіпокампа інтактної тварини. Кругле ядро (1), світла каріоплазма (2), невеликий об'єм цитоплазми (3), окремі каналці гранулярної ендоплазматичної сітки (4). x12000

нами комплексу Гольджі. На мембранах ГЕС мало рибосом, між каналцями наявні полісоми. Вакуолоподібні мітохондрії мають світлий матрикс і редуковані кристи. У нейроплазмі є первинні і вторинні лізосоми, іноді - мієліноподібні тільця. Тіла нейроцитів деформовані, зменшені, відростки звужені, ймовірно, внаслідок набряку структур нейропіля (рис. 3). За цих умов нейроцити полів гіпокампа СА1 і СА2 мають світлу нейроплазму з невисоким вмістом органел, округлі ядра, електроннопрозору каріоплазму. Каріолема збережена, перинуклеарні простори місцями потовщені. У мітохондріях є просвітлення матриксу й деструкція крист. Короткі каналці ГЕС розширені, на поверхні їх мембран мало рибосом, вільних рибосом і полісом (рис.4). Нейроцити поля СА3 також мають світлу набряклу ней-

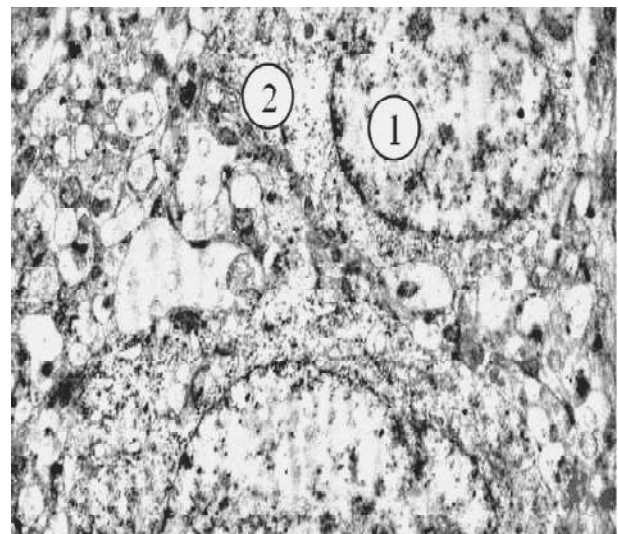


Рисунок 4. Субмікроскопічні зміни нейрона поля СА1 гіпокампа тварини при двобічній каротидній ішемії-реперфузії. Електроннопрозора каріоплазма (1), світла нейроплазма (2), мало органел. 3б. 12000х

роплазму, але більшої площі з вищим вмістом органел. Деструктивні зміни органел подібні до тих, що мали місце в полях CA1 і CA2, проте менш суттєві.

У корі досліджених часток шурів із ЦД багато "світлих" нейронів з електроннопрозорою гіалоплазмою та малою кількістю органел. Канальці ГЕС вкорочені, нерівномірно розширені, частково фрагментовані, з малою кількістю рибосом і вільних полісом. Цистерни комплексу Гольджі потовщені, зі зменшеною кількістю цистерн, вакуолей і пухирців. Мітохондрій мало, окремі гіпертрофовані, з деструктивно зміненими кристами і світлим матриксом. Каріоплазма електроннопрозора, з малою кількістю рибосомальних гранул та ядерць (рис. 5).

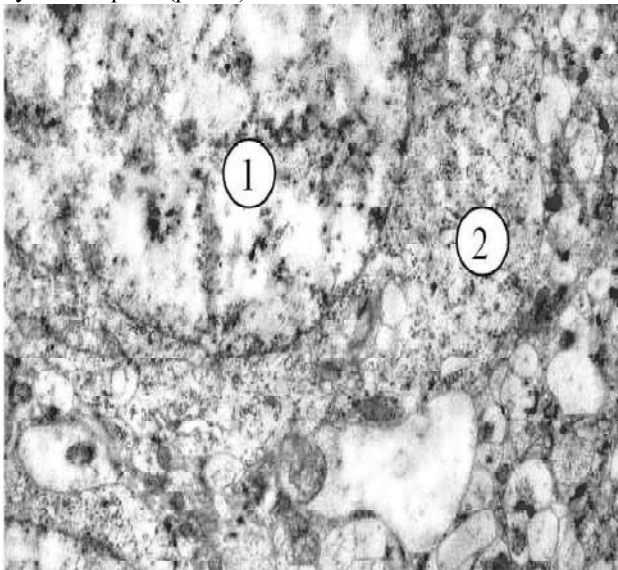


Рисунок 5. Ультраструктурні зміни "світлого" нейрона кори лобової частки головного мозку щура кори при цукровому діабеті. Світла каріоплазма ядра (1), в нейроплазмі (2) змінені органели. Зб. 12000х.

гато. Нечисленні цистерни комплексу Гольджі потовщені і фрагментовані. Мітохондрії невеликі, з осміофільним матриксом, кристи в них погано виявляються. В ядрах збільшений вміст гетерохроматину, ядерце компактне, темне, перинуклеарний простір нерівномірний, каріолема хвиляста, зі значними інвагінаціями, ядерних пор небагато, вони нечіткі.

У полі CA3 підвищене число темних нейронів, площа їх електроннощільної нейроплазми менша порівняно з нормохромними клітинами, але вона більша, ніж у подібних нейронів полів CA1 і CA2. Канальці ГЕС нерівномірно розширені і фрагментовані, із невеликою кількістю рибосом на мембранах. Зміни комплексу Гольджі та мітохондрій подібні до таких у полях CA1 і CA2. Окремі мітохондрії гіпертрофовані, з вогнищево просвітленим матриксом і пошкодженими кристами. Каріолема має глибокі інвагінації та випинання, ядерця виявляються рідко, каріоплазма електроннощільна, ядерні пори нечіткі, їх небагато. Перинуклеарні простори місцями збільшені. Такі ультраструктурні зміни в усіх досліджених нами структурах мозку підтверджують наявність діабетичної енцефалопатії

Частина нейронів ("темних") мають осміофільну нейроплазму та ядра неправильної форми, частково деструктивні органели. Канальці ГЕС та цистерни комплексу Гольджі нерівномірно розширені, мітохондрій небагато, окремі - гіпертрофовані, їх кристи пошкоджені, рибосом і полісом мало. У нейропілі наявні розширені світлі відростки астроцитів (рис. 6).

У полях гіпокампа CA1 та CA2 шурів із ЦД на фоні просвітленого нейропіля частина нейронів має електроннощільну каріоплазму та осміофільну нейроплазму малої площі. Канальці ГЕС розширені, частково фрагментовані, зі світлими порожнинами, на їх мембранах мало рибосом, проте вільних полісом досить ба-

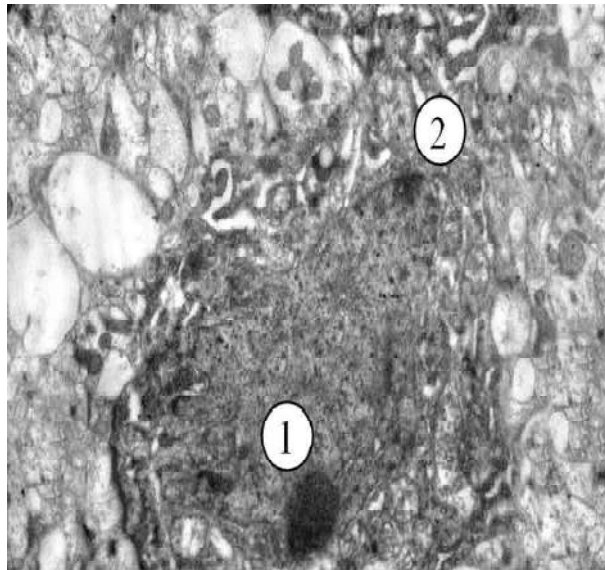


Рисунок 6. Ультраструктурні зміни "темного" нейрона кори лобової частки щура при цукровому діабеті. Осміофільна каріоплазма в ядрі неправильної форми (1), порушена структура нейроплазми (2). Зб. 12000х.

різного ступеня вираженості, встановленої нами за іншими, неморфологічними критеріями [11].

Субмікроскопічні дослідження неокортекса та гіпокампа при ускладненні ЦД ішемією-реперфузією встановили наявність "світлих" і "темних" клітин. "Світлі" клітини неокортекса мають круглі ядра, каріолема з поодинокими інвагінаціями та електроннопрозорою каріоплазмою, ядерця в них відсутні. У нейроплазмі мало органел, короткі канальці ГЕС розширені, фрагментовані, на поверхні їх мембран мало рибосом і полісом. Цистерни і вакуолі комплексу Гольджі дезінтегровані, розширені. Мітохондрій мало, вони мають світлий матрикс і поодинокі кристи (рис. 7). Для "темних" нейронів характерна значна осміофілія каріо- і нейроплазми. Площа ядер зменшена, каріолема нерівна, ділянки перинуклеарного простору вогнищево збільшені. Канальці ГЕС протяжні, нерівномірно потовщені, на їх мембранах мало рибосом. Цистерни і вакуолі комплексу Гольджі розширені, дезорганізовані. Неправильної форми мітохондрії мають гомогенізований матрикс і мало крист. Наявні вторинні осміофільні лізосоми (рис. 8).

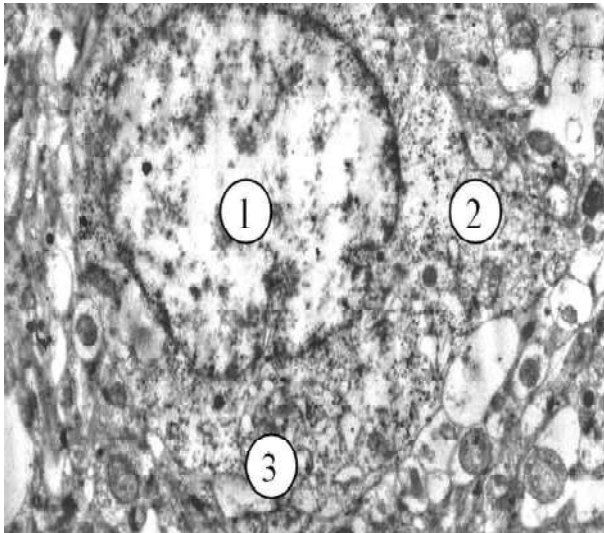


Рисунок 7. Ультраструктурні зміни "світлого" нейрона кори лобової частки при цукровому діабеті та ішемії-реперфузії. Електроннопрозора каріоплазма (1) і нейроплазма (2), деструктивно змінені органели (3). 36. 12000х.

"Світлі" нейрони полів CA1 і CA2 мають набряклу електроннопрозору нейроплазму, мало рибосом і полісом, компоненти комплексу Гольджі спостерігаються рідко, цистерни значно потовщені й деформовані. Наявні як невеликі поодинокі мітохондрії, так і набряклі й збільшені, в яких значно просвітлений матрикс, пошкоджені як кристи, так і місцями зовнішні мітохондріальні мембрани. Канальці ГЕС розширені, фрагментовані. Каріолема нерівномірної товщини, з інвагінаціями, каріоплазма - електроннопрозора. "Темні" нейрони - невеликі, деформовані за рахунок набряку структур нейропіля. Нейролема і каріолема мають нерівні контури, інвагінації, вип'ячування, місцями вони втрачають чіткість. Каріоплазма має різної величини грудки гетерохроматину. Перинуклеарні простори вогнищево збільшені за рахунок відшарування зовнішньої ядерної мембрани. Канальці ГЕС місцями мають значні розширення і надають осміофільній нейроплазмі ажурного вигляду. Спостерігаються поодинокі мітохондрії зі світлим матриксом і пошкодженими кристами. Зміни в полі CA3 гіпокампа подібні, проте частіше зустрічаються "темні" нейрони. Такі клітини мають більші тіла за рахунок нейроплазми. Нейропіль створений набряклими, світлими фрагментами відростків гліальних клітин. Такий стан ультраструктури нейронів свідчить про порушення їх функціональної активності, а також про пригнічення процесу внутрішньоклітинної регенерації.

Таким чином, можна зазначити, що діабетична енцефалопатія в шурів поглиблює деструктивні зміни всіх структурних компонентів сірої речовини кори досліджених часток та полів гіпокампа у вигляді порушень внутрішньої будови та форми нервових клітин і появи нейронів з гіпо- та гіперхромією нейро- та каріоплазми різного ступеня вираженості, порушення структури клітинних органел і зниження їх кількості, появи периваскулярного набряку, спричинені ішемією-реперфузією головного мозку. Найменш чутливими до зазначеного втручання серед вивчених структур є поле гіпо-

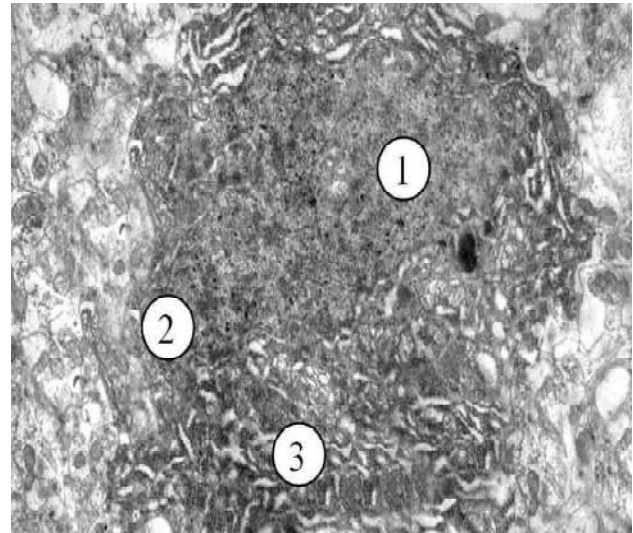


Рисунок 8. Ультраструктурні зміни "темного" нейрона кори лобової частки при цукровому діабеті та ішемії-реперфузії. Неправильної форми, пікнотичне ядро (1), осміофільна нейроплазма (2), розширені канальці ГЕС (3). 36. 12000х.

кампа CA3.

Висновки

Діабетична енцефалопатія створює патоморфологічні передумови погіршеного перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку, зокрема, неокортекса та полів гіпокампа CA1 і CA2.

Перспективи подальших досліджень

Результати вказують на доцільність вивчення відстрочених ультраструктурних змін тканини гіпокампа за таких же умов експерименту.

Список літератури

1. Khalid Al-Rubeaan, Fawaz Al-Hussain, Amira M. Youssef, Shazia N. Subhani, Ahmad H. Al-Sharqawi, Heba M. Ibrahim. Ischemic Stroke and Its Risk Factors in a Registry-Based Large Cross-Sectional Diabetic Cohort in a Country Facing a Diabetes Epidemic [Internet]. *Journal of Diabetes Research*. 2016 [cited 2017 Jul 9];2016. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2016/4132589/> doi: 10.1155/2016/4132589.
2. Liao CC, Shih CC, Yeh CC, Chang YC, Hu CJ, Lin JG, et al. Impact of Diabetes on Stroke Risk and Outcomes: Two Nationwide Retrospective Cohort Studies. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Dec;94(52):e2282. doi: 10.1097/MD.0000000000002282.
3. Foghi K, Ahmadpour S. Diabetes mellitus type 1 and neuronal degeneration in ventral and dorsal hippocampus. *Iran J Pathol*. 2014;9(1):33-7.
4. Cato A, Hershey T. Cognition and Type 1 Diabetes in Children and Adolescents. *Diabetes Spectr*. 2016 Nov;29(4):197-202.
5. Cato MA, Mauras N, Mazaika P, Kollman C, Cheng P, Aye T, et al. Longitudinal Evaluation of Cognitive Functioning in Young Children with Type 1 Diabetes over 18 Months. *J Int Neuropsychol Soc*. 2016 Mar;22(3):293-302. doi: 10.1017/S1355617715001289.
6. Wang Y, Xu XY, Feng CH, Li YL, Ge X, Zong GL, et al. Patients with type 2 diabetes exhibit cognitive impairment with changes of metabolite concentration in the left hippocampus. *Metabol Brain Dis*. 2015 Aug;30(4):1027-34. doi: 10.1007/s11011-015-9670-4.
7. Nunley KA, Leckie RL, Orchard TJ, Costacou T, Aizenstein HJ, Jennings JR, et al. Physical activity and hippocampal volume in middle-aged patients with type 1 diabetes. *Neurology*. 2017 Apr

18;88(16):1564-70. doi: 10.1212/WNL.0000000000003805.

8.Schmidt-Kastner R. Genomic approach to selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia-hypoxia. *Neuroscience*. 2015 Nov 19;309:259-79. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.08.034.

9.Aboutaleb N, Shamsaei N, Rajabi H, Khaksari M, Erfani S, Nikbakht F, et al. Protection of Hippocampal CA1 Neurons Against Ischemia/Reperfusion Injury by Exercise Preconditioning via Modulation of Bax/Bcl-2 Ratio and Prevention of Caspase-3 Activation. *Basic Clin Neurosci*. 2016 Jan;7(1):21-9.

10.Li Z, Pang L, Fang F, Zhang G, Zhang J, Xie M, et al. Resveratrol attenuates brain damage in a rat model of focal cerebral ischemia via up-regulation of hippocampal Bcl-2. *Brain Res*. 2012 Apr 23;1450:116-24. doi: 10.1016/j.brainres.2012.02.019.

11.Ткачук СС, Ленков ОМ. Експресія білків Hif-1 α , p53 та Bcl-2 в головному мозку за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії на тлі цукрового діабету в самців-щурів. Клінічна та експериментальна патологія. 2010;9(32):111-13.

12.Скибо ГН. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга. *Патология*. 2004;1(1):22-30.

13.Konig J F, Klippel PA. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem. Baltimore: The Williams and Wilkins Company; 1963.162 p.

14.Reinolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J.Cell Biol*. 1993;17:208-12.

References

1.Khalid Al-Rubeaan, Fawaz Al-Hussain, Amira M. Youssef, Shazia N. Subhani, Ahmad H. Al-Sharqawi, Heba M. Ibrahim. Ischemic Stroke and Its Risk Factors in a Registry-Based Large Cross-Sectional Diabetic Cohort in a Country Facing a Diabetes Epidemic [Internet]. *Journal of Diabetes Research*. 2016 [cited 2017 Jul 9];2016. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2016/4132589/> doi: 10.1155/2016/4132589.

2.Liao CC, Shih CC, Yeh CC, Chang YC, Hu CJ, Lin JG, et al. Impact of Diabetes on Stroke Risk and Outcomes: Two Nationwide Retrospective Cohort Studies. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Dec;94(52):e2282. doi: 10.1097/MD.0000000000002282.

3.Foghi K, Ahmadpour S. Diabetes mellitus type 1 and neuronal degeneration in ventral and dorsal hippocampus. *Iran J Pathol*. 2014;9(1):33-7.

4.Cato A, Hershey T. Cognition and Type 1 Diabetes in Children and Adolescents. *Diabetes Spectr*. 2016 Nov;29(4):197-202.

5.Cato MA, Mauras N, Mazaika P, Kollman C, Cheng P, Aye T, et al. Longitudinal Evaluation of Cognitive Functioning in Young Children with Type 1 Diabetes over 18 Months. *J Int Neuropsychol Soc*. 2016 Mar;22(3):293-302. doi: 10.1017/S1355617715001289.

6.Wang Y, Xu XY, Feng CH, Li YL, Ge X, Zong GL, et al. Patients with type 2 diabetes exhibit cognitive impairment with changes of metabolite concentration in the left hippocampus. *Metabol Brain Dis*. 2015 Aug;30(4):1027-34. doi: 10.1007/s11011-015-9670-4.

7.Nunley KA, Leckie RL, Orchard TJ, Costacou T, Aizenstein HJ, Jennings JR, et al. Physical activity and hippocampal volume in middle-aged patients with type 1 diabetes. *Neurology*. 2017 Apr 18;88(16):1564-70. doi: 10.1212/WNL.0000000000003805.

8.Schmidt-Kastner R. Genomic approach to selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia-hypoxia. *Neuroscience*. 2015 Nov 19;309:259-79. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.08.034.

9.Aboutaleb N, Shamsaei N, Rajabi H, Khaksari M, Erfani S, Nikbakht F, et al. Protection of Hippocampal CA1 Neurons Against Ischemia/Reperfusion Injury by Exercise Preconditioning via Modulation of Bax/Bcl-2 Ratio and Prevention of Caspase-3 Activation. *Basic Clin Neurosci*. 2016 Jan;7(1):21-9.

10.Li Z, Pang L, Fang F, Zhang G, Zhang J, Xie M, et al. Resveratrol attenuates brain damage in a rat model of focal cerebral ischemia via up-regulation of hippocampal Bcl-2. *Brain Res*. 2012 Apr 23;1450:116-24. doi: 10.1016/j.brainres.2012.02.019.

11.Tkachuk, SS, Lenkov AM. Експресія білків Hif-1 α , p53 та Bcl-2 в головному мозку за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії на тлі цукрового діабету в самців-щурів [Expression of Hif-1 α , p53 and Bcl-2 proteins in the brain under the conditions of bilateral carotid ischemia-reperfusion in experimental diabetes mellitus in male rats]. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2010;2(32):111-13. (in Ukrainian).

12.Skibo GG. Ispolzovanie razlichnikh eksperimentalnikh modelei dlia izucheniia kletochnikh mekhanizmov ishemicheskogo porazheniia mozga [The use of various experimental models to study cellular mechanisms of cerebral ischemic lesions]. *Patologija*. 2004; 1(1):22-30. (in Russian).

13.Konig J F, Klippel PA. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem. Baltimore: The Williams and Wilkins Company; 1963.162 p.

14.Reinolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J.Cell Biol*. 1993; 17:208-12.

Відомості про авторів:

Ткачук О.В., доктор медичних наук, доцент кафедри анестезіології та реаніматології ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Ткачук С. С., д-р мед. наук, професор, завідувач кафедри фізіології ім. Я.Д. Кіршенבלата, ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Мислицький В.Ф., доктор біологічних наук, професор кафедри патологічної фізіології ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Ясінська О.В., кандидат медичних наук, доцент кафедри фізіології ім.Я.Д.Кіршенבלата ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Повар М.А., асистент кафедри кафедри фізіології ім.Я.Д.Кіршенבלата ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Сведения об авторе:

Ткачук А.В., доктор медицинских наук, доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы

Ткачук С. С., д-р мед. наук, профессор, зав. кафедры физиологии им. Я.Д. Киршенבלата, ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет". г. Черновцы

Мыслицкий В.Ф., доктор биологических наук, профессор кафедры патологической физиологии ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы

Ясинская Е.В., кандидат медицинских наук, доцент кафедры физиологии им.Я.Д.Киршенבלата ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы

Повар М.А., ассистент кафедры физиологии им.Я.Д.Киршенבלата ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы

Information about authors:

Tkachuk AV, MD, assistant professor of the Department of Anesthesiology and Reanimatology of the VGUZ of Ukraine "Bukovina State Medical University", Chernivtsi

Tkachuk S. S., MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Y.D. Kirshenblat Department of Physiology Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi E-mail: ajnora14@rambler.ru.

Myslitsky VF, Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Pathological Physiology, HSEE of Ukraine "Bukovina State Medical University", Chernivtsi

Yasinska E.V., candidate of medical sciences, associate professor of the department of physiology named after J.D. Kirshenblat of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Povar M.A., assistant of the department of physiology named after J.D. Kirshenblat of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Стаття надійшла до редакції 17.05.2018

Рецензент – проф. І.І.Заморський

© О.В. Ткачук, С.С.Ткачук, В.Ф. Мислицький, О.В. Ясінська, М.А. Повар, О.М. Леньков, 2018