

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF HIPPOCAMPAL HEMOCAPILLARIES IN RATS WITH INDUCED COLORECTAL CANCER AND UNDER CORRECTION WITH NANOMATERIALS

**I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Health of Ukraine
(Ternopil, Ukraine)**

chebernina_io@tdmu.edu.ua

The article presents an electron microscopic study of changes in the microcirculatory bed of the hippocampus in white rats under conditions of induced colon adenocarcinoma and following correction with Au/Ag/Fe nanomaterials. The obtained results made it possible to assess the nature of hemocapillary alterations during a systemic pathological process as well as the protective effect of nanoparticles. It was determined that prolonged exposure to the carcinogen N,N-dimethylhydrazine was accompanied by pronounced destructive changes in the hemocapillaries of the hippocampus. These changes manifested as uneven blood filling, stasis and erythrocyte sludge, narrowing or collapse of the vascular lumen, endothelial cell swelling, a decrease in the number of micropinocytotic vesicles, disruption of intercellular contacts, and deformation of endothelial cell nuclei. The observed alterations indicate the development of endothelial dysfunction, impaired microcirculation, and disturbances in transcapillary water exchange, which are manifestations of the response to systemic inflammation and oxidative stress typical of DMH-induced carcinogenesis. Following the administration of the Au/Ag/Fe nanoparticle composition, a partial restoration of the ultrastructure of hippocampal hemocapillaries was observed. A reduction in perivascular edema, more uniform blood filling of vessels, restoration of capillary lumens, and a decreased frequency of stasis were noted. In endothelial cells, cytoplasmic swelling decreased, the number of micropinocytotic vesicles increased, organelles acquired a more orderly arrangement, and euchromatin predominated in the nuclei, indicating partial normalization of cellular metabolic activity. Greater preservation of mitochondria and stabilization of the basement membrane structure were also observed.

Thus, the obtained electron microscopic data of the hippocampus may indicate the endothelioprotective and microcirculatory effects of gold, silver, and iron nanoparticles, contributing to the restoration of the ultrastructural organization of hippocampal hemocapillaries under conditions of DMH-induced colon carcinogenesis. These findings confirm the potential of nanomaterials to reduce the degree of vascular alterations in the hippocampus and may positively influence the structural and functional stability of nervous tissue.

Key words: hippocampus, ultrastructural changes, brain, hemocapillaries, carcinogenesis, adenocarcinoma, nanoparticles, electron microscopy.

Connection of the publication with planned research work.

The study was carried out within the framework of the research project “Morphological and Metabolic Aspects of Carcinogenesis” (state registration number 0123U100070).

Introduction.

The hippocampus is a structure of the brain that ensures the consolidation of signals from the external environment and the formation of an integral perception of space and time. The proper functioning of the hippocampus is possible with the preservation of cellular homeostasis, neurotransmitter exchange, receptor apparatus surface area, and effective blood supply [1]. The vascular reserve of the hippocampus is currently considered a key factor contributing to cognitive activity; therefore, understanding the vascular function of the hippocampus is central to the protection of neurocognitive health [2]. A number of studies have demonstrated impairments of cognitive functions under conditions of hippocampal dysfunction and dysfunction of its individual parts, particularly in cerebral ischemia. Hippocampal perfusion is provided by two arterial systems, namely the middle cerebral artery, which arises from the internal carotid artery and supplies the head of the hippocampus, and the posterior cerebral artery, which is a branch of the basilar artery of the subclavian artery system and supplies the other parts of the hippocampus and adjacent

structures such as the entorhinal cortex and the dentate gyrus [3, 4]. The multilevel blood supply system of the hippocampus indicates its high functional and metabolic activity, as well as its critical dependence on the condition of blood vessels, the nature of hemodynamics, and the qualitative composition of blood.

The state of the hippocampal vascular bed changes in the pathology of the central nervous system and peripheral organs. For example, acute lung injury provokes activation of the endothelium of hippocampal vessels and migration of neutrophils to this region [5]. In an experimental model of febrile seizures, an almost complete occlusion of the lumen of hippocampal capillaries was observed, caused by damage to the endothelial lining and external pressure from swollen perivascular astrocytic processes. Ultrastructural changes were mainly observed in the mitochondria of endothelial cells [6].

Against the background of systemic inflammation, ultrastructural remodeling of endothelial cells is also observed, including wave-like protrusions of the plasma membrane, an increased number of extracellular microvesicles, the formation of small exosomes, aberrant mitochondria, and enhanced endothelial transcytosis, while tight junctions remain unchanged [7].

Compared with cortical brain regions such as the somatosensory cortex, much less is known about the function of hippocampal vessels, which is crucial for maintaining neurocognitive health. In particular, there is a

lack of reliable data regarding changes in the hippocampal vascular bed under conditions of induced colon carcinogenesis. In addition, the role of silver, gold, and iron nanomaterials in influencing the state of hippocampal hemocapillaries during carcinogenesis remains unclear.

The aim of the study.

To investigate the ultrastructural changes in the hemocapillaries of the rat hippocampus under conditions of induced colorectal cancer and following correction with nanomaterials.

Object and research methods.

The experiment was conducted at the I. Horbachevsky Ternopil National Medical University on 35 white laboratory rats kept under standard vivarium conditions in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986) and in compliance with the ethical principles of animal experiments (Kyiv, 2013). The animals were divided into three groups: group I – control; group II – rats with induced carcinogenesis; group III – correction group, in which rats were administered a composition of Au/Ag/Fe nanomaterials. Colon adenocarcinoma was modeled in rats by subcutaneous administration of 7.2 mg/kg of N,N-dimethylhydrazine (DMH) into the interscapular region for 30 weeks. The nanomaterial composition was administered intragastrically for 21 days in the form of an aqueous dispersion. The daily dose of nanoparticles was 0.842 mg of silver, 0.0526 mg of iron, and 1.625 µg of gold per 1 kg of rat body weight.

At the end of the experiment, the animals were euthanized by decapitation after preliminary administration of a 10% solution of Sodium thiopental (Arterium, Ukraine) at a dose of 50 mg/kg. For electron microscopy, ultrathin sections were prepared using an LKB 4801 A ultramicrotome. To increase electron contrast, the specimens were treated with uranyl acetate and lead citrate according to Reynolds' method, after which they were examined using a PEM-125 K transmission electron microscope.

Research results and their discussion.

The electron microscopic examination of the hemocapillaries of the hippocampus in the intact animal group showed that they were of the somatic type and consisted of a continuous layer of endothelial cells with a flattened shape, cytoplasmic processes containing numerous micropinocytotic vesicles, vesicles, and microvilli on the luminal surface of the cells. Intercellular junctions were preserved and clearly delineated. Their nuclei had a flattened shape; euchromatin predominated in the karyoplasm, and the karyolemma was smooth, without invaginations and with a moderately narrow, non-dilated perinuclear space. The basal membrane was thin, uniform, and without stratification. Astrocytic processes were closely apposed to the basal membrane of the vessels. The capillaries were characterized by a narrow lumen and the presence of blood cells inside (fig. 1).

Submicroscopic examination of the state of hippocampal hemocapillaries in animals that received DMH for 30 weeks showed pronounced alteration characterized by uneven blood filling. In the dilated lumens of some capillaries, congestion, marked erythrocyte stasis, and sludge formation were observed. The cytoplasm contained electron-lucent, swollen areas, and the num-

ber of micropinocytotic vesicles and vesicles was markedly reduced. The luminal surface of the cells was often blurred and poorly delineated, and microvilli were not observed. Intercellular junctions lost their integrity and appeared indistinct. Other capillaries were collapsed with a narrow, slit-like lumen, mainly due to perivascular and intracellular endothelial edema. The nuclei of such cells had an irregular shape with invaginations of the karyolemma. In the karyoplasm, condensed chromatin with marginal localization predominated (fig. 2).

After administration of the Au/Ag/Fe nanomaterial composition, restorative and regenerative changes were observed in the structure of hippocampal hemocapillaries in animals with DMH-induced carcinogenesis. In most fields, the hemocapillaries of the hippocampus had a preserved or moderately dilated lumen without signs of massive collapse. Blood filling of the vessels was moderate, with occasional blood stasis observed. A decrease in perivascular edema was noted; it acquired a focal character and no longer caused significant narrowing of the capillary lumen. The contours of the vessels were mostly clear and uniform, without marked deformation compared with the group of animals with induced carcinogenesis without correction. In endothelial cells, cytoplasmic swelling significantly decreased,

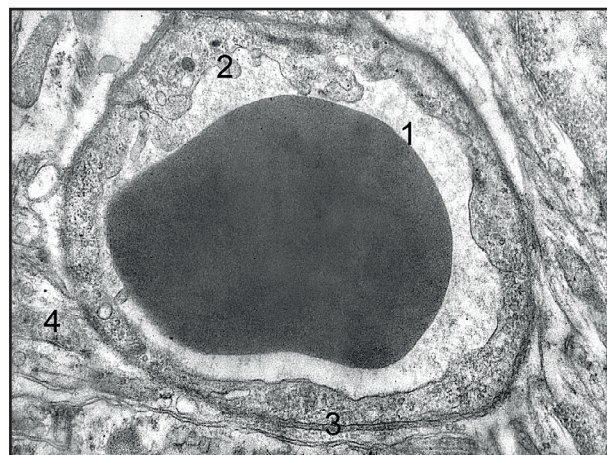


Figure 1 – Submicroscopic organization of a hemocapillary of the hippocampus in an animal of the intact group. Magnification: ×12000. Designations: 1 – capillary lumen with an erythrocyte, 2 – cytoplasm with microvilli, 3 – basement membrane, 4 – neuropil.

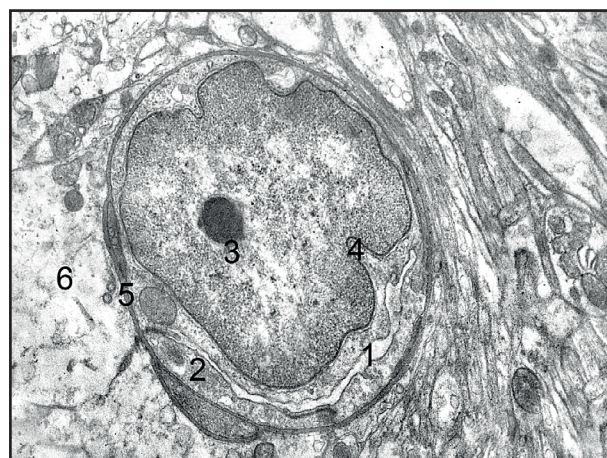


Figure 2 – Submicroscopic changes of a hemocapillary in the hippocampus of the brain in an animal with DMH-induced carcinogenesis. Magnification: ×10000. Designations: 1 – narrow capillary lumen, 2 – endothelium, 3 – nucleus with nucleolus, 4 – karyolemma invaginations, 5 – basement membrane, 6 – neuropil.

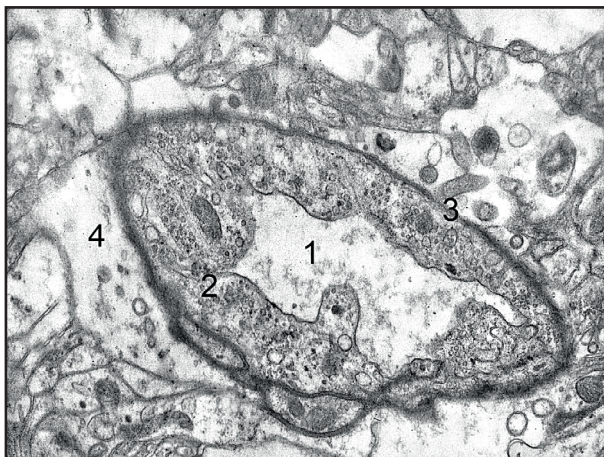


Figure 3 – Submicroscopic changes of a hemocapillary in the hippocampus of the brain in an animal with DMH-induced carcinogenesis after administration of the Au/Ag/Fe nanomaterial composition. Magnification: $\times 10000$. Designations: 1 – capillary lumen, 2 – cytoplasm of the endothelial cell, 3 – basement membrane, 4 – neuropil.

organelles were arranged more orderly, and the number of micropinocytotic vesicles increased, which contributed to the restoration of transcapillary exchange. Mitochondria generally retained their matrix, and in some of them the integrity of cristae was restored. The cisternae of the granular endoplasmic reticulum were moderately dilated without massive fragmentation. The number of deep invaginations and protrusions of the karyolemma decreased. The nuclei had an oval shape, and the proportion of euchromatin increased. The basement membrane was slightly thickened; however, its structure became more homogeneous, without pronounced stratification or fragmentation (**fig. 3**).

Changes in the hemocapillaries of the hippocampus that occurred during carcinogenesis induction, such as vascular congestion and stasis, are consistent with functional disturbances of hemodynamics. Under conditions of induced carcinogenesis, persistent degenerative changes manifested as narrowing and collapse of vascular walls, corresponding to progressive tissue hypoxia and increased permeability of their walls. Such alterations correspond to changes typical of chronic oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation, which are characteristic of DMH-induced carcinogenesis models [8, 9]. Ultrastructural alterations were associated with functional disturbances, including moderate swelling of the endothelial cell cytoplasm, partial chromatin condensation, and thickening of the basement membrane. With the progression of intestinal adenocarcinoma, the condition of hemocapillaries further deteriorated: the cisternae of the endoplasmic reticulum in endothelial cells became dilated, mitochondria were swollen with partial loss of cristae, and the number of pinocytotic vesicles decreased. Deformation of the luminal membrane, stratification and fragmentation of the basement membrane, nuclear pyknosis, and complete chromatin condensation morphologically correspond to severe damage to the blood-brain barrier. These are typical endothelial alterations associated with endotoxemia and systemic inflammation. These findings confirm

the existence of the “gut–blood–brain” axis, indicating that intestinal systemic inflammatory responses and metabolic imbalance can maintain endothelial dysfunction and impair the barrier properties of cerebral vessels [10, 11].

After administration of the Au/Ag/Fe nanoparticle composition, partial restoration of the state of the hippocampal hemocapillaries was observed. There was a reduction of perivascular edema, less frequent stasis, and more regular vascular contours due to the absence of vascular wall collapse. Edema and vacuolization of endothelial cells decreased, and the contours of the luminal and basement membranes became more uniform. The integrity of membrane-bound organelles was restored. Euchromatin predominated in the nuclei. These changes may be explained by the antioxidant, endothelioprotective, and anti-exudative properties of gold, silver, and iron nanoparticles. Scientific sources indicate that organic and inorganic nanoparticles are capable of modulating the permeability of the blood–brain barrier, stabilizing the ultrastructure of endothelial cells, and reducing neuroinflammation and oxidative stress, thereby promoting restoration of the barrier function and microcirculation in nervous tissue [12, 13, 14, 15].

Conclusions.

In rats with DMH-induced colon adenocarcinoma, progressive destructive changes occurred in the ultrastructure of hemocapillaries. Pronounced submicroscopic alterations manifested as marked vascular congestion, erythrocyte stasis and sludge formation, swelling of endothelial cells, a decrease in the number of pinocytotic vesicles, and disruption of intercellular junctions, indicating endothelial damage and impaired microcirculation. A 21-day administration of the Au/Ag/Fe nanoparticle composition led to partial restoration of the state of hippocampal hemocapillaries, manifested by a reduction of perivascular edema, restoration of capillary lumens, a decrease in edema-destructive changes of endothelial cells, and better preservation of mitochondria. These changes demonstrate the protective properties of the silver, gold, and iron nanoparticle composition on the state of hippocampal hemocapillaries under conditions of DMH-induced carcinogenesis.

Prospects for further research.

In the future, a more in-depth study of both ultrastructural and immunohistochemical changes in the hippocampus under the action of N,N-dimethylhydrazine during experimental colorectal carcinogenesis is planned. Particular attention should be paid to the identification and evaluation of early markers of damage to the hippocampal fields and the dentate gyrus, as well as to clarifying the mechanisms of pathological changes in nervous tissue under conditions of tumor growth. A separate promising direction is the study of the influence of nanomaterials on the structural and functional state of the hippocampus under conditions of colorectal carcinogenesis, which may serve as the basis for the development of new methods for correcting neurodegenerative changes caused by the neoplastic process.

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ГЕМОКАПІЛЯРІВ ГІПОКАМПА ЩУРІВ ПРИ ІНДУКОВАНОМУ КОЛОРЕКТАЛЬНОМУ РАКУ ТА ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ НАНОМАТЕРІАЛАМИ

Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України (м. Тернопіль, Україна)

chebernina_io@tdmu.edu.ua

У статті представлено електронномікроскопічне дослідження змін мікроциркуляторного русла гіпокампа білих щурів на фоні індукованої аденокарциноми товстої кишки та за умов корекції наноматеріалами Au/Ag/Fe. Отримані результати дозволили оцінити характер змін гемокapілярів при системному патологічному процесі та протекторний ефект наночастинок. Було визначено, що тривалий вплив канцерогену N,N-диметилгідразину супроводжувалося вираженими деструктивними змінами гемокapілярів гіпокампа, які проявлялися нерівномірним кровонаповненням, стазом і складжем еритроцитів, звуженням або колапсом просвіту судин, набряком ендотеліоцитів, зменшенням кількості мікропіноцитозних везикул, порушенням міжклітинних контактів та деформацією ядер ендотеліальних клітин. Отримані зміни вказують на виникнення ендотеліальної дисфункції, порушення мікроциркуляції та транскapілярного обміну води, які є проявами відповіді на системне запалення та оксидативний стрес, що є типовим для ДМГ-індукованого канцерогенезу. Після застосування композиції наночастинок Au/Ag/Fe відбулось часткове відновлення ультраструктури гемокapілярів гіпокампа. Відзначалося зменшення периваскулярного набряку, більш рівномірне кровонаповнення судин, відновлення просвітів капілярів та збільшення частоти стазів. У ендотеліальних клітинах зменшувався набряк цитоплазми, підвищувалася кількість мікропіноцитозних везикул, органели набували більш впорядкованого розташування, а в ядрах переважав еухроматин, що свідчить про часткову нормалізацію метаболічної активності клітин. Також відзначалося більша збереженість мітохондрій і стабілізація структури базальної мембрани.

Таким чином, отримані дані електронномікроскопічного дослідження гіпокампа можуть вказувати на ендотеліопротекторні та мікроциркуляторні ефекти наночастинок золота, срібла та заліза, що сприяє відновленню ультраструктурної організації гемокapілярів гіпокампа в умовах ДМГ-індукованого канцерогенезу товстої кишки. Це підтверджує потенціал використання наноматеріалів для зменшення ступеня судинних змін гіпокампа та може позитивно впливати на структурно-функціональну стабільність нервової тканини.

Ключові слова: гіпокамп, ультраструктурні зміни, головний мозок, гемокapіляри, канцерогенез, аденокарцинома, наночастинок, електронна мікроскопія.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Дослідження виконано в рамках НДР «Морфологічні та метаболічні аспекти канцерогенезу», номер державної реєстрації 0123U100070.

Вступ.

Гіпокамп є структурою головного мозку, що забезпечує консолідацію сигналів зовнішнього середовища та формування цілісного сприйняття простору та часу. Виконання функцій гіпокампа можливе при збереженні клітинної сталості, обміну нейротрансмітерів, площі рецепторного апарату та ефективного кровопостачання [1]. Судинний резерв гіпокампу зараз вважається основним фактором, що сприяє когнітивній діяльності, тому розуміння судинної функції гіпокампа є центральним для захисту нейрокогнітивного здоров'я [2]. Низка досліджень показала порушення когнітивних функцій в умовах дисфункції гіпокампа та окремих його частин, зокрема, при церебральній ішемії. Перфузія гіпокампа забезпечується двома артеріальними системами, а саме середня мозкова артерія, що відходить від внутрішньої сонної та живить головку гіпокампа, та задня мозкова артерія, що є гілкою базилярної артерії системи підключичної артерії, яка живить інші частини гіпокампа та прилеглі утворення, такі як енторинальна кора та зубчаста зви-

вина [3, 4]. Багаторівнева система кровопостачання гіпокампа свідчить про його високу функціональну й метаболічну активність, а також про критичну залежність від стану судин, характеру гемодинаміки та якісного складу крові.

Стан судинного русла гіпокампа змінюється при патології ЦНС та периферійних органів. Наприклад, гостре ураження легень провокує активацію ендотелію судин гіпокампа та міграцію туди нейтрофілів [5]. У експериментальній моделі фебрильних судом спостерігалася майже повна оклюзія просвіту капілярів гіпокампа, спричинена пошкодженням ендотеліальної вистилки та зовнішнім тиском з боку набряклих периваскулярних астроцитарних відростків. Ультраструктурні зміни спостерігали в основному в мітохондріях ендотеліальних клітин [6].

На фоні системного запалення також спостерігається ультраструктурне ремодельовання ендотеліальних клітин, що включає хвилеподібні випинання плазматичної мембрани, збільшення кількості позаклітинних мікровезикул, утворення малих екзосом, аберантні мітохондрії, посилений транцитоз ендотеліальних клітин, тоді як щільні контакти залишалися незмінними [7].

Порівняно з кортикальними ділянками мозку, такими як соматосенсорна кора, менше відомо про

функцію судин гіпокампа, яка має вирішальне значення для підтримки нейрокогнітивного здоров'я, особливо є брак достовірних даних щодо змін судинного русла гіпокампа в умовах індукованого канцерогенезу товстої кишки. Також незрозуміло лишається роль впливу наноматеріалів срібла, золота та заліза на стан гемокапілярів гіпокампа в умовах канцерогенезу.

Мета дослідження.

Визначення ультраструктурних змін гіпокапілярів гіпокампа щурів при індукованому колоректальному раку та за умов корекції наноматеріалами.

Об'єкт і методи дослідження.

Дослід проводився на базі Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України на 35 білих лабораторних щурах, які утримувались в стандартних умовах віварію згідно з вимогами «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та відповідно до етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2013). Тварин розділили на три групи: I група – контроль, II група – щури з індукованим канцерогенезом, III група – корекції, щурам якої вводили композицію наноматеріалів Au/Ag/Fe. Аденокарциному товстої кишки щурам моделювали введенням підшкірно у міжлопаткову ділянку 7,2 мг/кг N,N-диметилгідразину (ДМГ) протягом 30 тижнів. Уведення композиції наноматеріалів мг/кг здійснювали протягом 21 дня внутрішньошлунково у вигляді водної дисперсії. Добова доза наночастинок відповідно склала 0,842 мг срібла, 0,0526 мг заліза і 1,625 мікрограма золота на 1 кг маси тіла щура.

В кінці експерименту тварин з нього виводили шляхом декапітації, попередньо вводили 10% розчин тіопенталу натрію (Arterium, Україна) в дозі 50мг/кг. Для проведення електронної мікроскопії готували ультратонкі зрізи з використанням ультрамікротома LKB 4801 A. Для підвищення електронної контрастності препарати обробляли ураніл ацетатом і цитратом свинцю відповідно до методики Рейнольдса, після чого їх досліджували за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-125 К.

Результати дослідження та їх обговорення.

Проведене електронномікроскопічне вивчення гемокапілярів гіпокампа групи інтактних тварин показало, що вони були соматичного типу, складались з суцільного шару ендотеліальних клітин, що мали плоску форму, цитоплазматичні вирости з чисельними мікропіноцитозними міхурцями, везикулами та мікроворсинками люменальної поверхні клітин. Міжклітинні контакти збережені, чітко контуруються. Їх ядра мали сплюснену форму, в каріоплазмі превалював еухроматин, каріолема була рівною, без інвагінацій та з помірним, нерозширеним перинуклеарним простором. Базальна мембрана тонка, рівномірна, без розшарувань. До базальної мембрани судин щільно підходили відростки астроцитів. Капіляри відзначалися вузьким просвітом і наявністю формених елементів крові всередині (рис. 1).

Субмікроскопічне вивчення стану гемокапілярів гіпокампа тварин яким впродовж 30 тижнів вводили ДМГ показало, що для них характерна виражена альтерація, яка характеризувалася нерівномірним кровонаповненням. В розширених просвітах части-

ни капілярів спостерігалось повнокров'я, виражений стаз та сладж еритроцитів. Цитоплазма містила просвітлені, набряклі зони, різко знижувався вміст мікропіноцитозних міхурців та везикул. Люменальна поверхня клітин часто була розмита, нечітко контурована, мікроворсинки не спостерігалися. Міжклітинні контакти втрачали свою цілісність були нечіткими. Інші капіляри були колабовані, із вузьким, щілиноподібним просвітом, переважно за рахунок периваскулярного набряку та інтрацелюлярного, ендотеліального. Ядра таких клітин мали неправильну форму з інвагінаціями каріолеми. В каріоплазмі превалював конденсований, маргінально локалізований хроматин (рис. 2).

Після уведення композиції наноматеріалів Au/Ag/Fe в структурі гемокапілярів гіпокампа тварин з ДМГ-індукованим канцерогенезом спостерігались відновні, регенераторні зміни. Гемокапіляри гіпокампа в більшості полів мали збережений або помірно розширений просвіт, без явищ масивного спадання. Кровонаповнення судин було помірним, траплялись поодинокі стази крові. Спостерігалось зменшення периваскулярного набряку, який тепер мав вогнищевий характер і не призводив до значного звуження просвіту капілярів. Контури судин у більшості випадків

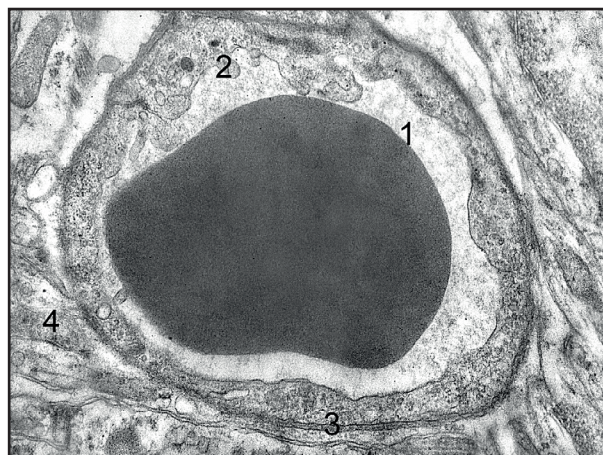


Рисунок 1 – Субмікроскопічна організація гемокапіляра гіпокампа тварини інтактної групи. Збільшення: $\times 12000$. Позначення: 1 – просвіт капіляра з еритроцитом, 2 – цитоплазма з мікроворсинками, 3 – базальна мембрана, 4 – нейрон.

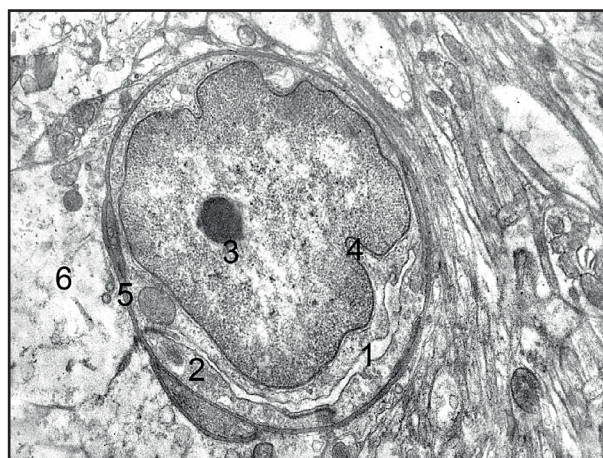


Рисунок 2 – Субмікроскопічні зміни гемокапіляра гіпокампа головного мозку тварини при ДМГ-індукованому канцерогенезі. Збільшення: $\times 10000$. Позначення: 1 – вузький просвіт капіляра, 2 – ендотелій, 3 – ядро з ядерцем, 4 – інвагінації каріолеми, 5 – базальна мембрана, 6 – нейрон.

чіткі, рівномірні, без різкої деформації у порівнянні з групою тварин з індукованим канцерогенезом без корекції. В ендотеліальних клітинах значно зменшувався набряк цитоплазми, органели розташовувалися більш упорядковано, зростав вміст мікропіноцитозних міхурців, що сприяло відновленню транскapілярного обміну. Мітохондрії мали переважно збережений матрикс, у частині з них відновлювалася цілісність крист. Канальці гранулярної ендоплазматичної сітки були помірно розширені, без масивної фрагментації. Зменшувалась кількість глибоких інвагінацій і випинань каріолеми. Ядра мали овальну форму, збільшувалась частка еухроматину. Базальна мембрана була незначно потовщеною, однак її структура ставала більш однорідною, без виражених розшарувань та фрагментацій (рис. 3).

Зміни гемокапілярів гіпокампа, що виникали при індукції канцерогенезу, такі як повнокрів'я та стази, узгоджуються з функціональними розладами гемодинаміки. За умов змодельованого канцерогенезу проявлялись стійкі дегенеративні зміни у вигляді звужень, спадінь стінки судин, що відповідає прогресуючій тканинній гіпоксії та порушенню проникності їх стінки. Подібні зміни відповідають змінам, типовим для хронічного оксидативного стресу, ендотеліальної дисфункції та запалення, які характерні для моделі ДМГ-канцерогенезу [8, 9]. Ультраструктурні зміни обумовлені функціональними порушеннями (помірний набряк цитоплазми ендотеліоцитів, часткова конденсація хроматину, стовщення базальної мембрани). З прогресуванням аденокарциноми кишки змінювався стан гемокапілярів, в ендотеліоцитах розширювались канальці ендоплазматичної сітки, набрякали мітохондрії та частково втрачались кристи, вміст піноцитозних везикул зменшувався. Деформація люмінальної мембрани, розшарування та фрагментації базальної мембрани, пікноз ядер, повна конденсація хроматину морфологічно відповідають глибокому ушкодженню гематоенцефалічного бар'єру. Це типові зміни ендотелію на ендотоксемию та системне запалення. Дані зміни підтверджують наявність вісі «кишечник–кров–мозок» про те, що кишкова системна запальна відповідь і дисбаланс метаболітів можуть підтримувати ендотеліальну дисфункцію та порушення бар'єрної здатності судин мозку [10, 11].

Після введення композиції наночастинок Au/Ag/Fe відбувається часткове відновлення стану гемокапілярів гіпокампа. Спостерігається зменшення периваскулярного набряку, рідші стази, стають більш рівні контури судин за рахунок відсутності спадіння стінки. Зменшується набряк та вакуолізація ендотеліоцитів, більш вирівнюються контури люмінальної та базальної мембран. Цілісність мембранних органел відновлюється. В ядрах переважає еухроматин. Ці зміни пояснюються антиоксидантними, ендотеліопротективними та анти ексудативними властивостями частинок золота, срібла та заліза. Наукові джерела стверджують, що органічні та неорганічні наночастинки здатні модулювати проникність гематоенце-

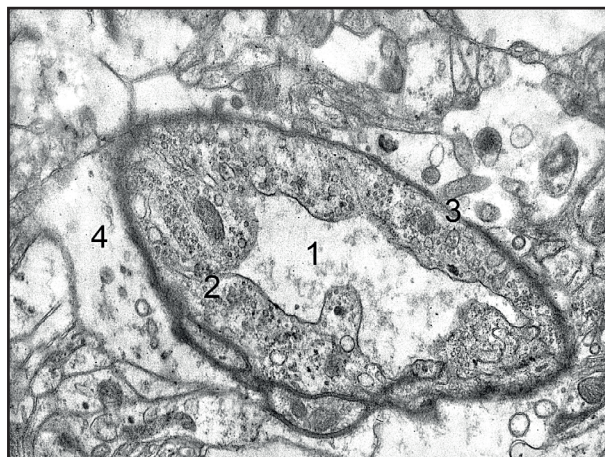


Рисунок 3 – Субмікроскопічні зміни гемокапіляра гіпокампа головного мозку тварини при ДМГ-індукованому канцерогенезі та застосуванні композиції наноматеріалів Au/Ag/Fe. Збільшення: $\times 10000$. Позначення: 1 – просвіт капіляра, 2 – цитоплазма ендотеліоцита, 3 – базальна мембрана, 4 – нейропіль.

фалічного бар'єру, стабілізувати ультраструктуру ендотеліальних клітин, зменшувати нейрозапалення та оксидативний стрес, що сприяє відновленню бар'єрної функції та мікроциркуляції у нервовій тканині [12, 13, 14, 15].

Висновки.

У щурів з ДМГ-індукованою аденокарциномою товстої кишки відбувались прогресуючі деструктивні зміни в ультраструктурі гемокапілярів. Виражені субмікроскопічні зміни проявлялися значним кровонаповненням, стазом і сладжем еритроцитів, набряком ендотеліоцитів, зменшенням піноцитозних везикул та руйнуванням міжклітинних контактів, що свідчить про ушкодження ендотелію і порушення мікроциркуляції. 21-денний вплив композиції наночастинок Au/Ag/Fe призводив до часткового відновлення стану гемокапілярів гіпокампа зі зменшенням периваскулярного набряку, відновленням просвітів капілярів, зниженням ступеня набряково-деструктивних змін ендотеліоцитів, більшою збереженістю мітохондрій. Дані зміни демонструють протективні властивості композиції наночастинок срібла, золота та заліза на стан гемокапілярів гіпокампа в умовах індукованого ДМГ-канцерогенезу.

Перспективи подальших досліджень.

В перспективі планується більш поглиблене вивчення як ультраструктурних, так і імуногістохімічних змін гіпокампа в умовах дії N,N-диметилгідразину при експериментальному канцерогенезі товстої кишки. Основну увагу доцільно приділити визначенню та оцінці ранніх маркерів ушкодження полів гіпокампа та зубчастої звивини, а також з'ясування механізмів патологічних змін нервової тканини в умовах пухлинного росту. Окремим перспективним напрямком є вивчення впливу наноматеріалів на структурно-функціональний стан гіпокампа в умовах канцерогенезу товстої кишки, що може бути основою розробки нових методів корекції нейродегенеративних змін, спричинених неопластичним процесом.

References / Література

1. Fogwe LA, Reddy V, Mesfin FB. Neuroanatomy, Hippocampus. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482171>.
2. Johnson AC. Hippocampal Vascular Supply and Its Role in Vascular Cognitive Impairment. Stroke 2023;54(3):673-685. DOI: [10.1161/STROKEAHA.122.038263](https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.122.038263).

3. Kim T, Rasero J, Marsland AL, Scudder MR, Ibrahim TS, Gianaros PJ. Hippocampal vascular supply and its mediating role in systemic physiological influences on hippocampal volume. *Frontiers in aging neuroscience*. 2025;17:1590242. DOI: [10.3389/fnagi.2025.1590242](https://doi.org/10.3389/fnagi.2025.1590242).
4. Li C, Buch S, Sun Z, Muccio M, Jiang L, Chen Y, et al. In vivo mapping of hippocampal venous vasculature and oxygenation using susceptibility imaging at 7T. *NeuroImage*. 2024;291:120597. DOI: [10.1016/j.neuroimage.2024.120597](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2024.120597).
5. Herman Li, Linh Le, Mariah Marrero, Jennifer David-Bercholz, Ana I Caceres, Claire Lim, et al. Neutrophilia with damage to the blood-brain barrier and neurovascular unit following acute lung injury. Preprint. *Res Sq*. 2023;rs.3.rs:3459515. DOI: [10.21203/rs.3.rs-3459515/v1](https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3459515/v1).
6. Łotowska JM, Sobaniec-Łotowska ME, Sendrowski K, Sobaniec W, Artemowicz B. Ultrastructure of the blood-brain barrier of the gyrus hippocampal cortex in an experimental model of febrile seizures and with the use of a new generation antiepileptic drug–topiramate. *Folia Neuropathol*. 2008;46(1):57-68.
7. Erickson MA, Shulyatnikova T, Banks WA, Hayden MR. Ultrastructural Remodeling of the Blood-Brain Barrier and Neurovascular Unit by Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2):1640. DOI: [10.3390/ijms24021640](https://doi.org/10.3390/ijms24021640).
8. Bertino JR. *Encyclopedia of Cancer*. San Diego: Academic Press; 2002. Chapter, Animal Models for Colon Cancer Chemoprevention; p. 49-55. DOI: [10.1016/B0-12-227555-1/00005-8](https://doi.org/10.1016/B0-12-227555-1/00005-8).
9. Miladinovic T, Sharma M, Phan A, Geres H, Ungard RG, Linher-Melville K, et al. Activation of hippocampal microglia in a murine model of cancer-induced pain. *Journal of pain research*. 2019;12:1003-1016. DOI: [10.2147/JPR.S191860](https://doi.org/10.2147/JPR.S191860).
10. Yang-Jensen SK, Nägele NS, Jensen BAH. From gut to blood: barrier dysfunction as a driver of systemic low-grade inflammation in cardiometabolic disease. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2025;329:C1723-C1741. DOI: [10.1152/ajpcell.00704.2025](https://doi.org/10.1152/ajpcell.00704.2025).
11. Binder LB, Menegatti Bevilacqua L, Gro Lorentzen Thomassen F, Lebel M, Jensen BAH, Menard C. Across Barriers: Blood-Brain and Gut Barrier Signaling in Psychiatric Disorders. *Journal of neurochemistry*. 2025;169(11):e70282. DOI: [10.1111/jnc.70282](https://doi.org/10.1111/jnc.70282).
12. Razavi ZS, Alizadeh SS, Razavi FS, Souri M, Soltani M. Advancing neurological disorders therapies: Organic nanoparticles as a key to blood-brain barrier penetration. *International Journal of Pharmaceutics*. 2025;670:125186. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2025.125186](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2025.125186).
13. Sadat Razavi Z, Sina Alizadeh S, Sadat Razavi F, Souri M, Soltani M. Advancing neurological disorders therapies: Organic nanoparticles as a key to blood-brain barrier penetration. *Int J Pharm*. 2025;670:125186. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2025.125186](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2025.125186).
14. Li C, Buch S, Sun Z, Muccio M, Jiang L, Chen Y, et al. In vivo mapping of hippocampal venous vasculature and oxygenation using susceptibility imaging at 7T. *NeuroImage*. 2024;291:120597. DOI: [10.1016/j.neuroimage.2024.120597](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2024.120597).
15. Xu Y, Wei H, Du R, Wang R, Zhu Y, Zhao T, et al. Hippocampal vascularization pattern and cerebral blood flow cooperatively modulate hippocampal tolerable amount of A β deposition in the occurrence of MCI. *Fluids Barriers CNS*. 2025;22(1):22. DOI: [10.1186/s12987-025-00635-y](https://doi.org/10.1186/s12987-025-00635-y).

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ГІПОКАПІЛЯРІВ ГІПОКАМПА ЩУРІВ ПРИ ІНДУКОВАНОМУ КОЛОРЕКТАЛЬНОМУ РАКУ ТА ЗА УМОВ КОРЕКЦІЇ НАНОМАТЕРІАЛАМИ

Чеберніна І. О., Небесна З. М.

Резюме. Метою дослідження було вивчення ультраструктурних змін гіпокапілярів гіпокампа щурів при індукованому колоректальному раку та за умов корекції наноматеріалами Au/Ag/Fe. Дослідження виконано на білих лабораторних щурах, яких поділили на контрольну групу, групу з індукованим канцерогенезом та групу корекції наноматеріалами. Аденокарциному товстої кишки моделювали шляхом підшкірного введення N,N-диметилгідразину протягом 30 тижнів. Композицію наночастинок срібла, золота та заліза вводили внутрішньошлунково протягом 21 дня. Ультраструктурні зміни гемокапілярів гіпокампа досліджували за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії.

У тварин з неопластичним процесом було виявлено ряд ультраструктурних змін у гемокапілярах гіпокампа, а саме нерівномірне кровонаповнення, стази і слагж еритроцитів, звуження або колапс просвіту судин, набряки ендотеліальних клітин та деформація їх ядер, зменшення кількості мікропіноцитозних везикул та порушення міжклітинних контактів. Такі зміни свідчать про розвиток ендотеліальної дисфункції та порушення мікроциркуляції в гіпокампі.

Після введення композиції наноматеріалів Au/Ag/Fe спостерігалось часткове відновлення ультраструктури гемокапілярів гіпокампа. Відзначалось зменшення периваскулярного набряку, відновлення просвітів капілярів, більш рівномірне кровонаповнення судин, зростання кількості мікропіноцитозних везикул у цитоплазмі ендотеліоцитів, більша збереженість мітохондрій та стабілізація структури базальної мембрани. В ядрах ендотеліальних клітин збільшувалася частка еухроматину, що свідчить про відновлення функціональної активності клітин.

Дані зміни демонструють протективні властивості композиції наночастинок срібла, золота та заліза на стан гемокапілярів гіпокампа в умовах індукованого ДМГ-канцерогенезу. Наноматеріали проявляють ендотеліопротекторні властивості, сприяючи частковій нормалізації ультраструктури судин, покращенню мікроциркуляції та стабілізації клітинних структур.

Ключові слова: гіпокамп, ультраструктурні зміни, головний мозок, гемокапіляри, канцерогенез, аденокарцинома, наночастинок, електронна мікроскопія.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF HIPPOCAMPAL HEMOCAPILLARIES IN RATS WITH INDUCED COLORECTAL CANCER AND UNDER CORRECTION WITH NANOMATERIALS

Chebernina I. O., Nebesna Z. M.

Abstract. The aim of the study was to investigate the ultrastructural changes of hippocampal hemocapillaries in rats with induced colorectal cancer and under correction with Au/Ag/Fe nanomaterials. The study was performed on white laboratory rats divided into a control group, a group with induced carcinogenesis, and a group receiving nanomaterial correction. Colon adenocarcinoma was modeled by subcutaneous administration of N,N-dimethylhydrazine for 30 weeks. A composition of silver, gold, and iron nanoparticles was administered intragastrically for 21 days. Ultrastructural changes of hippocampal hemocapillaries were examined using transmission electron microscopy.

In animals with a neoplastic process, a number of ultrastructural changes were detected in the hippocampal hemocapillaries, including uneven blood filling, stasis and erythrocyte sludge, narrowing or collapse of the vascular lumen, swelling of endothelial cells and deformation of their nuclei, a decrease in the number of micropinocytotic

vesicles, and disruption of intercellular contacts. These changes indicate the development of endothelial dysfunction and impaired microcirculation in the hippocampus.

After administration of the Au/Ag/Fe nanomaterial composition, partial restoration of the ultrastructure of hippocampal hemocapillaries was observed. A decrease in perivascular edema, restoration of capillary lumens, more uniform blood filling of vessels, an increase in the number of micropinocytotic vesicles in the cytoplasm of endothelial cells, greater preservation of mitochondria, and stabilization of the basement membrane structure were noted. In the nuclei of endothelial cells, the proportion of euchromatin increased, indicating restoration of the functional activity of the cells.

These changes demonstrate the protective properties of the silver, gold, and iron nanoparticle composition on the state of hippocampal hemocapillaries under conditions of DMH-induced carcinogenesis. Nanomaterials exhibit endothelioprotective properties, contributing to partial normalization of vascular ultrastructure, improvement of microcirculation, and stabilization of cellular structures.

Key words: hippocampus, ultrastructural changes, brain, hemocapillaries, carcinogenesis, adenocarcinoma, nanoparticles, electron microscopy.

ORCID and contributionship / ORCID кожного автора та його внесок до статті:

Chebernina I. O.: <https://orcid.org/0000-0003-3149-5141>^{ABDE}

Nebesna Z. M.: <https://orcid.org/0000-0002-6869-0859>^{DEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The authors declare no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Chebernina Inna Oleksandrivna / Чеберніна Інна Олександрівна

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ministry of Health of Ukraine / Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

Ukraine, 46001, Ternopil, 1 Maydan Voli str. / Україна, 46001, м. Тернопіль, вул. Майдан Волі 1

Tel.: 0953666806 / Тел.: 0953666806

E-mail: chebernina_io@tdmu.edu.ua

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article / A – концепція роботи та дизайн, B – збір та аналіз даних, C – відповідальність за статичний аналіз, D – написання статті, E – критичний огляд, F – остаточне затвердження статті.

This article is distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution (CC-BY) License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited © All authors, 2026 / Ця стаття розповсюджується на умовах ліцензії **Creative Commons Attribution (CC-BY)**, яка дозволяє необмежене використання, поширення та відтворення в будь-якому форматі за умови належного цитування оригінальної роботи © Всі автори, 2026

Received 29.09.2025 / Стаття надійшла 29.09.2025 року

Accepted 02.03.2026 / Стаття прийнята до друку 02.03.2026 року

Published 27.03.2026 / Опубліковано 27.03.2026 року

DOI 29254/2077-4214-2026-1-180-467-478

UDC 611.12–053.13:546.48'131:546.461.4:616–091.8–092.9

Shatorna V. F., Nefyodova O. O., Lomyha L. L., Zemlyany O. A., Kolosova I. I.

EXPERIMENTAL DETERMINATION OF CHANGES IN HEART MORPHOGENESIS UNDER THE INFLUENCE OF CADMIUM CHLORIDE IN ISOLATED ADMINISTRATION AND IN COMBINATION WITH SUCCINATES OF BIOGENIC METALS

Dnipro State Medical University (Dnipro, Ukraine)

larysa.lomyha@dmu.edu.ua

This study is devoted to the investigation of structural transformations in the hearts of pregnant rats and their fetuses under the influence of a toxic factor, the widespread environmental pollutant cadmium chloride. The research focused on the analysis of morphological and morphometric parameters of cardiac structures in experimental animals under conditions of prolonged exposure to cadmium chloride, as well as its combined administration with copper or zinc succinates. For the analysis, hearts of adult females and embryos (on the 13th and 20th days of development) were used. A comprehensive approach that included histological examination and statistical analysis of the obtained data made it possible to trace in detail the features of cardiac morphogenesis under the influence of heavy metals. Particular attention was paid to the ability of zinc and copper to act as bioantagonists of cadmium-induced cardiotoxicity during prolonged exposure.

Chronic administration of cadmium chloride (2 mg/kg) caused significant pathological changes manifested not only by an increase in embryonic mortality but also by specific alterations in cardiac development. The combina-