

Возрастные изменения сосудистого сплетения головного мозга крыс сопровождаются накоплением липофусцина в клетках покровного эпителия

О.В. Кирик¹, О.С. Алексеева^{1,2}, М.С. Файзов¹, Е.А. Федорова¹, А.А. Бекетова¹, Д.Э. Коржевский¹

¹Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

²Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Сосудистое сплетение головного мозга, являющееся основным источником спинномозговой жидкости, состоит из стромального компонента и покровного эпителия. Клетки покровного эпителия относятся к медленно обновляющейся популяции и с возрастом могут накапливать липофусцин, по аналогии с другими клетками головного мозга. У лабораторных животных, продолжительность жизни которых существенно меньше, чем у человека, подобных проявлений возрастных изменений ранее описано не было.

Цель исследования — проверить гипотезу о том, что для эпителия сосудистого сплетения головного мозга крыс характерно накопление липофусцина при старении.

Методы. Исследование выполнено на самцах крыс линии Вистар разного возраста: 4–5 ($n=3$), 18 ($n=3$) и 28 месяцев ($n=3$). Наличие липофусцина в тканях оценивали на парафиновых срезах мозга с помощью конфокальной микроскопии, используя его способность к аутофлуоресценции.

Результаты. В ходе исследования показано, что у крыс при старении происходит накопление липофусцина в эпителии сосудистого сплетения головного мозга.

Заключение. Дальнейшее изучение условий и экспериментальных воздействий, способных замедлять накопление липофусцина, позволит разработать методологию тестирования новых медицинских технологий и препаратов, направленных на отсрочку старения структур головного мозга.

Ключевые слова: сосудистое сплетение; головной мозг; липофусцин; крыса.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Кирик О.В., Алексеева О.С., Файзов М.С., Федорова Е.А., Бекетова А.А., Коржевский Д.Э. Возрастные изменения сосудистого сплетения головного мозга крыс сопровождаются накоплением липофусцина в клетках покровного эпителия // Морфология. 2026. Т. 164, № 1. С. XX–XX.
DOI: 10.17816/morph.677801 EDN: NFJDHG

© Эко-Вектор, 2026

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International

Рукопись получена: 27.03.2025

Рукопись одобрена: 11.05.2025

Опубликована online: 18.09.2025

Age-related changes in the vascular plexus of the rat brain are accompanied by the accumulation of lipofuscin in the cells of the integumentary epithelium

Olga V. Kirik¹, Olga S. Alekseeva^{1,2}, Murodali S. Faizov¹, Elena A. Fedorova¹, Anastasiya A. Beketova¹, Dmitrii E. Korzhevsky¹

¹Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia;

²Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The choroid plexus of the brain, which is the main source of cerebrospinal fluid, consists of a stromal component and an integumentary epithelium, the cells of which belong to a population of slowly renewing tissues and can accumulate lipofuscin with age, similar to other brain cells. No such age-related changes have been previously reported in laboratory animals with significantly shorter life expectancy compared to humans.

AIM: The purpose of this study was to test the hypothesis that the epithelium of the choroid plexus of the rat brain is characterized by the accumulation of lipofuscin during aging.

METHODS: The study was performed on male Wistar rats of different ages: 4–5 months ($n=3$), 18 months ($n=3$), 28 months ($n=3$). The presence of lipofuscin in the tissues was assessed on paraffin sections of the brain using confocal microscopy, using its autofluorescence property.

RESULTS: In the course of the study, it was shown that with aging, lipofuscin accumulates in the epithelium of the choroid plexus of the brain in rats.

CONCLUSION: Further study of the conditions and experimental effects under which the accumulation of lipofuscin may be delayed will allow us to develop a methodology for testing new medical technologies and drugs that slow down the aging of brain structures.

Keywords: choroid plexus; brain; lipofuscin; rat.

TO CITE THIS ARTICLE:

Kirik OV, Alekseeva OS, Faizov MS, Fedorova EA, Beketova AA, Korzhovsky DE. Age-related changes in the vascular plexus of the rat brain are accompanied by the accumulation of lipofuscin in the cells of the integumentary epithelium. *Morphology*. 2026;164(1):XX–XX. DOI: 10.17816/morph.677801 EDN: NFJDHG

© Eco-Vector, 2026

Article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License

Received: 27.03.2025

Accepted: 11.05.2025

Published online: 18.09.2025

ОБОСНОВАНИЕ

Сосудистое сплетение головного мозга является основным источником спинномозговой жидкости (ликвора). Оно состоит из стромального компонента, включающего соединительнотканые элементы и кровеносные сосуды, и покровного эпителия, который иногда рассматривают вместе с эндимой желудочков мозга как особую глиоэндимную ткань, что связано с их общим происхождением [1, 2]. Некоторые исследования демонстрируют способность эпителия сосудистого сплетения к пролиферации в эксплантатах [3]. В то же время, есть работы, свидетельствующие о том, что эти клетки должны быть отнесены к популяции медленно обновляющихся, а у взрослых животных и человека их способность к обновлению вызывает сомнение. В связи с этим в клетках эпителия сосудистого сплетения, сходно с нейронами и кардиомиоцитами, должны обнаруживаться структурные и цитохимические признаки, характерные для реакций на оксидативный стресс и иные патологические эпизоды. С возрастом такие реакции могут проявиться в накоплении гранул липофусцина и меланина, а также в появлении внутриядерных и цитоплазматических включений [4]. Установлено, что у человека при естественном старении, а ещё чаще при возрастных патологиях (болезни Альцгеймера и других), в эпителии сосудистого сплетения появляются как липофусцин, так и особые цитоплазматические включения, содержащие похожие на липофусцин гранулярные структуры и амилоидные фибриллы — тельца Бионди [5]. У лабораторных животных, для которых характерна существенно меньшая продолжительность жизни, чем у человека, подобных проявлений возрастных изменений ранее описано не было. Исключением можно считать кроликов, у которых выявлено накопление липофусцина в сосудистом сплетении боковых желудочков головного мозга при включении в их рацион холестерина [6]. При этом в условиях естественного старения кроликов сосудистое сплетение не изучалось на предмет выявления признаков накопления липофусцина.

Цель настоящего исследования — проверить гипотезу о том, что для эпителия сосудистого сплетения головного мозга крыс характерно накопление липофусцина при старении.

МЕТОДЫ

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено одноцентровое контролируемое рандомизированное исследование. Объектом исследования были сосудистые сплетения боковых желудочков головного мозга крыс разного возраста. Из парафиновых блоков изготавливали фронтальные срезы головного мозга, монтировали на предметные стекла, депарафинировали и заключали в перманентную среду.

УСЛОВИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на базе ФГБНУ «ИЭМ». Материал для исследования извлекали у животных самцов крыс линии Вистар, находящихся в глубоком эфирном наркозе. Обезживали и подготавливали к заливке в парафин при помощи гистопроцессора Microm STP 120 (Microm, Germany). Оцифровка изображений проведена с использованием флуоресцентного Axio Observer Z1 (Zeiss, Германия) и конфокального LSM 800 (Zeiss Германия) микроскопов.

КРИТЕРИИ СООТВЕТСТВИЯ

В работе использовали образцы головного мозга самцов крыс линии Вистар в возрасте: 4–5 месяцев ($n=3$), 18 месяцев ($n=3$), 28 месяцев ($n=3$).

ОПИСАНИЕ ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Головной мозг животных фиксировали в комбинированном фиксаторе цинк-этанол-формальдегид в течение 24 часов при комнатной температуре, обезживали и заливали в парафин. Фронтальные срезы головного мозга толщиной 5 мкм изготавливали на ротационном микротоме Rotary 3003 PFM Medical (PFM Medical, Германия) и монтировали на стекла с адгезивным покрытием HistoBond+ (Paul Marienfeld, Германия). После депарафинирования и промывки срезы без предварительного окрашивания заключали в перманентную среду Cytoseal 60 (Richard-Allan Scientific, США). Часть препаратов окрашивали гематоксилином и эозином, анилиновым синим, толуидиновым синим, а также по методу Ниссля. Препараты анализировали с использованием микроскопии в проходящем свете видимого диапазона (микроскоп Leica DM 750; Leica Microsystems, Германия). Флуоресцентную микроскопию проводили на микроскопе Axio Observer Z1 (Zeiss, Германия). Для конфокальной микроскопии использовали микроскоп LSM 800 (Zeiss Германия) под управлением программы ZEN Blue 2012 (Zeiss, Германия) и лазеры с длиной волны 405, 488 и 561 нм. Флуоресценцию детектировали в диапазонах 405–510 нм, 510–570 нм и 570–700 нм соответственно.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании неокрашенных препаратов в проходящем свете в нейронах и клетках сосудистого сплетения не обнаружено пигментных гранул. Применение разных методов обзорного окрашивания не помогло выявить гранулы в сосудистом сплетении, по тинкториальным свойствам сходные с типичными включениями липофусцина. При этом у крыс в возрасте 18 и 28 месяцев наблюдается увеличение пространства, занятого волокнистым компонентом стромы сосудистого сплетения.

При флуоресцентной микроскопии с использованием объектива малого увеличения EC Plan-Neofluar 10×/0,30M27 также не удалось выявить аутофлуоресцирующие гранулы, что, вероятно, связано с их малыми размерами и низкой интенсивностью флуоресценции.

Применение конфокальной лазерной микроскопии с использованием иммерсионного объектива Plan-Apochromat 63×/1.4 Oil DIC M27 позволило обнаружить на препаратах головного мозга крыс в возрасте 18 и 28 месяцев флуоресцирующие структуры, локализующиеся в эпителиоцитах сосудистого сплетения в виде цитоплазматических гранул размером 0,2–0,5 мкм (рис. 1). Эмиссия выявленных гранул соответствует диапазону 570–700 нм при возбуждении лазером с длиной волны 561 нм и диапазону 510–570 нм при возбуждении лазером 488 нм. Возбуждение светом с длиной волны 405 нм не индуцировало флуоресценцию выявленных гранул в диапазоне 405–510 нм.

Обнаруженные гранулы во всех случаях находятся вблизи апикальной части эпителиальных клеток и формируют небольшие кластеры по 5–20 гранул, иногда сливающихся между собой. Точные размеры выявленных структур не всегда удаётся определить из-за их малых размеров, сопоставимых с разрешающей способностью конфокального микроскопа. В отдельных случаях визуализировались более крупные гранулы (0,5–0,9 мкм) кольцевидной формы. Совмещение каналов флуоресценции показало, что в пределах отдельных кластеров флуоресценция неоднородна по спектральному составу и интенсивности. Преимущественно встречаются гранулы с флуоресценцией в зелёной и красной областях спектра (см. рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные результаты свидетельствуют о том, что в покровном эпителии сосудистого сплетения головного мозга крыс по мере старения накапливаются гранулы, обладающие способностью к аутофлуоресценции в зелёном и красном диапазонах видимого спектра. Для обнаружения таких гранул наиболее подходящим методом является конфокальная микроскопия. Известно, что у стареющих лабораторных животных (мышей и крыс) в головном мозге происходит накопление липофусцина [7], которое связывают с перекисным окислением липидов и повышением содержания продуктов лизосомальной деградации белков [8]. В этой связи гранулы, выявленные в сосудистом сплетении и аутофлуоресцирующие в широком диапазоне видимого спектра, вероятнее всего представляют собой липофусцин и липофусциноподобные включения. Правомерность такого допущения подкрепляется сходством биофизических свойств и биохимического состава липофусцинов у человека и крысы [9]. Следует отметить, что ранее возможность накопления липофусцина в сосудистом сплетении головного мозга крыс не рассматривалась, хотя известно, что клетки покровного эпителия сосудистого сплетения составляют важный компонент гематоликворного барьера [10]. Поскольку липофусцин накапливается преимущественно в клетках медленно обновляющихся популяций, таких как нейроны и кардиомиоциты, обнаружение липофусциновых гранул в клетках сосудистого сплетения может рассматриваться как косвенный признак их достаточно медленного обновления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты подтверждают гипотезу о возможности накопления липофусцина в эпителии сосудистого сплетения головного мозга у крыс при старении. Присутствие липофусцина в сосудистом сплетении может быть использовано в качестве дополнительного критерия, указывающего на патологический характер экспериментальных воздействий.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов.

Кирик О.В. – работа на конфокальном микроскопе, анализ данных, написание рукописи, подготовка иллюстраций

Алексеева О.С. – работа на конфокальном микроскопе, написание рукописи

Файзов М.С. – изготовление срезов, подготовка препаратов для световой, флуоресцентной и конфокальной микроскопии, работа с литературой

Федорова Е.А. – подготовка препаратов для световой, флуоресцентной и конфокальной микроскопией, анализ препаратов в проходящем свете

Бекетова А.А. – работа на флуоресцентном микроскопе, работа с литературой

Коржевский Д.Э. – определения концепции работы, работа на конфокальном микроскопе, редактирование рукописи

Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты настоящей работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой её части.

Этическая экспертиза. При работе с животными (содержании и эвтаназии) соблюдали принципы Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.) и «Правила надлежащей лабораторной практики» (приказ № 199н от 01.04.2016 г. Минздрава России). Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом Института экспериментальной медицины (протокол № 1/25 от 27.01.2025).

Источники финансирования. Работа выполнена в рамках государственного задания Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» (FGWG-2025-003) и государственного задания Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук (№ 075-00263-25-00).

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Оригинальность. Авторы подтверждают оригинальность исследования, данные, использованные в исследовании, ранее нигде не были ни представлены, ни опубликованы

Доступ к данным. Авторы предоставляют ограниченный доступ к данным (по запросу, после завершения периода эмбарго)

Генеративный искусственный интеллект. Авторы не использовали Генеративный искусственный интеллект при подготовке статьи

Рассмотрение и рецензирование. Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два внешних рецензента, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contributions: All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Ethics approval:

Funding sources: The work was carried out within the framework of the state assignment of the Institute of Experimental Medicine (FGWG-2025-003) and the state assignment of the Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences (№ 075-00263-25-00).

Disclosure of interests: The authors declare that they have no competing interests.

Statement of originality: The authors confirm the originality of the study, the data used in the study has never been presented or published anywhere before.

Data availability statement: The authors provide limited access to the data (upon request, after the end of the embargo period)

Generative AI use statement: The authors did not use Generative artificial Intelligence in the preparation of the article.

Provenance and peer-review: The manuscript was sent to the editorial office of the journal on its own initiative

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Khlopin NG. *General biological and experimental foundations of histology*. Moscow: Izdatel'stvo Akademii nauk SSSR; 1946. (In Russ.)
2. Sarnat HB. Histochemistry and immunocytochemistry of the developing ependyma and choroid plexus. *Microsc Res Tech*. 1998;41(1):14–28. doi: 10.1002/(SICI)1097-0029(19980401)41:1<14::AID-JEMT3>3.0.CO;2-U EDN: [VKSDLN](#)
3. Mikhailov VP. Growth and transformation in vitro of integumentary cells of the vascular plexuses of the brain. *Proceedings of the Academy of Sciences of the USSR*. 1938;18(2):121–122. (In Russ.) EDN: [ASCGPV](#)
4. Hakvoort K, Otto L, Haeren R, et al. Shedding light on human cerebral lipofuscin: An explorative study on identification and quantification. *J Comp Neurol*. 2021;529(3):605–615. doi: 10.1002/cne.24971 EDN: [INEAMT](#)
5. Ghetti B, Schweighauser M, Jacobsen MH, et al. TMEM106B amyloid filaments in the Biondi bodies of ependymal cells. *Acta Neuropathol*. 2024;148(1):60. doi: 10.1007/s00401-024-02807-w EDN: [XBHDQN](#)
6. Obata F, Narita K. Hypercholesterolemia negatively influences morphology and molecular markers of epithelial cells within the choroid plexus in rabbits. *Fluids Barriers CNS*. 2020;17(1):13. doi: 10.1186/s12987-020-0175-0 EDN: [WJISIG](#)
7. Oenzil F, Kishikawa M, Mizuno T, Nakano M. Age-related accumulation of lipofuscin in three different regions of rat brain. *Mech Ageing Dev*. 1994;76(2–3):157–163. doi: 10.1016/0047-6374(94)91590-3
8. Georgakopoulou EA, Tsimaratou K, Evangelou K, et al. Specific lipofuscin staining as a novel biomarker to detect replicative and stress-induced senescence. A method applicable in cryo-preserved and archival tissues. *Aging (Albany NY)*. 2013;5(1):37–50. doi: 10.18632/aging.100527
9. Ottis P, Koppe K, Onisko B, et al. Human and rat brain lipofuscin proteome. *Proteomics*. 2012;12(15–16):2445–2454. doi: 10.1002/pmic.201100668 EDN: [YCRZEV](#)

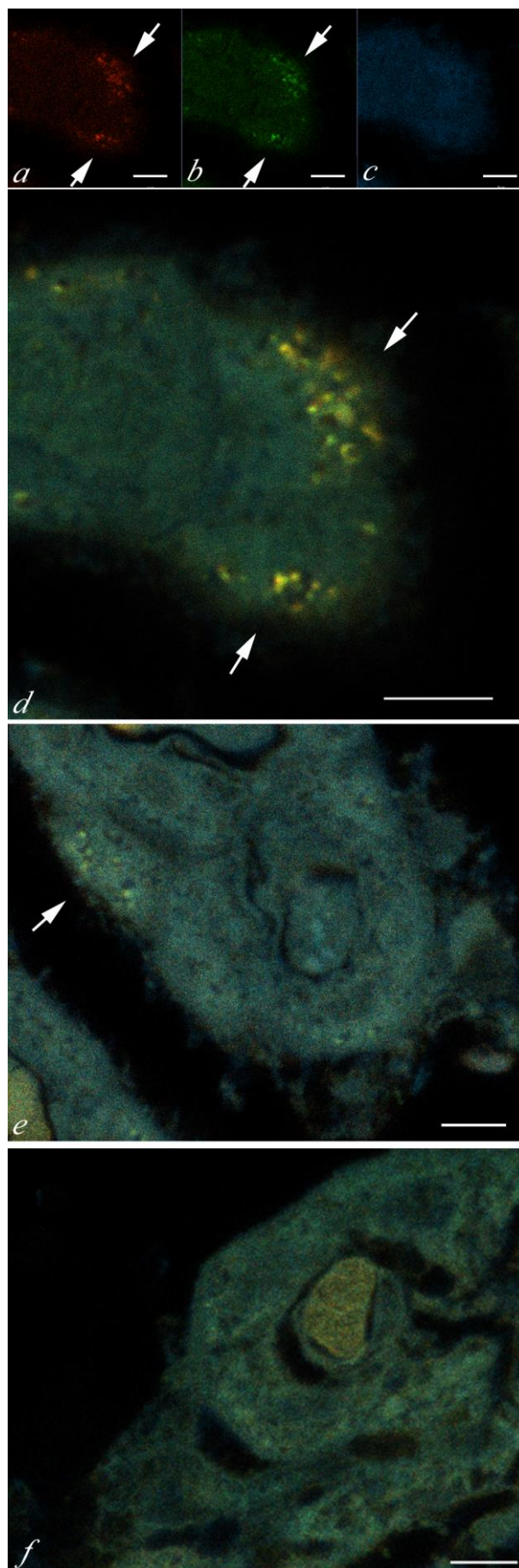
10. Terman A, Brunk UT. Lipofuscin. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36(8):1400–1404. doi: 10.1016/j.biocel.2003.08.009
EDN: [XOHUPP](#)

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

AUTHORS' INFO

*Автор, ответственный за переписку:	
*Кирик Ольга Викторовна , канд. биол. наук; адрес: Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; ORCID: 0000-0001-6113-3948; eLibrary SPIN: 5725-8742; e-mail: olga_kirik@mail.ru	*Olga V. Kirik , Cand. Sci. (Biology); address: 12 Akademika Pavlova st, Saint Petersburg, Russia, 197022; ORCID: 0000-0001-6113-3948; eLibrary SPIN: 5725-8742; e-mail: olga_kirik@mail.ru
Соавторы:	
Алексеева Ольга Сергеевна , канд. биол. наук; ORCID: 0000-0001-5688-347X; eLibrary SPIN: 4281-3091; e-mail: osa72@inbox.ru	Olga S. Alekseeva , Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0001-5688-347X; eLibrary SPIN: 4281-3091; e-mail: osa72@inbox.ru
Файзов Муродали Саидалиевич ; ORCID: 0009-0001-3411-3412; eLibrary SPIN: нет; e-mail: fayzov-1994@mail.ru	Murodali S. Fayzov ; ORCID: 0009-0001-3411-3412; eLibrary SPIN: e-mail: fayzov-1994@mail.ru
Федорова Елена Анатольевна , канд. биол. наук; ORCID: 0000-0002-0190-885X; eLibrary SPIN: 5414-4122; e-mail: el-fedorova2014@ya.ru	Elena A. Fedorova , Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-0190-885X; eLibrary SPIN: 5414-4122; e-mail: el-fedorova2014@ya.ru
Бекетова Анастасия Алексеевна ; ORCID: 0009-0002-8659-733X; eLibrary SPIN: 6780-2677; e-mail: beketova.anastasiya@yandex.ru	Anastasiya A. Beketova ; ORCID: 0009-0002-8659-733X ; eLibrary SPIN: 6780-2677; e-mail: beketova.anastasiya@yandex.ru
Коржевский Дмитрий Эдуардович , д-р мед. наук, профессор РАН; ORCID: 0000-0002-2456-8165; eLibrary SPIN: 3252-3029; e-mail: dek2@yandex.ru	Dmitrii E. Korzhevskii , Dr. Sci. (Medicine), Professor; ORCID: 0000-0002-2456-8165; eLibrary SPIN: 3252-3029; e-mail: dek2@yandex.ru

РИСУНКИ



- Рис. 1.** Фрагменты сосудистого сплетения в боковом желудочке головного мозга крысы: *a-d* — в возрасте 28 месяцев; *e* — 18 месяцев; *f* — 4–5 месяцев. Аутофлуоресценция липофусцина при возбуждении лазерами с длиной волны 561 нм (*a*), 488 нм (*b*) и 405 нм (*c*). Раздельное (*a-c*) и объединённое (*d*) представление каналов, стрелки указывают на гранулы липофусцина. Конфокальная лазерная микроскопия; масштабный отрезок 5 мкм.
- Fig. 1.** Fragment of the vascular plexus in the lateral ventricle of the rat brain: A-D – 28m; E – 18 m; F – 4-5m. Registration of autofluorescence of lipofuscin when excited by lasers with a wavelength of 561 nm (A), 488 nm (B) and 405 nm (C). Separate (A-C) and combined (D) representation of channels, **arrows mark lipofuscin**. Confocal laser microscopy. The scale bar is 5 microns.