

УДК 611.813.3-018.8-02:616-001.17]- 071.3-092.9

©С. О. Литвинюк

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ НЕЙРОЦИТІВ СА1 ПОЛЯ ГІПОКАМПА В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ

МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ НЕЙРОЦИТІВ СА1 ПОЛЯ ГІПОКАМПА В ДИНАМІЦІ ПІСЛЯ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ – В експерименті на білих лабораторних щурах проведено морфометричні дослідження нейроцитів СА1 поля гіпокампа після тяжкої термічної травми. Встановлено, що глибокі опіки викликають значне зменшення чисельної щільності нейроцитів, зростання кількості різко гіпо- та гіперхромних клітин, ступінь ураження яких залежить від терміну експерименту.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ СА1 ПОЛЯ ГИПОКАМПА В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ – В эксперименте на белых лабораторных крысах проведены морфометрические исследования нейроцитов СА1 поля гиппокампа после тяжелой термической травмы. Установлено, что глубокие ожоги вызывают значительное уменьшение численности нейронов, увеличение количества резко гипо- и гиперхромных клеток, степень поражения которых зависит от срока эксперимента.

MORPHOMETRIC CHANGES OF NEUROCYTES OF HIPPOCAMPUS FIELD CA1 IN THE DYNAMIC AFTER THERMAL TRAUMA – In the experiment on white laboratory rats morphometric study of neurocytes of hippocampus field CA1 was performed after severe thermal trauma. It was established that deep burns cause a significant decrease of the numerical density of neurocytes, increase the number of hypo- and hyperchromic cells, the degree of damage depends on the term of the experiment.

Ключові слова: гіпокамп, морфометричні зміни, термічна травма.

Ключевые слова: гиппокамп, морфометрические изменения, термическая травма.

Key words: hippocampus, morphometric changes, thermal trauma.

ВСТУП Незважаючи на значні успіхи у лікуванні опікових хворих, досягнуті за останні роки в комбустіології, проблема термічних травм продовжує залишатись однією із найбільш актуальних як теоретичної, так і практичної медицини [6, 10]. Багато дослідників основним фактором при термічних ураженнях вважає порушення регуляторних функцій нервової системи, які виникають внаслідок потоку нервово-больових імпульсів, які потрапляють в неї з вогнища ураження [3]. Нервовій системі належить велика роль у патогенезі опікової хвороби, проте характер і глибина морфологічних змін окремих її структур, зокрема гіпокампа, залишається недостатньо вивченою [2, 4, 7, 9]. У науковій літературі наявні дані про зміни кори півкуль великого мозку, спинного мозку, спинномозкових вузлів при опіках. Морфометричних даних про стан гіпокампа, який є чутливим до впливу різних чинників ендogenous та екзогенного характеру, при термічних ураженнях немає.

Метою роботи було встановити особливості гістологічних та морфометричних змін нейроцитів СА1 поля гіпокампа тварин у динаміці після термічного ураження.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди проведено на 24 білих щурах-самцях, яких поділили на 2 групи: інтактні тварини і тварини з опіковою травмою. Термічну травму наносили під кетаміновим наркозом двома мідними

пластинами площею 14,5 см² нагрітими у кип'яченій воді до температури 97–100 °С на епільовану поверхню шкіри спини тварини протягом 15 с. Площа ураження становила 18–20 % поверхні тіла тварини, а опіки були ІІІ ступеня. Піддослідних тварин декапітували на 1, 7, 14 та 21 доби експерименту, що відповідає стадіям шоку, ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби. Для гістологічних досліджень забирали шматочки тканини великого мозку з ділянкою гіпокампа, фіксували в 96° спирті й 10 % нейтральному формаліні та заливали в парафінові блоки. Отримані на санному мікромомі зрізи фарбували гематоксиліном і еозином та толудіновим синім за методом Ніссля [5].

Морфометричні дослідження здійснювали використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів. Зображення на монітор комп'ютера виводили з мікроскопа “SEO SCAN” за допомогою відеокамери “Vision CCD Camera”. Кількісні дослідження проведені за допомогою програм “ВидеоТест-5.0” та “Microsoft Excel” на персональному комп'ютері. При морфометричному дослідженні вивчали популяцію нейронів поля СА1 гіпокампа головного мозку. Визначали чисельну щільність нейроцитів, площу тіл та ядер різних типів клітин та їх ядерно-цитоплазматичне співвідношення [1, 8].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами кількісного аналізу різних типів нейроцитів у СА1 полі гіпокампа інтактної групи тварин (згідно з даними власної дисертаційної роботи) встановлено переважання в складі нейронів нормохромних клітин з помірною кількістю в нейроплазмі невеликих грудок хроматофільної речовини – 87,56 %, чисельна щільність яких становить – (3421±114) на 1 мм², гіпохромних нейроцитів становить 10,26 %, чисельна щільність яких дорівнює 354±12 на 1 мм², а гіперхромних становить – 2,18 %, чисельна щільність яких дорівнює 75,1±2,3 (табл. 1).

Середнє значення площі клітин дорівнює (86,05±3,37) мкм², а їх ядер дорівнює (40,80±1,4) мкм². Середня площа перикаріона складає (45,25±1,84) мкм², а ядерно-цитоплазматичне співвідношення нейрона становить 0,901±0,032.

На першу добу досліду чисельна щільність нейроцитів у полі гіпокампа змінюється недостовірно. Вона становить (3425±112) на 1 мм², що відповідно складає 99,27 % відносно показника тварин інтактної групи (табл. 2). Проте кількісний аналіз встановив, що збільшується відсоток гіпохромних нейроцитів до 37,26 %, разом з тим, як нормохромних знижується до 56,17 %.

Число гіперхромних нейроцитів збільшується недостовірно і становить 4,61 %. Наявні також різко гіпохромні клітини – 1,25 % та незначний відсоток різко гіперхромних – 0,70 % (табл. 2).

У цей термін досліду середнє значення площі гіпохромних нейроцитів дорівнюють (143,07±4,15) мкм², а їх ядер – (53,95±1,74) мкм². Ядерно-цитоплазм-

Таблиця 1. Чисельна характеристика та співвідношення (%) різних типів нейронів у CA1 полі гіпокампа інтактних тварин і тварин у різні терміни після термічної травми ($M \pm m$)

Термін дослідження	Тип нейрона	CA1 поле гіпокампа	
		кількість на 1 мм ²	%
Інтактні	Нормохромний	3021±114	87,56
	Гіпохромний	354±12	10,26
	Гіперхромний	75,1±2,3	2,18
1 доба	Нормохромний	1924±78	56,17
	Гіпохромний	1276±59	37,26
	Різко гіпохромний	42,8±1,7*	1,25
	Гіперхромний	158±7	4,61
	Різко гіперхромний	24,0±0,8*	0,70
7 доба	Нормохромний	925±41	28,99
	Гіпохромний	1244±47	39,00
	Різко гіпохромний	383±17	12,01
	Гіперхромний	255±8	7,99
	Різко гіперхромний	383±15	12,01
14 доба	Нормохромний	869±31	30,52
	Гіпохромний	740±30	25,99
	Різко гіпохромний	455±18	15,98
	Гіперхромний	256±7	8,99
	Різко гіперхромний	527±28	18,51
21 доба	Нормохромний	438±22	17,50
	Гіпохромний	375±17	14,98
	Різко гіпохромний	776±28	31,00
	Гіперхромний	225±9	8,99
	Різко гіперхромний	688±30	27,49

Примітка. * – середні величини ($p > 0,05$), всі інші середні значення достовірні ($p < 0,05$) порівняно з показниками тварин інтактної групи.

Таблиця 2. Чисельна щільність нейронів у CA1 полі гіпокампа інтактних тварин і тварин у різні терміни після термічної травми ($M \pm m$)

Термін дослідження	CA1 поле гіпокампа	
	кількість на 1 мм ²	% відносно норми
Інтактні	3450±107	100
1 доба	3425±112*	99,27
7 доба	3190±107	92,46
14 доба	2847±91	82,52
21 доба	2503±86	72,55

Примітка. * – середні величини ($p > 0,05$), всі інші середні значення достовірні ($p < 0,05$) порівняно з показниками тварин інтактної групи.

матичні співвідношення для таких клітин становить $0,605 \pm 0,031$ (табл. 3). Середні значення площ гіперхромних нейронів складає $(69,66 \pm 1,92)$ мкм², а їх ядер – $(29,50 \pm 0,81)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин становить $0,735 \pm 0,037$ (табл. 3).

Таким чином, середні значення площ гіпохромних нейронів зростають у 1,66 раза, а їх ядер –

в 1,32 раза відносно показників норми. Середнє значення площі гіперхромних клітин зменшується і складає 0,80 раза, а їх ядер – 0,72 раза відносно показників тварин інтактної групи.

На 7 добу дослідження чисельна щільність нейронів у CA1 полі гіпокампа достовірно змінюється і становить (3190 ± 107) на 1 мм², що відповідно складає 92,46 % відносно показника норми (табл. 2). Проте

Таблиця 3. Морфометрична характеристика нейронів у полі CA1 гіпокампа тварин в динаміці після термічної травми ($M \pm m$)

Показник	CA1 поле гіпокампа			
	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба
Площа гіпохромного нейрона, мкм ²	143,07±4,15	145,8±3,7	147,1±3,6	147,9±3,4
Площа ядра гіпохромного нейрона, мкм ²	53,95±1,74	54,86±1,24	55,38±1,37	55,26±1,27
Площа перикаріона гіпохромного нейрона, мкм ²	89,12±2,81	90,97±1,83	91,72±1,84	72,64±1,75
ЯЦС	0,605±0,031	0,603±0,027	0,603±0,027	0,761±0,025
Площа гіперхромного нейрона, мкм ²	69,66±1,92	71,59±1,91	70,69±1,87	69,37±1,74
Площа ядра гіперхромного нейрона, мкм ²	29,50±0,81	29,98±0,80	30,96±0,75	30,37±0,81
Площа перикаріона гіперхромного нейрона, мкм ²	40,16±1,14	41,61±1,07	39,73±1,12	39±1,14
ЯЦС	0,735±0,037	0,720±0,032	0,779±0,029	0,778±0,031

Примітка. ($p < 0,05$) у всіх випадках порівняно з показниками тварин інтактної групи.

кількісний аналіз встановив, що збільшується відсоток гіпохромних нейроцитів до 39,00 % по відношенню з першою добою, разом з тим, як нормохромних становить 28,99 % (табл. 1). У частині нейроцитів встановлений тотальний тигроліз із повним зникненням у нейроплазмі базofilної речовини. Такий різновид клітин належить до різко гіпохромних, їх кількість збільшується до 12,01 %. Зростає кількість гіперхромних до 7,99 % та різко гіперхромних до 12,03 % нейроцитів (табл. 1).

У цей термін встановлено, що середнє значення площі гіпохромних нейроцитів дорівнюють $(145,8 \pm 3,7)$ мкм², а їх ядер $(54,86 \pm 1,24)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин складає $0,603 \pm 0,027$ (табл. 3). Середнє значення площі гіперхромних нейроцитів дорівнює $(71,59 \pm 1,91)$ мкм², а їх ядер становлять $(29,98 \pm 0,80)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин дорівнює $0,720 \pm 0,032$. Середнє значення площі різко гіпохромних нейроцитів становить $(188,6 \pm 7,1)$ мкм², а їх ядер дорівнює $(22,22 \pm 0,76)$ мкм². Ядерно-цитоплазматичне співвідношення для таких клітин дорівнює $0,133 \pm 0,010$. Середнє значення площі різко гіперхромних нейроцитів становить $(54,60 \pm 1,37)$ мкм², а їх ядер становлять $(18,92 \pm 0,52)$ мкм². Їх ядерно-цитоплазматичне співвідношення дорівнює $0,530 \pm 0,021$ (табл. 3).

Таким чином, на 7 добу досліду виявлено, що середнє значення площі гіпохромних нейроцитів зростає відносно показників тварин інтактної групи у 1,68 раза, а їх ядер – у 1,35 раза. Середнє значення площі різко гіпохромних клітин – 2,18 раза, а їх ядер значно зменшується – 0,55 відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі гіперхромних клітин зменшуються і складає 0,82, а їх ядер – 0,72 відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі різко гіперхромних клітин зменшується ще більш виразно і складає 0,62, а їх ядер – 0,45 відносно показників тварин інтактної групи. Тому, в цей термін досліду у всіх різновидах нейроцитів наявні зміни ядерно-цитоплазматичного співвідношення.

На 14 добу досліду чисельна щільність нейроцитів гіпокампа достовірно змінюється. Вона дорівнює 2847 ± 91 на 1 мм², що відповідно складає 82,52 % відносно показників тварин інтактної групи. Проте кількісний аналіз встановив, що знижується відсоток гіпохромних нейроцитів до 25,99 %, порівняно з показниками тварин інтактної групи – 30,52 %, та значно збільшується відсоток різко гіпохромних клітин до 15,98 %. Значний тигроліз таких нейроцитів пов'язаний з набряком, вакуолізацією нейроплазми та дистрофією. Кількість гіперхромних нейроцитів становить 8,99 %, різко гіперхромних – 18,51 % (табл. 1).

У цей термін досліду встановлено, що середнє значення площі гіпохромних нейроцитів складає $(147,1 \pm 3,6)$ мкм², а їх ядер дорівнює $(55,38 \pm 1,37)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин складає $0,603 \pm 0,027$. Середнє значення площі гіперхромних нейроцитів становить $(70,69 \pm 1,87)$ мкм², а їх ядер – $(30,96 \pm 0,75)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин становить $0,779 \pm 0,029$. Середнє значення

площі різко гіпохромних нейроцитів дорівнює $(190,3 \pm 5,4)$ мкм², а їх ядер – $(22,05 \pm 1,07)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин становить $0,131 \pm 0,009$. Середнє значення площі різко гіперхромних нейроцитів складає $(52,27 \pm 1,45)$ мкм², а їх ядер – $(18,62 \pm 0,48)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин складає $0,553 \pm 0,020$ (табл. 3).

Таким чином, на 14 добу досліду виявлено, що середнє значення площі гіпохромних нейроцитів зростає в 1,70 раза, а їх ядер складає 1,37 відносно показників тварин інтактної групи. Середні значення площі різко гіпохромних клітин зростає у 2,20 раза, а їх ядер складає 0,55 відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі гіперхромних клітин зменшується в 0,81 раза, а їх ядер складає 0,75. Середнє значення площі різко гіперхромних клітин зменшується у 0,60 раза, а їх ядер складає 0,45. Тому в цей термін досліду для всіх різновидів нейроцитів гіпокампа встановлені порушення ядерно-цитоплазматичного співвідношення.

На 21 добу досліду чисельна щільність нейроцитів гіпокампа значно зменшується і становить (2503 ± 86) мм², що відповідно складає 72,55 % відносно показника норми (табл. 2). Багато нейроцитів піддається різному ступеню змін. У цей термін досліду збільшується кількість різко гіпохромних нейроцитів до 31 % та різко гіперхромних нейроцитів до 27,49 %, разом з тим, як нормохромних суттєво знижується до 17,50 %. Кількість гіпохромних клітин становить до 14,98 %, гіперхромних – до 8,99 % (табл. 1).

На 21 добу експерименту встановлено, що середнє значення площі гіпохромних нейроцитів дорівнює $(147,9 \pm 3,4)$ мкм², а їх ядер становить $(55,26 \pm 1,27)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення для гіпохромних нейроцитів становить $0,761 \pm 0,025$. Середнє значення площі гіперхромних нейроцитів дорівнює $(69,37 \pm 1,74)$ мкм², а їх ядер становить $(30,37 \pm 0,81)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення гіперхромних нейроцитів становить $(0,778 \pm 0,031)$. Середнє значення площі різко гіпохромних нейроцитів дорівнює $(186,4 \pm 4,1)$ мкм², а їх ядер складає $(21,80 \pm 0,83)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення різко гіпохромних нейроцитів становить $0,132 \pm 0,008$. Середнє значення площі різко гіперхромних нейроцитів дорівнює $(51,63 \pm 1,35)$ мкм², а їх ядер становить $(18,23 \pm 0,48)$ мкм². Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення різко гіперхромних нейроцитів дорівнює $0,553 \pm 0,020$ (табл. 3).

Таким чином, середнє значення площі гіпохромних нейроцитів зростає в 1,70 раза, а їх ядер – 1,37 раза відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі різко гіпохромних клітин зростає в 2,16 раза, а їх ядер – 0,52 відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі гіперхромних клітин зменшується в 0,80 раза, а їх ядер складає 0,75 відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі різко гіперхромних клітин зменшується в 0,59, а їх ядер – 0,45 відносно показників тварин інтактної групи.

ВИСНОВКИ 1. Термічна травма, що є значним стресорним фактором, викликає суттєві морфомет-

ричні зміни нейроцитів CA1 поля гіпокампа. Послідовність і глибина порушення їх структурної організації перебувають у прямій залежності від терміну після експериментального опіку.

2. У стадії шоку та ранньої токсемії морфометрична реорганізація нейроцитів гіпокампа характеризується переважанням пристосувально-компенсаторних над альтеративними процесами та ознаками пригнічення регенерації. Морфометрично у стадії шоку та ранньої токсемії зростає відсоток гіпохромних та гіперхромних клітин, у яких порушуються ядерно-цитоплазматичні співвідношення.

3. У віддалені терміни після термічних уражень (стадії пізньої токсемії та септикотоксемії) розвивається глибока деструкція нейроцитів гіпокампа. Значно зменшується щільність нейроцитів у 1,38 раза та збільшується кількість різко гіпо- та гіперхромних клітин, із найбільш зміненими ядерно-цитоплазматичними співвідношеннями.

Перспективи подальших досліджень у подальших дослідженнях планується встановити ступінь морфометричних змін нейроцитів CA1 поля гіпокампа при термічній травмі з використанням коригуючих чинників.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия : руководство / Автандилов Г. Г. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
2. Беличенко П. В. Морфометрическая характеристика непирамидных нейронов поля CA1 гиппокампа мозга человека / П. В. Беличенко // Морфология. – 1993. – № 1–2. – С. 33–39.
3. Волков К. С. Морфологические изменения гипоталамо-нейрогипофизарной системы при опіковій травмі і після застосування антиоксидантів та ентеросорбентів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д. біол. наук : спец. 03.00.11 "Цитологія, клітинна біологія, гістологія" / К. С. Волков. – Київ, 1995. – 48 с.
4. Саморукова И. В. Постреанимационные изменения пирамидных нейронов гиппокампа: цитохимический и морфометрический анализ : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 03.00.25 "Гистология, цитология, клеточная биология" / И. В. Саморукова. – Москва, 2003. – 23 с.
5. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. – 362 с.
6. Клименко М. О. Опікова хвороба (патогенез і лікування) / М. О. Клименко, Л. Г. Нетюхайло. – Полтава, 2009. – 118 с.
7. Структурні зміни в гіпокампі при експериментальній ішемії мозку / Г. Г. Скибо, Т. М. Коваленко, І. О. Осадченко [та ін.] // Укр. неврологічний журнал. – 2006. – № 4. – С. 38–44.
8. Гуцол А. А. Практическая морфометрия органов и тканей / А. А. Гуцол, Ю. Ю. Кондратьев. – Томск, 1986. – 206 с.
9. Отмахов Н. А. Нейрональная сеть гиппокампа : морфологический анализ / Н. А. Отмахов // Усп. физиол. наук. – 1993. – № 4. – С. 79–101.
10. Нетюхайло Л. Г. Патогенез опікової хвороби (в 2 частинах) / Л. Г. Нетюхайло, С. В. Харченко, А. Г. Костенко // Світ медицини та біології. – 2011. – № 1. – С. 127–131, 131–135.

Отримано 23.02.15