

© Литвинюк С. О.

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

Литвинюк С.О.

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України" (вул. Руська, 12, м. Тернопіль, 46001)

МОРФОМЕТРИЧНІ ЗМІНИ НЕЙРОЦИТІВ СА3 ПОЛЯ ГІПОКАМПА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРМІЧНІЙ ТРАВМІ

Резюме. В експерименті на статевозрілих білих щурах-самцях проведені морфометричні дослідження нейроцитів СА3 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.

Ключові слова: морфометричні зміни, гіпокамп, термічна травма.

Вступ

Актуальність проблеми опікової травми визначається порівняно високою частотою їх у побуті та виробництві, важкістю перебігу. Тому, встановлення патогенезу органів систем організму при термічних травмах багато років займає одне з провідних місць як в теоретичній так і практичній медицині. Відомо, що глибокі та великі за площею опіки викликають значні структурні та метаболічні порушення в системах організму, в тому числі у органах центральної нервової системи [Клименко та ін., 2009; Нетюхайло та ін., 2011]. Гіпокамп - це підкіркове утворення головного мозку, яке є однією із головних складових частин лімбічної системи, що відповідає за забезпечення життєдіяльності організму та підтримку його внутрішнього середовища і гостро реагує на патологічні чинники різного ґенезу. Дослідження динаміки змін морфометричних показників гіпокампа дають можливість більш об'єктивно оцінювати морфофункціональний стан складових частин лімбічної системи, як в нормі, так і виявити в них закономірності перебігу компенсаторних, пристосувальних та деструктивних процесів при різних патологічних станах організму [Беличенко, 1993; Скибо та ін., 2006]. Нервовій системі належить значна роль у розвитку опікової хвороби, проте характер і глибина морфологічних змін окремих її структур, зокрема гіпокампа залишається недостатньо вивченою [Отмахов, 1993; Саморукова, 2003]. В науковій літературі наявні дані про зміни кори півкуль великого мозку, спинного мозку, спинномозкових вузлів при опіках [Волков, 1995]. Проте немає даних про зміни гіпокампа, який є чутливим до впливу різних чинників, у тому числі при термічних ураженнях.

Метою роботи було встановлення особливостей динаміки гістологічних та морфометричних змін нейроцитів СА3 поля гіпокампа тварин в динаміці після термічного ураження.

Матеріали та методи

Експеримент проведено на 24 білих щурах-самцях, які були розподілені на 2 групи: інтактні тварини і тварини з опіковою травмою. Термічну травму нанесли під кетаміновим наркозом двома мідними плас-

тинами площею 14,5 см² нагрітими у кип'ячій воді до температури 97-100 °С на епільовану поверхню шкіри спини тварини протягом 15 секунд. Площа ураження становила 18-20 % поверхні тіла тварини, а опіки були III 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 і 10 % нейтрального формаліну та заливали в парафінові блоки. Отримані на санному мікромомі зрізи фарбували гематоксилін-еозином та толюїдиновим синім за методом Ніссля [Саркісов и др., 1996; Горальський та ін., 2005].

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 Exel 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 [Гуцол, 1986; Автандилов, 1990].

Результати. Обговорення

Результати кількісного аналізу різних типів нейроцитів у СА3 полі гіпокампа інтактної групи тварин встановили переважання в складі стрічки нейронів нормохромних клітин з помірною кількістю в нейроплазмі невеликих грудок хроматофільної речовини - 77,25 %, чисельна щільність яких становить 1533±57 на 1 мм². Гіпохромних нейроцитів значно менше - 17,03 %, їх чисельна щільність дорівнює 338±14 на 1 мм², гіперхромних - 5,72 %, їх чисельна щільність складає 114±5 на 1 мм² (табл. 2). Середнє значення площі нормохромних нейроцитів дорівнює 233,6±7,1 мкм², а їх ядер - 84,90±3,87 мкм². Середня площа перикаріона складає 148,7±4,1 мкм², а ядерно-цитоплазматичне співвідношення нейроцита становить 0,568±0,021.

На першу добу експерименту чисельна щільність нейронів у полі гіпокампа змінюється недостовірно. Вона становить 1957 ± 79 на 1 мм^2 , що відповідно складає 98,58 % відносно показника тварин інтактної групи (табл. 1). Проте кількісний аналіз встановив, що збільшується відсоток гіпохромних нейронів до 35,21 %, в той час як нормохромних знижується до 56,41 %.

Число гіперхромних нейронів збільшується недостовірно і становить 6,90 %. Наявні також різко гіпохромні клітини - 0,96 %, та незначний відсоток різко гіперхромних - 0,51 % (табл. 2).

В цей термін дослідження середнє значення площі гіпохромних нейронів дорівнює $341,9 \pm 12,5 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $110,4 \pm 3,31 \text{ мкм}^2$. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення для таких клітин становить $0,477 \pm 0,020$ (табл. 3). Середні значення площі гіперхромних нейронів становить $184,96 \pm 5,16 \text{ мкм}^2$, а їх ядер $64,29 \pm 1,64 \text{ мкм}^2$. Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин дорівнює $0,533 \pm 0,024$ (табл. 3).

Таким чином, середнє значення площі гіпохромних нейронів зростає в 1,46 раза, а їх ядер в 1,30 раза відносно показників норми. Середнє значення площі гіперхромних клітин зменшується і складає 0,78 раза, а їх ядер 0,76 раза відносно показників тварин інтактної групи.

На 7 добу дослідження чисельна щільність нейронів у СА3 полі гіпокампа змінюється недостовірно і становить 1906 ± 81 на 1 мм^2 , що відповідно складає 96,02 % відносно показника норми (табл. 1). Проте кількісний аналіз встановив, що збільшується відсоток гіпохромних нейронів до 32,48 %, в той час як нормохромних становить 34,52 % (табл. 2). У частині нейронів спостерігається тотальний тигроліз з повним зникненням у нейроплазмі грудок базофільної речовини. Такий різновид клітин відноситься до різко гіпохромних, їх кількість збільшується до 8,97 %. Зростає кількість гіперхромних до 14,01 % та різко гіперхромних до 10,02 % нейронів (табл. 2).

В цей термін встановлено, що середнє значення площі гіпохромних нейронів дорівнює $344,5 \pm 9,2 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $111,7 \pm 2,6 \text{ мкм}^2$. Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин складає $0,479 \pm 0,019$ (табл. 3). Середнє значення площі гіперхромних нейронів дорівнює $186,9 \pm 4,6 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $65,86 \pm 1,57 \text{ мкм}^2$. Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин складає $0,544 \pm 0,023$. Середнє значення площі різко гіпохромних нейронів становить $453,3 \pm 7,4 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $47,03 \pm 1,09 \text{ мкм}^2$. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення для таких клітин дорівнює $0,116 \pm 0,006$. Середнє значення площі різко гіперхромних нейронів становить $139,7 \pm 3,5 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $32,25 \pm 0,80 \text{ мкм}^2$. Їх ядерно-цитоплазматичне співвідношення дорівнює $0,300 \pm 0,019$ (табл. 3).

Таким чином, на 7 добу дослідження виявлено, що середнє значення площі гіпохромних нейронів зрос-

Таблиця 1. Чисельна щільність нейронів у СА3 полі гіпокампа інтактних тварин і тварин в різні терміни після термічної травми ($m \pm m$).

Термін дослідження	СА3 поле гіпокампа	
	Кількість на 1 мм^2	% по відношенню до норми
інтактні	1985 ± 81	100
1 доба	$1957 \pm 79^*$	98,58
7 доба	$1906 \pm 81^*$	96,02
14 доба	1807 ± 64	91,03
21 доба	1667 ± 59	83,97

Примітка: * - середні величини у яких ($p > 0,05$), всі інші середні значення достовірні ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками тварин інтактної групи.

Таблиця 2. Чисельна характеристика та співвідношення (%) різних типів нейронів у СА3 полі гіпокампа інтактних тварин і тварин у різні терміни після термічної травми ($m \pm m$).

Термін дослідження	Тип нейрона	СА3 поле гіпокампа	
		кількість на 1 мм^2	%
інтактні	Нормохромний	1533 ± 57	77,25
	Гіпохромний	338 ± 14	17,03
	Гіперхромний	114 ± 5	5,72
1 доба	Нормохромний	1104 ± 42	56,41
	Гіпохромний	689 ± 23	35,21
	Різко гіпохромний	$18,9 \pm 0,7^*$	0,96
	Гіперхромний	135 ± 6	6,90
7 доба	Різко гіперхромний	$10,2 \pm 0,6^*$	0,51
	Нормохромний	658 ± 27	34,52
	Гіпохромний	619 ± 21	32,48
	Різко гіпохромний	171 ± 6	8,97
14 доба	Гіперхромний	267 ± 11	14,01
	Різко гіперхромні	191 ± 7	10,02
	Нормохромний	876 ± 37	48,48
	Гіпохромний	379 ± 14	20,97
21 доба	Різко гіпохромний	163 ± 8	9,02
	Гіперхромний	126 ± 5	6,97
	Різко гіперхромний	262 ± 10	14,50
	Нормохромний	450 ± 26	26,99
7 доба	Гіпохромний	217 ± 9	13,02
	Різко гіпохромний	450 ± 18	26,99
	Гіперхромний	133 ± 6	7,98
	Різко гіперхромний	417 ± 15	25,01

Примітка: * - середні величини у яких ($p > 0,05$), всі інші середні значення достовірні ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками тварин інтактної групи.

тає відносно показників тварин інтактної групи у 1,47 раза, а їх ядер у 1,32 раза. Середнє значення площі різко гіпохромних клітин у 1,94 раза, а їх ядер значно зменшується 0,56 відносно показників тварин інтакт-

Таблиця 3. Морфометрична характеристика нейрокитів у полі СА3 гіпокампа тварин у динаміці після термічної травми ($m \pm m$).

Показник	СА3 поле гіпокампа			
	1 доба	7 доба	14 доба	21 доба
Площа гіпохромного нейрокита, мкм ²	341,9±12,5	344,5±9,2	346,5±7,4	342,2±8,1
Площа ядра гіпохромного нейрокита, мкм ²	110,4±3,31	111,7±2,6	111,9±2,51	110,6±2,4
Площа перикаріона гіпохромного нейрокита, мкм ²	231,5±7,2	232,8±5,7	234,6±5,9	231,6±5,1
ЯЦС	0,477±0,020	0,479±0,019	0,476±0,019	0,477±0,018
Площа гіперхромного нейрокита, мкм ²	184,96±5,16	186,9±4,6	184,7±5,03	180,2±4,4
Площа ядра гіперхромного нейрокита, мкм ²	64,29±1,64	65,86±1,57	66,29±1,74	64,58±1,80
Площа перикаріона гіперхромного нейрокита, мкм ²	120,67±3,02	121,04±4,12	118,4±4,3	115,6±4,2
ЯЦС	0,533±0,024	0,544±0,023	0,559±0,020	0,558±0,019

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

ної групи. Середнє значення площі гіперхромних клітин зменшується і складає 0,79, а їх ядер - 0,77 відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі різко гіперхромних клітин зменшується ще більш виразно і складає 0,59, а їх ядер - 0,38 відносно показників тварин інтактної групи. Тому, в цей термін досліду у всіх різновидах нейрокитів наявні зміни ядерно-цитоплазматичного співвідношення.

На 14 добу досліду чисельна щільність нейрокитів гіпокампа достовірно змінюється. Вона дорівнює 1807 ± 64 на 1 мм^2 , що відповідно складає 91,03 % відносно показників тварин інтактної групи (табл. 1). Кількісний аналіз встановив, що знижується відсоток гіпохромних нейрокитів до 20,97 % та значно збільшується відсоток різко гіпохромних клітин до 9,02 %. Значний тигроліз таких нейрокитів супроводжується набряком, вакуолізацією нейроплазми. Кількість гіперхромних нейрокитів становить 6,97 %, різко гіперхромних - 14,50 % (табл. 2).

В цей термін досліду встановлено, що середнє значення площі гіпохромних нейрокитів становить $346,5 \pm 7,4 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $111,9 \pm 2,51 \text{ мкм}^2$. Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких клітин складає $0,476 \pm 0,019$. Середнє значення площі гіперхромних нейрокитів становить $184,7 \pm 5,03 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $66,29 \pm 1,74 \text{ мкм}^2$. Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношень таких клітин становить $0,559 \pm 0,020$. Середнє значення площі різко гіпохромних нейрокитів становить $455,2 \pm 8,6 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $46,54 \pm 1,60 \text{ мкм}^2$. Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношень таких клітин становить $0,114 \pm 0,005$. Середнє значення площі різко гіперхромних нейрокитів становить $141,3 \pm 4,0 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $31,75 \pm 0,79 \text{ мкм}^2$. Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношень таких клітин складає $0,289 \pm 0,017$ (табл. 3).

Таким чином, на 14 добу досліду виявлено, що середнє значення площі гіпохромних нейрокитів зростає в 1,48 раза, а їх ядер складає 1,32 відносно показників тварин інтактної групи. Середні значення площі різко гіпохромних клітин зростає в 1,95 раза, а їх ядер

складає 0,54 відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі гіперхромних клітин зменшується в 0,78 раза, а їх ядер складає 0,78. Середнє значення площі різко гіперхромних клітин зменшується в 0,60 раза, а їх ядер - 0,36. Таким чином, в цей термін досліду для всіх різновидів нейрокитів гіпокампа встановлені порушення ядерно-цитоплазматичного співвідношення.

На 21 добу досліду чисельна щільність нейрокитів гіпокампа значно зменшується і становить 1667 ± 59 на 1 мм^2 , що відповідно складає 83,97 % відносно показника норми (табл. 1). Багато нейрокитів піддаються різному ступеню змін. В цей термін досліду збільшується кількість різко гіпохромних нейрокитів до 26,99 % та різко гіперхромних нейрокитів до 25,01 %, в той час як нормохромних суттєво знижується до 26,99 %. Кількість гіпохромних клітин становить 13,02 %, гіперхромних - 7,98 % (табл. 2).

На 21 добу експерименту встановлено, що середнє значення площі гіпохромних нейрокитів дорівнює $342,2 \pm 8,1 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $110,6 \pm 2,4 \text{ мкм}^2$. Показник їх ядерно-цитоплазматичного співвідношення становить $0,477 \pm 0,018$. Середнє значення площі гіперхромних нейрокитів дорівнює $180,2 \pm 4,4 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $64,58 \pm 1,80 \text{ мкм}^2$. Показник ядерно-цитоплазматичного співвідношення таких нейрокитів становить $0,558 \pm 0,019$. Середнє значення площі різко гіпохромних нейрокитів дорівнює $455,9 \pm 7,9 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $46,54 \pm 1,60 \text{ мкм}^2$. Показник їх ядерно-цитоплазматичного співвідношення становить $0,113 \pm 0,006$. Середнє значення площі різко гіперхромних нейрокитів дорівнює $138,4 \pm 3,7 \text{ мкм}^2$, а їх ядер - $31,06 \pm 0,80 \text{ мкм}^2$. Показник їх ядерно-цитоплазматичного співвідношення дорівнює $0,289 \pm 0,016$ (табл. 3).

Таким чином, середнє значення площі гіпохромних нейрокитів зростає в 1,46 раза, а їх ядер у 1,30 раза відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі різко гіпохромних клітин зростає в 1,95 раза, а їх ядер складає 0,54 відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі

гіперхромних клітин зменшується в 0,77 раза, а їх ядер у 0,76 відносно показників тварин інтактної групи. Середнє значення площі різко гіперхромних клітин зменшується в 0,59, а їх ядер у 0,36 відносно показників тварин інтактної групи.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Проведені морфометричні дослідження тварин з важкою термічною травмою встановили, що глибокі та великі за площею опіки шкіри викликають суттєві гістологічні та морфометричні зміни нейроцитів СА3 поля гіпокампа, ступінь пошкодження яких знаходиться в прямій залежності від стадії опікової хвороби.

2. У стадії шоку та ранньої токсемії (1-7 доби досл-

іду) морфометрична реорганізація нейроцитів гіпокампа характеризується пристосувально-компенсаторними змінами та ознаками пригнічення регенерації. Морфометрично у стадії шоку та ранньої токсемії зростає відсоток гіпохромних та гіперхромних клітин, в яких порушуються ядерно-цитоплазматичні співвідношення.

3. У стадії пізньої токсемії та септикотоксемії (14-21 доби досліду) розвивається глибока деструкція нейроцитів гіпокампа. Значно зменшується щільність нейроцитів у 1,19 раза та збільшується кількість різко гіпо- та гіперхромних клітин, із найбільш зміненими ядерно-цитоплазматичними співвідношеннями.

У подальших дослідженнях планується встановити ступінь морфометричних змін нейроцитів СА3 поля гіпокампа при термічній травмі з використанням коригуючих чинників.

Список літератури

- Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: руководство / Автандилов Г. Г. - М. : Медицина, 1990. - 384 с.
- Беличенко П. В. Морфометрическая характеристика непирамидных нейронов поля СА1 гиппокампа мозга человека / П. В. Беличенко // Морфология. - 1993. - № 1-2. - С. 33-39.
- Волков К. С. Морфологічні зміни гіпоталамо-нейрогіпофізарної системи при опіковій травмі і після застосування антиоксидантів та ентеросорбентів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. біол. наук : спец. 03.00.11 "Цитологія, клітинна біологія, гістологія" / К. С. Волков. - Київ, 1995. - 48 с.
- Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи дослідження у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський - Житомир : Полісся, 2005. - 284 с.
- Гуцол А. А. Практическая морфометрия органов и тканей / А. А. Гуцол, Ю. Ю. Кондратьев. - Томск, 1986. - 206 с.
- Клименко М. О. Опікова хвороба (патогенез і лікування) / М. О. Клименко, Л. Г. Нетюхайло. - Полтава, 2009. - 118 с.
- Отмахов Н. А. Нейрональная сеть гиппокампа : морфологический анализ / Н. А. Отмахов // Усп. физиол. наук. - 1993. - № 4. - С. 79-101.
- 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.
- 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 "Гістологія, цитологія, клітинна біологія" / И. В. Саморукова. - М., 2003. - 23 с.
- Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова. - М. : Медицина, 1996. - 362 с.
- 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.

Литвинюк С.А.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ СА3 ПОЛЯ ГИППОКАМПА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

Резюме. В эксперименте на белых половозрелых крысах-самцах проведены морфометрические исследования нейроцитов СА3 поля гиппокампа после тяжелой термической травмы. Установлено, что глубокие ожоги вызывают значительное уменьшение численной плотности нейронов, увеличение количества резко гипо- и гиперхромных клеток, степень поражения которых зависит от срока эксперимента.

Ключевые слова: морфометрические изменения, гиппокамп, термическая травма.

Lytvyniuk S.O.

MORPHOMETRIC CHANGES OF NEURONS OF HIPPOCAMPUS FIELD CA3 IN EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA

Summary. In the experiment on mature white male rats morphometric study of neurocytes of hippocampal field CA3 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.

Key words: morphometric changes, hippocampus, thermal trauma.

Стаття надійшла до редакції 27.11.2014

Литвинюк Світлана Олександрівна - асистент кафедри гістології Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачовського; 0+38 968254798.