

ГІСТОЛОГІЧНИЙ СТАН ГІПОКАМПА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРМІЧНІЙ ТРАВМІ ТА ЗАСТОСУВАННІ ЛІОФІЛІЗОВАНОЇ КСЕНОШКІРИ

ГІСТОЛОГІЧНИЙ СТАН ГІПОКАМПА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТЕРМІЧНІЙ ТРАВМІ ТА ЗАСТОСУВАННІ ЛІОФІЛІЗОВАНОЇ КСЕНОШКІРИ – В експерименті на білих щурах досліджено мікроскопічні та електронно-мікроскопічні зміни гіпокампа після тяжкої термічної травми в умовах проведення ранньої некректомії та закриття рани ліофілізованою ксеношкірою. Встановлено позитивний вплив застосування ксенодермотрансплантатів на гістологічний стан структурних компонентів гіпокампа в динаміці експерименту.

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ГИППОКАМПА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ И ПРИМЕНЕНИИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ КСЕНОКОЖИ – В эксперименте на белых крысах исследованы микроскопические и электронно-микроскопические изменения гиппокампа после тяжелой термической травмы в условиях проведения ранней некректомии и закрытия раны лиофилизированной ксенокожей. Установлено положительное влияние применения ксенодермотрансплантатов на гистологическое состояние структурных компонентов гиппокампа в динамике эксперимента.

HISTOLOGICAL CONDITION OF HIPPOCAMPUS AT EXPERIMENTAL THERMAL TRAUMA AND APPLICATION OF LYOPHILIZED XENOGRAFTS – In the experiment on white rats microscopic and electronmicroscopic changes of hippocampal were researched in severe thermal trauma after early necrectomy and lyophilized xenografts usage. It was determined a positive effect of applying xenodermografts on histological condition of structural components of hippocamp in dynamics of experiment.

Ключові слова: гіпокамп, гістологічні зміни, термічна травма, ліофілізована ксеношкіра.

Ключевые слова: гиппокамп, гистологические изменения, термическая травма, лиофилизированная ксенокожа.

Key words: hippocampus, histological changes, thermal trauma, lyophilized xenografts.

ВСТУП Проблема опікової травми протягом багатьох років займає одне з провідних місць у теоретичній і практичній медицині. Її актуальність полягає в складності патологічних змін, тривалості перебігу та лікуванні опікової хвороби, високим ступенем інвалідності й летальності [5, 8, 10–12]. Глибокі опіки, поряд з втратою шкіри, викликають значні структурно-метаболічні порушення всіх органів та систем опеченого організму, в тому числі центральної нервової системи [2, 6, 11]. В патогенезі деструктивних змін ключову роль відіграє екзо- й ендогенна інтоксикація організму, джерелом якої є опікова рана. Тому її лікування із застосуванням нових методів є актуальним завданням практичної медицини. Одним із ефективних чинників для закриття опікової рани є ліофілізована ксеношкіра. Накладання її на очищену від змертвілих тканин рану попереджує прогресуючу інтоксикацію з вогнища ураження і розвиток інфекції в ранах, зменшує можливість подальшого розвитку опікової хвороби і сприяє відновленню шкірного покриву в коротший термін, що, у свою чергу, позитивно впливає на морфофункціональний стан органів опеченого організму [1, 3, 4, 7]. Незважаючи на велике значення ЦНС при різних впливах на організм факторів стресорного ґенезу, недостатньо вивченими залишаються особливості мікроскопічних змін окремих її

структур, зокрема гіпокампа [13, 14]. Тому важливим є встановлення гістологічного стану структур гіпокампа в динаміці перебігу опікової хвороби та застосуванні ліофілізованої ксеношкіри.

Метою роботи стало встановлення закономірностей мікроскопічних та електронно-мікроскопічних змін структур полів гіпокампа після тяжкої термічної травми при застосуванні ліофілізованої ксеношкіри.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Досліди проведено на 48 статевозрілих білих щурах-самцях, яких поділили на 3 групи: перша – інтактні тварини (6 особин), друга – тварини з опіковою травмою (24 особини), третя – тварини з опіковою травмою, яким було проведено ранню некректомію з подальшим закриттям ран ліофілізованою ксеношкірою (18 особин). Термічну травму наносили під кетаміновим наркозом мідними пластинами, нагрітими у кип'яченій воді. Площа ураження становила 18–20 % від поверхні тіла тварини, а опіки були IIIA-IIIВ ступенів. Ранню некректомію пошкоджених ділянок шкіри проводили через 1 добу після нанесення термічного опіку. Рани, які утворились, накривали ліофілізованою ксеношкірою. Піддослідних тварин другої та третьої експериментальних груп декапітували на 7; 14 та 21 доби експерименту (відповідно до стадій ранньої і пізньої токсемії та септикотоксемії опікової хвороби). Для гістологічного дослідження забирали шматочки тканини великого мозку з ділянкою гіпокампа, фіксували в 96° спирті й 10 % нейтральному формаліні та заливали в парафінові блоки. Отримані на санному мікротомі зрізи фарбували гематоксиліном та еозином і толуїдиновим синім за методом Ніссля. Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа “SEO SCAN” та фотодокументували за допомогою відеокамери “Vision CCD Camera”. Для електронно-мікроскопічного дослідження маленькі шматочки гіпокампа фіксували в 2,5 % розчині глутаральдегіду, постфіксували в 1 % розчині тетраоксису осмію на фосфатному буфері рН 7,2–7,4, зневоднювали в спиртах і ацетоні та заливали в суміш аралдиту з епоксидними смолами [9]. Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікротомі LKB-3, контрастували ураніацетатом та цитратом свинцю за методом Рейнольдса і вивчали на електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Проведені мікроскопічні дослідження гіпокампа встановили, що на 7-му добу після проведення ранньої некректомії та закриття рани ліофілізованою ксеношкірою в полях CA1 і CA3 спостерігають зміни, подібні другій експериментальній групі тварин. Наявне повнокров'я кровоносних капілярів, проте помірний периваскулярний набряк був не таким значним. Нейроцити полів гіпокампа знаходяться в стадії периферійного або сегментарного тигролізу, відмічають збільшення площі ядер гіпохромних клітин, у частині з них містяться великі ядерця.

Субмікроскопічно в цей термін дослідження при застосуванні ліофілізованої ксеношкіри зміни органел

нейроплазми помітно менші. Явище хроматолізу в нейроцитах, особливо поля СА3, не таке значне, воно на ультраструктурному рівні підтверджується кращою збереженістю каналців гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС), їх потовщення та зменшення кількості рибосом і полісом не такі виразні. В гіпертрофованих мітохондріях у просвітленому матриксі кристи частково збережені. Диктіосоми комплексу Гольджі (КГ) гіпертрофовані, цистерни розширені, близько них багато вакуолей. Первинні й вторинні лізосоми спостерігають у різних ділянках нейроплазми. У частині "світлик" нейроцитів наявні крупні еухроматинові ядра, а каріолема з чіткими контурами мембран і ядерними порами. Каріоплазма включає крупні ядерця, в яких добре виражені гранулярний і фібрилярний компоненти.

У "темних" нейроцитах (аналог гіперхромних світлової мікроскопії) ядра мають інвагінації каріолеми, іноді глибокі, наявні локально збільшені перинуклеарні простори. Ядерця у більшості ядер компактні, осміофільні. Канальця ГЕС нерівномірно потовщені, між ними спостерігають скупчення полісом. Відмічають гетерогенність стану мітохондрій. Окремі гіпертрофовані з локально просвітленим матриксом та пошкодженими кристами, інші невеликі з осміофільним матриксом і нечисельними кристами. Наявні первинні й вторинні лізосоми.

Таким чином, проведення ранньої некректомії з подальшим закриттям рани ліофілізованою ксеношкірою вже на 7-му добу дослідження краще зберігає структурні компоненти полів гіпокампа та активізує регенераторні процеси.

Проведені гістологічні дослідження на 14-ту добу експерименту показали, що при використанні ліофілізованої ксеношкіри виявлялась краща збереженість структурних компонентів полів гіпокампа порівняно з тваринами без корекції. Мікроскопічно та субмікроскопічно встановлено значно менший ступінь пошкодження кровоносних капілярів. Периваскулярний набряк був помірним, структура ендотеліоцитів та базальної мембрани значно менше змінена. Так, ядра багатьох ендотеліоцитів мали подовгасту форму, інвагінації каріолеми, в каріоплазмі переважав еухроматин. У цитоплазмі наявні мітохондрії з частково пошкодженими кристами та локально просвітленим матриксом. Канальців ГЕС мало, вони короткі, розширені, проте на їх мембранах багато рибосом, є вільні рибосоми та полісоми, виявляються піноцитозні пухирці та кавеоли. Люменальна поверхня плазмолемі нерівна, має цитоплазматичні вирости та різної величини мікрворсинки. Базальна мембрана місцями потовщена, але чітко контурована.

Краща збереженість гематоенцефалічного бар'єра та активація транскapілярного обміну відображається на стані нервових клітин гіпокампа. В складі його полів різко гіпохромних нейроцитів з тотальним тигролізом в 2,4 раза (поле СА1) і 1,7 раза (поле СА3), а пікноморфних, зморщених клітин відповідно в 3,4 раза (поле СА1) і 3,5 раза (поле СА3) менше, ніж у другій контрольній групі тварин. Переважають гіперхромні та гіпохромні нейроцити (рис. 1).

Субмікроскопічно в нейроплазмі помірно "темних" нейроцитів, особливо поля СА3, спостерігають скупчення нерівномірно розширених каналців ГЕС. Рибосом на поверхні їх мембран багато і вони розміщуються відносно рівномірно. Для мітохондрій характерні гетерогенні зміни. Частина органел гіпертрофована, з просвітленим

матриком та частково пошкодженими кристами. Наявна гіперплазія мітохондрій, вони невеликі, мають подовгасту або круглу форму залежно від площі перерізу, в їх матриксі крист небагато, але вони чітко контуровані. Гіпертрофований КГ розташовується переважно перинуклеарно, включає розширення цистерн і переважно вакуолей. У складі його диктіосом дрібних пухирців мало. Первинні лізосоми локалізовані переважно близько КГ, а вторинні розміщені в нейроплазмі нерівномірно.

У "світлик" нейроцитах, як і на 7-му добу дослідження субмікроскопічно відмічають круглі з електронно-світлою каріоплазмою еухроматинові ядра. Мембрани каріолеми чітко контуровані, перинуклеарний простір на окремих ділянках потовщений, ядерні пори добре структуровані. У каріоплазмі спостерігають крупні ядерця з добре вираженими гранулярним і фібрилярним компонентами, та багато гранул рибосомального типу.

У нейроплазмі таких нейроцитів краще, ніж у попередній термін, структуровані органели. Локально розширені каналця і цистерни цих органел чітко контуровані, у нейроплазмі клітин поля СА3 багато полісом, менші пошкодження крист у мітохондріях (рис. 2).

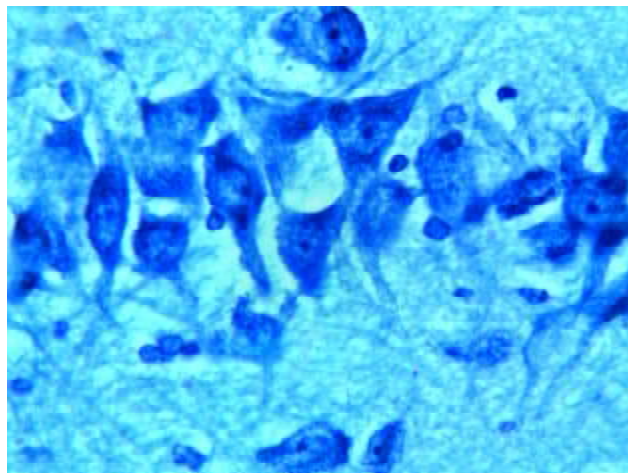


Рис. 1. Мікроскопічний стан поля СА3 гіпокампа опечених тварин в умовах застосування ліофілізованої ксеношкіри на 14 добу дослідження. Забарвлення толуїдиновим синім за методом Ніслєя. x 400.

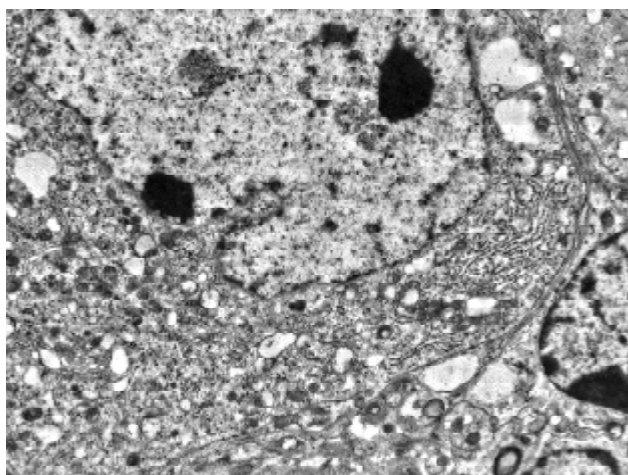


Рис. 2. Ультраструктура нейроцита поля СА3 гіпокампа при експериментальній термічній травмі при застосуванні ліофілізованої ксеношкіри на 14 добу дослідження. x 19000.

Отже, проведення ранньої некректомії та закриття уражених ділянок шкіри ліофілізованими ксенодермотрансплантатами вже на 14-ту добу позитивно впливає на морфофункціональний стан структур гіпокампа, зменшується ступінь ураження гемокапілярів та нейрокитів, активізує регенераторні процеси в них.

Гістологічні дослідження полів гіпокампа на 21-шу добу експерименту показали, що застосування ксеношкіри для закриття опікових ран помітно нормалізує їх структурні компоненти. Мікроскопічно у полях CA1 і CA3 багато нормохромних нейрокитів, у 8,3 раза (поле CA1) та в 12,5 раза (поле CA3) відповідно менше різко гіпохромних клітин, у 5,5 раза (поле CA1) та в 7,7 раза (поле CA3) відповідно менше різко гіперхромних клітин. Периваскулярні простори незначні.

У гіпокампі визначають багато функціонально активних гемокапілярів. Ендотелій помірно розширених та із звичайними просвітами судин має мікрворсинки, цитоплазматичні випинання та інвагінації люменальної поверхні, а в цитоплазмі клітин значна кількість піноцитозних пухирців. Спостерігають добре виражені каналця ГЕС, багато полісом і невеликі з чіткими кристами мітохондрії. Частина ендотеліоцитів містить збільшені, подовгасті ядра з інвагінаціями каріолеми. Периваскулярні простори помірні, а базальні мембрани рівномірні та чітко контуровані.

Такий стан кровоносних капілярів свідчить про активний трансапілярний обмін і відображає хорошу трофіку нейрокитів у цей період досліджу.

Субмікроскопічно в багатьох нейрокитах відзначають високу активність ядерного апарату. Круглі, електронно-світлі ядра містять гіпертрофовані ядерця. В каріоплазмі переважає еухроматин, грудочки гетерохроматину нечисленні, є також багато рибосомальних гранул, часто локалізованих близько каріолеми. Перинуклеарний простір на окремих ділянках розширений, в ядерній оболонці багато ядерних пор. Ультраструктурна організація органел свідчить про їх хорошу збереженість. На зовнішніх мембранах помірної товщини каналців ГЕС міститься багато рибосом. Близько таких ділянок у нейроплазмі виявляють численні вільні рибосоми і полісоми. ГЕС, полісоми і КГ займають більший об'єм у нейрокитах поля CA3 гіпокампа. Крім звичайної структури мітохондрій, наявна гіперплазія цих органел. Вони невеликі за розмірами, мають подовгасту або округлу форму, в їх мітохондріальному матриксі чітко контуровані нечисельні кристи. Первинних і особливо вторинних лізосом небагато.

Для помірно "темних" нейрокитів, що виявляють в полях гіпокампа у цей термін досліджу, субмікроскопічно характерним є підвищена осміофілія каріо- і цитоплазми. Каріолема ядер має інвагінації, у каріоплазмі багато рибосомальних гранул та щільні ядерця. У нейроплазмі добре розвинені каналця ГЕС, особливо у клітинах поля CA1, вони нерівномірно потовщені, між ними наявні скупчення полісом. У гіпертрофованих мітохондріях в помірно осміофільному матриксі чіткі кристи.

Таким чином, при використанні ксеношкіри після термічної травми на 21-шу добу досліджу відбувається нормалізація структурних компонентів полів гіпокампа.

Отже, проведення ранньої некректомії та закриття уражених ділянок шкіри ліофілізованими ксенодермотрансплантатами запобігає глибокому пошкодженню

структурних компонентів полів гіпокампа, сприяє активному перебігу регенераторних процесів та відносній нормалізації нейрокитів і кровоносних капілярів до кінця досліджу.

ВИСНОВКИ Застосування ліофілізованої ксеношкіри після проведення ранньої некректомії опечених ділянок шкіри в ранні терміни після травми попереджує глибокі зміни структурних компонентів полів CA1 і CA3 гіпокампа. Крайший стан кровоносних капілярів забезпечує трофіку нейрокитів, сприяє перебігу їх регенерації. Позитивний результат використання ліофілізованої ксеношкіри найвиразніший у пізній термін після опіку. Гістологічно він характеризується відносною нормалізацією структури гемокапілярів та нейрокитів у полях гіпокампа.

Перспективи подальших досліджень Отримані нові наукові дані можна використовувати для проведення подальших досліджень впливу корегуючих чинників на центральну нервову систему при тяжкій термічній травмі.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Структурний стан деяких органів при термічній травмі в умовах ранньої некректомії та застосування ксеношкіри / О. П. Андрішин, К. С. Волков, О. Я Чорнописький [та ін.]: наук.-практ. конф. "Від фундаментальних досліджень – до прогресу в медицині". – 2005. – С. 12.
2. Волков К. С. Гістологічні зміни великого і спинного мозку при термічній травмі та застосуванні ліофілізованої ксеношкіри / К. С. Волков, А. В. Довбуш, В. М. Карпенюк // Морфологія. – 2008. – Т. II, № 1. – С. 41–44.
3. Бігуняк В.В. Використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів для відновлення втраченого шкірного покриву / В.В. Бігуняк, І.Й. Галайчук, В.С. Савчин, Н.В. Гуда // Трансплантологія. – 2003. – Т. 4, № 1. – С. 127–130.
4. Термічні ураження / В. В. Бігуняк, М. Ю. Повстяний. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2004. – 196 с.
5. Клименко М. О. Опікова хвороба (патогенез і лікування) / М. О. Клименко, Л. Г. Нетюхайло. – Полтава, 2009. – 118 с.
6. Ожоговая интоксикация. Патогенез, клиника, принципы лечения / Г. П. Козинец, С. В. Слесаренко, А. П. Радзиховский та ін. – К. : Феникс, 2004. – 272 с.
7. Нагайчук В. І. Сучасні підходи до надання допомоги хворим з опіками / В. І. Нагайчук // Мистецтво лікування. – 2010. – № 5. – С. 24–27.
8. Повстяной Н. Е. Состояние помощи больным с термическими повреждениями и их последствиями в Украине / Н. Е. Повстяной : матеріали XX з'їзду хірургів України. – 2002. – С. 534–536.
9. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова. – М. : Медицина, 1996. – 362 с.
10. Слесаренко С. В. Ожоговая травма : рекомендации для практических врачей / С. В. Слесаренко, Г. П. Козинец, Е. Н. Клигуненко и др. – Днепропетровск, 2002. – 64 с.
11. Патологическая анатомия и патогенез ожоговой болезни / А.И. Щеголев, А. А. Алексеев, Е. М. Чеботкова, Т. С. Устинова : материалы международной конференции "Актуальные проблемы термической травмы". – 2002. – С. 231–232.
12. Purma S. Traditional medicine and practices in burn care: need for newer scientific perspectives / S. Purma, V. Babu // Burns. – 1998. – № 5. – P. 387–388.
13. Daumas S. Encoding, consolidation and retrieval of contextual memory: differential involvement of dorsal CA3 and CA1 hippocampal subregions / S. Daumas, H. Hatley, B. Frances // Learn Mem. – 2005. – Vol. 12. – P. 375–382.
14. Joeles M. Effect of chronic stress on structure and cell function in rat hippocampus and hypothalamus / M. Joeles // Stress. – 2004. – Vol. 7, № 4. – P. 221–231.

Отримано 22.03.12