

УДК 612.826.33:612.017.2

Р.Є. Булик

СВІТЛООПТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НЕЙРОНІВ ГІПОКАМПА ЩУРІВ ПРИ ЕПІФІЗАРНІЙ ДИСФУНКЦІЇ

Буковинський державний медичний університет (м. Чернівці)

Вступ. Характерною загальною властивістю біологічних систем є ритмічність усіх процесів життєдіяльності [9]. Серед широкого кола періодичних коливань найбільш вивченими є білядобові (циркадіанні) ритми [3]. Водночас організація циркадіанних ритмів біологічних систем залежить від взаємодії центральних ланок керування коливальними процесами в організмі і мозкових структур посередників у вигляді т.з. функціональних хронобіологічних блоків [1]. Один з подібних блоків формується внаслідок відносин між гіпокампом та шишкоподібною залозою (епіфізом мозку) [11]. Секреторними клітинами залози – пінеалоцитами синтезується основний нейрогормон мелатонін [10]. Визначальним ефектом гормону є хроноритморегуляторний [12]. Фізіологічний контроль функції шишкоподібною залозою ссавців здійснюється значною мірою світловим режимом [2]. На світлі продукція мелатоніну залозою пригнічується, а постійна темрява стимулює секрецію епіфізарного гормону, і таким чином спричинює зміни діяльності циркадіанного пейсмейкера [1]. Впродовж останніх років активно вивчається структурно-функціональний стан гіпокампа при експериментальній патології [4-8], однак відомості про морфологічний стан нейронів гіпокампа за різної функціональної активності шишкоподібною залозою у різні періоди доби носить фрагментарний характер і не висвітлюють цілісного уявлення.

Метою роботи було дослідження структурної організації нейронів гіпокампа щурів при епіфізарній гіпер- та гіпофункції в різні добові проміжки.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проведені на 36 статевозрілих самцях безпородних білих щурів масою 0,15-0,18 кг. Тварин утримували в твариннику при сталій температурі, вологості повітря та вільному доступі до води і їжі. Об'єктом дослідження в експериментальних тварин обрано гіпокамп.

Експериментальні тварини поділені на три серії. Тварини першої серії перебували 7 діб за умов стандартного світлового режиму – LD (світло з 08.00 до 20.00 год). Щури другої серії знаходилися за світлової депривації (DD – моделювання гіперфунк-

ції шишкоподібною залозою, освітленість у приміщенні становила 0-0,5 лк) протягом 7-ми діб. Щури третьої серії перебували за умов постійного освітлення – освітленість люмінесцентними лампами на рівні кліток 500 лк (LL – моделювання гіпофункції шишкоподібною залозою) впродовж 7-ми діб.

З метою виявлення морфологічних відмінностей нейронів гіпокампа щурів та враховуючи циклічність продукції мелатоніну етаназію тварин виконували з 12-годинним інтервалом (о 02.00 год, коли функціональна активність шишкоподібною залозою максимальна та о 14.00 год, коли спостерігається її гіпофункція) шляхом одномоментної декапітації на 8-му добу під етаміналовим наркозом (40,0 мг/кг внутрішньоочеревинно). Всі етапи експерименту проведено з дотриманням основних вимог Гельсінської декларації про гуманне ставлення до тварин.

Виділений гіпокамп фіксували у 10% розчині нейтрального забуференого формаліну впродовж 48-ми годин, після чого виконували зневоднювання у спиртах та парафінову заливку. Парафінові зрізи 5 мкм завтовшки фарбували гематоксиліном і еозином. Дослідження в інтактних тварин у нічний період доби та в щурів другої серії проводили при слабкому (2 лк) червоному світлі, яке практично не впливає на біосинтез мелатоніну шишкоподібною залозою [2].

Результати досліджень та їх обговорення. Гістологічні дослідження гіпокампа тварин, що перебували в умовах стандартного режиму освітлення показали, що о 14.00 год нейроцити розташовані компактно, стрічкоподібно у декілька шарів. Це здебільшого однотипні нервові клітини, що мають світлі добре контуровані ядра, щільні базофільні ядерця. Помірний об'єм нейроплазми таких клітин зафарбований базофільно. Вказаний вид нейроцитів належить до нормохромного типу (рис. 1А).

Мікроскопічними дослідженнями гіпокампа тварин цієї серії о 02.00 год встановлено, що переважають нейроцити, які мають малі ядра і ядерця. Нейроплазма інтенсивно базофільно зафарбована, що відповідає гіперхромному типу нейроцитів (рис. 1Б). Такий стан нервових клітин відповідає гіперфункції досліджуваної структури.

Гістологічні дослідження гіпокампа тварин, що перебували в умовах семидобової темряви о 14.00 год показали, що в складі тяжа щільно розташованих нейронів переважають клітини зі зменшеними тілами. Їх нейроплазма базофільна. Невеликі ядра мають помірно базофільну каріоплазму, в якій погано диференціюються ядрця (рис. 2А). Такий гіперхромний тип нейронів свідчить про їх знижену функціональну активність. Наявні також поодинокі пікноморфні нейроніти з невеликими тілами, інтенсивно базофільною цитоплазмою і каріоплазмою.

Утримання щурів на фоні гіперфункції шишкоподібної залози віддзеркалилося о 02.00 год подібними змінами нейронів до попереднього часового інтервалу. У складі тяжа клітин багато гіперхромних нейронів, проте збільшується число пікноморфних клітин. Навколо їх інтенсивно зафарбованих тіл наявні світлі ділянки, що відповідають перичелюлярному набряку (рис. 2Б). Це більш виражений гіпофункціональний стан.

Вивчення гістологічних препаратів гіпокампа тварин, яких утримували в умовах гіпофункції шишкоподібної залози о 14.00 год показало, що в складі щільно розташованих тяжів нейронів частина клітин має збільшені світлі ядра, які чітко контуровані і вміщують великі ядрця. Їх нейроплазма слабо базофільна, що відповідає стану гіпохромії. Частина нейронів має невеликі тіла і ядра, що фарбуються більш інтенсивно і відповідає стану гіперхромії. Лише окремі нейроніти мають ущільнені тіла, вагому ступінь базофільності ядра і нейроплазми, що відповідає пікноморфному типу клітин (рис. 3А). Така картина віддзеркалює гіперфункцію гіпокампа з ознаками деструкції.

В умовах тривалої світлової стимуляції мікроскопічно о 02.00 год у складі тяжів нейронів гіпокампа спостерігаються гіпохромні, гіперхромні клітини. Проте збільшується вміст пікноморфних нервових клітин, що мають інтенсивно базофільно зафарбовану каріоплазму та нейроплазму. Їх тіла ущільнені, зменшені й оточені світлими зонами, що свідчить про перичелюлярний набряк. Збільшується деструкція нейронів гіпокампа (рис. 3Б).

Висновки. За семидобової темряви (моделювання епіфізарної гіперфункції) світлооптична організація гіпокампа характеризується порушенням ритмічності та зниженням функціональної активності нейронів гіпокампа як о 14.00 год, так і о 02.00 год. За умов цілодобового постійного

освітлення (моделювання гіпофункції шишкоподібної залози), особливо о 02.00 год, мікроскопічна організація нейронів гіпокампа віддзеркалюється більш вираженими порушеннями деструктивного характеру, ніж при світловій депривації.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується дослідити протекторний вплив епіфізарних пептидів і індолів на ультраструктуру нейронів гіпокампа щурів, що зазнали дії світлового стресу. Подібні експерименти дадуть змогу науково обґрунтувати застосування експериментальної терапії при хронопатологічних явищах, викликаних дисфункцією шишкоподібної залози.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бейер Э.В. Место гиппокампа в биоритмологической организации поведения / Э. В. Бейер, Э. Б. Арушанян // Успехи физиол. наук. — 2001. — Т. 32, № 1. — С. 79—95.
2. Влияние постоянного освещения на суточный ритм мелатонина и структуру pineальной железы у кроликов / Л. А. Бондаренко, Г. И. Губина-Вакулик, Н. Н. Сотник, А. Р. Геворкян // Пробл. эндокринной патологии. — 2005. — № 4. — С. 38—45.
3. Заморский И.И. Функциональная организация фотопериодической системы головного мозга / И. И. Заморский, В. П. Пишак // Успехи физиол. наук. — 2003. — Т. 34, № 4. — С. 37—53.
4. Изменение ультраструктуры митохондрий нейронов гиппокампа при экспериментальной эпилепсии / Е. Мирошнеченко, Т. Литовченко, Л. Самосудова, Л. Зайченко // Таврический медико-биологический вестник. — 2003. — Т. 5, № 3. — С. 117—118.
5. Ишемические повреждения ультраструктуры нейронов в органотипической культуре ткани гиппокампа / Л. Фрумкина, Л. Хаспекоев, А. Лыжин, И. Викторов // Морфология. — 2002. — Т. 121, № 1. — С. 44—48.
6. Кудинова Е. В. Основы биорезонансной регуляции структурно-функционального состояния гиппокампа при стресс-синдроме / Е. В. Кудинова, С. С. Степанов, С. И. Еренев // Омский научный вестник. — 2004. — С. 60—63.
7. Развитие постреанимационных морфологических изменений нейронов гиппокампа и мозжечка: общие закономерности и особенности / М. Аврущенко, И. Саморукова, В. Мороз [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2003. — №2. — С. 27—30.
8. Структурна організація зони CA1 гіпокампа щурів при експериментальній ішемії мозку / Т. Коваленко, І. Осадченко, К. Сможанік [та ін.] // Фізіол. журнал. — 2004. — Т. 50, № 2. — С. 86—93.
9. Green C. Circadian rhythms. Clocks on the brain / C. Green, M. Menaker // Science. — 2003. — Vol. 301, N 5631. — P. 319—320.
10. Melatonin receptors and their regulation: biochemical and structural mechanisms / P. Witt-Enderby, J. Bennett, M. Jarzynka [et al.] // Life Sci. — 2003. — Vol. 72, N 2. — P. 2183—2198.
11. Melatonin receptors in rat hippocampus: molecular and functional investigations / U. Musshoff, D. Riewenherm, E. Berger [et al.] // Hippocampus. — 2002. — Vol. 12, N 2. — P. 165—173.
12. Reiter R. J. Melatonin: clinical relevance / R. J. Reiter // Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. — 2003. — Vol. 17, N 2. — P. 273—285.

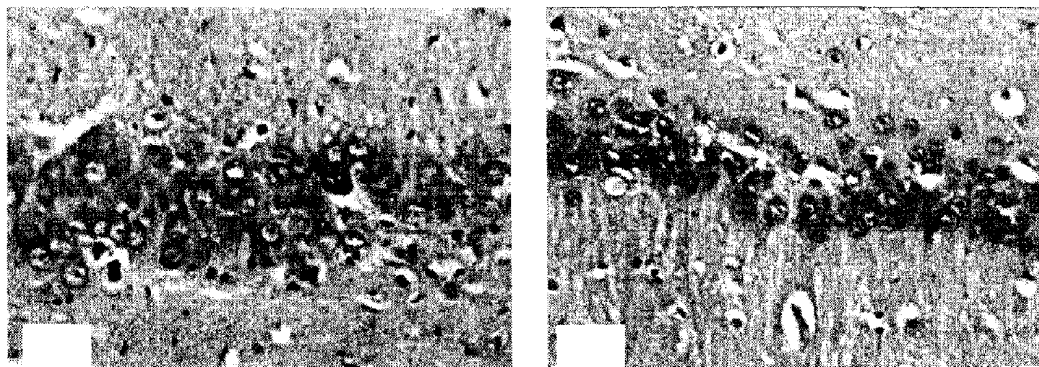


Рис. 1. Мікроскопічна організація гіпокампа тварин в умовах стандартного режиму освітлення

А – о 14.00 год; упорядковане розташування нейронів у вигляді стрічки. Багато клітин зі світлими ядрами та базофільною нейроплазмою. Б – о 02.00 год; нейрони з невеликими ядрами, високою базофілією нейроплазми. Забарвлення гематоксиліном-еозином, х 400

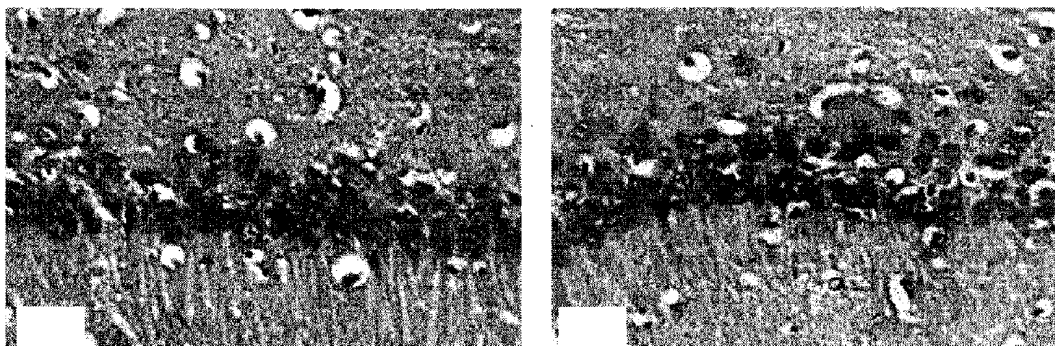


Рис. 2. Гістологічний стан гіпокампа тварин при гіперфункції шишкоподібної залози

А – о 14.00 год; щільно розташовані гіперхромні нейрони. Б – о 02.00 год; гіперхромні й окремі пікноморфні нейрони в складі тяжа щільно розташованих клітин. Забарвлення гематоксиліном-еозином. х 400.

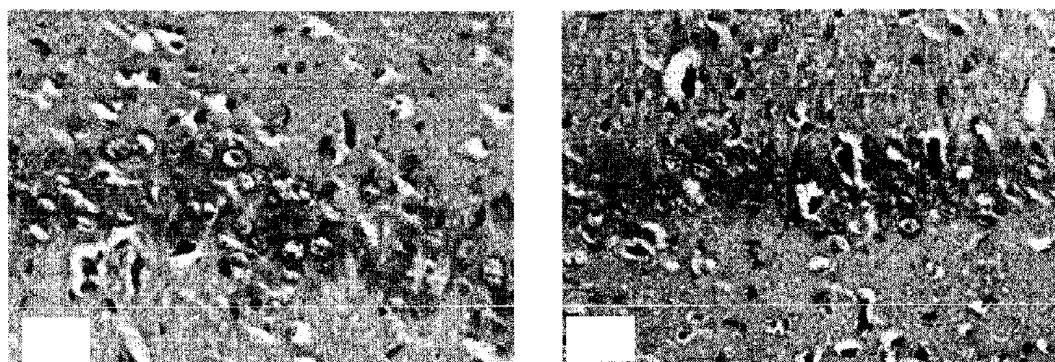


Рис. 3. Вплив епіфізарної гіпофункції на структурну організацію гіпокампа тварин

А – о 14.00 год Збільшені світлі ядра, гіпертрофовані базофільні ядрця, просвітлена нейроплазма в нейронах. Б – гіпохромні, гіперхромні пікноморфні нейрони в складі тяжа щільно розташованих клітин. Забарвлення гематоксиліном-еозином. х 400

УДК 612.826.33:612.017.2

СВЕТООПТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА КРЫС ПРИ ЭПИФИЗАРНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Булык Р.Е.

Резюме. Работа выполнена с целью определения особенностей морфологических нарушений клеток гиппокампа крыс, содержащихся в условиях разной длительности светового режима. Установлено, что при постоянной темноте светооптическая организация гиппокампа характеризуется нарушением ритмичности и снижением функциональной активности нейронов гиппокампа в 14.00 ч и 02.00 ч. При круглосуточном постоянном освещении, особенно в 02.00 ч, микроскопическая организация нейронов гиппокампа отражается более выраженными нарушениями деструктивного характера, чем при световой депривации.

Ключевые слова: гиппокамп, фотопериод, шишковидная железа.

УДК 612.826.33:612.017.2

A PHOTOOPTICAL RESEARCH OF THE RAT HIPPOCAMPAL NEURONS WITH EPIPHYSIAL DYSFUNCTION

Bulyk R.Ye.

Summary. The research has been carried out for the purpose of evaluating the specific characteristics of morphological abnormalities of the hippocampal cells of rats kept under conditions of a diverse duration of the photoperiod. It has been established that the photooptical organization of the hippocamp under permanent darkness is characterized by deranged rhythmicity and a decrease of the functional activity of the hippocampal neurons at 02.00 p.m. and 02.00 a.m. The microscopic organization of the hippocampal neurons is characterized by more marked abnormalities of a destructive character in case of a round-the-clock illumination, especially at a 02.00 a.m. than with light deprivation.

Key words: hippocamp, photoperiod, pineal gland.

Стаття надійшла 22.09.2008 р.