

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

СТЕПАНЕНКО ОЛЕКСАНДР ЮРІЙОВИЧ

**ДИНАМІКА МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН В ГІПОКАМПИ В
ПРОЦЕСІ ФОРМУВАННЯ ПІДВИЩЕНОЇ СУДОРОЖНОЇ
ГОТОВНОСТІ МОЗКУ**

14.01.39 - патологічна анатомія

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Харків - 1997



Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Харківському державному медичному університеті

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
Панков Євген Якович

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор
Масловський Сергій Юрійович

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Марковський Володимир Дмитрович;
доктор медичних наук
Садчиков Віктор Дмитрович

Провідна установа: Запорізький державний медичний
університет

Захист дисертації відбудеться "24" квітня 1997 року
о 13⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.02.38.03
при Харківському державному медичному Університеті
за адресою: 310022, м. Харків, пр. Правди, 12.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці
Харківського державного медичного Університету
(310022, м. Харків, пр. Леніна, 4)

Автореферат розісланий "20" березня 1997 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук, професор

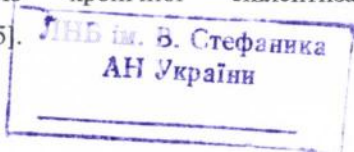
І. В. Сорокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Епілепсія — “хроничне захворювання головного мозку різної етіології, що характеризується повторними припадками, які виникають в результаті надмірних нейронних розрядів та супроводжуються різноманітними клінічними та параклінічними симптомами”(визначення ВОЗ) [Гасто А., 1975] — відноситься до важких і розповсюджених захворювань. Протягом останніх років відзначається зростання частоти цього захворювання, розповсюдженість якого складає 0,8 - 1,2%. Окрім потенційно важких наслідків для життя хворого, епілепсія є важливою проблемою охорони здоров'я у зв'язку з її соціальними та економічними наслідками [А.Гасто, 1975; П.М. Сараджишвили, Т.Ш. Геладзе, 1977; А.И. Болдырев, 1984; В.А.Карлов, 1990].

Вивчення епілепсії проводиться в клініці та експерименті; досліджуються нейрофізіологічні, біохімічні, морфологічні аспекти. Однак, незважаючи на довготривалу історію епілептології, механізми даного захворювання залишаються недостатньо вивченими і терапія епілепсії, фактично симптоматична, спрямована головним чином на попередження рецидиву судорожних припадків, а не на ліквідацію самого стану хроничної епілептизації головного мозку.

Нейрофізіологічними дослідженнями встановлена провідна роль лімбічної системи мозку в механізмах епілепсії [Penfield, Jasper, 1958; Green, 1964; Ф.П.Ведяев, 1966 - 1969; Racine, 1972]. Гіпокамп - центральна структура лімбічної системи - є синхронізатором судорожної активності структур мозку, що залучаються в епілептогенез [Ф.П.Ведяев, 1966-1969, В.Д.Карамышев, 1974]. Формування в гіпокампі гіперактивної домінантної структури визнано основою хроничної епілептизації мозку [Г.Д.Крыжановский, 1985].



Склероз амонова рога гіпокампу, який полягає в зменшенні кількості нейронів та проліферації глії, є основною патоморфологічною знахідкою в мозку хворих на епілепсію незалежно від клінічної форми захворювання [А.И.Ионтов с соат., 1985, В.А.Карлов, 1990, Bronen, 1991; Cook et al., 1992; De Giorgio et al., 1992; Falkoner et al., 1964; Marinkovic, 1992; Paul, 1978 и др.]. Гіпокампальний склероз вражає переважно один сектор гіпокампу - поле CA1 та значно менше впливає на інші поля [Sommer, 1880]. Встановлена чітка просторова кореляція між локалізацією вогнища найбільшої судорожної активності та ділянками з найбільшою вираженістю гіпокампального склерозу [Babb, 1992; Mouritzen Dam, 1981; Spenser, 1994; Sutula et al., 1989; Tottori et al., 1989; Uemura et al, 1993]. Склероз амонова рога гіпокампу та синаптичні перебудови, які супроводжують його та відбивають зміни міжнейронних відносин в гіпокампі, визнані специфічними морфологічними змінами в мозку при епілепсії [Babb, 1992; Cavazos et al., 1994; Houser, 1992; Mattem et al, 1995; Represa et al., 1990; Sutula, 1990]. В той же час, механізми виникнення гіпокампального склерозу, причини вибіркового пошкодження деяких ділянок гіпокампу вивчені недостатньо.

Для удосконалювання методів діагностики та лікування судорожних станів, тестування протисудорожних та протиепілептичних препаратів необхідна розробка чітких морфологічних критеріїв епілептизації структур мозку, які беруть участь в механізмах епілептогенеза. Для розуміння механізмів хронічної епілептизації мозку необхідно вивчення динаміки морфологічних змін в гіпокампі в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку. Вивчення цих питань потребує проведення експериментальних досліджень.

На підставі викладеного були сформульовані мета і задачі даного дослідження.

Мета дослідження: Вивчити морфологічні зміни в гіпокампі в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку.

Завдання дослідження:

1. Описати морфологію основних полів гіпокампу, CA1-CA4: вивчити нейроно-гліально-капілярні взаємовідносини в кожному з полів.
2. Вивчити динаміку зміни нейроно-гліально-капілярних відносин в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку.
3. Вивчити особливості морфології гіпокампу в умовах експериментальної моделі первинно генералізованої епілепсії.
4. Розробити та запропонувати морфологічні критерії, зручні для оцінки епілентизації структур мозку.

Наукова новизна

Практично вперше на експериментальній моделі епілепсії кількісно досліджена динаміка морфологічних змін в гіпокампі в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку, описані нейроно-гліально-капілярні відносини та відслідкована динаміка їх зміни в кожному з полів гіпокампу в результаті стимуляцій.

Запропоновані морфометричні критерії оцінки нейроно-гліально-капілярних відносин, які визначаються на напівтонких зрізах: лінійні щільності нейронів, гліальних клітин, капілярів, щільних контактів між нейронами та капілярами, капілярний,

гліальний індекси та індекс щільних контактів¹. Установлені їхні кількісні значення, які визначають вихідне трофічне гліально-капілярне забезпечення нейронів у кожному з полів амонова рога гіпокампу.

Показано, що в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку в кожному з полів гіпокампу відбувається зміна нейроно-гліально-капілярних відносин, що проявляється в зменшенні кількості нейронів при одночасному збільшенні щільності капілярної мережі та гліальних клітин, зростанні кількості щільних контактів між нейронами та капілярами; в результаті покращується трофічне забезпечення нейронів, що зберігаються.

Установлені кількісні значення показників динаміки морфологічних змін. Показана їх відмінність в досліджуваних полях.

Установлено, що динаміка морфологічних змін визначається вихідним станом нейроно-гліально-капілярних відносин в кожному з полів та вихідні відмінності полів гіпокампу за умов трофічного забезпечення нейронів в результаті стимуляції ще більше зростають.

Теоретичне значення роботи полягає в кількісному дослідженні механізмів спілептогенезу. В гіпокампі досліджені морфологічні аспекти нейроно-гліально-капілярних взаємовідносин та відстежена динаміка їхніх змін в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку. Результати дослідження

¹ Лінійні щільності нейронів, гліальних клітин, капілярів, щільних контактів - це *кількість на одиниці ділини поля* відповідно ядер нейронів, ядер гліальних клітин, перерізів капілярів, а також щільних контактів перикаріонів нейронів з капілярами (розмірність - мм^{-1}).

Капілярний, гліальний індекси і індекс щільних контактів визначаються як *відношення* кількості нейронів на ділянці поля відповідно до кількості перерізів капілярів, гліальних клітин, щільних нейроно-капілярних контактів на тій же ділянці поля.

дозволяють з'ясувати причини вибіркового пошкодження певних відділків гіпокампу у хворих на епілепсію.

Практичне значення роботи полягає в розробці морфологічних критеріїв для дослідження та оцінки ступеня епілептизації структур мозку, які можуть бути використані для розробки методів діагностики та лікування судорожних станів, тестування протиепілептичних та протисудорожних препаратів. Одержані дані можуть бути використані в учбовому процесі для ілюстрації проблеми співвідношення структури та функції в умовах норми і патології.

Положення, що виносяться на захист:

1. Для характеристики нейроно-гліально-капілярних відносин в гіпокампі та оцінки динаміки їх змін в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку пропонується використати такі основні морфометричні критерії (на напівтонких зрізах): *лінійні щільності нейронів, гліальних клітин, капілярів та щільних нейроно-капілярних контактів; гліальний, капілярний індекси та індекс щільних контактів.*

2. Відмінність в будові полів CA1 - CA4 гіпокампу полягає не тільки в особливостях будови та розподілу нейронів і організації міжнейронних зв'язків, але й *в відмінності щільності мікроциркуляторного русла та гліального оточення в кожному з полів. Наслідком цього є неоднаковий ступінь гліально-капілярного трофічного забезпечення нейронів в кожному з полів амонової рогої гіпокампу.*

3. Формування підвищеної судорожної готовності мозку в результаті повторних електростимуляцій супроводжується зміною нейроно-гліально-капілярних відносин в усіх полях гіпокампу. *Зміна нейроно-гліально-капілярних відносин відбивається в зменшенні*

лінійної щільності нейронів, зростанні лінійної щільності капілярів, гліальних клітин, щільних контактів між нейронами та капілярами, що приводить до зменшення капілярного, гліального індексів та індексу щільних контактів.

4. *Кількісні показники динаміки морфологічних змін* в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку *мають відмінності* у досліджуваних полях *гіпокампу*. Вихідний стан трофічного гліально-капілярного забезпечення нейронів та динаміка зміни нейроно-гліально-капілярних відносин визначають ступень “судорожного” пошкодження нейронів в кожному з полів. При цьому характерні для кожного поля особливості побудови стають ще більш визначеними.

Впровадження результатів дослідження. Основні результати дисертаційної праці впроваджені в учбовий процес та наукові дослідження кафедр гістології, цитології та ембріології, патологічної анатомії, анатомії людини Харківського державного медичного університету, Луганського державного медичного університету, Дніпропетровської державної медичної академії, кафедри патологічної анатомії Харківського інституту удосконалення лікарів, кафедр нервових хвороб та судової медицини ХДМУ.

Апробація роботи. Результати роботи доповідались на науково-практичній конференції “Фундаментальні та прикладні аспекти нетрадиційної медицини” (Харків, 1992), 20-й науково-практичній конференції молодих вчених та фахівців Харківського медичного інституту (Харків, 1992), 21-й науково-практичній конференції “Актуальні проблеми патологічної анатомії” (Харків-Полтава, 1993), науково-практичній конференції “Актуальні проблеми нейрогістології та нейроонтогенезу”, присвяченій 90-річчю з дня народження Н.І.Зазибіна (Київ, 1994), міжнародній конференції “Структурные преобразования органов и тканей на этапах онто-

генеза в нормі і при діянні антропогенних факторів”, присвячений 100-річчю з дня народження професора Н.В.Поповой-Латкиной (Астрахань, 1996).

Публікації. Основні положення і висновки опубліковані в 11 друкованих роботах, отримані 4 свідоцтва на раціропозиції.

Структура та обсяг роботи. Дисертація викладена на 168 сторінках тексту. Робота містить вступ, аналітичний огляд літератури, главу, в якій описуються матеріал та методи дослідження, дві глави власних дослідів, закінчення та висновки. Дисертація ілюстрована 41 мікрофотографією, з яких 19 - електронограми, 40 таблицями, 2 діаграмами, 42 графіками. Список літератури містить 270 джерел, в тому числі 190 зарубіжних.

Особистий внесок дисертанта в розробку наукових результатів, які виносяться на захист. Здобувачем самостійно проводились експерименти на тваринах, виділення та обробіток морфологічного матеріалу для дослідження, приготування препаратів, гістологічні світлові та електронномікроскопічні дослідження, морфометрія, статистичний обробіток та аналіз результатів, вибір критеріїв для оцінки динаміки морфологічних змін.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводились на білих щурах лінії Вістар, віком 5-6 місяців, середньою вагою 250 г. Усього в експеримент було взято 60 щурів, контролем служили 18 тварин. При маніпуляціях з тваринами були додержані “Правила робіт з використанням експериментальних тварин” (1977).

Стан підвищеної судорожної готовності мозку вироблявся за способом, розробленим В.Д. Карамишевим (1991), який має назву “Трансцеровікальний електросудорожний амплітудно-

модульований припадок” (Авторське свідоцтво № 649599, 1991р).

З групи низькозбуджуваних за рівнем аудіогенної судорожної готовності шурів випадковим чином були відібрані контрольна ($n = 18$) та експериментальна ($n = 42$) групи.

Багаторазова електрична стимуляція мозку здійснювалась через нашкірні електроди, накладені в області шії, синусоїдальним модульованим за амплітудою струмом з несучою частотою 5000 Гц, частотою модуляції 150 Гц, глибиною модуляції 100%, експозицією 3с. Стимуляцію кожної тварини проводили щоденно, одноразово.

Для кожної тварини визначалась порогова сила струму, тобто сила струму, що спричиняє початкову епілептичну реакцію, таким чином. Першу стимуляцію проводили струмом 35 мА. Якщо цей вплив не спричиняв судорожних реакцій поведінки, струм збільшували на 10 мА і через 30 хвилин робили повторну стимуляцію. Так діяли до появи при певній величині стимулюючого струму тонічної екстензії задніх кінцівок, які супроводжувались короткими (до 3 с) “крокувальними рухами”, що характеризувало початкову епілептиформну реакцію. Це значення струму вважали пороговою для даної тварини.

Наступні стимуляції проводили щоденно струмом порогової величини. Через певну кількість (10-14) стимуляцій у тварини розвивався генералізований судорожний припадок. В подальшому підбирали мінімальну величину струму стимуляції, у відповідь на яку у тварини кожного разу виникав генералізований судорожний припадок.

Даний спосіб адекватно відтворює в експерименті первинно генералізовану епілепсію. Він дозволяє забезпечити точність і стабільність впливу епілептогенного фактору на тварин. Вплив епілептогенного фактору не призводить до прямого неспецифіч-

ного пошкодження тканини мозку, тому що не пов'язаний з операцією вживлення електродів, або введенням яких-небудь фармакологічних препаратів.

Для морфологічного дослідження тварини відбирались випадковим чином і виводились з експерименту після появи перших генералізованих судорожних випадків ($n=12$), після 30 ($n=12$) й після 50 стимуляції ($n=18$).

Фіксацію мозку здійснювали шляхом перфузії фіксуючого розчину [Н.Н.Боголепов,1977; Л.У. Хамільтон,1979]. Після перфузії мозок тварини витягали і фронтальними тотальними розрізами виділяли зріз завтовшки 1 мм, який містив ділянку дорзального гіпокампу, розташовану на відстані 1-2 мм від його рострального кінця.

Подальший обробіток проводився за традиційними методиками [Боголепов Н.Н.,1977; О.В.Волкова, Ю.К. Елецкий ,1982].

Морфометричні дослідження проводились на напівтонких зрізах, які являли собою фронтальні розтини дорзального гіпокампу. Підрахунки проводились під мікроскопом (об'єктив - $\times 90$, окуляр-мікрометр). Для досягнення поставленої мети дослідження напівтонкі зрізи мають такі позитивні якості. Їхня товщина -1мкм - значно менше розмірів основних елементів тканин - нейронів, гліальних клітин, капілярів. Ця обставина дозволяє досліджувати просторові міжклітинні відносини не в об'ємі тканини, а в площині розтину "нульової" товщини. В площині напівтонкого зрізу безперервні об'єкти - капіляри - видно у вигляді їхніх перерізів; це дозволяє дати їх кількісну характеристику. Технологія виготовлення препаратів для електронної мікроскопії найкращим чином зберігає структуру тканини мозку та, відповідно, просторові взаємозв'язки її елементів, які чітко видно на напівтонких зрізах.

Автоматичний режим виготовлення напівтонких зрізів зводить до мінімуму розкид за товщиною.

В пірамідному шарі кожного з полів підраховували кількість нейронів, гліальних клітин, перерізів капілярів та щільних нейроно-капілярних контактів на певному відрізку поля, а також вимірювали довжину цього відрізка. При цьому враховувались всі нейрони в смузі поля, ядра яких попадали в площину зрізу, капіляри, що лежать як безпосередньо в смузі пірамідного шару нейронів, так і віддалені від перикаріонів на відстань не більше 25 мкм (зона Sharrer). Підраховувались всі гліальні клітини в межах пірамідного шару нейронів, а також сателіти нейронів, розташовані на межі пірамідного шару. Підрахунок вівся тільки на одному зрізі від кожного блоку або на зрізах, достатньо віддалених один від одного (не менше 25 мкм), що виключало подвійне врахування.

Електронномікроскопічні дослідження проводились за допомогою електронного мікроскопу УЕМВ-100К при збільшенні $\times 3000 - \times 20000$.

Планування і обробіток результатів досліджень проводились за допомогою методів математичної статистики та біометрії.

Обробіток та систематизація інформації проводились на персональному комп'ютері в текстовому процесорі Microsoft Word for Windows 6.0a, статистична обробка даних - з використанням електронних таблиць Microsoft Excell 5.0a з пакету Microsoft Office.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати морфометричного дослідження відображені в таблицях 1 - 4, на діаграмах та графіках (мал. 1 - 5). В таблицях для кожного поля гіпокампу по кожній експериментальній серії (контроль, 10, 30, 50 стимуляцій) приведені кількість стимуляцій N (в контролі N = 0), вибіркова середня морфометричного кри-

терію M , її помилка m , точність результатів C , вірогідність рівності генеральних середніх експериментальних серій генеральної середньої контролю P_1 , вірогідність рівності генеральних середніх послідовних серій стимуляцій P_2 ; середнє квадратичне відхилення S , коефіцієнт варіації C_v , вірогідність рівності генеральних дисперсій експериментальних серій генеральної дисперсії контролю F_1 , вірогідність рівності генеральних дисперсій послідовних серій стимуляцій F_2 .

Установлено, що поля гіпокампу в нормі відрізняються за значеннями морфометричних критеріїв (мал.1, 2, табл.1 - 4).

Поле CA1 має найбільшу лінійну щільність нейронів ($185,8 \text{ мм}^{-1}$) порівняно з іншими полями: CA2 ($105,4 \text{ мм}^{-1}$), CA3 ($98,0 \text{ мм}^{-1}$) та CA4 ($121,7 \text{ мм}^{-1}$). При цьому в полі CA1 відзначається найменша лінійна щільність капілярів ($17,9 \text{ мм}^{-1}$), тоді як в полях CA2 ($28,3 \text{ мм}^{-1}$), CA3 ($26,3 \text{ мм}^{-1}$), CA4 ($28,0 \text{ мм}^{-1}$) лінійна щільність капілярів значно вища. Кількість гліальних клітин майже однакова в полях CA1 ($11,0 \text{ мм}^{-1}$), CA2 ($12,0 \text{ мм}^{-1}$), CA3 ($14,0 \text{ мм}^{-1}$), але в полі CA4 гліальних клітин значно більше ($27,0 \text{ мм}^{-1}$). Кількість щільних контактів між нейронами та капілярами в полі CA2 ($6,2 \text{ мм}^{-1}$) в 1,5 рази вище, ніж в інших полях: CA1 ($4,1 \text{ мм}^{-1}$), CA3 ($4,3 \text{ мм}^{-1}$), CA4 ($4,0 \text{ мм}^{-1}$).

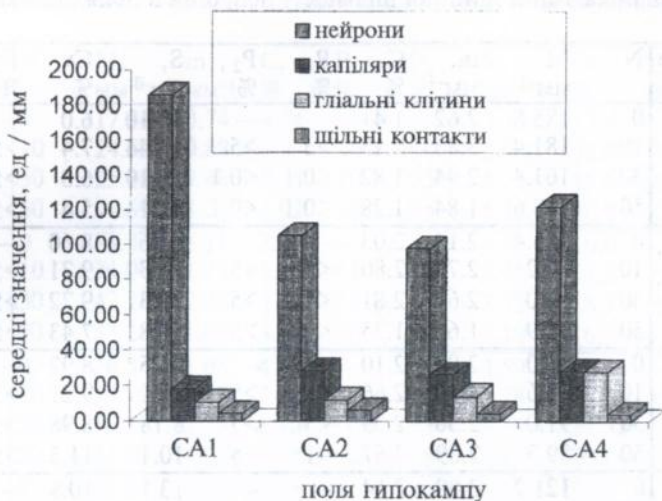
Відмінності в лінійній щільності нейронів, з одного боку, гліальних клітин, капілярів, щільних контактів між нейронами та капілярами - з іншого, приводять до відмінності трофічного гліально-капілярного забезпечення нейронів в кожному з полів гіпокампу. Капілярний індекс в полі CA1 (10,6) значно вище, ніж в полях CA2 (3,80), CA3 (3,83) і CA4 (4,50). Гліальний індекс в полі CA1 (18,2) також вище, ніж в полях CA2 (9,6), CA3 (7,47), і, особливо, CA4 (4,6). Індекс щільних контактів між нейронами і

капілярами в СА1 (45,1) набагато вище, ніж в інших полях: СА2 (19,0), СА3 (23,8), СА4 (33,8).

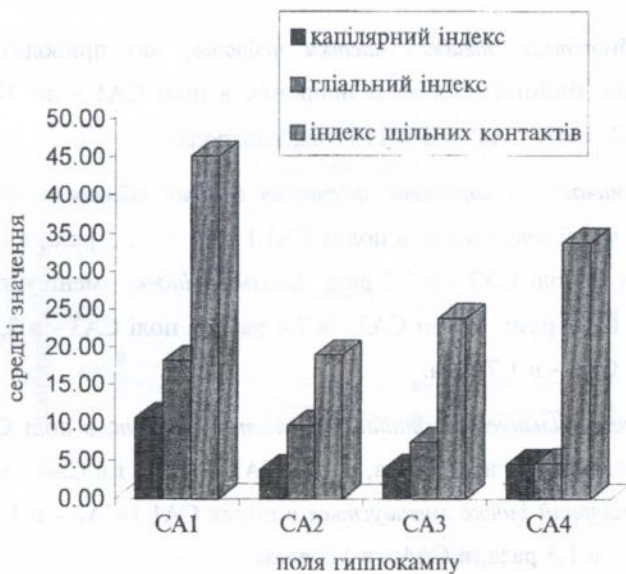
Отже, поле СА1 в нормі знаходиться в найменш сприятливих умовах трофічного гліально-капілярного забезпечення нейронів, порівняно з іншими полями. В полі СА2 - кращі умови кровопостачання, а в полі СА4 - краще гліальне забезпечення нейронів. Поле СА3 за трофічним забезпеченням посідає проміжне положення між полями СА2-СА4.

Одержані дані доповнюють відомі з літератури відомості про розподіл нейронів [О.С. Виноградова, 1975; Л.С.Гамбарян, И.Н. Коваль, 1974; Т.Б.Гловели, 1983; Н.И.Дмитриева с соавт., 1988; Т. А. Меринг, 1974, К.Ю.Резников и Г.Д.Назаревская, 1989, Л. У. Хамилтон, 1984; Knowles, 1992; Schwerdtfeger, 1984; Veno, Yamashita, 1975], гліальних клітин [Ibata, 1968; Shimada, 1992; К.Ю.Резников и Г. Д. Назаревская, 1989] та капілярного русла [Coyle, 1976, 1978; Duvernoy, 1988; Goetzen, Stamska, 1992; Mossakovski, 1989; Shimada, 1992] в пірамідному шарі полів СА1-СА4 гіпокампу. В нашому дослідженні установлені для кожного з полів гіпокампу кількісні значення лінійної щільності нейронів, гліальних клітин та капілярів та визначені *співвідношення* між кількістю нейронів та капілярів, нейронів та гліальних клітин - капілярний та гліальний індекси. Надана кількісна оцінка щільних контактів між нейронами та капілярами. Таким чином *визначені умови та відмінності трофічного забезпечення нейронів в полях гіпокампу в нормі.*

Морфологічні зміни в гіпокампі в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку відображені в таблицях 1-4 та на графіках (мал.3 - 5). Як видно з таблиць та графіків, всі зміни відбуваються поступово і монотонно зі збільшенням кількості стимуляцій, наближаючись до стабілізації на новому рівні після 50 стимуляцій.



Мал. 1. Морфометрична характеристика полів гіпокампу в нормі (лінійні характеристики)



Мал. 2. Морфометричні характеристики полів гіпокампу в нормі (індекси)

Таблиця 1.

Динаміка зміни лінійної щільності нейронів в полях гіпокампу

Поле	N	M, мм ⁻¹	m, мм ⁻¹	C, %	P ₁ , %	P ₂ , %	S, мм ⁻¹	Cv, %	F ₁ , %	F ₂ , %
CA1	0	185.8	2.62	1.41	—	—	11.10	6.0	—	—
	10	181.4	3.88	2.13	>5	>5	13.44	7.4	>5	>5
	30	161.4	2.94	1.82	<0.1	<0.1	10.19	6.3	>5	>5
	50	143.6	1.84	1.28	<0.1	<0.1	7.81	5.4	>5	>5
CA2	0	105.4	2.14	2.03	—	—	9.06	8.60	—	—
	10	97.2	2.72	2.80	<5	<5	9.43	9.71	>5	>5
	30	96.0	2.69	2.81	<5	>5	9.33	9.72	>5	>5
	50	93.9	1.65	1.75	<0.1	>5	6.98	7.43	>5	>5
CA3	0	98.0	2.06	2.10	—	—	8.75	8.92	—	—
	10	93.6	2.49	2.66	>5	>5	8.62	9.21	>5	>5
	30	91.0	2.36	2.59	<5	>5	8.18	8.98	>5	>5
	50	89.3	2.39	2.67	<1	>5	10.1	11.3	>5	>5
CA4	0	121.7	3.09	2.54	—	—	13.1	10.8	—	—
	10	117.0	4.71	4.02	>5	>5	16.3	13.9	>5	>5
	30	108.0	4.82	4.46	<5	>5	16.7	15.4	>5	>5
	50	109.0	3.20	2.94	<1	>5	13.6	12.5	>5	>5

Відбувається загибель частки нейронів, що приводить до зменшення лінійної щільності нейронів: в полі CA1 - до 77%, в полях CA2, CA3, CA4 - до 90±1% від контролю.

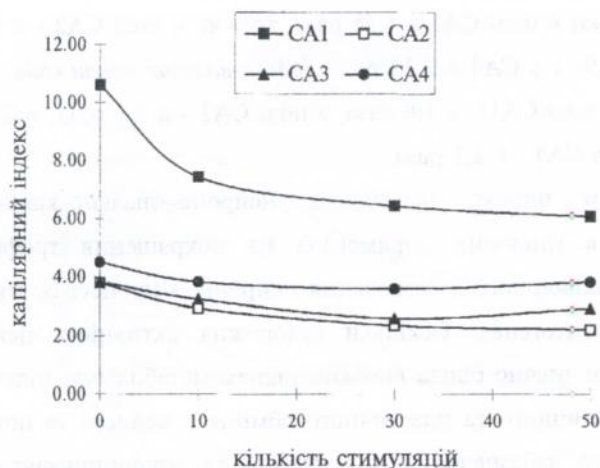
Відзначається виражене зростання лінійної щільності глії, що свідчить про її гіперплазію: в полях CA1 і CA4 - в 1,5 рази, в CA3 - в 2,0 рази, в полі CA2 - в 2,2 рази. Гліальний індекс зменшується в полі CA1 в 2,0 рази, в полі CA2 - в 2,6 рази, в полі CA3 - в 2,3 рази, в полі CA4 - в 1,7 рази.

Значно збільшується лінійна щільність капілярів: в полі CA1 - в 1,37 рази, в CA2 - в 1,53 рази, в полі CA3 - в 1,21 і в CA4 - в 1,11 рази; капілярний індекс зменшується в полях CA1 і CA2 - в 1,7 рази; в CA3 - в 1,3 рази, в CA4 - в 1,2 рази.

Таблиця 2.

Динаміка зміни лінійної щільності капілярів в полях гіпокампу

Поле	N	M, мм ⁻¹	m, мм ⁻¹	C, %	P ₁ , %	P ₂ , %	S, мм ⁻¹	Cv, %	F ₁ , %	F ₂ , %
CA1	0	17.94	0.74	4.14	—	—	3.15	17.4	—	—
	10	24.59	0.88	3.57	<0.1	<0.1	3.04	12.4	>5	>5
	30	25.96	1.48	5.68	<0.1	>5	5.11	19.6	>5	>5
	50	24.69	1.22	4.92	<0.1	>5	5.15	20.9	<5	>5
CA2	0	28.3	1.11	3.92	—	—	4.71	16.6	—	—
	10	34.0	1.72	5.05	<1	<1	5.95	17.5	>5	>5
	30	42.2	2.23	5.28	<0.1	<1	7.72	18.3	>5	>5
	50	43.2	1.68	3.88	<0.1	>5	7.10	16.5	>5	>5
CA3	0	26.3	1.08	4.12	—	—	4.59	17.50	—	—
	10	30.7	2.25	7.32	>5	>5	7.78	25.34	>5	>5
	30	36.5	2.25	6.16	<0.1	>5	7.79	21.32	<5	>5
	50	31.7	1.53	4.82	<1	>5	6.49	20.16	>5	>5
CA4	0	28.0	1.35	4.84	—	—	6.59	23.8	—	—
	10	31.7	1.78	5.64	<5	<5	6.19	19.5	>5	>5
	30	32.2	2.23	6.92	>5	>5	7.73	29.1	>5	>5
	50	31.1	1.97	6.33	>5	>5	8.35	26.9	>5	>5



Мал.3. Динаміка зміни капілярного індексу в полях гіпокампу.

Таблиця 3.

Динаміка зміни лінійної щільності гліальних клітин в полях гіпокампу

Поле	N	M, мм ⁻¹	m, мм ⁻¹	C, %	P ₁ , %	P ₂ , %	S, мм ⁻¹	Cv, %	F ₁ , %	F ₂ , %
CA1	0	10.56	0.50	4.73	—	—	2.12	20.1	—	—
	10	10.43	0.59	4.61	>5	>5	2.03	19.5	>5	>5
	30	14.50	0.67	4.61	<0.1	<0.1	2.36	16.0	>5	>5
	50	15.95	0.77	4.85	<0.1	>5	3.28	20.6	>5	>5
CA2	0	11.8	0.75	6.38	—	—	3.19	27.1	—	—
	10	19.5	1.74	8.96	<0.1	<0.1	6.04	31.0	>5	>5
	30	24.3	2.08	8.55	<0.1	>5	7.21	26.9	<5	>5
	50	26.2	1.33	5.08	<0.1	>5	5.65	21.5	<5	>5
CA3	0	14.0	0.89	6.73	—	—	3.79	27.0	—	—
	10	28.1	1.16	4.13	<0.1	<0.1	4.02	14.3	>5	>5
	30	27.0	1.64	6.07	<0.1	>5	5.68	21.0	>5	>5
	50	28.0	1.48	5.27	<0.1	>5	6.27	22.4	<5	>5
CA4	0	27.7	1.55	5.60	—	—	6.59	23.8	—	—
	10	32.1	2.01	6.26	>5	>5	6.96	21.7	>5	>5
	30	31.6	1.26	3.99	>5	>5	4.36	13.8	>5	>5
	50	40.2	1.49	3.70	<0.1	<0.1	6.30	15.7	>5	>5

Зростає кількість щільних контактів між нейронами та капілярами, особливо в полях CA2 - CA4. Їхня лінійна щільність збільшується в полі CA1 в 1,28 раза, тоді як в полі CA2 - в 1,77; в CA3 - в 1,91 і в CA4 в 2,19 раза. Індекс щільних контактів зменшується в полі CA1 - в 1,6 раза, в полі CA2 - в 2,1 раза, в CA3 - в 2,0 рази і в CA4 - в 2,1 раза.

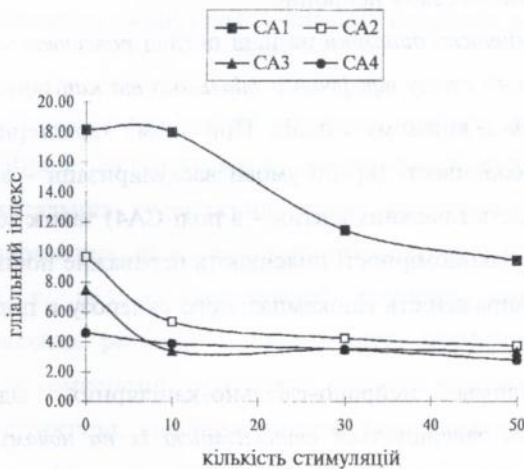
Таким чином, перебудова нейроно-гліально-капілярних відносин в гіпокампі спрямована на покращення трофічного гліально-капілярного забезпечення нейронів в процесі їх втягнення в епілептогенез. Оскільки судорожна активність нейронів пов'язана зі значно більш високим рівнем метаболізму, підвищенням енергетичного та пластичного обмінів у нейроні та потребує відповідного забезпечення з боку глії та мікроциркуляторного русла, описані зміни є проявленням компенсаторних процесів і

спрямовані на адаптацію системи “нейрон - глія - капіляр” в нових умовах функціонування.

Таблиця 4.

Динаміка зміни лінійної щільності нейроно-капілярних щільних контактів в полях гіпокампу

Поле	N	M, мм ⁻¹	m, мм ⁻¹	C, %	P ₁ , %	P ₂ , %	S, мм ⁻¹	Cv, %	F ₁ , %	F ₂ , %
CA1	0	4.24	0.18	4.34	—	—	0.78	18.4	—	—
	10	6.62	0.39	5.84	<0.1	<0.1	1.34	20.2	<5	<5
	30	7.04	0.66	9.37	<0.1	>5	2.88	32.5	<0.1	<5
	50	5.41	0.24	4.44	<0.1	>5	1.02	18.9	>5	<0.1
CA2	0	6.21	0.50	8.06	—	—	2.12	34.2	—	—
	10	6.61	0.59	8.94	>5	>5	2.05	30.9	>5	>5
	30	10.41	0.75	7.22	<0.1	<0.1	2.60	25.0	>5	>5
	50	10.92	0.55	5.01	<0.1	>5	2.32	21.3	>5	>5
CA3	0	4.3	0.22	5.03	—	—	0.91	21.3	—	—
	10	7.7	0.52	6.79	<0.1	<0.1	1.81	23.5	<5	<5
	30	8.8	0.57	6.47	<0.1	>5	1.97	22.4	<1	>5
	50	8.2	0.68	7.62	<0.1	>5	2.65	32.3	<0.1	>5
CA4	0	3.97	0.27	6.69	—	—	1.13	28.4	—	—
	10	5.50	0.46	8.34	<1	<1	1.59	28.9	>5	>5
	30	5.90	0.44	7.46	<0.1	>5	1.32	25.8	>5	>5
	50	8.34	0.74	8.85	<0.1	<5	3.13	37.7	<0.1	<5



Мал. 4. Динаміка зміни гліального індексу в полях гіпокампу

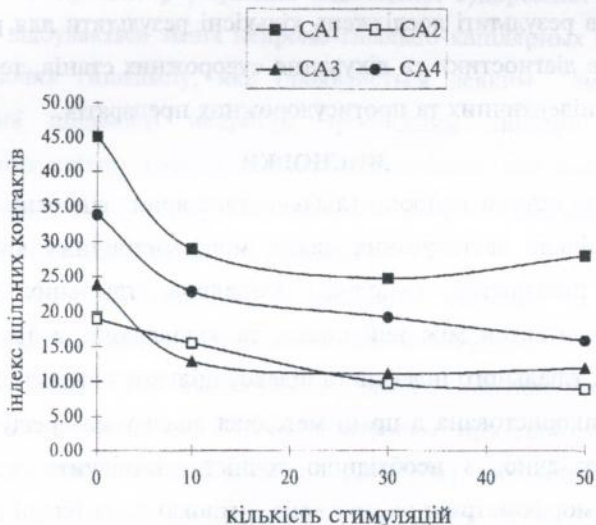
В ультраструктурі нейронів в усіх полях гіпокампу спостерігаються морфологічні признаки підвищеної функціональної активності: проліферація рибосом, мембран ендоплазматичної мережі, зростання кількості митохондрій. Відбувається зміщення ядерця до периферії ядра, відзначаються глибокі інвагінації каріолеми. При цьому в деяких нейронах поля CA1 спостерігаються ознаки ішемічного пошкодження: ділянки хроматолізу, часткова дегрануляція гранулярної ендоплазматичної мережі та утворення комплексів парних мембран, набрякання митохондрій, руйнування їхніх крист.

Морфологічні зміни в кожному з полів мають відмінності. В полях CA2 - CA4 показники зростання трофічного забезпечення нейронів вище, а зменшення кількості нейронів нижче, ніж в полі CA1. Спостерігається висока морфофункціональна активність нейронів та відсутні, на відміну від поля CA1, ознаки ішемічного пошкодження клітин. Отже, перебудова нейроно-гліально-капілярних відносин в цих полях в основному адекватна зміні функціонального стану нейронів.

Ці відмінності динаміки на наш погляд пояснюються відмінностями вихідного стану трофічного гліального та капілярного забезпечення нейронів в кожному з полів. При цьому характерні для кожного поля особливості (кращі умови васкуляризації - в полі CA2, більша кількість гліальних клітин - в полі CA4) також збільшуються. Виявлені закономірності пояснюють переважне пошкодження і найбільшу вираженість гіпокамपालного склерозу в полі CA1 при епілепсії.

Перебудова нейроно-гліально-капілярних відносин в епілептогенезі завершується стабілізацією їх на новому рівні, що

можна розглядати як морфологічний еквівалент формування підвищеної судорожної готовності мозку.



Мал. 5. Динаміка зміни індексу щільних контактів в полях гіпокампу.

Аналіз одержаних даних дозволяє зробити висновок, що пошкодження структур мозку в епілептогенезі при епілепсії та експериментальних судорожних станах визначається співвідношенням параметрів дії епілептогенного фактору (сили, довготривалості і т. ін.) та можливості розвитку компенсаторно-приспосувальних реакцій. В свою чергу, морфологічні основи адаптації та компенсації порушених функцій визначаються типом нейронів структури, вихідним станом функціональної активності та рівнем трофічного гліально-капілярного забезпечення, а також

динамікою зміни нейроно-гліально-капілярних відносин. Взаємодія та різне поєднання цих факторів пояснює різноманітність морфологічних змін в різних полях гіпокампу в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку.

Передбачається використати застосовані способи відтворення судорожних станів, розроблені морфометричні критерії та одержані в результаті досліджень кількісні результати для розробки методів діагностики та лікування судорожних станів, тестування протиепілептичних та протисудорожних препаратів.

ВИСНОВКИ

1. Для оцінки нейроно-гліально-капілярних відносин в гіпокампі доцільне застосування таких морфометричних критеріїв: лінійних щільностей нейронів, капілярів, гліальних клітин, щільних контактів між нейронами та капілярами, а також капілярного, гліального індексів та індексу щільних контактів.

2. Використована в праці методика аналізу матеріалу дозволила однозначно, з необхідною точністю визначити значення основних морфометричних критеріїв в гіпокампі та їхньої зміни в процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку.

3. Поля гіпокампу CA1-CA4 в нормі відрізняються лінійною щільністю нейронів, гліальних клітин, капілярної мережі, щільних контактів між нейронами та капілярами, що визначає *різне трофічне забезпечення нейронів* в кожному з них.

В полі CA1 лінійна щільність нейронів ($185,8 \text{ мм}^{-1}$) значно вище, ніж в полях CA2 ($105,4 \text{ мм}^{-1}$), CA3 (98 мм^{-1}) та CA4 ($121,7 \text{ мм}^{-1}$), а лінійна щільність капілярів - значно нижче ($17,9 \text{ мм}^{-1}$), ніж в інших полях: CA2 ($28,3 \text{ мм}^{-1}$), CA3 ($26,3 \text{ мм}^{-1}$) і CA4 (28 мм^{-1}).

В полі СА4 лінійна щільність гліальних клітин ($28,0 \text{ мм}^{-1}$) значно вище, ніж в полях СА1 ($11,0 \text{ мм}^{-1}$), СА2 ($12,0 \text{ мм}^{-1}$), СА3 ($14,0 \text{ мм}^{-1}$).

В полі СА2 лінійна щільність нейроно-капілярних щільних контактів в 1,5 раза вище, ніж в інших полях.

4. В процесі формування підвищеної судорожної готовності мозку відбувається зміна нейроно-гліально-капілярних відносин в усіх полях гіпокампу, яке проявляється деяким зменшенням лінійної щільності нейронів, зростанням лінійної щільності гліальних клітин, капілярів, щільних контактів між нейронами та капілярами. При цьому *покращується трофічне гліально-капілярне забезпечення нейронів, що зберігаються.*

5. *Зміни нейроно-гліально-капілярних відносин в результаті стимуляції в кожному з полів мають кількісні відміни.*

В полі СА1 відзначається значне зменшення лінійної щільності нейронів (до 77% від контролю), при відносно невеликому зростанні кількості капілярів (до 138%), гліальних клітин (до 150%), та щільних контактів між нейронами та капілярами (до 128%). Зростає морфофункціональна активність нейронів, але після 30 і 50 стимуляцій спостерігаються ознаки їхнього ішемічного пошкодження.

В полі СА2 відзначається невелике (до 89% від норми) падіння лінійної щільності нейронів при значному зростанні (у 2,2 раза) кількості гліальних клітин, капілярної мережі (в 1,5 раза) та щільних контактів (в 1,8 раза). Спостерігається висока морфофункціональна активність нейронів та відсутні ознаки їхнього ішемічного пошкодження.

В полях СА3 і СА4 динаміка морфологічних змін аналогічна полю СА2.

6. Відмінності динаміки морфологічних змін пояснюються відмінністю вихідного стану трофічного гліального та капілярного забезпечення нейронів в кожному з полів. При цьому характерні для кожного поля особливості будови в результаті стимуляції стають ще більш вираженими. Виявлені закономірності пояснюють переважне пошкодження поля CA1 гіпокампу при епілепсії та експериментальних судорожних станах.

7. Перебудова нейроно-гліально-капілярних відносин в гіпокампі завершується їхньою стабілізацією на новому рівні, що можна розглядати як морфологічний еквівалент формування підвищеної судорожної готовності мозку.

8. Ступінь “судорожного” пошкодження нейронів в епілептогенезі визначається співвідношенням параметрів впливу епілептогенного фактора та можливостей компенсаторно-приспосувальних реакцій, які в свою чергу визначаються типом нейронів, їхнім вихідним функціональним станом та рівнем трофічного гліально-капілярного забезпечення, а також динамікою зміни нейроно-гліально-капілярних відносин.

9. Пропонується використати застосований в роботі спосіб відтворення судорожних станів, розроблені морфометричні критерії та одержані в результаті досліджень кількісні характеристики для удосконалення методів лікування судорожних станів, тестування протиепілептичних та протисудорожних препаратів, оцінки епілептизації структур мозку.

Висловлюю подяку кандидату медичних наук В.Д.Карамішеву за значну консультативну допомогу при виконанні роботи.

Список робіт, опублікованих по темі дисертації.

1. Морфология гиппокампальных нейронов крыс после повторного эпистатуса // Вестник проблем современной медицины. - 1994, №2. - С.12-15. (Карамышев В.Д.)
2. К вопросу о значении соединительной ткани в формировании повышенной судорожной готовности мозга // Сб. трудов науч.-практич. конф. "Фундаментальные и прикладные аспекты нетрадиционной медицины". - Харьков,1992. - С. 175.
3. Сравнительная характеристика экспериментальных моделей судорожных состояний // Актуальные вопросы медицины: Тез. докл. 20-й науч.-практич. конф. молодых ученых и специалистов. - Харьков, 1992. - С. 97-98. (Карамышев В.Д.)
4. Морфологические изменения в гиппокампе при электрошоковом киндлинге // Актуальные вопросы патологической анатомии: Тез. докл. 21-й межобластной науч.-практич. конф. - С.10. (Карамышев В.Д.).
5. Усовершенствование ультрамикротомов серии УМТП с целью получения полутонких срезов заданной толщины в автоматическом режиме // Вестник проблем совр. медицины. - 1994, №4. - С. 114-117.
6. Изменение нейроно-глиально-капиллярных отношений в поле СА1 гиппокампа крыс в процессе формирования повышенной судорожной готовности // Вестн. пробл. совр. мед. - 1994, №7. - С. 86 - 71.
7. Особенности морфологии гиппокампа при электрошоковом киндлинге // Акт. пробл. нейрогистологии и нейроонтогенеза: Сб. тр. науч.-практич. конф., посв. 90-летию со дня рожд. Н.И.Зазыбина. - К.,1994.- С.28-29.(Карамышев В.Д.).

8. Нейроно-глиальные и нейроно-капиллярные соотношения в гиппокампе крыс с высокой судорожной готовностью // Структурные преобразования органов и тканей на этапах онтогенеза в норме и при воздействии антропогенных факторов. Проблемы экологии в медицине // Мат. международной конф., посв. 100-летию со дня рожд. проф. Н.В.Поповой-Латкиной. - Астрахань, 1996. - С. 119 (Масловский С.Ю., Карамышев В.Д.).
9. Основные морфологические изменения в гиппокампе при эпилепсии // Вестн. пробл. биол. и мед.-1996, №9. - С. 23-30.
10. Морфологические изменения в гиппокампе в условиях экспериментальных моделей эпилепсии // Вестн. пробл. биол. и мед.-1997, №1- С.44-52. (Карамышев В.Д.).
11. Нейроно-глиальные-капиллярные соотношения в пирамидном слое дорзального гиппокампа крыс // Вестн. пробл. биол. и мед.-1997, №4- С.116 - 124.

Степаненко А.Ю. Динамика морфологических изменений в гиппокампе в процессе формирования повышенной судорожной готовности мозга. Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.39 - патологическая анатомия. Рукопись. Харьковский государственный медицинский университет, Харьков, 1996 г.

На экспериментальной модели эпилепсии изучена динамика изменения нейроно-глиально-капиллярных отношений (НГКО) в полях СА1-СА4 гиппокампа в процессе формирования повышенной судорожной готовности мозга. предложены морфометрические критерии оценки НГКО, определены их количественные значения. Установлено, что в эпилептогенезе происходит перестройка НГКО, завершающаяся их стабилизацией на новом уровне, направленная на улучшение трофического обеспечения сохра-

нившихся нейронов. Степень "судорожного" повреждения нейронов в каждом из полей гиппокампа зависит от исходного состояния их трофического обеспечения и динамики изменения НГКО. Результаты исследований внедрены в практику.

Stepanenko A. Yu. Dynamic of morphological changes in hippocampus during the process of high epileptic reading formation of brain. Dissertation for candidate degree of medical sciences in the speciality 14.03.39 - Pathological Anatomy. Manuscript. Kharkov State Medical University, Kharkov, 1996.

With experimental model of epilepsy the dynamic of neuron-glia-capillar relationship changes have been investigated in hippocampal fields CA1-CA4 during high epileptic reading formation of brain. Morphometric criteria of neuron-glia-capillar relationships have been proposed. Its quantitative figures have been defined. It is determined that during epileptogenesis the reorganisation of neuron-glia-capillar relationships result in its stabilisation on new level for considerable improvement of neuron trophic. Initial state of neuron trophic and dynamic of its increasing determines the degree of "epileptic" neuron damage in all fields of hippocampus. Results of research work are used in practice.

Ключові слова: гіпокамп, епілепсія, підвищена судорожна готовність мозку, нейрони, капіляри, гліальні клітини.

Степаненко

435239

AB 37.305

АВТОРЕФЕРАТ

Відповідальний за випуск І.В.Сорокіна

Підписано до друку 17.02.1997 р. Формат 60×84/16.

Папір друкарський. Тираж 100 примірників. Замовлення № .

Надруковано на ризографі ООО "КиПі-РІЗО".
310166, м.Харків, пр. Леніна 17а, к. 405.