



А. М. Бекесевич

Морфологічні особливості структури кори мозочка щура в нормі та за умов тривалого впливу опіюду

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Ключові слова: кора мозочка, наркотики, експерименти на тваринах.

Протягом останніх десятиліть наркоманія становить не лише соціальну, а й передусім медичну проблему. З метою визначення особливостей мікроструктури кори мозочка щура в нормі та дослідження змін структурної організації кори мозочка, зумовлених введенням опіюду (налбуфіну), здійснили дослідження на 26 статевозрілих білих щурах-самцях віком 3,0–4,5 місяця і масою тіла 160–270 г. Для гістологічного дослідження зрізи кори мозочка фарбували гематоксилином та еозином. Встановили, що перші ознаки порушення структури кори мозочка щура з'являються вже через 2 тижні перебігу експериментального впливу налбуфіну. Протягом експерименту впродовж 6 тижнів наростають деструктивні зміни клітин кори мозочка та ланок гемомікроциркуляторного русла. Це свідчить, що 6-тижневе введення налбуфіну в експерименті призводить до дезорганізації мікроструктури та ангіоархітекτονіки кори мозочка.

Морфологические особенности структуры коры мозжечка крысы в норме и в условиях длительного воздействия опиоида

А. М. Бекесевич

На протяжении последних десятилетий наркомания является не только социальной, а прежде всего медицинской проблемой. С целью установления особенностей микроструктуры коры мозжечка крысы в норме и исследования изменений структурной организации коры мозжечка, обусловленных введением опиоида (налбуфина), проведено исследование на 26 половозрелых белых крысах-самцах в возрасте 3,0–4,5 месяца и массой тела 160–270 г. Для гистологического исследования срезы коры мозжечка окрашивали гематоксилином и еозином. Установлено, что первые признаки нарушения структуры коры мозжечка крысы появляются уже через 2 недели экспериментального воздействия налбуфина. В ходе эксперимента в течение 6 недель нарастают деструктивные изменения клеток коры мозжечка и звеньев гемомикроциркуляторного русла. Это свидетельствует, что 6-недельное введение налбуфина в эксперименте приводит к дезорганизации микроструктуры и ангиоархитектоники коры мозжечка.

Ключевые слова: кора мозжечка, наркотики, эксперименты на животных.

Запорожский медицинский журнал. – 2015. – №3 (90). – С. 82–85

Morphological features of the structure of the cerebellar cortex of rats in the norm and under prolonged exposure to the opioid

А. М. Бекесевич

In recent decades the issue of drug addiction has appeared to be not only a social, but medical problem.

Aim. To establish peculiarities of the microstructure of the rat's cerebellar cortex in the norm and to investigate changes in the structural organization of cerebellar cortex determined by injection of the opioid, particularly nalbuphine, in the experiment.

Methods and results. These investigations were carried out on 26 mature white male rats aged 3.0–4.5 months and body weight 160–270 g. The research material was presented by histological specimens of the rats' cerebellar cortex. Sections of the cerebellar cortex for histological examination were stained with hematoxylin and eosin. The first signs of disorders in the structure of the rat's cerebellar cortex have been detected already after 2 weeks of the experimental injection of nalbuphine. Destructive changes in cerebellar cortex cells and in the haemomicrocirculatory bloodstream increased gradually during 6 weeks of the experiment.

Conclusion. Thus, nalbuphine injection during 6 weeks of the experiment leads to disorganization of microstructure and angioarchitecture of cerebellar cortex.

Key words: Cerebellar Cortex, Opioid, Experimentation Animal, Nalbuphine, Narcotics.

Zaporozhye medical journal 2015; №3 (90): 82–85

Останніми роками відбувається стрімке зростання поширеності хронічного больового синдрому в загальній структурі захворюваності [2,3]. За даними епідеміологічних досліджень, поширеність синдрому хронічного болю (без урахування онкологічних захворювань) становить не менше ніж 40% серед дорослого населення, і цей показник має тенденцію до неухильного зростання [4,6].

Розвиток фармакотерапії наркотичними речовинами, серед яких усе частіше використовують такий опіюд, як налбуфін, потребує розробки заходів профілактики та корекції побічних ефектів та ускладнень [1,13]. Однак у фаховій

літературі майже відсутні відомості про зміни структури й ангіоархітекτονіки під впливом опіюдів.

Мета роботи

Встановлення особливостей мікроструктури кори мозочка щура в нормі та дослідження змін структурної організації кори мозочка, що зумовлені введенням опіюду (налбуфіну), в експерименті.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконали на 26 статевозрілих білих щурах-самцях віком 3,0–4,5 місяця та масою тіла 160–270 г. Мікроструктурну організацію й ангіоархітекτονіку кори мозочка щура



в нормі досліджували на 5 тваринах. Експериментальних тварин поділили на 3 групи. Першій групі піддослідних тварин (5 щурів) внутрішньом'язово вводили налбуфін протягом 2 тижнів (I тиждень – 8 мг/кг, II – 15 мг/кг); другій групі (5 щурів) внутрішньом'язово вводили налбуфін 4 тижні (I тиждень – 8 мг/кг, II – 15 мг/кг, III – 20 мг/кг, IV – 25 мг/кг); третій групі (5 щурів) внутрішньом'язово вводили налбуфін протягом 6 тижнів (I тиждень – 8 мг/кг, II – 15 мг/кг, III – 20 мг/кг, IV – 25 мг/кг, V – 30 мг/кг, VI – 35 мг/кг) [8]. Контроль – 6 білих щурів, яким вводили фізіологічний розчин.

Матеріал для дослідження – гістологічні препарати кори мозочка щура. Для гістологічного дослідження зрізи кори мозочка фарбували гематоксиліном та еозиним. Препарати вивчали та фотографували під мікроскопом МБИ-1 цифровим фотоапаратом Olympus FE210 при збільшеннях мікроскопа $\times 200$, $\times 400$.

Для морфометричного аналізу стану гемомікроциркуляторного русла кори мозочка використовували кількісні критерії: діаметр мікросудин, артеріоло-венулярний коефіцієнт.

Результати статистично опрацювали на комп'ютері за допомогою пакета прикладних програм для медико-біологічних та епідеміологічних досліджень «InStat».

Усіх тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Експерименти виконали відповідно до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальними та іншими науковими цілями (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986 р.), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, що ухвалені I Національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Результати та їх обговорення

У корі мозочка щура в нормі можна чітко виділити три шари: молекулярний, гангліонарний і зернистий (рис. 1).

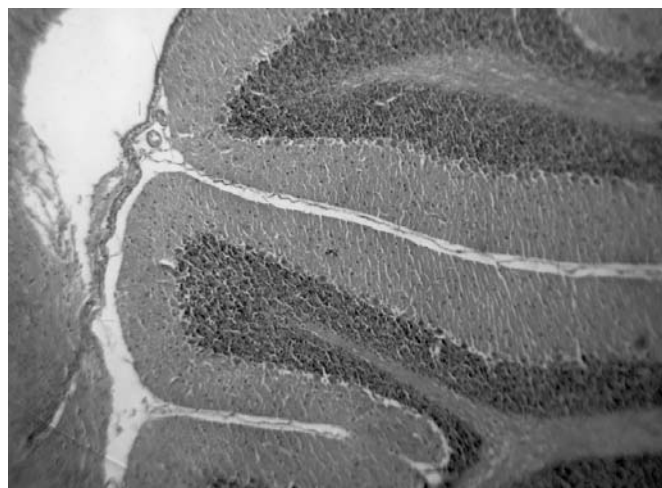


Рис. 1. Кора мозочка білого щура в нормі. Мікрофото. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 10$.

Молекулярний шар сформований тілами зірчастих і кошикових клітин. Аксони кошикових клітин спрямовані горизонтально над грушоподібними клітинами. Зірчасті

клітини – у вигляді дрібних і великих крапок. У молекулярному шарі також чітко простежуються дендрити грушоподібних нейроцитів. Гангліонарний шар мозочка представлений одним рядом гангліонарних клітин грушоподібної форми. Гангліонарні клітини мають розширену основу та звужену верхівку. Саме від звуженої верхівки грушоподібних клітин радіально відходять 2–3 дендрити, котрі утворюють численні розгалуження в молекулярному шарі кори. Від розширеної основи гангліонарних нейронів також відходять відростки (аксони) до сусідніх грушоподібних клітин і до підкіркових ядер мозочка.

Зернистий шар кори мозочка щура прилягає до білої речовини мозочка. У зернистому шарі можна виділити зернисті клітини, зірчасті, горизонтальні й веретеноподібні. Аксони зернистих клітин проходять молекулярний шар, контактуючи там із дендритами грушоподібних, кошикових і зірчастих клітин. Результати наших досліджень доповнюють і підтверджують поодинокі дані фахової літератури про особливості мікроструктурної організації кори мозочка [11].

Усі шари кори мозочка добре васкуляризовані. Гемомікроциркуляторне русло кори мозочка містить артеріоли, прекапілярні артеріоли, капіляри, посткапілярні венули, венули. Капіляри анастомозують між собою й утворюють капілярну сітку.

Перші морфологічні зміни структури та ангіоархітекtonіки кори мозочка виявили через 2 тижні введення щурам налбуфіну (рис. 2).

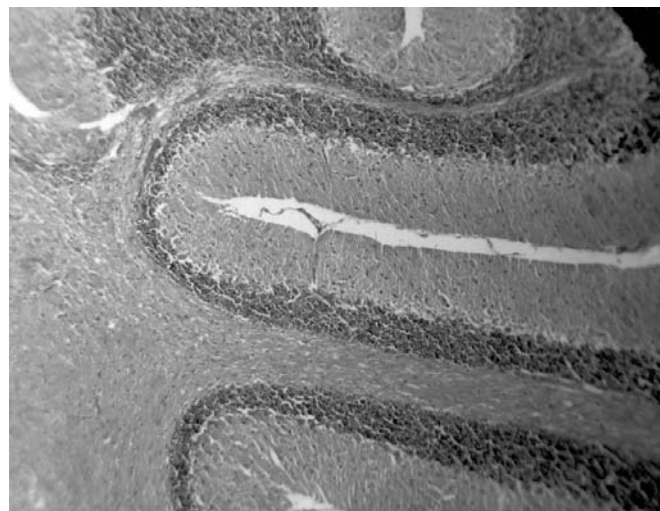


Рис. 2. Кора мозочка білого щура через 2 тижні введення налбуфіну. Мікрофото. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 10$.

Поодинокі зірчасті клітини змінюють свою форму. Подекуди відзначали перичелюлярний набряк. Цитоплазма деяких гангліонарних клітин просвітлена, містить вакуолі. У ділянках зернистого шару виявили поодинокі просвітлення. Артеріоли та капіляри кори мозочка помітно розширені, діаметр – $23,6 \pm 0,1$ мкм (контроль – $20,5 \pm 0,2$ мкм). Виявили незначний набряк ендотелію, просвіт артеріол нерівномірний, венули незначно дилатовані, діаметр венул становить $31,8 \pm 1,0$ мкм (контроль – $29,0 \pm 3,0$ мкм), відповідно артеріоло-венулярний коефіцієнт збільшується до

0,742±0,005 (контроль – 0,706±0,003), капіляри гіперемовані. Подібні явища ангіопатії спостерігали при 2-тижневому впливі налбуфіну на мікроструктуру інших органів [5,12]. Це свідчить про реакцію ланок гемомікроциркуляторного русла на введення опію, що є підґрунтям для розвитку системних структурних змін. Через 4 тижні введення налбуфіну клітини молекулярного шару стають видовженими, але ядра більшості клітин збережені. Навколо клітин виявили перицелюлярний набряк. Гангліонарні нейрони набрякли, їхня цитоплазма просвітлена, містить вакуолі; ядра збільшені, зміненої форми (рис. 3).

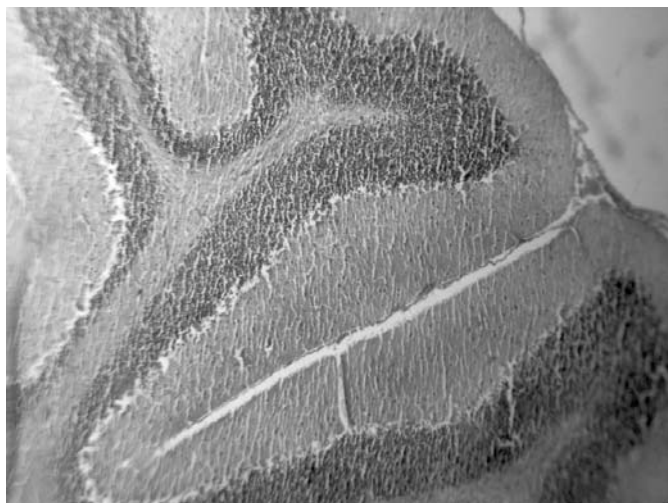


Рис. 3. Кора мозочка білого щура через 4 тижні введення налбуфіну. Мікрофото. Зб.: об. x 20, ок. x 10.

У зернистому шарі спостерігали формування видовжених порожнин, що класифікували як мікрокісти. Втрачається чіткість меж шарів. Питання патогенезу структурних змін як мозочка, так і інших органів за умов впливу опію залишаються дискусійними та потребують уточнення.

Порушення структурної організації кори мозочка, на нашу думку, можна пояснити даними фахової літератури: антитіла до опію мають специфічні сайти зв'язування в певних структурах головного мозку, зокрема в зернистому шарі кори мозочка [7]. Стінки артеріол потовщені внаслідок плазматичного просякнення. Виявили мікроаневризми капілярів, периваскулярно – дрібні лімфоцитарні інфільтрати. Венули дилатовані, повнокровні.

Через 6 тижнів експерименту визначили глибокі деструктивні зміни в усіх шарах кори мозочка (рис. 4).

Зірчасті та кошикові клітини мають змінену форму. Виявили значні ділянки, в яких відсутні клітини молекулярного шару. Наявні клітини містять вакуолі, що свідчить про вакуольну дистрофію. Спостерігали розрідження відростків клітин. Грушоподібні нейрони дезорганізовані, втрачають відростки, ядра деяких із них збільшені, зміненої форми. Цитоплазма таких клітин вузька, нерівномірно зафарбована. Часто відзначають зморщені (пікнотичні) ядра грушоподібних нейронів. У деяких гангліонарних клітинах відбувається каріорексис. Грушоподібні клітини розміщені далеко одна від одної. У зернистому шарі виявили безклітинні ділянки, мікрокісти. Шар має неоднакову товщину,

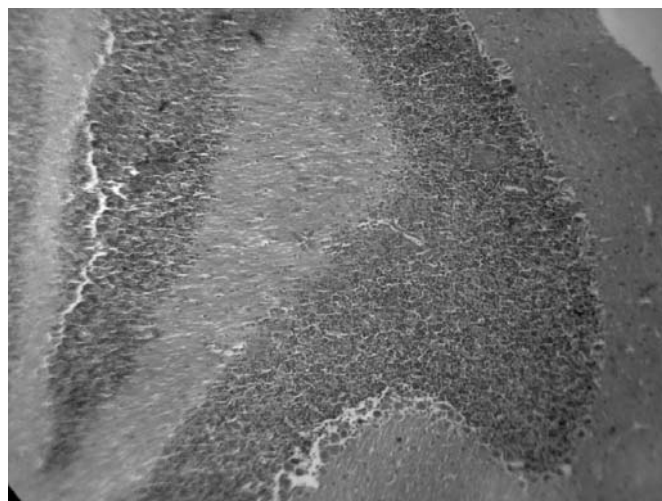


Рис. 4. Кора мозочка білого щура через 6 тижнів введення налбуфіну. Мікрофото. Зб.: об. x 20, ок. x 10.

розпушений, що свідчить про вогнищеві некротичні зміни його клітин.

Переважає більшість авторів відзначають розвиток глибоких змін ангіоархітекtonіки органів при тривалому впливі налбуфіну. Так, описана деструктивна перебудова ланок гемомікроциркуляторного русла судинної оболонки очного яблука та підшлункової залози за умов 6-тижневого введення налбуфіну. Це підтверджується і нашими спостереженнями: через 6 тижнів експерименту навколо ланок гемомікроциркуляторного русла спостерігали набряк, діapedезні крововиливи, у просвіті мікросудин – агрегацію еритроцитів, адгезію. Діаметр капілярної петлі кори мозочка зменшується до $5,19 \pm 0,04$ мкм ($p < 0,05$), а діаметр артеріол – до $18,3 \pm 0,1$ мкм ($p < 0,05$). Виявили ознаки застою, повнокров'я, проліферацію ендотелію; стінка артеріол нерівномірно потовщена, звивиста з явищами гіалінозу. Венули різко розширені, повнокровні. Діаметр венул становить $30,8 \pm 0,3$ мкм, артеріоло-венулярний коефіцієнт знижується до $0,610 \pm 0,004$ ($p < 0,05$). Подібні зміни ангіоархітекtonіки за умов 6-тижневого впливу налбуфіну описані на прикладі судинної оболонки очного яблука, а також підшлункової залози [9,10].

Висновки

1. Перші ознаки порушення структури кори мозочка щура виявили вже через 2 тижні перебігу експериментального впливу налбуфіну: зміна форми клітин кори мозочка, просвітлення цитоплазми, формування вакуолей, розвиток мікроангіопатій.

2. Під час експерименту протягом 6 тижнів наростають деструктивні зміни клітин кори мозочка та ланок гемомікроциркуляторного русла, що призводить до дезорганізації структури мозочка.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні кори мозочка як в експерименті, так і у клініці для пошуку найефективніших методів лікування патології мозочка, що зумовлена застосуванням наркотичних середників.



Список літератури

1. Голубев В.Л. Психологические установки пациента и переживание боли / В.Л. Голубев, А.Б. Данилов // Российский медицинский журнал. – 2010. – Т. 18. – №31. – С. 2–5.
2. Зріз наркотичної ситуації в Україні (дані 2010 року) / А.М. Вієвський, М.П. Жданова, С.В. Сидяк та ін. – К., 2011. – 22 с.
3. Зріз наркотичної ситуації в Україні (дані за 2011 р.) / А.М. Вієвський, М.П. Жданова, С.В. Сидяк та ін. – К., 2012. – 25 с.
4. Крыжановский Г.Н. Важное событие в отечественной медицине / Г.Н. Крыжановский // Российский журнал боли. – 2003. – №1(1). – С. 4–5.
5. Онисько І.О. Зміни на світлооптичному рівні у структурах язика, які спровоковані впливом малих доз опіюду протягом 14-ти і 28-ми діб / І.О. Онисько, Р.М. Онисько // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2013. – №3. – С. 20–25.
6. Павленко С.С. Организация медицинской помощи больным с хроническими болевыми синдромами / С.С. Павленко, В.Н. Денисов, Г.И. Фомин. – Новосибирск : Новосибирский полиграфкомбинат, 2002. – 221 с.
7. Панкова Т.М. Выявление сайтов связывания антител к морфину в головном мозге крыс / Т.М. Панкова, Н.С. Сорокина, М.В. Старостина // Сибирский научный медицинский журнал. – 2004. – Т. 24. – №3. – С. 156–159.
8. Пат. №76564 У Україна, МПК А 61 К 31/00 Спосіб моделювання фізичної опіюдної залежності у щурів / заявники: Р.М. Онисько, С.В. Пальтов, В.Б. Фік, І.В. Вільхова, Ю.Я. Кривко, Н.Я. Якимів, О.С. Фітькало; патентовласник: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. – №u201207124; заявл. 12.06.2012; опубл. 10.01.2013 // Бюл. №1.
9. Підвальна У.Є. Структурні особливості судинної оболонки очного яблука за умов довготривалого опіюдного впливу в експерименті / У.Є. Підвальна // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2014. – Т. 14. – №4(48). – С. 209–212.
10. Попик П.М. Морфологічні зміни судин підшлункової залози при перитоніті, спричиненому введенням налбуфіну в експерименті / П.М. Попик // Вісник морфології. – 2014. – №1. – С. 170–172.
11. Фомина К.А. Анатомо-морфологическая характеристика головного мозга крыс различного возраста после ингаляционного воздействия эпихлоргидрина / К.А. Фомина // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – Т. 7. – №2. – С. 153–156.
12. Якимів Н.Я. Мікроструктурна характеристика райдужно-рогівкового кута очного яблука щурів при опіюдному впливі / Н.Я. Якимів, Ю.Я. Кривко // Світ медицини та біології. – 2013. – №4. – С. 117–120.
13. Яхно Н.Н. Невропатическая и скелетно-мышечная боль. Современные подходы к диагностике и лечению / Н.Н. Яхно, А.Н. Баринов, Е.В. Подчухарова // Клиническая медицина. – 2008. – Т. 86. – №11. – С. 9–15.
2. Viievskiy, A. M., Zhdanova, M. P., Sydiak, S. V., et al. (2011). *Zriz narkotychnoi sytuatsii v Ukraini (dani 2010 roku)* [Cut drug situation in Ukraine (data 2010)]. [in Ukrainian].
3. Viievskiy, A. M., Zhdanova, M. P., Sydiak, S. V., Beznohykh, V. S., Hryshchenko, A. I., & Lepekha, K. I. (2012). *Zriz narkotychnoi sytuatsii v Ukraini (dani za 2011 r.)* [Cut drug situation in Ukraine (data 2011)]. [in Ukrainian].
4. Kryzhanovskij, G. N. (2003). *Vazhnoe sobytie v otechestvennoj medicine* [An important event in the domestic medicine]. *Rossiiskij zhurnal boli*, 1, 4–5. [in Russian].
5. Onysko, I. O., & Onysko, R. M. (2013) *Zminy na svitlooptychnomu rivni u strukturakh yazyka, yaki sprovokovani vplyvom malykh doz opiodu protiahom 14-ty i 28-my dib* [Changes of the tongue in the microstructural level under the influence of small doses of opioids during 14 and 28 days] *Eksperymentalna ta klinichna fiziolohiia i biokhimiia*, 3, 20–25. [in Ukrainian].
6. Pavlenko, S. S., Denisov, V. N., & Fomin, G. I. (2002). *Organizatsiya medicinskoj pomoschi bol'nym s khronicheskimi boleвыми sindromami* [Organization of medical care for patients with chronic pain syndromes]. Novosibirsk: Novosibirskij poligrafkombinat [in Russian].
7. Pankova, T. M., Sorokina, N. S., Starostina, M. V. (2004). *Vyavlenie sajtov svyazyvaniya antitel k morfinu v golovnom mozge krysa* [Identification of sites for specific binding of antibodies to morphine in rat's brain]. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal*, 24(3), 156–159. [in Russian].
8. Onysko, R. M., Paltov, Ye. V., Fik, V. B., Vilkhova, I. V., Kryvko, Yu. Ya., Yakymiv, N. Ya., & Fitkalo, O. S. (patentee) (2013) Patent №76564 Sposib modeliuвання fizychnoi opiodnoi zalezhnosti u shchuriv [Patent №76564 Method simulation of physical opioid dependence in rats]. *Biuletyn*, 1 [in Ukrainian].
9. Pidvalna, U. Ye. (2014). *Strukturni osoblyvosti sudynnoi obolonky ochnoho yabluka za umov dovhotryvaloho opiodnoho vplyvu v eksperymentі* [Structural features of the choroid under the opioid long term influence in the experiment]. *Visnyk Ukrain'skoi medychnoi stomatolohichnoi akademii*, 4(48), 209–212. [in Ukrainian].
10. Popyk, P. M. (2014) *Morfologichni zminy sudyn pidshlunkovoi zalozy pry perytoniti, sprychynenomu vvedenniam nalbufinu v eksperymentі* [The morphological changes of the pancreatic gland vessels in case of peritonitis caused by nalbuphine in the experiment]. *Visnyk morfologii*, 1, 170–172. [in Ukrainian].
11. Fomina, K. A. (2012) *Anatomo-morfologichna kharakterystyka golovnoho mozga krysa razlichnogo vozrasta posle ingalyacionnogo vozdejstviya epikhlorgidrina* [The anatomic and morphofunctional characteristic of the brain of different aged rats after inhalation exposure of epichlorhydrinum]. *Ukrainskyi zhurnal klinichnoi ta laboratornoi medytsyny*, 7(2), 153–156. [in Ukrainian].
12. Yakumiv, N. Ya., & Kryvko, Yu. Ya. (2013) *Mikrostrukturna kharakterystyka raiduzhno-rohivkovoho kuta ochnoho yabluka shchuriv pry opiodnomu vplyvi* [The microstructural characteristics of irido-corneal angle of eye of rats under the influence of opioids]. *Svit medytsyny ta biolohii*, 4, 117–120. [in Ukrainian].
13. Yakhno, N. N., Barinov, A. V., & Podchufarova, E. V. (2008). *Nevropaticheskaya i skeletno-myshechnaya bol'. Sovremennye podkhody k diagnostike i lecheniyu* [Neuropathic and skeletal-muscle pain. Current approaches to diagnosis and treatment]. *Klinicheskaya medicyna*, 86(11), 9–15. [in Russian].

References

1. Golubev, V. L., & Danilov, A. B. (2010). *Psikhologicheskie ustanovki pacienta i perezhivanie boli* [Attitudes and experience of the patient's pain], *Rossiiskij medicinskij zhurnal*, 18(31), 2–5. [in Russian].

Відомості про автора:

Бекесевич А. М., здобувач каф. нормальної анатомії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, E-mail: rombek75@gmail.com.

Сведения об авторе:

Бекесевич А. М., соискатель каф. нормальной анатомии, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, E-mail: rombek75@gmail.com.

Information about author:

Bekesevych A. M., professor's assistant, researcher of the Human Anatomy Department of the Lviv National Medical University, E-mail: rombek75@gmail.com.

Поступила в редакцию 04.03.2015 г.