

УДК 611.817.12+[616.831.711:616.89-008.441.13]-018.1-019

Л.Р. Матешук-Вацеба, А.М. Бекесевич

Кафедра нормальної анатомії (зав. – доц. В.Б. Фік) Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ КОРИ МОЗОЧКА ЩУРА ЗА УМОВ 6-ТИЖНЕВОГО ВВЕДЕННЯ ОПОЇДУ

Резюме. З метою дослідження змін структури та ангіоархітекτονіки кори мозочка щура, обумовлених довготривалим введенням опіюду, зокрема налбуфіну, проведено дослідження на 26 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 3,0-4,5 місяців і масою тіла 180-220 г. Матеріали дослідження представлені препаратами мозочка щурів з ін'єцированим судинним руслом, гістологічними препаратами та ультраструктурними зрізами мозочка. Результати дослідження свідчать про глибокі деструктивні зміни клітин кори мозочка і ланок гемомікроциркуляторного русла. Виразно виступає зв'язок між глибиною структурних перетворень кори мозочка і морфометричними показниками ланок гемомікроциркуляторного русла за 6-тижневого впливу опіюду. Гемомікроциркуляторне русло кори мозочка після довготривалого введення налбуфіну знаходиться на стадії декомпенсації, коли капілярний компонент зруйнований, артеріоли різко покручені, деформовані, просвіт їх нерівномірний, венули розширені і деформовані.

Ключові слова: кора мозочка, структура, ангіоархітектоніка, опіюд, експеримент.

Хронічний біль завдає значної шкоди не тільки хворому індивіду, а й суспільству загалом, призводячи до величезних економічних втрат [1]. За даними дослідження Pain in Europe, в якому брали участь 46000 пацієнтів із 16 країн, від хронічного болю потерпає 19% дорослого населення. У середньому тривалість болю становить 7 років, а кожен п'ятий хворий відчуває біль упродовж 20 років та більше [2]. Залежно від інтенсивності болю використовують ряд препаратів, серед яких, препарати опіюдного ряду [3]. До опіюдів належать власне алкалоїди опійного маку (морфін, кодеїн та ін.), а також низка напівсинтетичних (налбуфін, героїн, етилморфін та ін.) і цілком синтетичних (метадон, трамадол та ін.) [4]. Систематичне вживання наркотичних речовин спричиняє значні зміни в функції головного мозку і поведінці – від втрати нервових клітин до фізичної залежності та параноїдального психозу [5]. Розвиток фармако-терапії наркотичними середниками вимагає розробки заходів профілактики та корекції викликаних ними побічних ефектів і ускладнень, зміни структурної організації органів, у тому числі і мозочка, чутливого до медикаментозного впливу внаслідок особливостей своєї будови та функції [2].

Мета дослідження: з'ясувати особливості структури та кровоносних судин кори мозочка за

умов довготривалого впливу опіюду в експерименті.

Матеріал і методи. Дослідження виконані на 26 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 3,0-4,5 місяців і масою тіла 160-270 г. Експериментальним тваринам вводили внутрішньом'язово налбуфін за наступною схемою: I тиждень – 8 мг/кг, II тиждень – 15 мг/кг, III тиждень – 20 мг/кг, IV тиждень – 25 мг/кг, V тиждень – 30 мг/кг, VI тиждень – 35 мг/кг [6]. Забір матеріалу проводили через 6 тижнів введення препарату. Контролем слугували 9 білих щурів, яким вводили фізіологічний розчин.

Усіх тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, експерименти проведені відповідно з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986р.), Закону України № 3447-IV “Про захист тварин від жорстокого поводження”, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001р.).

Матеріали дослідження представлені препаратами мозочка щурів з ін'єцированим судинним

© Матешук-Вацеба Л.Р., Бекесевич А.М., 2015

руслom, гістологічними препаратами та ультраструктурними зрізами мозочка. Для гістологічного дослідження зрізи кори мозочка фарбували гематоксилином і еозином. Препарати вивчали та фотографували під мікроскопом МБІ-1 цифровим фотоапаратом Olymrus FE210 при збільшенні мікроскопа: $\times 200$.

Для ін'єкції кровоносного русла мозочка як ін'єкційну масу застосовували туш. Просвітлення зрізів мозочка проводили в гліцерині з 96% етиловим спиртом у співвідношенні 1:1 упродовж 3 діб, потім у чистому гліцерині. Препарати вивчали та фотографували під мікроскопом МБІ-1 цифровим фотоапаратом Olymrus FE210 при збільшеннях: Об. 20, ок. 8.

Для морфометричного аналізу стану гемомікроциркуляторного русла кори мозочка використовували наступні кількісні критерії: діаметр мікросудин, артеріоло-венулярний коефіцієнт, коефіцієнт звивистості, щільність сітки обмінних судин (кількість капілярів на одиницю площі), показник трофічної активності тканини (відстань між двома сусідніми капілярами). Статистичне опрацювання результатів дослідження проводили на комп'ютері за допомогою пакета прикладних програм для медико-біологічних та епідеміологічних досліджень "InStat".

Ультраструктурне дослідження кори мозочка щура проводили на електронному мікроскопі УЕМВ-100К (Україна) при прискорюючій напрузі 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопа $\times 8000$. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікромомі УМТП-3М за допомогою скляних ножів, виготовлених на приладі ССН-1.

Результати дослідження та їх обговорення.

Через 6 тижнів введення експериментальним тваринам налбуфіну на гістологічних препаратах кори мозочка виявлені глибокі деструктивні зміни в усіх шарах (рис. 1).

У молекулярному шарі виявляються ділянки, де відсутні клітини. Найвні зміненої форми вакуолізовані кошикові та зірчасті клітини, що

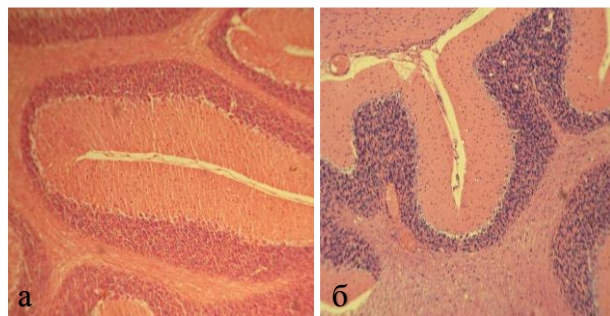


Рис. 1. Кора мозочка білого щура в нормі (а) та через 6 тижнів введення налбуфіну (б). Мікрофото. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 10$

свідчить про вакуольну дистрофію. Спостерігається розрідження відростків клітин. Цитоплазма клітин гангліонарного шару вузька, нерівномірно зафарбована. Грушоподібні клітини дезорганізовані, втрачають відростки, ядра деяких з них збільшені, зміненої форми. На деяких ділянках гангліонарного шару, навпаки, спостерігаються клітини зі зморщеними (пікнотичними) ядрами. В частини грушоподібних клітин відбувається каріорексис. У гангліонарному шарі клітини розміщені далеко одна від іншої, наявні ділянки, де відсутні клітини. Навколо клітин виявлено перицелюлярний набряк. У зернистому шарі спостерігається формування видовжених порожнин, які ми вважаємо мікрокістами. Виявлено безклітинні ділянки. Шар розпушений, має неоднакову товщину, що свідчить про вогнищеві некротичні зміни клітин цього шару. В корі мозочка втрачається чіткість меж шарів. При дослідженні ангіоархітектоніки кори мозочка за умов довготривалого впливу налбуфіну у просвіті мікросудин спостерігається агрегація еритроцитів, адгезія, повнокрів'я, ознаки застою, виявлено порушення цілості судин, проліферацію ендотелію, стінка артеріол нерівномірно потовщена, звивиста з явищами гіалінозу. Спостерігається набряк навколо ланок гемомікроциркуляторного русла, діapedезні крововиливи.

На препаратах мозочка з ін'єктованим кровоносним руслом через 6 тижнів введення налбуфіну спостерігаються порушення структурної організації гемомікроциркуляторного русла кори мозочка (рис. 2), що підтверджується морфометричними показниками.

Діаметр капілярної петлі кори мозочка зменшується до $5,19 \pm 0,04$ мкм (контроль – $5,81 \pm 0,21$ мкм, $p < 0,05$), діаметр артеріол зменшується до $18,3 \pm 0,1$ мкм (контроль – $20,5 \pm 0,2$ мкм, $p < 0,05$). Вени різко розширені, діаметр венул становить $30,8 \pm 0,3$ мкм (контроль – $29,0 \pm 3,0$ мкм, $p < 0,05$), артеріоло-венулярний коефіцієнт знижується до $0,610 \pm 0,004$ (контроль – $0,706 \pm 0,003$, $p < 0,05$),

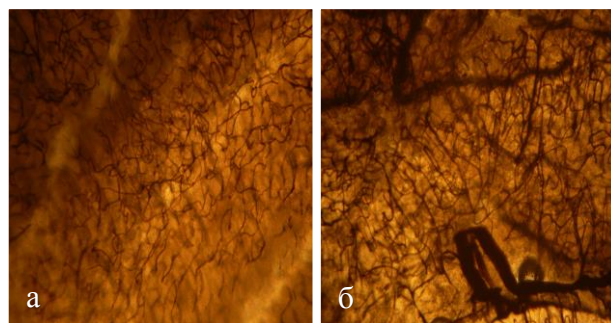


Рис. 2. Кора мозочка білого щура в нормі (а) та через 6 тижнів введення налбуфіну (б). Мікрофото. Ін'єкція судин. Об. $\times 20$, ок. $\times 8$

щільність сітки обмінних судин різко зменшується і становить $49,6 \pm 0,4$ (контроль – $60,8 \pm 5,4$, $p < 0,05$), а показник трофічної активності тканини збільшується до $50,1 \pm 2,3$ мкм (контроль – $46,3 \pm 3,4$ мкм, $p < 0,05$).

При електронномікроскопічному дослідженні кори мозочка встановлено, що тривале введення налбуфіну експериментальним тваринам обумовлює ознаки дегенеративних змін різного ступеня розвитку у нейронах кори мозочка (рис. 3).

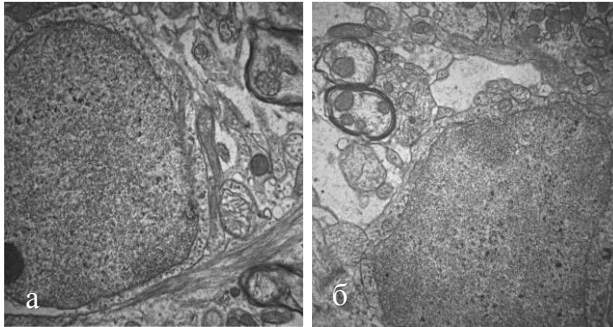


Рис. 3. Ультраструктура кори мозочка щура в нормі (а) та через 6 тижнів введення налбуфіну (б). Електроннограма. Зб. 8000

На електронних мікрофотографіях ультратонких зрізів кори мозочка щурів у перикаріонах нейронів усіх шарів виявлені морфологічні ознаки патологічних змін. Нервові клітини дезорганізовані. Межі між ними нечіткі. Форма клітин порушена. Трапляються нейроцити з високою електронною щільністю нуклео- і нейроплазми. Ядра неправильної форми, займають всю клітину. Нуклеолема утворює випини, що мають вигляд передпикнотичних. Ядерця часто не виявляються. На тлі ущільненості та вакуолізації цитоплазми нейрона видно нечисленні округлої форми мітохондрії з просвітленим матриксом. Контури внутрішньої мембрани мітохондрій нечіткі, кристи деструктуризовані, простори між ними розширені. Канальці гранулярного ендоплазматичного ретикулу нерівномірно розширені, фрагментовані.

Просвіти артеріол та прекапілярних артеріол кори мозочка розширені, ядра ендотеліальних клітин великих розмірів, їх нуклеолема утворює пальцеподібні та куполоподібні випини. Стінка артеріол та прекапілярних артеріол потовщена, склерозована. Внутрішньоклітинні мембранні структури, зокрема мітохондрії та ендоплазматична сітка, не мають чітких контурів. Люменальна поверхня ендотеліоцитів утворює значну кількість дрібних мікрворсинок, а цитоплазма містить вакуолізовані мітохондрії, в ній мало рибосом, полісом, піноцитозних міхурців. У просвітах артеріол виявлено пристінкові тромби. Просвіти

капілярів кори мозочка звужені за рахунок набряку цитоплазми ендотеліоцитів, а також випинів цитоплазми в просвіт. Просвіти гемокапілярів заповнені скупченнями еритроцитів, в місцях розпушення плазмолем еритроцитів на люменальній поверхні ендотеліальних клітин виявлено їх злипання. Виявлено ділянки адгезії еритроцитів до ендотелію (рис. 4). Цитоплазма ендотеліоцитів наповнена преципітатами та коагулятами. Базальна мембрана гемокапілярів є потовщеною, розшарованою, містить електроннощільні депозити. Венули повнокровні. В просвітах венул знаходяться ацидофільні лейкоцити, тромбоцити, еритроцити. Міжэндотеліальні контакти розширені, що вказує на діapedез лейкоцитів через стінки венул. Базальна мембрана венул розпушена.

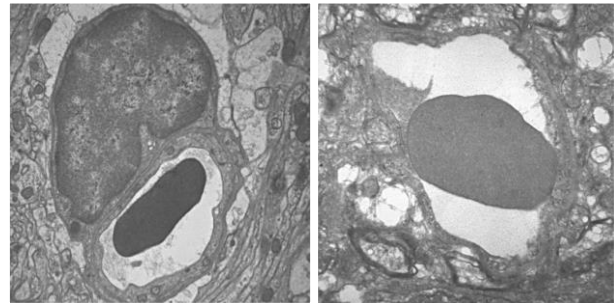


Рис. 4. Ультраструктура капіляра кори мозочка щура в нормі (а) та через 6 тижнів введення налбуфіну (б). Електроннограма. Зб. 8000

Висновки. 1. Макро-, мікро- та електронно-мікроскопічне дослідження кори мозочка щура після 6-тижневого введення налбуфіну показали патологічні зміни ангіоархітектоніки та структури нейроцитів усіх шарів кори мозочка. Виявлено глибокі деструктивні зміни нейроцитів, їх органел, просвітленням цитоплазми, формуванням вакуолей, а також розвитком мікроангіопатій. 2. Виразно виступає зв'язок між глибиною структурних перетворень гемомікроциркуляторного русла кори мозочка і морфометричними показниками за довготривалого впливу опіюду. Зміни, порівняно з контролем, діаметра артеріол, венул, капілярної петлі, щільності сітки обмінних судин, артеріоло-венулярного коефіцієнта, показника трофічної активності тканини свідчать про деструктивні зміни ланок гемомікроциркуляторного русла кори мозочка за впливу налбуфіну.

Перспективи подальших досліджень. Відомості, представлені в статті, можуть бути використані для подальшого дослідження кори мозочка, як в експерименті, так і в клініці, з метою пошуку найефективніших методів лікування патології мозочка, обумовленої застосуванням наркотичних середників.

Список використаної літератури

1. Павленко С.С. Организация медицинской помощи больным с хроническими болевыми синдромами / С.С. Павленко, В.Н. Денисов, Г.И. Фомин. – Новосибирск: ГП “Новосибирский полиграфкомбинат”, 2002. – 221 с. 2. Bailey С.Р. Opioids: cellular mechanisms of tolerance and physical dependence / С.Р. Bailey, М. Connor // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2005. – V. 5, № 1. – P.60-68. 3. Давидович О.В. Фармакотерапія болювого синдрому / О.В. Дачидович, В.С. Копча, К.О. Маслій // *Рациональная фармакотерапия.* – 2011. – № 4(21). – С. 66-68. 4. Востриков В.В. Биохимические маркеры алкогольной и опиатной зависимости / В.В. Востриков, В.П. Павленко, П.Д. Шабанов // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии.* – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 18-55. 5. Пиголкин Ю.И. Морфологические изменения внутренних органов при опиоидной наркомании / Ю.И. Пиголкин // *Архив патолог.* – 2002. – № 1. – С. 3-5. 6. Пат. №76564 У Україна, МПК А 61 К 31/00. Спосіб моделювання фізичної опіоїдної залежності у щурів / заявники: Онисько Р.М., Пальтов Є.В., Фік В.Б., Вільхова І.В., Кривко Ю.Я., Якимів Н.Я., Фітькало О.С.; патентовласник: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. – № u201207124; заявл. 12.06.2012; опубл. 10.01.2013, Бюл. № 1.

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КОРЫ МОЗЖЕЧКА КРЫСЫ В УСЛОВИЯХ 6- НЕДЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЕ ОПИОИДОВ

Резюме. С целью исследования изменений структуры и ангиоархитектоники коры мозжечка крысы, обусловленных длительным введением опиоида, в частности налбуфина, проведено исследование на 26 половозрелых белых крысах-самцах в возрасте 3,0-4,5 месяцев и массой тела 180-220 г. Материалы исследования представлены препаратами мозжечка крыс с инъцированным сосудистым руслом, гистологическими препаратами и ультраструктурными срезами мозжечка. Результаты исследования свидетельствуют о глубоких деструктивных изменениях клеток коры мозжечка и звеньев гемомикроциркуляторного русла. Отчетливо выступает связь между глубиной структурных преобразований коры мозжечка и морфометрическими показателями звеньев гемомикроциркуляторного русла после 6-недельного воздействия опиоида. Гемомикроциркуляторное русло коры мозжечка после длительного введения налбуфина находится в стадии декомпенсации, когда капиллярный компонент разрушен, артериолы резко извитые, деформированные, просвет их неравномерный, венулы расширены и деформированы.

Ключевые слова: кора мозжечка, структура, ангиоархитектоника, опиоид, эксперимент.

STRUCTURAL ORGANIZATION OF RAT CEREBELLAR CORTEX UNDER CONDITIONS OF 6-WEEK INTRODUCTION OF OPIOIDS

Abstract. The objective of this study was to investigate changes of the circulatory bed and of the structural organization of cerebellar cortex determined by injection of an opioid, particularly nalbupin in the experiment. These investigations were carried out on 26 mature albino male rats aged 3.0-4.5 months and body weight 180-220 g. The research material was presented by histological specimens and ultrastructural slices of the rats' cerebellar cortex, preparations of the rats' cerebellum with injected vascular bed. These findings demonstrate deep destructive changes in the cerebellar cortex hemomicrocirculatory bed and in the cells of the cerebellar cortex. The relationship between the depth of cerebellar cortex structural transformations and morphometric indices of the hemomicrocirculatory bed after longer opioid impact is definitely observed. Cerebellum cortex hemomicrocirculatory bed after 6 weeks of injecting nalbupin appears at the stage of decompensation, when the capillary component is destroyed, arterioles sharply twisted, deformed, their lumen is uneven, venules dilated and deformed.

Key words: cerebellum cortex, hemomicrocirculatory bed, structure, opioid, experiment..

Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv)

Надійшла 05.05.2015 р.

Рецензент – проф. Гнатюк М.С. (Тернопіль)