

© Б.Г. Макар, А.М. Бекесевич, 2015 р.

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

Б.Г. МАКАР¹, А.М. БЕКЕСЕВИЧ²

¹Буковинський державний медичний університет, кафедра анатомії людини, Чернівці;

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра нормальної анатомії, Львів

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МОЗОЧКА БІЛОГО ЩУРА В НОРМІ ТА ЗА УМОВ ДВОТИЖНЕВОГО ВВЕДЕННЯ ОПІОЇДУ

У статті подані дані щодо змін структури та ангіоархітектоніки кори мозочка щура, зумовлених двотижневим введенням опіоїду – налбуфіну. Дослідження проведено на 24 статевозрілих білих щурах-самцях (4,5–6,0-місячних) масою тіла 180–220 г. Матеріали дослідження представлені препаратами мозочка білих щурів з ін'єкованим судинним руслом, гістологічними препаратами та ультрамікроскопічними зрізами мозочка. Вже через 2 тижні експериментального впливу налбуфіну виявляємо перші ознаки порушення структури та ангіоархітектоніки кори мозочка щура, що проявляється розвитком мікроангіопатій, зміною форми клітин кори мозочка, просвітленням їхньої цитоплазми, формуванням вакуолей. Відомості, представлені в статті, можуть бути використані для подальшого дослідження кори мозочка як в експерименті, так і в клініці, з метою пошуку найефективніших методів профілактики та лікування патології мозочка, зумовленої застосуванням наркотичних середників.

Ключові слова: мозочок, структура, гемомікроциркуляторне русло, опіоїд, експеримент

Вступ. Мозочок не можна оцінювати як функціонально ідентичний орган, оскільки він не тільки є структурою центральної нервової системи в координації рухів, регуляції ходи і м'язового тону, але й має важливе значення у виконанні довільних рухів, які відбуваються за безпосередніми зв'язками з корою півкуль великого мозку та під її контролем [4]. Мозочок здійснює також регуляцію психічних процесів, когнітивного статусу, вегетативних функцій [8]. У фаховій літературі відображена еволюція вивчення соматотопічної організації функцій мозочка [1]. Так сенсомоторна функція локалізується переважно у передній, а когнітивні функції представлені у задній частці мозочка. Патологічні чинники зовнішнього середовища, в тому числі і систематичне вживання наркотичних речовин спричиняє значні зміни функції головного мозку і поведінки – від втрати нервових клітин до фізичної залежності та параноїдального психозу [6, 9, 10]. Розвиток фармакотерапії наркотичними середниками вимагає розробки заходів профілактики та корекції викликаних ними побічних ефектів і ускладнень з боку внутрішніх органів, у тому числі і мозочка, чутливого до медикаментозного впливу внаслідок особливостей своєї будови та функції [2, 3, 7]. На жаль, у фаховій літературі відсутні повідомлення щодо змін структурної організації і гемомікроциркуляторного русла кори мозочка під впливом опіоїдів.

Мета дослідження. Встановити особливості ангіоархітектоніки, мікро- та ультраструктури кори мозочка за умов двотижневого введення налбуфіну в експерименті.

Матеріали та методи. Дослідження виконані на 24 білих щурах-самцях репродуктивного віку (4,5–6,0-місячних) масою тіла 180–220 г. Введення налбуфіну проводили внутрішньом'язово в

терапевтичних дозах: I тиждень – 8 мг/кг, II тиждень – 15 мг/кг [5]. Контролем були 9 білих щурів, яким замість налбуфіну вводили 0,9 % розчин хлориду натрію.

При виконанні роботи використовувався метод ін'єкції судинного русла мозочка щура тушшко. Просвітлення зрізів мозочка проводили в гліцерині з 96% етиловим спиртом у співвідношенні 1:1 впродовж 3 діб, потім у чистому гліцерині. Для проведення морфометричного аналізу використовували такі кількісні критерії: діаметр мікросудин, щільність пакування обмінних судин, показник трофічної активності тканини. Терміном «обмінні судини» позначали гемокапіляри. Статистичне опрацювання показників морфометричного дослідження ангіоархітектоніки мозочка щура при двотижневому впливі налбуфіну проводили за допомогою пакетів прикладних комп'ютерних програм для варіаційно-статистичного аналізу «GraphPad InStat». Для гістологічного дослідження зрізи кори мозочка фарбували гематоксиліном і еозином. Препарати вивчали та фотографували під мікроскопом МБИ-1 цифровим фотоапаратом Olympus FE210 при збільшеннях мікроскопа: x200.

При виконанні роботи використовувався також метод електронної мікроскопії.

Відразу після смерті тварини здійснювався забір і стандартне проведення матеріалу для електронної мікроскопії. Ультратонкі зрізи виготовили на ультрамікромомі УЖТП-3 за допомогою скляних ножів. Вивчення і фотографування матеріалу проводили з допомогою мікроскопа УЕМВ-100 К при напрузі прискорення 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопу x1000–124000.

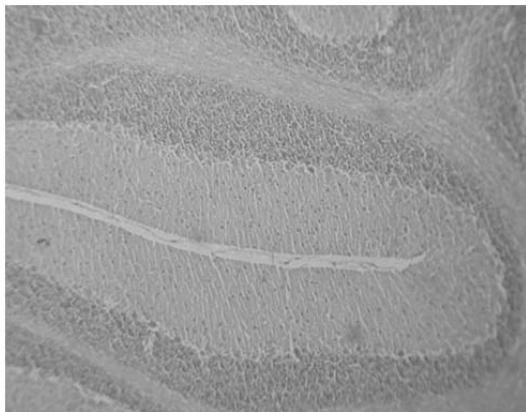
Усіх тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, експерименти

проведені у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (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, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Результати досліджень та їх обговорення. У корі мозочка білого щура в нормі (рис. 1А) можна чітко виділити три шари: молекулярний, гангліонарний та зернистий. Молекулярний шар сформований відносно невеликою кількістю тіл зірчастих та кошикоподібних клітин. Аксони кошикоподібних клітин спрямовані тангенціально над грушоподібними клітинами. Зірчасті клітини мають вигляд дрібних і великих крапок. У молекулярному шарі також чітко видно дендрити грушоподібних нейронів. Гангліонарний шар мозочка представлений одним рядом клітин грушоподібної форми. Гангліонарні клітини мають розширену основу і звужену верхівку. Власне від звуженої верхівки грушоподібних клітин радіально відходять 2–3 дендрити, які утворюють численні розгалуження в молекулярному шарі кори мозочка. Від розширеної основи гангліонарних нейронів теж відходять відростки (аксони) до сусідніх грушоподібних клітин та до підкіркових ядер мозочка. На ультраструктурному рівні тіло гангліонарної клітини містить велике кругле ядро з 1–2 ядрцями. Добре розвинена гранулярна енд-

плазматична сітка. У вузьких проміжках цитоплазми між цистернами лежать численні рибосоми та полісоми. Зернистий шар кори мозочка прилягає до білої речовини мозочка. У зернистому шарі наявні такі типи нейронів: зернисті, зірчасті, горизонтальні та веретеноподібні. Від зернистих нейронів відходять у напрямку зовнішньої поверхні кори довгі аксони, які, досягнувши молекулярного шару, Т-подібно розгалужуються і формують спрямовані в протилежні боки дві кінцеві гілки. Ці гілки розташовані паралельно зовнішній поверхні кори, а також паралельно одна одній. Аксони зернистих клітин проходять крізь молекулярний шар, контактуючи там з дендритами грушоподібних, кошикоподібних і зірчастих клітин. Усі шари кори мозочка добре васкуляризовані. Мозочкові артерії (рис. 2А) діаметром $78,0 \pm 4,0$ мкм, проникаючи в мозочок, розгалужуються в корі мозочка на судини гемомікроциркуляторного русла, яке характеризується такими морфометричними показниками: діаметр артеріол становить $20,5 \pm 0,2$ мкм, венул – $29,0 \pm 3,0$ мкм, капілярної петлі – $5,81 \pm 0,21$ мкм, щільність сітки обмінних судин – $60,8 \pm 5,4$, показник трофічної активності тканини кори мозочка дорівнює $46,3 \pm 3,4$ мкм.

Після двотижневого введення налбуфіну поодинокі зірчасті клітини змінюють свою форму. Подекуди спостерігається навколочітинний набряк. Цитоплазма деяких гангліонарних клітин просвітлена, містить вакуолі. У ділянках зернистого шару виявлені поодинокі просвітлення (рис. 1Б).



А



Б

Рис. 1. Кора мозочка білого щура в нормі (А) та через 2 тижні введення Налбуфіну (Б). Мікрофотографія. Зб.: об. x20; ок. x10. Забарвлення гематоксилін-еозинном.

На препаратах мозочка піддослідних тварин з ін'єктованим кровеносним руслом через 2 тижні введення налбуфіну спостерігаються перші зміни структурної організації гемомікроциркуляторного русла кори мозочка (рис. 2Б), що підтверджується морфометричними показниками.

У корі черв'яка і півкулях мозочка щура виявлено розширення і звивистість просвіту артеріол.

Просвіт венул у цей термін експерименту вірогідно не змінюється. Це підтверджується такими морфометричними показниками: діаметр артеріол зростає до $23,6 \pm 0,1$ мкм (контроль – $20,5 \pm 0,2$ мкм), діаметр венул становить $31,8 \pm 1,0$ мкм (контроль – $29,0 \pm 3,0$ мкм), відповідно артеріоло-венулярний коефіцієнт збільшується до $0,742 \pm 0,005$ (контроль – $0,706 \pm 0,003$).

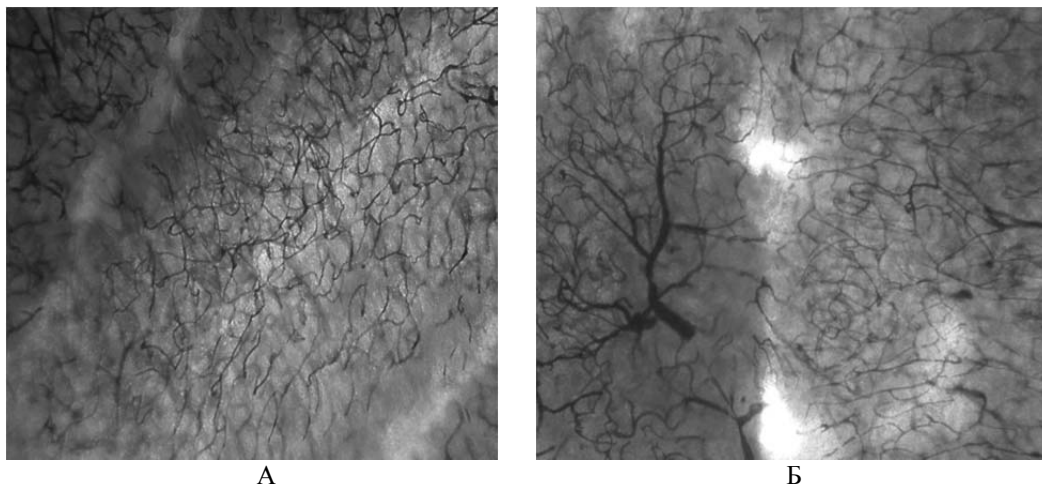


Рис. 2. Кровоносні судини кори мозочка білого щура в нормі (А) та через 2 тижні введення налбуфіну (Б). Мікрофотографія. Ін'єкція судин. Зб.: об. х20; ок. х8.

При електронномікроскопічному дослідженні кори мозочка встановлено, що введення налбуфіну експериментальним тваринам впродовж 2 тижнів зумовлює зміни різного ступеня розвитку у нейронах кори мозочка. Виявлено нейрони, що мають круглі ядра без ядерець, з електроннопрозорою нуклеоплазмою (рис. 3А). Ядерна оболонка цих клітин утворює інвагінації. В їхній нейроплазмі наявна незначна кількість органел. Мітохондрії нечисленні, з просвітленим матриксом та частково зруйнованими кристами.

На цьому терміні введення налбуфіну також виявляються перші ознаки ангіопатії в ланках гемомікроциркуляторного русла кори мозочка білого щура (рис. 3Б). Субмікроскопічно капіляри розширені, їх стінка стоншена. В капілярах спостерігається набряк ендотеліоцитів, просвіти капілярів набувають неправильної форми, ядерні зони ендотеліоцитів з електронно-щільними ядрами випинаються у просвіт судин. Цілісність базальної мембрани збережена, проте спостерігається її набряк і, як наслідок, потовщення. Перичити переважно зберігають зв'язок з базальною мембраною.

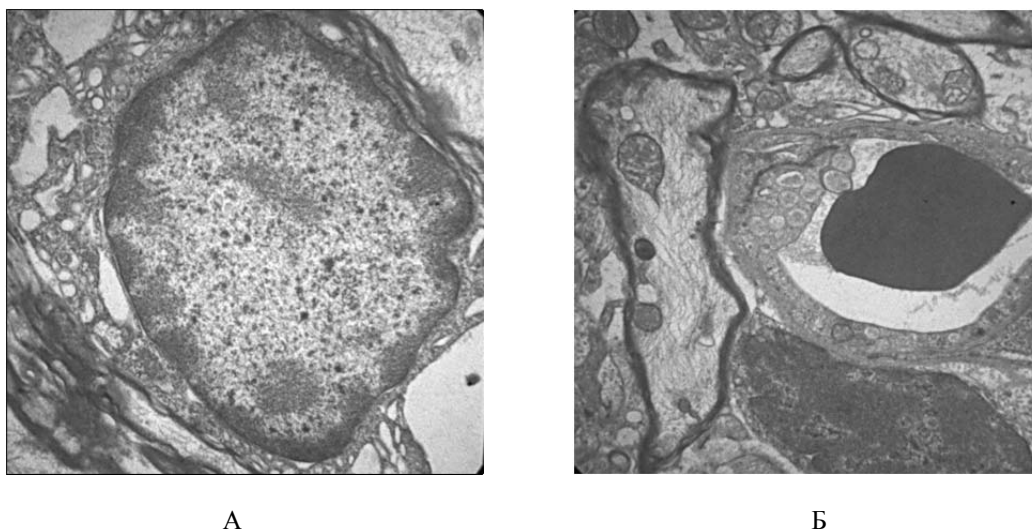


Рис. 3. Ультраструктура нервової клітини (А) та гемокапіляра (Б) кори мозочка щура через 2 тижні введення налбуфіну. Електронна фотографія. Зб.: А – х8000; Б – х4000.

Висновки. Вже через 2 тижні експериментального впливу налбуфіну виявляються перші ознаки порушення структури та ангіоархітекtonіки кори мозочка щура, що проявляється розвитком мікроангіопатій, зміною форми клітин кори мозочка, просвітленням цитоплазми, формуванням вакуо-

лей. Відомості, представлені в статті, можуть бути використані для подальшого дослідження кори мозочка як в експерименті, так і в клініці, з метою пошуку найефективніших методів профілактики та лікування патології мозочка, зумовленої застосуванням наркотичних середників.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Віничук С.М. Соматотопічна організація функцій мозочка / С.М. Віничук, Г.С. Трепет // Укр. мед. часопис. — 2013. — № 3. — С. 118—122.
2. Голубев В.Л. Психологические установки пациента и переживание боли / В.Л. Голубев, А.Б. Данилов // РМЖ; специальный выпуск «Болевой синдром». — 2009. — С. 11—14.
3. Давидович О.В. Фармакотерапія больового синдрому / О.В. Давидович, В.С. Копча, К.О. Маслій // Рациональная фармакотерапія. — 2011. — №4 (21). — С. 66—68.
4. Лакуста В.Н. Когнитивно-афективні синдроми у дітей з опухолью мозжечка / В.Н. Лакуста, А.И. Литовченко // Український нейрохірургічний журнал. — 2011. — № 4. — С. 30—34.
5. 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.
6. Пиголкин Ю.И. Морфологические изменения внутренних органов при опийной наркомании / Ю.И. Пиголкин // Архив патологии. — 2002. — № 1. — С. 3—5.
7. Яхно Н.Н. Невропатическая и скелетно-мышечная боль. Современные подходы к диагностике и лечению / Н.Н. Яхно, А.Н. Баринюв, Е.В. Подчуфарова // Клиническая медицина. — 2008. — Т. 86, № 11. — С. 9—15.
8. Fuentes C.T. «Motor cognition» – What is it and is the cerebellum involved? / C.T. Fuentes, A.I. Bastian // Cerebellum. — 2007. — Vol. 6, № 3. — P. 232—236.
9. O'Connor G. Complications of heroin abuse / G. O'Connor, G. McMahon // Eur. J. Emerg. Med. — 2008. — Vol. 15, № 2. — P. 104—106.
10. Voronkov M. Administration of nalbuphine to heroin addicts. Feasibility and short-term effects / M. Voronkov, D. Ocheret, S. Bondarenko // Heroin Addict Relat Clin Probl. — 2008. — №10 (1). — P. 19—24.

В.Н. МАКАР¹, А.М. БЕКЕСЕВЬЧ²

¹*Bukovinian State Medical University, Department of Human Anatomy, Chernivtsi;* ²*Danylo Halysky Lviv National Medical University, Medical Faculty №1, Department of Normal Anatomy, Lviv*

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE WHITE RAT'S CEREBELLUM IN NORM AND UNDER THE INFLUENCE OF OPIOID DURING 2 WEEKS

In order to investigate changes in the structure and angioarchitecture of the rat's cerebellar cortex caused by injection of an opioid, specifically, nalbuphine during two weeks, this study was conducted on 24 mature white male rats aged 4.5–6.0 months and body weight 180–220 g. The research materials were presented by specimens of the white rats' cerebellum with the injected vascular bed, histological specimens and ultramicroscopic sections of the cerebellum. Already after 2 weeks of the effect of nalbuphine in the experiment there appear the first signs of impairment of the structure and angioarchitecture of the rat's cerebellar cortex manifested by the development of microangiopathies, by the change of the form of cerebellum cells, by clarified cytoplasm, formation of vacuoles. The data presented in this article can be used for further studies of cerebellar cortex both, in the experiment and in the clinic with the purpose of finding the most effective methods of prevention and treatment of the cerebellum pathology caused by application of narcotic mediators.

Key words: cerebellum, structure, hemomicrocirculatory bloodstream, opioid, experiment

Стаття надійшла до редакції: 27.08.2015 р.