

А.В. Дробленков^{1,2}, Н.Р. Карелина² и П.Д. Шабанов³

ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ И ГЛИОЦИТОВ МЕЗОАККУМБОЦИНГУЛЯРНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ МОРФИНА У КРЫС

¹ Санкт-Петербургское городское Бюро судебно-медицинской экспертизы (нач. — проф. Г.П. Лаврентюк), ² кафедра анатомии человека (зав. — проф. Н.Р. Карелина) Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии, ³ кафедра фармакологии (нач. — проф. П.Д. Шабанов) Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

С целью выяснения изменений количества и некоторых морфометрических параметров нейронов и глиоцитов мезоаккумбоцингулярной (МАЦ) дофаминергической системы у крыс при пре- и постнатальном воздействии на эту систему опиатов вводили 0,1 мг 1% раствора морфина гидрохлорида внутрь амниона плодов крыс-самок линии Вистар (n=4) на 17-е сутки после оплодотворения и внутрибрюшинно крысятам на 4-е сутки после рождения (n=4). Перинатальное воздействие морфина на МАЦ-систему у крыс вызывает хромофильную дегенерацию, набухание и гибель части нейронов, уменьшение объема остальных (мало поврежденных) нейронов. Повреждение нейронов, более выраженное при пренатальном воздействии, сопровождается увеличением количества микроглиоцитов и их фагоцитарной активности. Воздействие морфина не изменяет количество сателлитных макроглиоцитов и среднее расстояние от них до тел мало поврежденных нейронов.

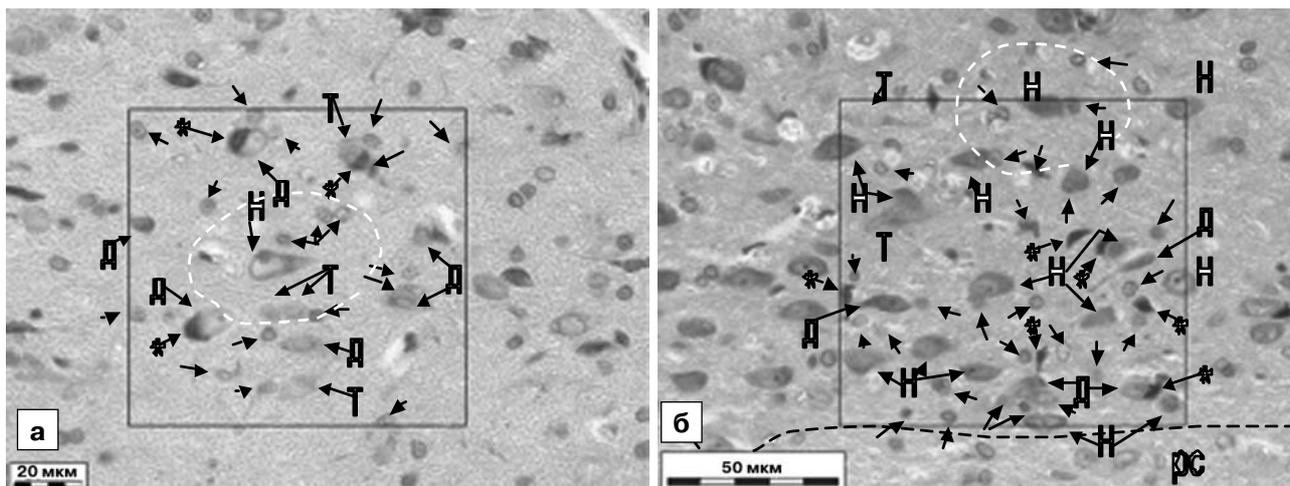
Ключевые слова: нейроны, нейроглиоциты, дофаминергическая система, перинатальное влияние морфина.

В связи с тем, что при интоксикации опиатами происходит увеличение синтеза дофамина [1], есть основание полагать, что определенная роль в изменениях эмоций, поведения, формировании зависимости принадлежит дофаминергической системе. В мезоаккумбоцингулярной (МАЦ) системе крыс каппа- и дельта-опиатные рецепторы расположены совместно с D₁- и D₂-рецепторами дофамина и областью распределения дофаминергических окончаний в компактной части черного вещества (ЧВ), ядер вентральной области покрышки (ВОП), прилежащем ядре (ПЯ) и прегенуальной части передней цингулярной коры (ПЦК) [4, 7]. Данные об изменениях структуры нейронов и глиоцитов при интоксикации опиатами малочисленны, особенно в структурах МАЦ-системы; некоторые из них противоречивы и не позволяют представить целостную патоморфологическую картину. При опиатной абстиненции у крыс было обнаружено увеличение количества поврежденных нейронов, клеток-сателлитов и уменьшение количества олигодендроцитов в компактной части ЧВ, тогда как в ПЦК значимых отличий этих параметров от нормы (по их сумме в III и V слоях) определено не было [3]. В III и V слоях неокортекса при отравлении опиатами, напротив, была выявлена пролиферация олигодендроцитов [1].

Целью настоящей работы явилось выяснение изменений количества и некоторых морфометрических параметров субпопуляций нейронов и глиоцитов МАЦ-системы у крыс при перинатальном воздействии на нее морфина.

Материал и методы. Под эфирным наркозом согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г.) крысам-самкам (n=4) линии Вистар на 17-е сутки после оплодотворения внутрь амниона плодов, а также крысятам на 4-е сутки после рождения (n=4) внутрибрюшинно вводили 10 мкл 1% раствора морфина гидрохлорида. Контрольным животным (n=8) аналогичным образом в том же объеме вводили асептический 0,9% раствор хлорида натрия. Через 3 мес от начала опыта экспериментальных и контрольных крыс (n=8) декапитировали. Не позднее чем через 3 мин головной мозг фиксировали в 9% растворе нейтрального формалина и заливали в парафин по стандартной методике. Исследовали каждый 5-й фронтальный срез толщиной 3 мкм в переднемедиальных частях паранигрального ядра ВОП и компактной части ЧВ, в медиальном отделе обеих частей ПЯ (ядерной и скорлуповой) между передней мозговой спайкой и комплексом обонятельных ядер и VI слой 3-го цингулярного поля. На срезах, окрашенных кризильным фиолетовым по методу Ниссля, в 5 квадратах площадью 100 мкм² подсчитывали количество тел нейронов (нормо- и гиперхромных, набухших, сморщенных, тeneвидных и фагоцитируемых), макро- и микроглиоцитов, вычисляли объем тел нейронов (по формуле объема эллипсоида) и среднее расстояние от макроглиоцитов до тел наименее поврежденных нейронов («глиальное расстояние») на площади πR², где R=20 мкм [2]. Различия средних оценивали по критерию Стьюдента и считали значимыми при P<0,05.

Результаты исследования. При пренатальном воздействии морфина во всех отделах МАЦ-системы наблюдалось снижение доли малоповрежденных (нормо- и гиперхромных не сморщенных) нейронов за счет увеличения количества как сморщенных гиперхромных и набухших, так и тeneвидных нейронов (рисунок).



Нейроны и глиоциты в передних отделах вентро-медиальной части паранигрального ядра вентральной области покрышки (а) при пренатальном и компактной части черного вещества (б) при постнатальном воздействии морфина.

Н — малоповрежденные нейроны; Д — набухшие и гиперхромные сморщенные нейроны; Т — тeneвидные нейроны. Стрелки — макроглиоциты; звездочки со стрелкой — микроглиоциты; pc — ножка мозга. Рамкой ограничены 100 мкм² площади. Белый пунктир — площадь πR^2 , где R=20 мкм. Окраска крезильовым фиолетовым по Нисслю.

Объем малоповрежденных нейронов ЧВ значительно уменьшился, а в остальных отделах уменьшение было незначимым (табл. 1). Цитоплазма большинства этих нейронов стала гиперхромной. Размер ядрышек визуально уменьшился в ВОП, ЧВ и ПЦК, а в части нейронов ПЯ либо не изменился, либо несколько увеличился. Количество макроглиоцитов в ВОП, ЧВ и ПЦК не изменилось, а в ПЯ ненамного, но значительно снизилось (см. табл. 1).

Расстояние от них до тел нейронов в ВОП, ЧВ и ПЯ не изменилось, в ПЦК была выявлена лишь тенденция к уменьшению этого показателя ($0,05 < P < 0,1$). Количество микроглиоцитов значительно увеличилось в ЧВ, в остальных отделах системы их увеличение имело характер тенденции. Возросло количество фагоцитируемых нейронов (табл. 2). В фагоцитозе участвовали микроглиоциты (см. рисунок).

Таблица 1

Характеристика нейронов и глиоцитов мезоаккумбодингулярной системы крыс при перинатальном воздействии морфина ($\bar{x} \pm \sigma$)

Отдел системы	Вид исследования	Количество малоповрежденных нейронов, в 100 мкм ²	Объем тел малоповрежденных нейронов, мкм ³	Количество макроглиоцитов, в 100 мкм ²	Количество микроглиоцитов, в 100 мкм ²	Глиальное расстояние, мкм
Вентральная область покрышки (паранигральное ядро)	Контроль	8,1±2,2	278±35	12,3±1,4	1,6±1,1	8,2±1,3
	Пренатальное	2,4±1,1*	225±62	15,1±2,3	2,8±1,0	8,8±1,9
	Постнатальное	2,9±1,0*	226±69	12,1±1,5	2,1±0,6	9,7±2,2
Черное вещество (компактная часть)	Контроль	20±4	344±48	12,9±2,3	1,1±0,8	8,3±1,1
	Пренатальное	7,4±2,4*	211±78*	13,4±2,3	5,9±1,8*	9±4
	Постнатальное	13,7±2,8	207±51*	15,9±2,4	4,9±1,6*	6,7±1,5
Прилежащее ядро	Контроль	26±4	272±25	14,0±1,3	1,8±1,0	8,3±2,3
	Пренатальное	17,7±2,8*	233±18	10,7±1,9*	2,1±1,2	7,4±2,4
	Постнатальное	21,3±2,7	236±20	5,2±2,2*	4,1±0,9*	6±3
3-е цингулярное поле (прегенуальное), VI слой	Контроль	38±3	227±32	15,3±1,8	1,1±0,7	10,8±1,1
	Пренатальное	13,8±2,7*	217±21	14,8±2,1	2,1±0,7	6±3
	Постнатальное	16,3±2,7*	217±19	14,1±1,9	3,6±1,4*	7,8±2,2

* Различия по сравнению с контролем значимы при $P < 0,05$.

Таблица 2

Количество фагоцитируемых нейронов в мезоаккумуляционной системе крыс при перинатальном воздействии морфина ($\bar{x} \pm \sigma$)

Вид исследования	Вентральная область покрышки	Черное вещество (компактная часть)	Прилежащее ядро	3-е цингулярное поле (прегенуальное), VI слой
Контроль	0,9±0,6	1,2±1,0	0,7±0,5	0,6±0,5
Пренатальное	3,8±0,7*	3,8±1,0*	2,6±0,9*	3,4±0,9*
Постнатальное	2,9±0,8*	2,8±0,7	2,9±0,8*	2,1±0,6*

* Различия по сравнению с контролем значимы при $P < 0,05$.

При постнатальном воздействии морфина уменьшение количества мало поврежденных нейронов было менее выраженным, чем при пренатальном, а в ЧВ и ПЯ оно было незначимым (см. табл. 1). Объем тел этих нейронов значительно уменьшился только в ЧВ. Количество макроглиоцитов в ВОП, ЧВ и ПЦК не изменилось, а в ПЯ значительно снизилось ($P < 0,05$). Расстояние от макроглиоцитов до тел нейронов в ВОП, ЧВ и ПЯ не изменилось, а в ПЦК была выявлена тенденция к уменьшению этого показателя ($0,05 < P < 0,1$). Количество микроглиоцитов значительно увеличилось в ЧВ, ПЯ и ПЦК, в ВОП их увеличение было не значимо. Количество фагоцитируемых нейронов возросло в ВОП, ПЯ и ПЦК в меньшей степени, чем при пренатальном воздействии (см. табл. 2).

Обсуждение полученных данных. Повреждение нейронов МАЦ-системы наиболее выражено при пренатальном воздействии морфина. Оно выражается в снижении количества и уменьшении объема тел нормо- и гиперхромных не сморщенных (малоповрежденных) нейронов, увеличении числа гиперхромных сморщенных, набухших и тeneвидных нейронов. Повреждение нейронов связано с их фагоцитозом макро- и микроглиоцитами. Отмеченное увеличение числа макроглиоцитов наблюдали также при отравлении морфином на фоне хронической интоксикации опиатами в ЧВ, ПЦК и таламусе [3]. Однако, в связи с данными литературы [6] о разрушении морфином их псевдоподий и утрате подвижности, не ясна причина, по которой происходит увеличение их фагоцитарной активности. Отсутствие изменений количества макроглиоцитов (способных к передаче РНК и аминокислот) и расстояния от них до тел малоповрежденных нейронов согласуется с данными о подавлении морфином дифференцировки олигодендроцитов [5].

ЛИТЕРАТУРА

1. Бережной Р.В., Смусин Я.С. и Томилин В.В. Руководство по судебно-медицинской экспертизе отравлений. М., Медицина, 1980.

2. Богомолов Д.В., Пиголкин Ю.И. и Должанский О.В. Морфометрическое исследование нейроглиальных комплексов головного мозга при судебно-медицинской диагностике наркоманий. Суд.-мед. эксперт., 2001, т. 44, № 4, с. 18–19.
3. Должанский О.В. Судебно-медицинская оценка морфологических изменений головного мозга при хронических опийных наркоманиях: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2001.
4. Bjorklund A. and Lindvall O. Dopamine-containing systems in the CNS. In: Handbook of Neuroanatomy. V. 2. Classical neurotransmitters in the CNS. Part 1. Amsterdam, New York, Oxford, Elsevier Science Publishers, 1984, p. 55–122.
5. Kanapp P.E. and Heuser K.F. mu-Opioid receptor activation reduces DNA synthesis in immature oligodendrocytes. Brain Res., 1996, v. 16, № 1–2, p. 341–345.
6. Sonetti D., Ottaviani E. and Stefano G.B. Opiate signaling regulates microglia activities in the invertebrate nervous system. Gen. Pharmacol., 1997, v. 29, № 1, p. 39–47.
7. Tanaka E. and North R.A. Opioid actions on rat anterior cingulate cortex neurons in vitro. J. Neurosci., 1994, v. 14, № 3, p. 1106–1113.

Поступила в редакцию 03.07.09

CHANGES IN NEURONS AND GLIOCYTES OF RAT MESOACCUMBINGULATE SYSTEM FOLLOWING PERINATAL MORPHINE ADMINISTRATION

A.V. Droblenkov, N.R. Karelina and P.D. Shabanov

To study the changes of neuron and gliocyte numbers and some morphometric parameters in mesoaccumbingulate (MAC) dopaminergic system of rats after pre- and postnatal opiate treatment, 0.1 mg dose of 1% morphine hydrochloride solution was injected into the fetal amnion of Wistar female rats (n=4) at Day 17 post fertilization and intraperitoneally into newborn rats (n=4) at postnatal Day 4. Perinatal influence of morphine on MAC-system in rats resulted in the chromophilic degeneration, swelling and death of some part of neurons, decrease in the volume of the other (slightly injured) neurons. Neuronal injury was more pronounced after prenatal morphine treatment and was accompanied by the increase in both microgliocyte cell number and phagocytic activity. Morphine administration induced no changes in the satellite macrogliocyte number and in the average distance between these cells and the bodies of slightly injured neurons.

Key words: neurons, gliocytes, dopaminergic system, perinatal morphine administration.

St. Petersburg City Bureau of Forensic Medical Examination, Department of Human Anatomy, St. Petersburg State Pediatric Medical Academy, Department of Pharmacology, Medical Military Academy, St. Petersburg.