

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕЙРОНОВ И КЛЕТОК НЕЙРОГЛИИ В МЕЗОЛИМБИЧЕСКИХ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ СТРУКТУРАХ ПРИ ПЕРИНАТАЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ МОРФИНА У КРЫС**А.В.Дробленков*****, Е.Ю.Панкрашова*****, А.В.Федоров*, Н.А.Попковский********REACTIVE CHANGES OF NEURONS AND NEUROGLIA CELLS IN MESOLYMBIC CEREBRAL STRUCTURES AT PERINATAL EXPOSURE TO MORPHINE IN RATS****A.V.Droblenkov*****, E.Yu.Pankrashova*****, A.V.Fedorov*, N.A.Popkovsky********Санкт-Петербургский медико-социальный институт, droblenkov_a@mail.ru****Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург*****Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого******Астраханский государственный медицинский университет*

С целью выяснения изменений количества и ряда морфометрических параметров нейронов и клеток нейроглии в мезолимбической дофаминергической системе головного мозга (МДС), дефицит дофамина в центрах которой принято считать основной предпосылкой для формирования зависимостей, при пре- и постнатальном воздействии на эту систему опиатов вводили 0,1 мг 1% раствора морфина гидрохлорида внутрь амниона плодов крыс-самок линии Вистар ($n = 5$) на 17-е сутки после оплодотворения и внутрибрюшинно крысятам на 4-е сутки после рождения ($n = 5$). Установлено, что перинатальное воздействие морфина на МДС у крыс вызывает атрофические изменения, набухание и гибель части нейронов, уменьшение объема и сморщивание остальных малоизмененных нейронов. Повреждение нейронов, более выраженное при пренатальном воздействии, сопровождается увеличением количества клеток микроглии и их фагоцитарной активности. Воздействие морфина не изменяет количество сателлитных макроглиоцитов и среднее расстояние между ними и телами жизнеспособных нейронов.

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

Для цитирования: *Дробленков А.В., Панкрашова Е.Ю., Федоров А.В., Попковский Н.А. Реактивные изменения нейронов и клеток нейроглии в мезолимбических церебральных структурах при перинатальном воздействии морфина у крыс // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. 2021. №1(122). С.24-27. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.1\(122\).24-27](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.1(122).24-27).*

In order to elucidate changes in the number and morphometric parameters of neurons and neuroglial cells in the mesolimbic dopaminergic system of the brain (MDS), dopamine deficiency in the centers of which is considered to be the main prerequisite for the formation of addictions, 0.1 mg of opiates were administered during pre- and postnatal exposure to this system. 1% solution of morphine hydrochloride inside the amnion of fetuses of female Wistar rats ($n = 5$) on the 17th day after fertilization and intraperitoneally to rat pups on the 4th day after birth ($n = 5$). It was found that the perinatal effect of morphine on MDS in rats causes atrophic changes, swelling and death of some neurons, a decrease in the volume and shrinkage of the remaining unchanged neurons. Damage to neurons, more pronounced during prenatal exposure, is accompanied by an increase in the number of microglia cells and their phagocytic activity. Morphine exposure does not change the number of satellite macroglial cells and the average distance between them and the bodies of viable neurons.

Keywords: *neurons, neuroglial cells, dopaminergic system, perinatal effects of morphine*

For citation: *Droblenkov A.V., Pankrashova E.Yu., Fedorov A.V., Popkovsky N.A. Reactive changes of neurons and neuroglia cells in mesolimbic cerebral structures at perinatal exposure to morphine in rats // Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences. 2021. №1(122). P.24-27. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.1\(122\).24-27](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2021.1(122).24-27).*

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 МДС у 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 в передней цингулярной коре (ПЦК) [2,3]. Данные об изменениях структуры нейронов и глиоцитов при интоксикации опиатами малочисленны, особенно в структурах МДС; некоторые из них противоречивы и не позволяют представить целост-

ную патоморфологическую картину. При опиатной абстиненции в мозге у крыс было обнаружено увеличение количества поврежденных нейронов, глиальных 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. В III и V слоях неокортекса при отравлении опиатами, напротив, была выявлена пролиферация олигодендроцитов [1].

Цель настоящей работы заключалась в установлении изменений количества и некоторых морфометрических параметров субпопуляций нейронов и глиоцитов МДС у крыс при перинатальном воздействии на нее наркотического вещества — морфина.

Материал и методы

Под эфирным наркозом согласно «Правилам лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ РФ от 2003 г. №267) самкам крыс линии Вистар ($n = 5$) на 17-е сутки после оплодотворения внутрь амниона плодов, а также крысам на 4-е сутки после рождения ($n = 5$) внутрибрюшинно вводили 10 мкл 1% раствора морфина гидрохлорида. Контрольным животным ($n = 10$) аналогичным образом в том же объеме вводили асептический 0,9% раствор хлорида натрия. Через 3 мес. от начала опыта подопытных животных (по одной особи, рожденной каждой из пяти экспериментальных самок, $n = 5$), 5 экспериментальных крыс и 5 контрольных крыс декапитировали. 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, а также VI слой 3-го цингулярного поля. Искомые структуры МДС были идентифицированы в соответствии со стереотаксическим атласом [4]. В 5 квадратах срезов центров МДС площадью 100 мкм², окрашенных крезильовым фиоле-

товым по методу Ниссля, подсчитывали количество тел нейронов (неизменных/малоизменных, набухших, сморщенных гиперхромных, клеток-«теней», в том числе фагоцитируемых), клеток макро- и микроглии, вычисляли объем тел нейронов (по формуле объема эллипсоида) и среднее расстояние от макроглиоцитов до тел наименее поврежденных нейронов («глиальное расстояние») на площади πR^2 , где $R = 20$ мкм [5]. Морфометрию проводили с помощью программы Imagescope (Электронный анализ, Россия). Среднее арифметическое, среднее квадратическое отклонение и стандартную ошибку среднего определяли с помощью компьютерной программы Excel. О значимости различий судили по величине t -критерия Стьюдента и считали их значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследования

При пренатальном воздействии морфина во всех исследованных отделах МДС наблюдалось снижение доли малоизменных нейронов за счет увеличения количества как сморщенных гиперхромных и набухших, так и теневидных нейронов (рис. 1а,б,д,е).

Объем малоповрежденных нейронов ЧВ значимо уменьшился, а в остальных отделах уменьшение было незначительным (табл.1). Цитоплазма большинства этих нейронов стала гиперхромной. Размер ядрышек визуальнo уменьшился в ВОП, ЧВ и ПЦК, а в

Таблица 1

Структурно-топографические особенности нейронов и нейроглиоцитов мезолимбической системы крыс при перинатальном воздействии морфина ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Отдел МДС	Способ воздействия	Характеристики малоизмененных нейронов		Количество клеток глии		Глиальное расстояние, мкм
		Количество	Объем, мкм ³	Макроглии	Микроглии	
Паранигральное ядро ВОП	Контроль	6,8±0,4 (2,1)	278,1±10,6 (31,7)	12,3±0,6 (3,0)	1,6±0,2 (1,0)	8,2±0,2 (1,3)
	Пренатальное	2,4±0,2* (1,0)	225,1±9,2* (40,3)	15,1±0,5 (2,2)	2,6±0,3 (1,4)	8,8±0,4 (1,8)
	Постнатальное	2,9±0,2* (1,0)	225,1±10,3* (45,2)	12,1±0,3 (1,4)	2,1±0,3 (1,2)	9,7±0,5 (2,0)
Компактная часть ЧВ	Контроль	18,0±0,5 (2,5)	343,6±12,2 (47,7)	12,9±0,8 (3,6)	1,1±0,4 (1,6)	8,3±0,2 (1,1)
	Пренатальное	7,4±0,5* (2,2)	211,0±8,9* (39,0)	13,4±0,5 (2,0)	5,9±0,5* (1,8)	8,6±1,0 (4,0)
	Постнатальное	13,7±0,8 (3,6)	207,3±11,7* (51,4)	15,9±1,1 (4,8)	4,9±0,7* (3,2)	6,7±0,8 (3,0)
Прилежащее ядро	Контроль	23,4±0,6 (3,0)	227,0±8,4 (32,8)	14,0±0,8 (3,2)	1,8±0,5 (2,0)	8,9±0,3 (1,5)
	Пренатальное	17,7±0,6* (2,8)	190,0±7,6* (33,6)	10,7±0,9* (3,8)	2,1±0,5 (2,4)	7,4±1,1 (4,8)
	Постнатальное	21,3±1,2 (5,4)	186,3±7,2* (31,5)	5,2±1,0* (4,4)	4,1±0,4* (1,8)	5,7±2,0 (7,8)
3-е цингулярное поле (VI слой)	Контроль	35,8±0,8 (4,1)	272,5±6,3 (24,6)	15,3±0,6 (2,5)	1,1±0,3 (1,4)	10,8±0,2 (1,1)
	Пренатальное	13,8±1,2* (5,4)	233,1±8,0* (35,4)	14,8±1,0 (4,2)	2,1±0,3 (1,4)	6,3±1,7* (1,7)
	Постнатальное	16,3±1,2* (5,4)	236,5±9,0* (39,6)	14,1±0,9 (3,8)	3,6±0,6* (2,8)	7,8±0,5* (2,2)

Примечание: * — различия параметров клеток между нормой и в результате воздействия значимы ($p < 0,05$). В скобках указаны значения среднего квадратического отклонения.

части нейронов ПЯ либо не изменился, либо несколько увеличился. Количество макроглиоцитов в ВОП, ЧВ и ПЦК не изменилось, а в ПЯ немного, но значимо снизилось (см. табл.1). Расстояние между клетками макроглии и телами нейронов в ВОП, ЧВ и ПЯ не изменилось, в ПЦК была выявлена лишь тенден-

ция к уменьшению этого показателя ($0,05 < P < 0,1$). Количество микроглиоцитов значимо увеличилось в ЧВ, в остальных отделах системы их увеличение имело характер тенденции. Возросло количество фагоцитируемых нейронов (табл.2). В фагоцитозе участвовали микроглиоциты (см. рис.1а,б,в,г).

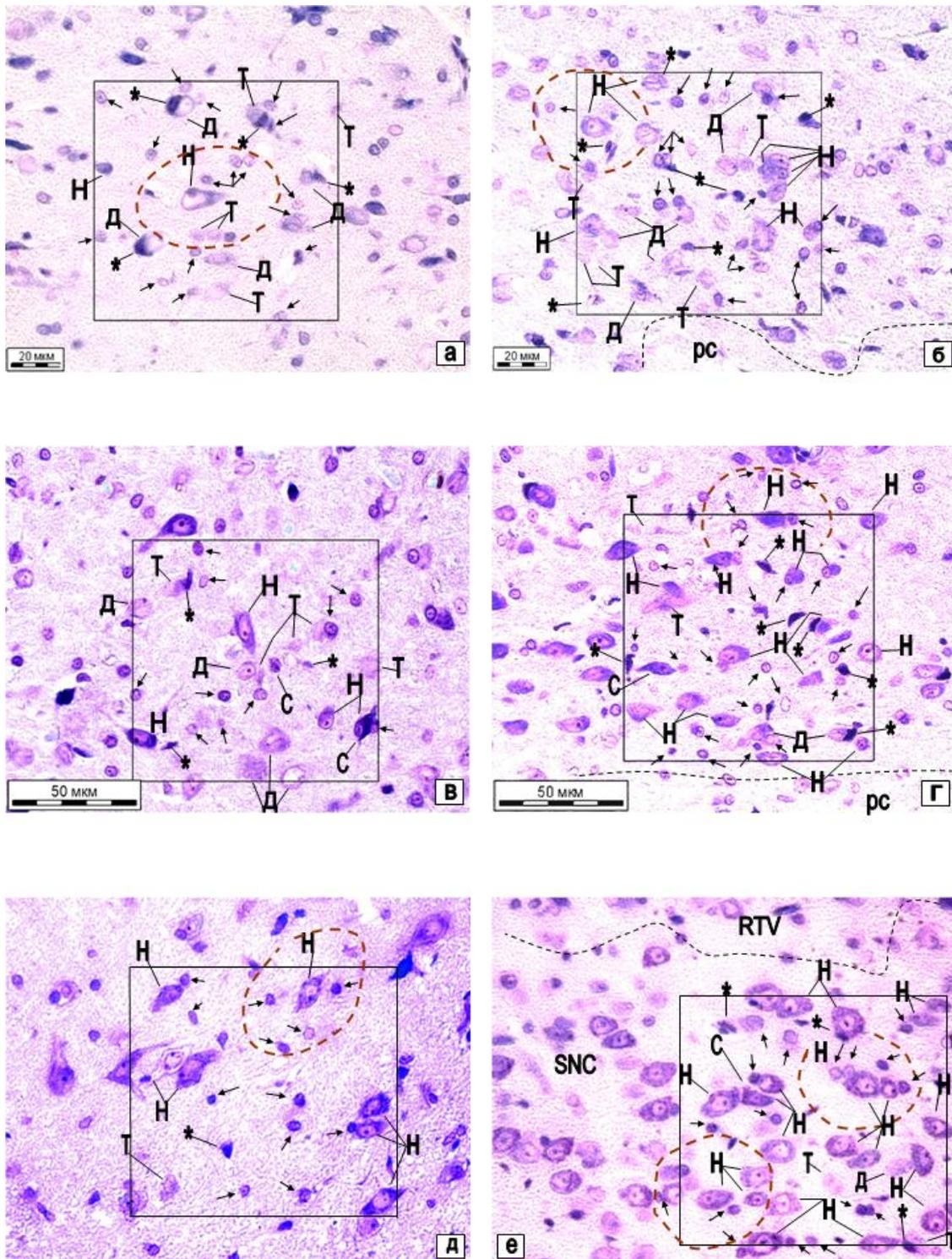


Рис.1. Структурно-топографические особенности нейронов и клеток нейроглии передних отделов паранигрального ядра вентральной области покрышки (а,в) и компактной части черного вещества (б,г) при воздействии морфина: пренатальном (а,б) и постнатальном (в,г) в сравнении с нормой (д — клетки паранигрального ядра, е — клетки компактной части черного вещества у интактных крыс). Нейроны: Н — неизмененные, дистрофически измененные гипохромные — Д, сморщенные гиперхромные — С, теневидные — Т; макроглиоциты — стрелки, звездочки — микроглиоциты; ср — ножка мозга, RTV — паранигральное ядро, SNC — компактная часть черной субстанции. Рамкой ограничены 0,01 мм² площади. Пунктир — площадь πR^2 , где $R = 20$ мкм. Окраска методом Ниссля, объектив $\times 40$

Таблица 2

Количество фагоцитируемых нейронов мезолимбической системы крыс при перинатальном воздействии морфина ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

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

Примечание: * — различия по сравнению с контролем значимы при $P < 0,05$.

При постнатальном воздействии морфина уменьшение количества мало измененных нейронов было менее выраженным, чем при пренатальном, а в ЧВ и ПЯ оно было незначимым (см. табл.1). Объем тел этих нейронов значимо уменьшился только в ЧВ. Количество клеток макроглии в ВОП, ЧВ и ПЦК не изменилось, а в ПЯ значимо снизилось ($P < 0,05$). Расстояние между телами макроглиоцитов и телами нейронов в ВОП, ЧВ и ПЯ не изменилось, а в ПЦК незначительно уменьшилось ($0,05 < P < 0,1$).

Количество микроглиоцитов значительно увеличилось в ЧВ, ПЯ и ПЦК. Число фагоцитируемых нейронов возросло в ВОП, ПЯ и ПЦК в меньшей степени, чем при пренатальном воздействии (см. табл.2).

Обсуждение полученных результатов

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 теневидных нейронов. Повреждение нейронов связано с их фагоцитозом макро- и микроглиоцитами. Отмеченное увеличение числа микроглиоцитов наблюдали также при отравлении морфином на фоне хронической интоксикации опиатами в ЧВ, ПЦК и таламусе [5]. Однако по данным литературы о разрушении морфином их псевдоподий и утрате подвижности [6] неясна причина, по которой происходит увеличение их фагоцитарной активности. Отсутствие изменений числа клеток макроглии (способных к передаче РНК и аминокислот) и расстояния от них до тел малоповрежденных нейронов может являться следствием угнетения морфином синтеза нуклеиновых кислот олигодендроцитами [7].

Выводы

Перинатальное воздействие морфина на МДС у крыс вызывает атрофические изменения, набухание и гибель части нейронов, уменьшение объема и сморщивание остальных малоизмененных нейронов. Повреждение нейронов, более выраженное при пренатальном воздействии, сопровождается увеличением количества клеток микроглии и их фагоцитарной активности. Воздействие морфина не изменяет количество сателлитных форм макроглиоцитов и среднее расстояние между ними и телами жизнеспособных нейронов.

1. Руководство по судебно-медицинской экспертизе отравлений / Под ред. Я.С.Смусина, Р.В.Бережного, В.В.Томилина, П.П.Ширинского. М.: Медицина, 1980. 421 с.
2. Bjorklund A., Lindvall O. Dopamine-containing systems in the CNS // Handbook of Neuroanatomy. V.2. Classical neurotransmitters in the CNS. Part 1. Amsterdam, New York, Oxford, Elsevier Science Publishers, 1984. P.55-122.
3. 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.
4. Paxinos G., Watson C. The rat brain atlas in stereotaxic coordinates. Fourth Edition. San Diego: Elsevier Acad. Press, 1998. 474 p.
5. Богомолов Д.В., Пиголкин Ю.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.
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. Kanapp P.E., Heuser K.F. mu-Opioid receptor activation reduces DNA synthesis in immature oligodendrocytes // Brain Res. 1996. V.16. №1-2. P.341-345.

References

1. Bereznoy R.V., Smusin Ya.S., Tomilin V.V. Rukovodstvo po sudebno-meditsinskoj ekspertize otravleniy [Guidelines on forensic medical examination of poisonings]. Moscow, Meditsina Publ., 1980.
2. Bjorklund A., 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.
3. Tanaka E. and North R.A. Opioid actions on rat anterior cingulate cortex neurons in vitro. J. Neurosci., 1994, vol. 14, no. 3, p. 1106-1113.
4. Paxinos G., Watson C. The rat brain atlas in stereotaxic coordinates. Fourth Edition. San Diego, Elsevier Acad. Press, 1998.
5. Bogomolov D.V., Pigolkin Yu.I., Dolzhanskiy O.V. Morfometricheskoe issledovanie neyroglial'nykh kompleksov golovnoy mozga pri sudebno-meditsinskoj diagnostike narkomaniy [Morphometry of cerebral neuroglial complexes in forensic medical diagnosis of substance abuse]. Sud.-med. ekspert., 2001, vol. 44, no. 4, pp. 18-19.
6. Sonetti D., Ottaviani E. and Stefano G.B. Opiate signaling regulates microglia activities in the invertebrate nervous system. Gen. Pharmacol., 1997, vol. 29, no. 1 pp.39-47.
7. Kanapp P.E., Heuser K.F. mu-Opioid receptor activation reduces DNA synthesis in immature oligodendrocytes. Brain Res., 1996, v.16, no.1-2, pp. 341-345.