

Е.А. Григорьева
И.Ю. Мамай

Запорожский государственный медицинский университет

Надійшла: 13.08.2018
Прийнята: 21.09.2018

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.3.56-60>

УДК 611.817.11:618.5-089.888.14:616-092.4

ИЗМЕНЕНИЯ КОРЫ МОЗЖЕЧКА ПОТОМСТВА КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ PGE2 САМКАМ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РОДОВОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

© Morphologia. – 2018. – Т. 12, № 3. – С. 56-60.

© Е.А. Григорьева (ORCID 0000-0002-6101-8322), И.Ю. Мамай (ORCID 0000-0002-1437-8106), 2018

✉ Irinamamay93@gmail.com

Grigorieva E.A., Mamay I.Y. Cerebellar cortex changes in posterity of female rats receiving PgE2 for induction of parturition.

ABSTRACT. Background. The effect of birth stimulation on the brain structure still remains an unexplored issue. **Objective.** To determine the morphological cerebellar cortex changes in laboratory rats during the postnatal period after intravaginal injection of prostaglandin E2 for labor induction. **Methods.** The changes in the structure of cerebellar cortex in posterity of white syngenic rats from the 14th to the 60th day of life have been studied. Pregnant females of the experimental group were injected PgE2 in the form of a gel intravaginal to stimulate labor on the 20th day of pregnancy. The duration of pregnancy in the rats of the experimental group was 21 day, in the rats of intact group - 23-24 days after conception. The beginning of pregnancy was established by the method of vaginal smears stained with methylene blue; presence the sperm in smears was taken for 0 day of pregnancy. The cerebellum was fixed in a 10% neutral formalin solution, dehydrated in an ascending battery of ethyl spirits. 5 µm paraffin sections were stained with hematoxylin and eosin. The thickness of the molecular and granular layers of the cerebellar cortex, the number of cells of the granular layer per unit area, the number of Purkinje cells and their sizes were determined in the histological samples. Data are processed by the variation statistic method. The results are significant for $p < 0.05$. **Results.** It is settled that at day 14th after birth there are no significant changes in the thickness of cerebellum molecular layer in posterity of female rats receiving PgE2 for induction of labor. From 21st to 60th day of life the thickness of the molecular layer doesn't vary considerably in group over age and in comparison with intact group. The thickness of the granular layer tends to thinning in the experimental group compared to intact from 21st to 60st day of life. Also there is a reduction of the absolute number of cells in the granular layer per unit area from 21st to 60st day of life in experimental animals. **Conclusion.** Purkinje cells in the experimental and intact animals did not differ in their shape, location, size; however, there is an increase of distance between the Purkinje cells at all stages of development in experimental animals compared to the intact group.

Key words: cerebellum, Purkinje cells, granular layer, molecular layer, prostaglandin E2.

Citation:

Grigorieva EA, Mamay IY. [Cerebellar cortex changes in posterity of female rats receiving PgE2 for induction of parturition]. Morphologia. 2018;12(3):56-60. Russian.
DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.3.56-60>.

Введение

Нейродегенеративные заболевания – обширная группа заболеваний, возникающих вследствие воздействия многих факторов. Общим для этой группы заболеваний является повреждение нервных клеток, деменция и, как следствие, инвалидизация больных [1]. В 2011 году во всем мире насчитывалось почти 30 миллионов человек с диагнозом дегенеративное заболевание головного мозга [2]. В результате изучения влияния PGE2 на лабораторных животных во время беременности были выявлены различные нарушения морфогенеза головного мозга у

потомков экспериментальных животных [3, 4]. В исследовании Крицкой И. А. при проведении нейросонографии новорожденным на третий день после родов были выявлены в большом количестве сочетание перивентрикулярной лейкомаляции с пери- и интравентрикулярными кровоизлияниями, кефалогематомы теменной области и дилатацию основной цистерны у детей, матери которых получали родоусиление [5]. На сегодняшний день простагландины лидируют по частоте применения у женщин для стимуляции родовой деятельности. В результате Глобального исследования ВОЗ, включающего 373 медицин-

ских учреждений в 24 странах, было выявлено, что каждые десятые роды вызваны введением простагландинов или окситацина [6]. Таким образом, актуальным является изучение особенностей реактивности и морфогенеза головного мозга плода после введения PgE2 беременным для стимуляции родов.

Цель

Определить морфологические изменения коры мозжечка у лабораторных крыс в постнатальном периоде после интравагинального введения простагландина E2 для индукции родов.

Материалы и методы

В работе изучены особенности изменений структуры коры мозжечка потомства белых сингенных крыс с 14-х до 60-х суток жизни. Беременным самкам экспериментальной группы на 20-й день беременности для стимуляции родовой деятельности вводили интравагинально PgE2 в форме геля. Роды у крыс экспериментальной группы наступали на 21 сутки, интактной – на 23-24 сутки после зачатия. Начало беременности устанавливали методом вагинальных мазков, окрашенных метиленовым синим; наличие в мазках сперматозоидов принимали за 0 день бе-

ременности. При работе с экспериментальными животными руководствовались Европейской конвенцией по работе с экспериментальными животными. Мозжечки фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезжовивали в восходящей батарее спиртов. Изготавливали парафиновые срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. В гистологических срезах изучали толщину молекулярного и зернистого слоев коры мозжечка, количество клеток зернистого слоя на единицу площади, количество клеток Пуркинью и их размеры. Данные обработаны методом вариационной статистики. Результаты достоверны при $p < 0,05$.

Результаты

В результате исследования было выявлено, что на 14-е сутки жизни молекулярный слой коры мозжечка в интактной и экспериментальной группе имеет толщину $59,2 \pm 14,5$ мкм и $58,5 \pm 20$ мкм, соответственно. К 21-м суткам жизни он утолщается до $147,3 \pm 23,8$ мкм и $138,8 \pm 19,5$ мкм, соответственно в интактной и экспериментальной группе (рис. 1).

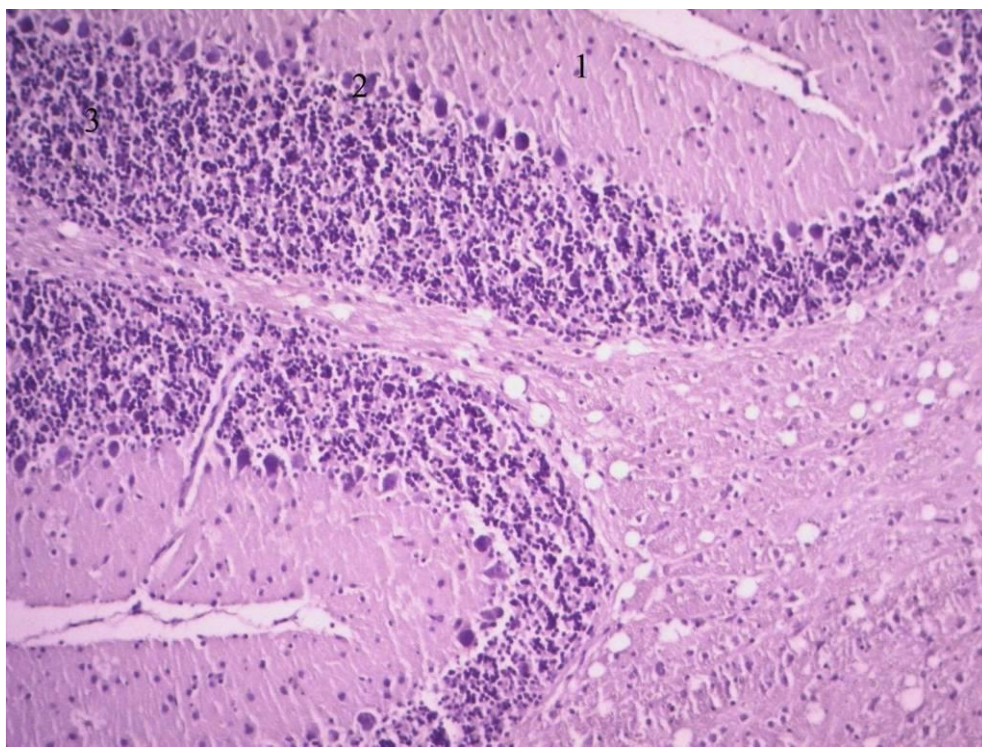


Рис. 1. Мозжечок экспериментальной крысы на 21 сутки после рождения. 1 – молекулярный слой; 2 – слой клеток Пуркинью; 3 – зернистый слой. Окраска гематоксилин-эозином. $\times 100$.

С 21-х по 60-е сутки жизни толщина молекулярного слоя значительно не изменяется независимо от группы и возраста; прирост толщины составляет у интактных животных с 21-х по 60-е сутки 7,1% и 7,4% у экспериментальных. Различия толщины молекулярного слоя между интакт-

ной и экспериментальной группами составляет 6,1%, 10,3%, 3,4%, на 21-е, 42-е и 60-е сутки жизни соответственно. На 42-е сутки после рождения толщина молекулярного слоя составляет $156 \pm 23,8$ мкм, $140,3 \pm 15,25$ мкм соответственно в интактной и экспериментальной группах, на 60

сутки - 144,8±27,5 мкм, 150,5±24,3 мкм в интактной и экспериментальной группе соответственно.

Толщина зернистого слоя на 14 день после рождения составила 90±28 мкм в интактной группе, 89,3±26 мкм у экспериментальных животных. С 21-х суток жизни в экспериментальной группе обнаруживается тенденция к истончению зернистого слоя по сравнению с интактной группой: 131,3±22 мкм и 153,5±34,8 мкм, соответственно. На 42-е и 60-е сутки толщина зернистого слоя в экспериментальной группе составила 110,3±20,8 мкм и 114±35 мкм, в интактной - 122±22 мкм, 136,3±40 мкм, соответственно. При этом в экспериментальной группе также определяется уменьшение плотности распределения клеток зернистого слоя на единицу площади по сравнению с интактной группой: на 14-е сутки - 8,07 и 8,13 клеток на единицу площади, на 21-е сутки - 9,5 и 9,9 клеток на единицу площади, на 28-е сутки - 12,17 и 13,8 клеток на единицу площади, на 42-е сутки - 12,77 и 13,3 клеток на единицу площади, на 60-е сутки - 8,2 и 10,07 клеток на единицу площади, соответственно.

Клетки Пуркинью, вне зависимости от эксперимента и возраста животных, локализованы на границе между молекулярным и зернистым слоями, имеют грушевидную форму, размеры - 11,4±1,5×17,6±2,1 мкм. Однако установлено, что расстояние между клетками Пуркинью у интакт-

ных животных увеличивается к 60-м суткам жизни (12 мкм, 20 мкм соответственно на 14-е и 60-е сутки жизни). У экспериментальных животных имеет место увеличение этого расстояния на 14 сутки - 13,9 мкм. В дальнейшем к 28-м суткам определяется тенденция к увеличению промежутка между соседними (ближайшими) клетками Пуркинью до 22,5 мкм (рис. 2), к 42-м суткам расстояние уменьшается, но остается выше, чем в интактной группе - 21 мкм, и к 60-м суткам становится максимальным - 26,2 мкм.

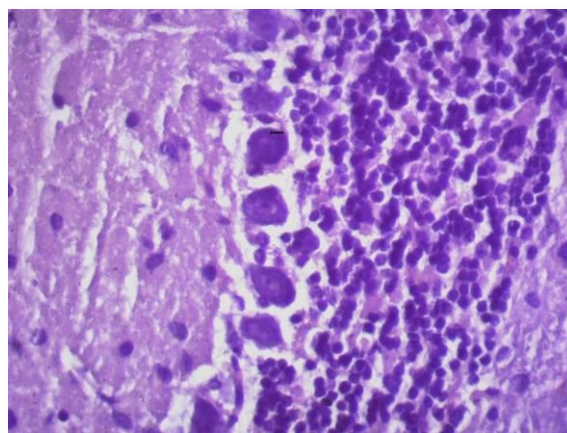


Рис. 2. Мозжечок экспериментальной крысы на 28-е сутки жизни. 1 - клетка Пуркинью. Окраска гематоксилин-эозином. ×400.

Таблица 1
Размеры клеток Пуркинью и динамика расстояния между ними в мозжечке крыс в постнатальном периоде

Сут. жизни	Поперечный размер, мкм		Продольный размер, мкм		Расстояние, мкм	
	1	2	1	2	1	2
14	10,7±1,7	10,7±1,2	17,4±2	16,8±1,6	12(min-5, max-25)	13,9(min-3, max-40)
21	12±1,3	11,6±1,5	17,6±1,7	18,7±1,9	12,8(min-5, max-30)	18,9(min-3, max-45)
28	11,9±1,5	12,1±1,6	16,7±2,2	18±1,9	17,1(min-5, max-55)	22,5(min-5, max-48)
42	11,7±1,7	10,6±1,6	18,2±2,7	17,4±2,9	19,2(min-3, max-60)	21(min-5, max-52)
60	12,4±1,4	13,8±1,7	19±1,8	20,2±2,9	20(min-2, max-65)	26,2(min-2, max-61)

Примечание: 1 - интактная группа крыс, 2 - экспериментальная группа крыс.

Обсуждение

В исследовании Finnie J., при изучении смертных изменений в мозжечке лабораторных животных, было выявлено, что зернистый слой является наиболее чувствительным к гипоксии: клетки зернистого слоя первыми реагируют на гипоксию, что ведет к их лизису и истончению зернистого слоя [7]. В работе Kolinko Y. по изучению изменений васкуляризации при наслед-

ственных дегенеративных заболеваниях мозжечка было обнаружено, что в зернистом слое выявлено наибольшее количество сосудов. При этом снижение васкуляризации у животных с дегенеративными заболеваниями мозжечка сопровождалось уменьшением толщины коры мозжечка [8]. В исследовании Cairns J. было установлено, что мозжечковые нарушения являются одним из наиболее распространенных структурных изме-

нений, обнаруженных при аутопсии у людей с диагнозом аутизм. Изменения мозжечка, наблюдаемые у лиц, страдающих аутизмом, представлены в первую очередь уменьшением количества клеток Пуркинье. При этом была выявлена прямая корреляционная связь между уменьшением количества клеток Пуркинье и степенью дегенеративных изменений клеток зернистого слоя коры мозжечка и нейронов ядер мозжечка [9]. В исследовании Каур С. было изучено влияние гипоксии в неонатальном периоде на структурные изменения коры мозжечка. У экспериментальных животных было выявлено снижение количества клеток Пуркинье в сравнении с интактной группой. Гибель клеток Пуркинье была связана с усиленной продукцией NO, TNF-alpha и IL-1 клетками микроглии под влиянием гипоксии [10]. При изучении изменений коры мозжечка при гипоксии у человека также было выявлено снижение количества клеток Пуркинье и их дегенеративные изменения под действием гипоксии [11]. Изучение качественных и количественных изменений клеток Пуркинье при мозжечковых атаках показало прямую зависимость неврологических нарушений у лабораторных животных с дегенерацией клеток Пуркинье. Однако было выявлено, что уменьшение плотности расположения клеток Пуркинье не является генетически детерминированным и может варьировать в разных участках коры мозжечка [12]. При исследовании изменений в коре мозжечка при болезни Паркинсона было обнаружено значительное снижение количества клеток Пуркинье, что может являться важным патогенетическим

звеном развития болезни Паркинсона [13]. Таким образом, выявленные изменения в структуре коры мозжечка у потомства крыс после интравагинального введения PgE2 могут свидетельствовать о гипоксии ткани головного мозга и приводить в дальнейшем к развитию дегенеративных изменений, что требует дальнейшего изучения.

Выводы

1. У потомства крыс после интравагинального введения PgE2 самкам для стимуляции родов не наблюдается значительных изменений толщины молекулярного слоя на 14-е сутки жизни. С 21-х по 60-е сутки жизни толщина молекулярного слоя значительно не изменяется ни в пределах группы с возрастом, ни по сравнению с интактной группой.

2. Толщина зернистого слоя имеет тенденцию к истончению в экспериментальной группе по сравнению с интактной с 21-х по 60-е сутки жизни. Также имеет место снижение количества клеток зернистого слоя на единицу площади с 21-х по 60-е сутки жизни у экспериментальных животных.

3. Клетки Пуркинье у экспериментальных и интактных животных не отличаются по форме, локализации, размеру, однако, у экспериментальных животных имеет место увеличение по сравнению с интактной группой расстояния между клетками Пуркинье на всех сроках.

Перспективы дальнейших исследований

В дальнейшем будет произведено изучение состояния сосудов микроциркуляторного русла мозжечка у потомства крыс после введения PgE2 самкам для стимуляции родовой деятельности.

Литературные источники References

1. Kravchenko IA. [Obstetric and perinatal aspects of birth injury]. Moscow: GEOTAR - Media; 2009. 240 p. Russian.
2. Bertram L, Tanzi RE. The genetic epidemiology of neurodegenerative disease. Clin Invest. 2005;115(6):1449-57.
3. Cairns J, Swanson D, Yeung J, Sinova A, Chan R, Potluri P, Dickson P, Mittleman G, Goldowitz D. Abnormalities in the Structure and Function of Cerebellar Neurons and Neuroglia in the Lc/+ Chimeric Mouse Model of Variable Developmental Purkinje Cell Loss. Cerebellum. 2016;16(1):40-54.
4. Finnie JW, Blumbergs PC, Manavis J. Temporal Sequence of Autolysis in the Cerebellar Cortex of the Mouse. Comp Pathol. 2016;154(4):323-8.
5. Hausmann R, Seidl S, Betz P. Hypoxic changes in Purkinje cells of the human cerebellum. Int J Legal Med. 2007;121(3):175-83.
6. Kaur C, Sivakumar V, Zou Z, Ling EA. Microglia-derived proinflammatory cytokines tumor

necrosis factor-alpha and interleukin-1beta induce Purkinje neuronal apoptosis via their receptors in hypoxic neonatal rat brain. Brain Struct Funct. 2012;219(1):151-70.

7. Kolinko Y, Cendelin J, Kralickova M, Tonar Z. Smaller Absolute Quantities but Greater Relative Densities of Microvessels Are Associated with Cerebellar Degeneration in Lurcher Mice. Front Neuroanat. 2016;10:35.

8. Martí J, Santa-Cruz MC, Hervás JP, Bayer SA, Villegas S. Cerebellar cortex development in the weaver condition presents regional and age-dependent abnormalities without differences in Purkinje cells neurogenesis. Acta Neurobiol Exp. 2016;76(1):53-65.

9. Mercier-Parot L, Tuchmann-Duplessis H. Action of prostaglandin E2 on pregnancy and embryonic development of the rat. Toxicology Letters. 1977;1:3-7.

10. Persaud T. The effects of prostaglandin E2 on pregnancy and embryonic development in mice.

Toxicology. 1975;1:97-101.

11. Sheikh S, Haque E, Snober SM. Neurodegenerative Diseases: Multifactorial Conformational Diseases and Their Therapeutic Interventions. *Journal of Neurodegenerative Diseases*. 2013;1:1-8.

12. WHO Global Survey on Maternal and Perinatal Health. Induction of labour data. Geneva,

World health Organization, 2010.

13. Wu C, Fan G, Wu C, Yu G, Li Z. Morphologic changes within the cerebellar cortex in the unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rat model for Parkinson disease. *Histol Histopathol*. 2016;31(12):1337-46.

Григорьева Е.А., Мамай И.Ю. Изменения коры мозжечка потомства крыс после введения PgE2 самкам для стимуляции родовой деятельности.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Влияние стимуляции родовой деятельности на структуру головного мозга остается неизученным до настоящего времени. **Цель.** Определить морфологические изменения коры мозжечка у лабораторных крыс в постнатальном периоде после интравагинального введения простагландина E2 для индукции родов. **Методы.** В работе изучены особенности изменений структуры коры мозжечка потомства белых сингенных крыс с 14-х до 60-х суток жизни. Беременным самкам экспериментальной группы на 20-й день беременности для стимуляции родовой деятельности вводили интравагинально PgE2 в форме геля. Роды у крыс экспериментальной группы наступали на 21 сутки, интактной – на 23-24 сутки после зачатия. Начало беременности устанавливали методом вагинальных мазков, окрашенных метиленовым синим; наличие в мазках сперматозоидов принимали за 0 день беременности. Мозжечки фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в восходящей батарее спиртов. Изготавливали парафиновые срезы толщиной 5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. В гистологических срезах изучали толщину молекулярного и зернистого слоев коры мозжечка, количество клеток зернистого слоя на единицу площади, количество клеток Пуркинье и их размеры. Данные обработаны методом вариационной статистики. Результаты достоверны при $p < 0,05$. **Результаты.** У потомства крыс после интравагинального введения PgE2 самкам для стимуляции родов с 14-х по 60-е сутки жизни толщина молекулярного слоя значительно не изменяется ни в пределах группы с возрастом, ни по сравнению с интактной группой. Толщина зернистого слоя имеет тенденцию к истончению в экспериментальной группе по сравнению с интактной с 21-х по 60-е сутки жизни. Также имеет место снижение количества клеток зернистого слоя на единицу площади с 21-х по 60-е сутки жизни у экспериментальных животных. Клетки Пуркинье у экспериментальных и интактных животных не отличаются по форме, локализации, размеру, однако, у экспериментальных животных по сравнению с интактной группой увеличивается расстояние между клетками Пуркинье на всех сроках наблюдения.

Ключевые слова: мозжечок, клетки Пуркинье, зернистый слой, молекулярный слой, простагландин E2.

Григор'єва О.А., Мамай І.Ю. Зміни кори мозочка потомства щурів після введення PgE2 самкам для стимуляції родової діяльності.

Реферат. Актуальність. Вплив стимуляції родової діяльності на структуру головного мозку залишається невивченим до теперішнього часу. **Мета.** Визначити морфологічні зміни кори мозочка у лабораторних щурів в постнатальному періоді після інтравагінального введення простагландину E2 для індукції пологів. **Методи.** У роботі вивчені особливості змін структури кори мозочка нащадків білих сингенних щурів з 14-ї до 60-ї доби життя. Вагітним самкам експериментальної групи на 20-й день вагітності для стимуляції родової діяльності вводили інтравагінально PgE2 у формі гелю. Пологи у щурів експериментальної групи наступали на 21 добу, інтактною - на 23-24 добу після зачаття. Початок вагітності встановлювали методом вагінальних мазків, забарвлених метиленовим синім; наявність у мазках сперматозоїдів приймали за 0 день вагітності. Мозочки фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у висхідній батареї спиртів. Виготовляли парафінові зрізи товщиною 5 мкм, які фарбували гематоксилином і еозином. У гістологічних зрізах вивчали товщину молекулярного і зернистого шарів кори мозочка, кількість клітин зернистого шару на одиницю площі, кількість клітин Пуркіньє і їх розміри. Дані оброблені методом варіаційної статистики. Результати достовірні при $p < 0,05$. **Результати.** У потомства щурів після інтравагінального введення PgE2 самкам для стимуляції пологів з 14-ої по 60-у добу життя товщина молекулярного шару істотно не змінюється ні в межах групи з віком, ні в порівнянні з інтактною групою. Товщина зернистого шару має тенденцію до витончення в експериментальній групі в порівнянні з інтактною з 21-ої по 60-у добу життя. Також має місце зниження кількості клітин зернистого шару на одиницю площі з 21-ої по 60-у добу життя у експериментальних тварин. Клітини Пуркіньє у експериментальних і інтактних тварин не відрізняються за формою, локалізацією, розміром, проте, у експериментальних тварин в порівнянні з інтактною групою збільшується відстань між клітинами Пуркіньє на всіх термінах спостереження.

Ключові слова: мозочок, клітини Пуркіньє, зернистий шар, молекулярний шар, простагландин E2.