

# ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ ЩУРІВ ПРИ ІНТРАТЕКАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ

С.П. Борщов<sup>1</sup>, Н.М. Недопитанська<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ДУ „Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України”,

<sup>2</sup>ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя МОЗ України», Київ

**РЕЗЮМЕ.** У роботі наведені результати морфологічних досліджень внутрішніх органів піддослідних тварин за інтратекального введення меропенему, кліндоміцину, левофлоксацину та рифаміцину в поєднанні з дексаметазоном у відповідних дозах у порівнянні з введенням фізіологічного розчину. Доведено відсутність специфічного впливу або посилення неспецифічного впливу на клітини тканини щурів досліджених препаратів порівняно з фізіологічним розчином.

**Ключові слова:** інтратекальне введення, меропенем, кліндоміцин, левофлоксцин, рифаміцин, морфологія.

Інтратекальне введення препаратів широко застосовується у різних галузях медицини, зокрема введення анестетиків при проведенні спинальної анестезії [1,2], введення гормонів та цитостатиків при деяких злоякісних новоутвореннях [3,4] тощо [5]. Разом з тим існують лише поодинокі повідомлення щодо інтратекального застосування антибактеріальних препаратів при лікуванні бактерійних менінгоенцефалітів [6].

Одним з найвагоміших аргументів проти даного способу введення ліків є ймовірний токсичний вплив препаратів на органи та системи організму, в першу чергу, токсична дія на головний та спинний мозок.

У дослідах на щурах нами було проаналізовано клінічні та лабораторні показники піддослідних тварин після інтратекального введення меропенему, кліндоміцину, левофлоксацину та рифаміцину в поєднанні з дексаметазоном у відповідних дозах у порівнянні з введенням фізіологічного розчину. Розчини вводили у третій шлуночок мозку, в який попередньо під стереотаксичним контролем було імплантовано сталеву спрямовуючу канюлю 23 калібрі (рис.1).

Після трьох введень препаратів з інтервалом у 24 години, в кінці терміну спостереження (6 доба) тварин умертвляли шляхом декапітації. Більш детально умови експерименту та отримані результати викладено в попередніх публікаціях [7-10].

**Мета роботи.** Дослідити морфологічні зміни в органах піддослідних тварин після інтратекального введення меропенему, кліндоміцину, левофлоксацину та рифаміцину в поєднанні з дексаметазоном у відповідних дозах у порівнянні з введенням фізіологічного розчину.



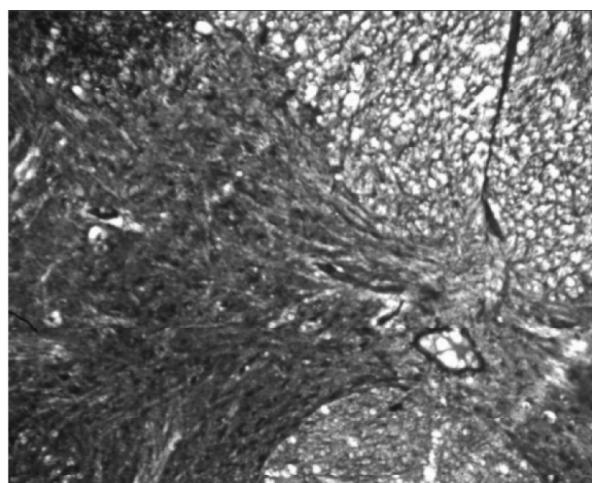
**Рис.1.** Експериментальна модель. Інтратекальне введення препаратів піддослідному щуру

**Матеріали і методи.** Для гістологічного дослідження взято органи і тканини 6 нелінійних білих щурів самців кожної групи: контрольна група – тварини, які одержували апіrogenний ізотонічний розчин натрію хлориду, 1 група – меропенем, 2 група – кліндоміцин, 3 група – левофлоксцин, 4 група – рифаміцин. Хребетний стовп довжиною 0,5 см, що містить ділянку спинного мозку на рівні нижнього шийного сегмента, був фіксований в 10% нейтральному формаліні. Для попередження механічних пошкоджень спинного мозку його залишали в мозковому каналі, зразки декальциновували мурашиною кислотою. Головний мозок після розтину черепної коробки вилучали цілком. Після фіксації у формаліні робили серединний сагітальний розріз головного мозку і вирізали зразок тканини таким чином, щоб у нього потрапляло місце імплантації канюлі. При розтині також

відбирали зразки печінки і нирок розміром приблизно  $1 \times 0,5 \times 0,5$  см, печінки – зі серединної частки, нирки – поперечний розріз від капсули до воріт. Зразки тканин фіксували в 10% формаліні, потім зневоднювали в батареї спиртів зростаючої концентрації і після просочення заливали в парафін. За допомогою мікротома готували зрізи товщиною 5-7 мкм. Депарафіновані зрізи фарбували за стандартною методикою гематоксиліном і еозином для оглядового гістологічного аналізу загально-прийнятими в морфологічних дослідженнях методами.

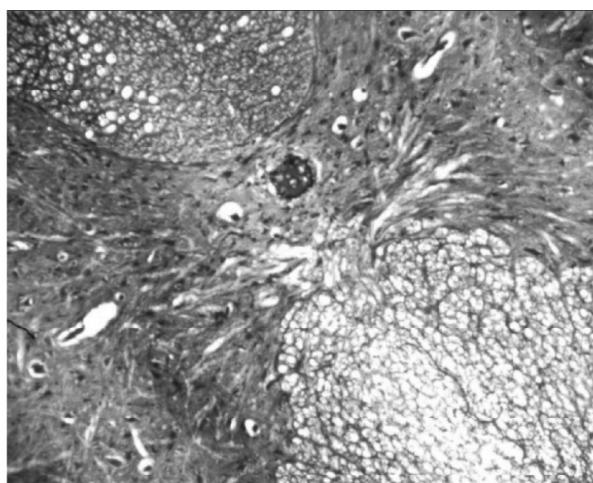
#### **Результати роботи та їх обговорення.**

**Спинний мозок.** У всіх досліджених тварин з усіх груп гістоархітектоніка тканини спинного мозку повністю збережена, на поперечних зрізах чітко відрізняється сіра речовина характерних обрисів у вигляді метелика і довколишня біла речовина, м'яка мозкова оболонка. В усіх досліджених тварин відзначено зміну щільності білої речовини в бік її дифузного розрідження і набуття дрібнопористої структури (рис.2-

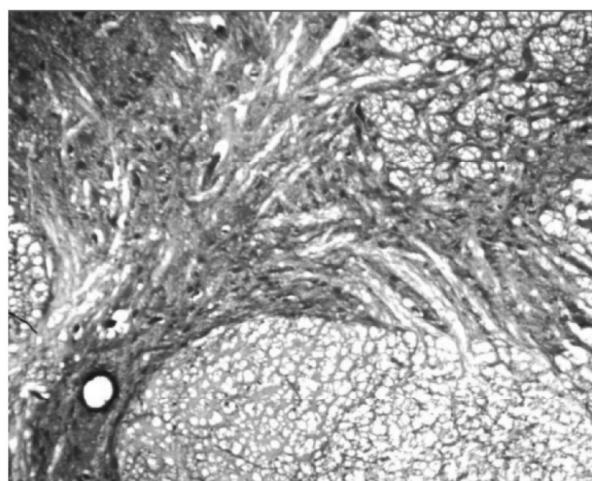


**Рис. 2.** Поперечний зріз спинного мозку контрольної тварини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Х 100.

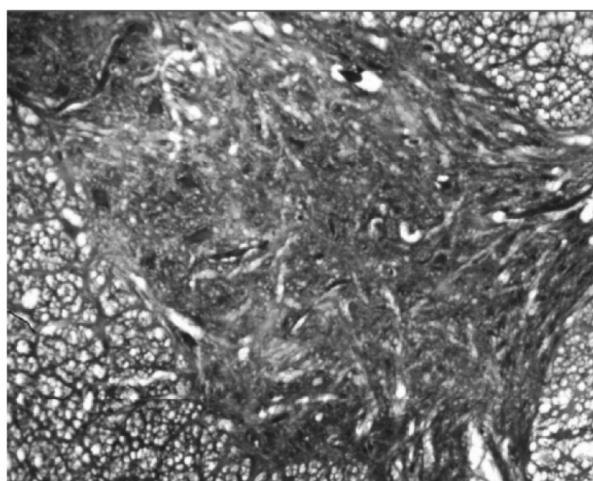
6), що більш виразна в ділянці центральної та латеральної білої речовини низхідних шляхів, що захоплює області пучка Говерса, переднього ретикулоспinalьного і вестибулоспinalьного тракту і прилеглі до них ділянці. Біла речовина в області задніх рогів також змінена, однак її розрідження виражено дещо слабше. Розширення періаксональних просторів створюють кріброзні структури білої речовини і засвідчують різний ступінь виразності тканинного набряку мієлінових волокон, які на поперечному зрізі мають вигляд кільцеподібних пустот. У центрі кожної з них осьовий циліндр у вигляді темної крапки, навколо набрякла блідо забарвлена мієлінова оболонка (рис.7). Описані зміни не мали чітких меж і клітинної реакції, при цьому відсутнє повнокрів'я внутрішньомозкових кровоносних судин і геморагії. Виражено повнокрівними визначаються окремі судини оболонок спинного мозку, де зустрічаються геморагії, що не переходятуть крайову гліальну мембрани. При гістологічному дослідженні не вдалося вияви-



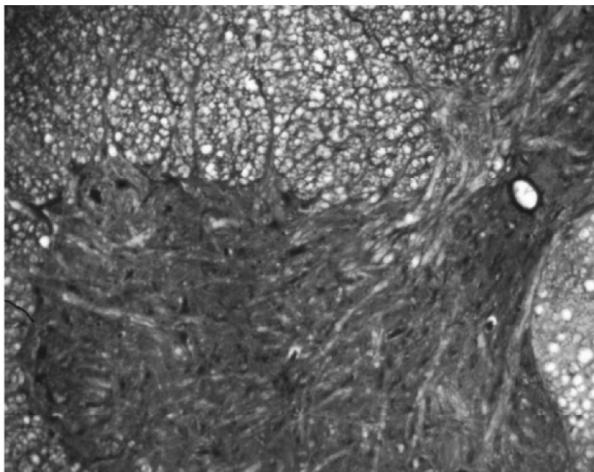
**Рис. 3.** Поперечний зріз спинного мозку тварини 1 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Х 100



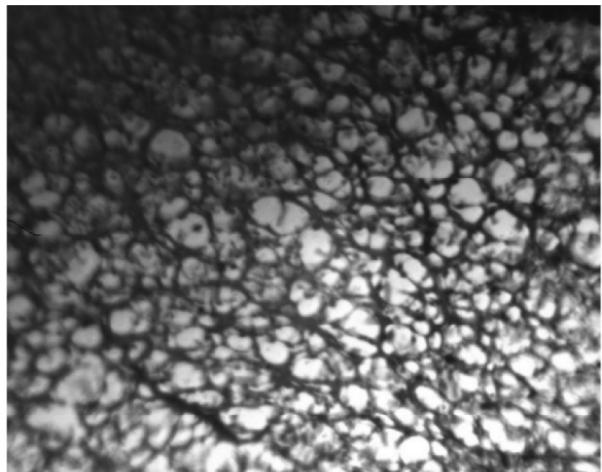
**Рис. 4.** Поперечний зріз спинного мозку тварини 2 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Х 100.



**Рис. 5.** Поперечний зріз спинного мозку тварини 3 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Х 100.



**Рис. 6.** Поперечний зріз спинного мозку тварини 4 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 100

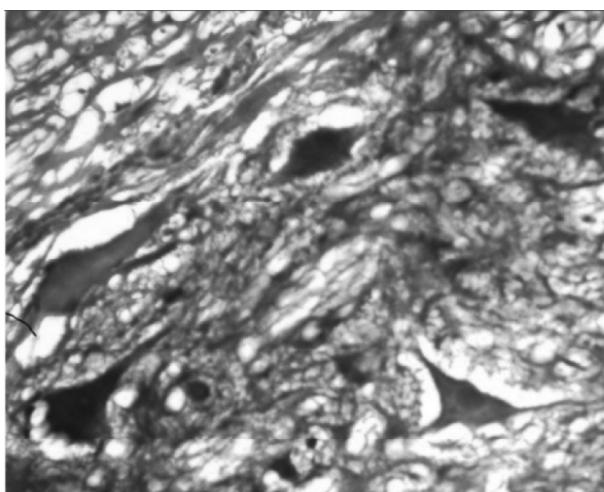


**Рис. 7.** Біла речовина спинного мозку тварини 4 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 1000. Імерсія.

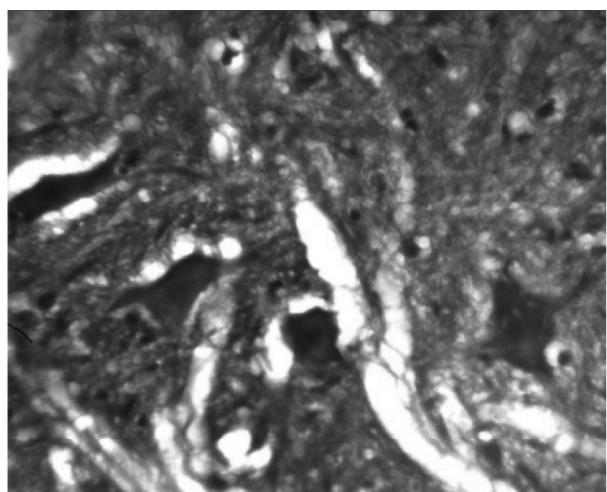
ти залежності між ступенем виразності структурних змін білої речовини і групою, зміни були однотипні у тварин усіх груп (рис.2-6). Центральний канал спинного мозку мало змінений, іноді мало місце невелике розширення його просвіту або легка гідромісія (рис.2 і 3) при повному збереженні клітин епендими. Зміна шільності сірої речовини виражена значно менше порівняно з білою речовиною спинного мозку (рис.2-6). Часто зустрічається розширення перицелюлярних просторів. У сірій речовині тварин усіх груп візуально відзначено приблизно однакову кількість нейронів. Нейрони рогів сірої речовини спинного мозку характеризуються надмірним фарбуванням базофільної речовини (рис.8-13), при цьому клітинні органели неможливо віддиференціювати в цитоплазмі, ядро можна розгледіти при повороті мікроскопа. Часто зустрічаються набряклі гіперхромні нейрони (рис.8, 11), нерідко з вакуолізацією цитоплазми

(рис.10, 12) при збереженні основних структур клітини, що відображають стан вираженого подразнення та збудження клітини. Зазначені патоморфологічні ознаки роздратування клітини є неспецифічними і можуть спостерігатися в будь-яких відділах нервової системи при найрізноманітніших впливах.

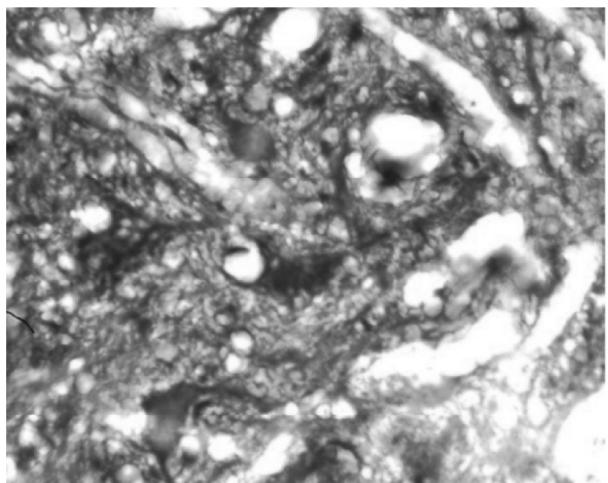
**Головний мозок.** Нейрони різних відділів головного мозку піддослідних тварин також демонструють різні зміни, більше того, в одному полі зору можна бачити нейрони, що знаходяться на різних стадіях реактивних і деструктивних порушень (рис.14, 15), що відображають подразнення нервових клітин. У різних ділянках тканини головного мозку поряд з нормальними нейроцитами виявлені клітини з явищами перинуклеарного, фрагментарного і субтотального хроматолізу (рис.14, 15), а також виразно гіперхромні нейрони (див. також рис.16-18). У двох тварин (в одного щура контрольної та щура 4 групи) в тканині голов-



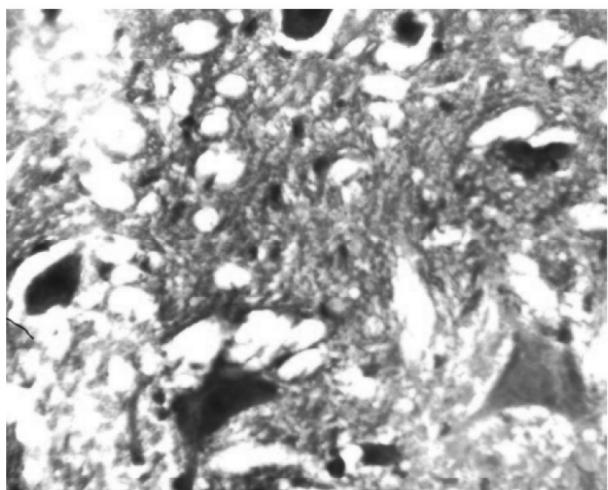
**Рис. 8.** Гомогенно забарвлени мотонейрони подовженої форми в спинному мозку контрольної тварини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.



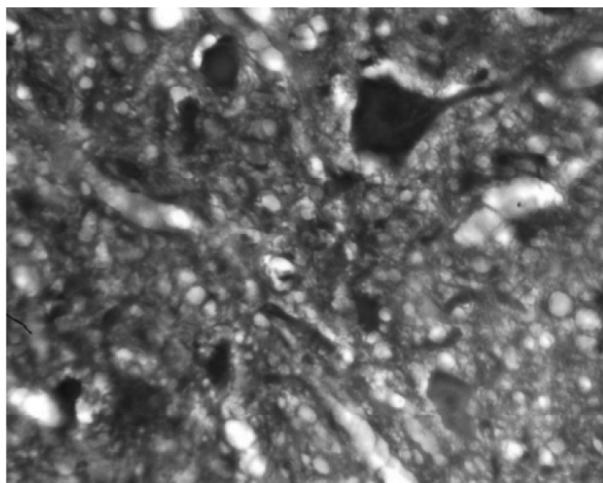
**Рис. 9.** Гіперхроматоз нейронів. Спинний мозок тварини 1 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.



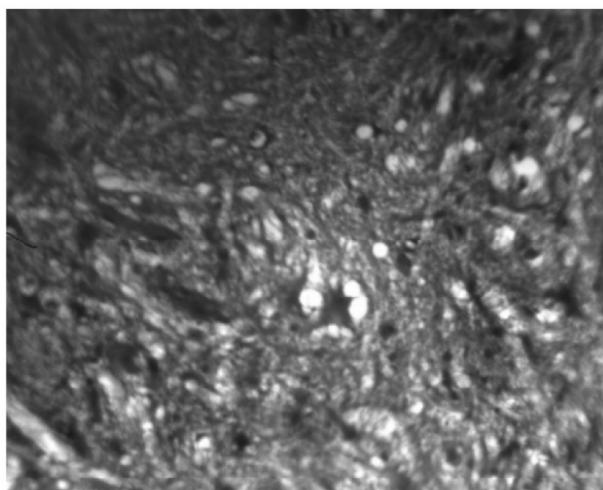
**Рис. 10.** Вакуолізація цитоплазми нейронів і каріопікноз.  
Спинний мозок тварини 2 групи.  
Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.



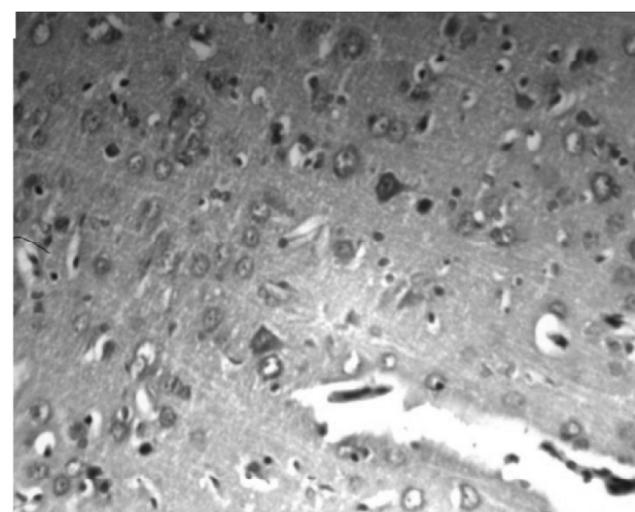
**Рис. 12.** Розширення перицелюлярних просторів.  
Спинний мозок тварини 4 групи. Забарвлення гематок-  
силіном і еозином. X 400.



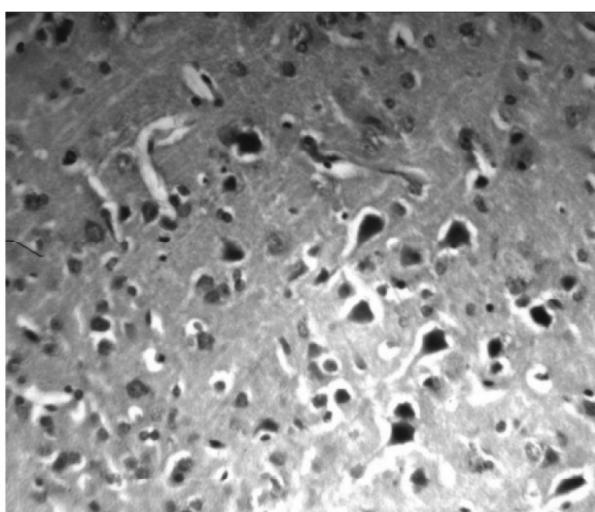
**Рис. 11.** Гіперхроматоз мотонейронів. Спинний мозок  
тварини 3 групи. Забарвлення гематоксиліном  
і еозином. X 400.400.



**Рис. 13.** Вакуолізація цитоплазми нейрона.  
Спинний мозок тварини 4 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.

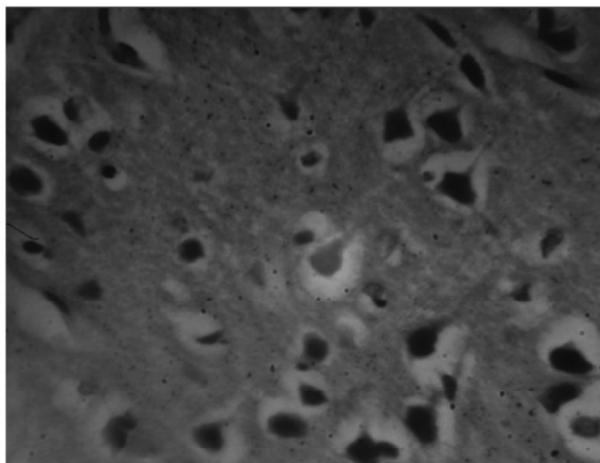


**Рис. 14.** Явища фрагментарного хроматолізу в деяких  
клітинах головного мозку контрольної тварини.  
Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.



**Рис. 15.** Одночасна присутність клітин  
з хроматолізом і гіперхроматозом. 1 група.  
Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.

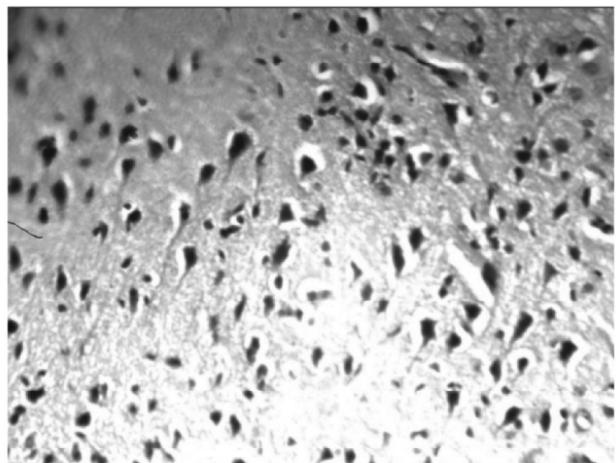
ного мозку виявлені дрібні вапняні петрифікати як випадкова знахідка (рис.19). В усіх дослідженіх тварин у корі головного мозку виявлений від слабкого до помірного периваскулярний і перицелюлярний набряк. При цьому в субкапсулярних шарах набряк практично був відсутній (рис.20), а проявляється в глибоких шарах. Поряд з розширенням периваскулярних просторів самі судини виглядають такими, що запали та малокрівні. При цьому в тканині мозочка практично не було ні набряку, ні дистрофічних змін (рис.21). У корі мозочка чітко виявляються молекулярний, гангліонарний і зернистий шари. Клітини Пуркіньє не пошкоджені, розташовані в один ряд, мають центрально розташоване ядро. Зернистий шар гомогенний і представлений однорідними клітинами округлої форми (рис.21-22). Великі крововиливи і просочування кров'ю мозкової тканини виявлені не в усіх піддослідних шурів і тільки в глибоких шарах мозку, прилеглих до шлуночків (рис.23-24), вони розцінюються як результат пошкодження



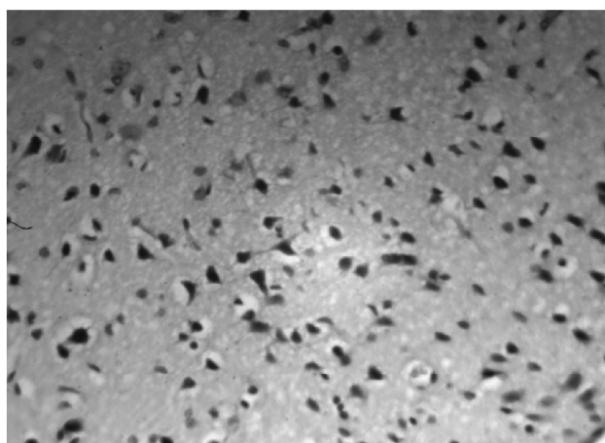
**Рис. 16.** Гіперхроматоз нейронів, розширення перицелюлярних просторів. 2 група. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 1000. Імерсія.

тканини при імплантації канюлі.

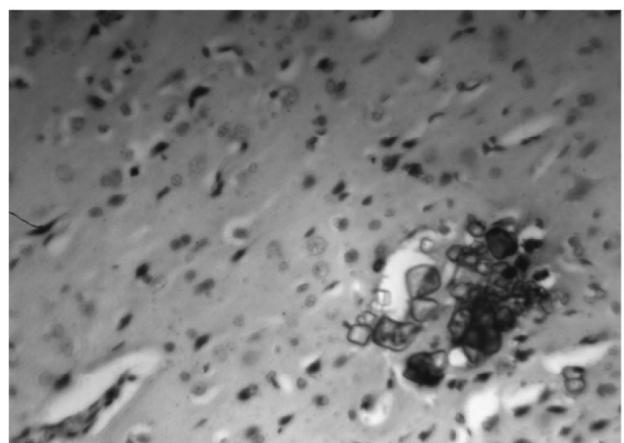
Проведені гістологічні дослідження тканини головного і спинного мозку в усіх серіях експериментів, включаючи контроль, виявили ряд однотипних поліморфних змін. Спостерігали поліморфізм нейронів, набухання і вакуолізацію цитоплазми, хроматоліз цитоплазми, гіперхроматоз і зміну форми нейронів. У всіх тварин спостерігалися помірні структурні зміни у вигляді набряку білої речовини спинного мозку. В усіх тварин спостерігалися також явища периваскулярного і перицелюлярного набряку в тканині головного і спинного мозку, вогнища посттравматичних геморагій в головному мозку. Відомо, що гіперхроматоз може розглядатися як свідчення підвищеної активності нейрона, тоді як хроматоліз може розрізнюватися як ознака пошкодження аксона і використання білка на власні потреби клітини. В умовах проведеного експерименту в нервовій тканині гіперхромні нейрони зустрічалися значно частіше порівняно з клітинами з хроматолізом. Але їхня поява виг-



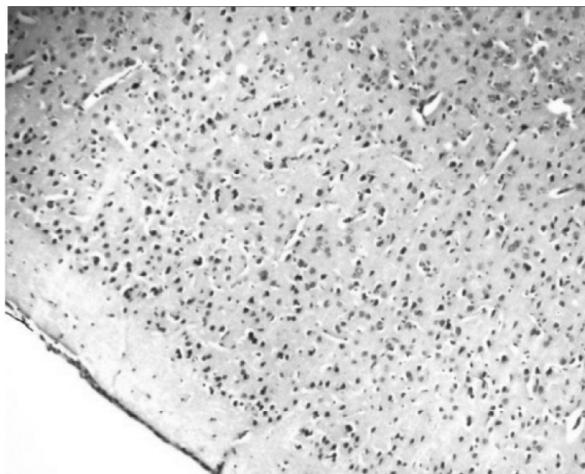
**Рис. 17.** Гіперхроматоз нейронів, розширення перицелюлярних просторів. 3 група. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.



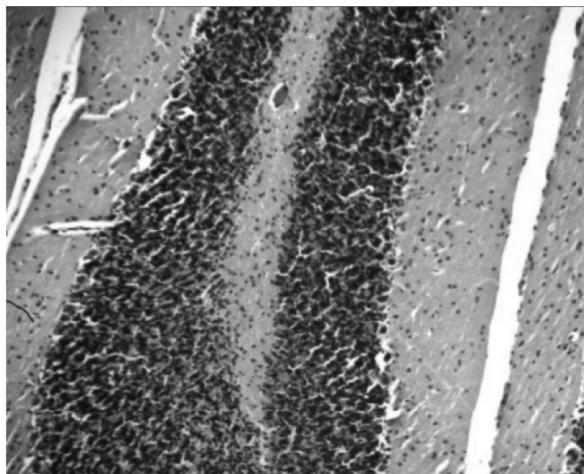
**Рис. 18.** Набрякість тканини мозку тварини 4 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.



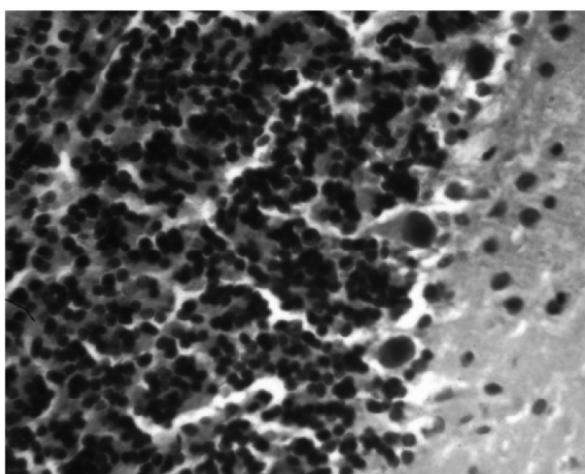
**Рис. 19.** Петрифікат у церебральній тканині тварини 4 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.



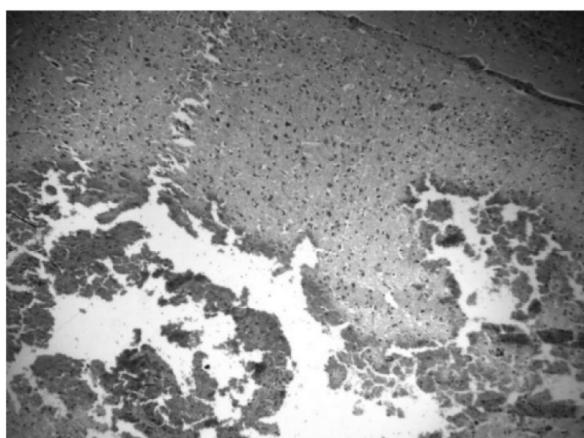
**Рис. 20.** Периваскулярний набряк в глибоких шарах кори. 2 група. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 100



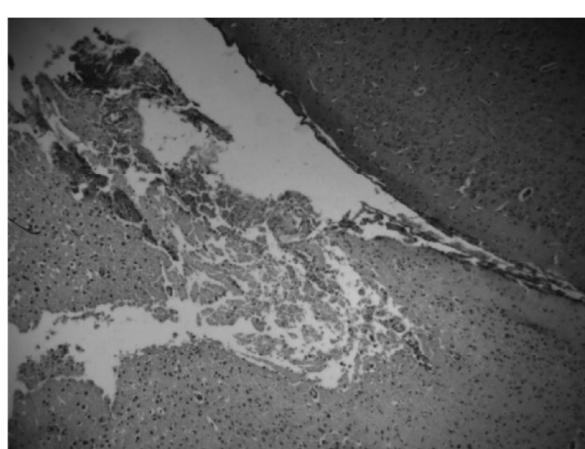
**Рис. 21.** Тканина мозочка контрольної тварини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 100.



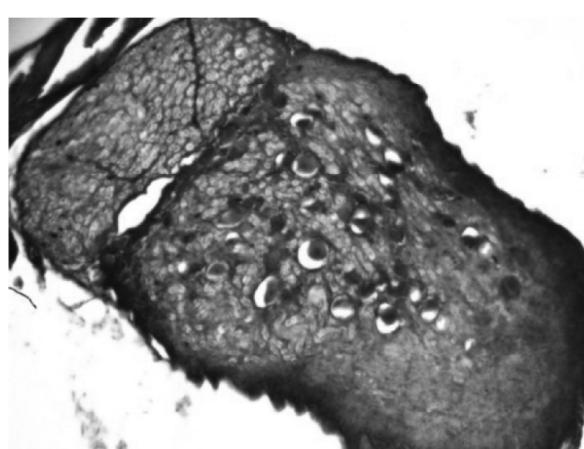
**Рис. 22.** Тканина мозочка контрольної тварини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.



**Рис. 23.** Обширна геморагія в тканині мозку тварини 3 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 100.



**Рис. 24.** Обширна геморагія у тканині мозку тварини 4 групи. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 100



**Рис. 25.** Перицелюлярний набряк у спинномозковому ганглію. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400

лядає закономірною при наявності механічного пошкодження тканини мозку. Явища периваскулярного і перицелюлярного набряку є дисциркуляторними змінами в мозку. Виявлені зміни – це слабо і помірно деструктивно-дистрофічні порушення з боку нейронів

і глії, вони однаково виражені в усіх тварин. Виявлені зміни мають оборотний характер і викликані, найімовірніше, механічними пошкодженнями тканин при імплантації канюлі; ушкодженнями, пов'язаними з рефлексорними гемо- і, можливо, ліквородина-

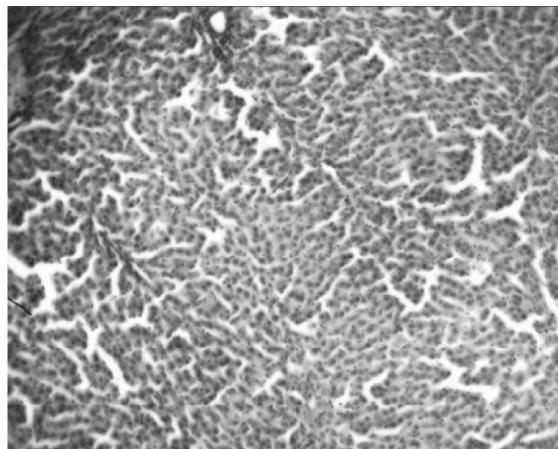
мічними зрушеннями при умертвінні тварин. Також не можна повністю виключити вплив на ніжну структуру мозкової тканини процесів обробки тканин при приготуванні гістологічних препаратів. Були відсутні суттєві морфо-структурні порушення в інших досліджених органах. Заслуговує на увагу незмінена мікроскопічна картина спинномозкових ганглій (рис.25), що випадково потрапили в зріз. Крім перицеллярного набряку, будь-яких інших змін не виявлено.

**Печінка.** Структура органу має характерне радіально-балочне розташування гепатоцитів у межах печінкових часточок (рис.26, 27). Сполучнотканинна строма незначно інфільтрована лімфоїдними елементами, судини строми звичайного кровонаповнення. Гепатоцити містять ніжно-зернисту еозино-фільну цитоплазму, центрально розташоване ядро з кількома ядерцями (рис.28). В однієї тварини з групи 4 відзначена слабко виражена водно-білкова дистрофія. Паренхіма печінки характеризується появою грубої білкової зернистості в цитоплазмі гепатоцитів, збільшенн

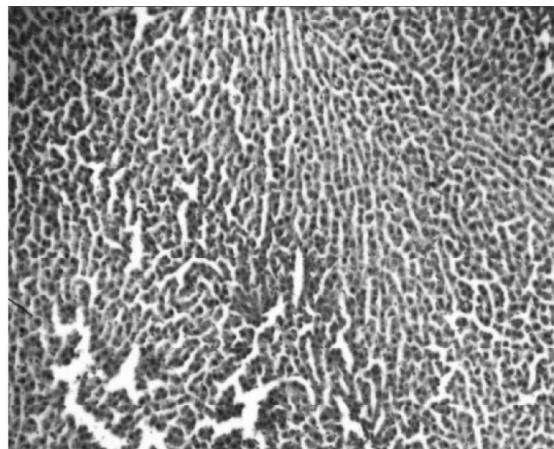
ям вмісту води, що мікроскопічно виражається в розрідженості цитоплазми, ядро розташоване центрально, часто пікнотичне, контури клітин окреслені досить добре (рис.29).

**Нирки.** В усіх тварин гістоструктура нирки не змінена, чітко помітні коркова і мозкова речовина звичайної будови (рис. 30). Виявлено слабко виражені гемодинамічні порушення у вигляді нерівномірного повнокрів'я судин кори і капілярів клубочків, у частині клубочків відзначенні мікроциркуляторні порушення, що виражаються нерівномірним розширенням капілярних петель, розгалуженості, «лапчастості» клубочків (рис.31). Нефротелій канальців не змінений, просвіти канальців чисті.

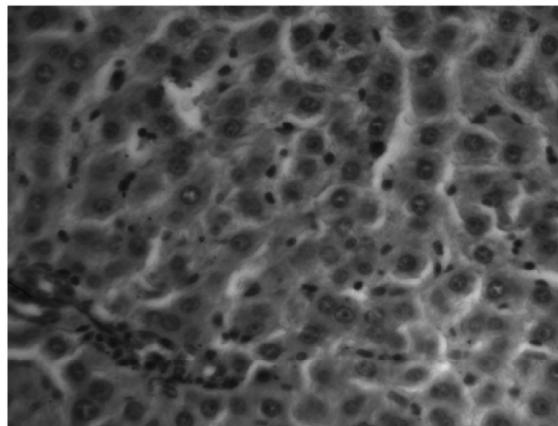
У результаті гістоморфологічних досліджень печінки і нирок піддослідних і контрольних щурів не виявлено будь-яких істотних змін у паренхімі і стромі органів. Легкі гемодинамічні порушення в корі нирок спостерігалися у піддослідних, а також у контрольних тварин. Єдиний випадок водно-білкової дистрофії печінки піддослідного щура недостатній, щоб впливати на загальний висновок.



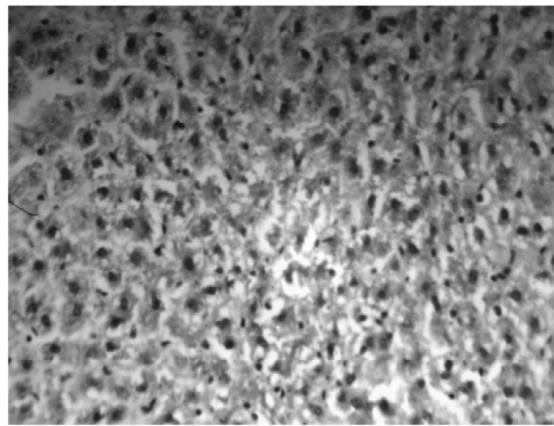
**Рис. 26.** Печінка нормальної гістологічної будови. Контроль. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X100.



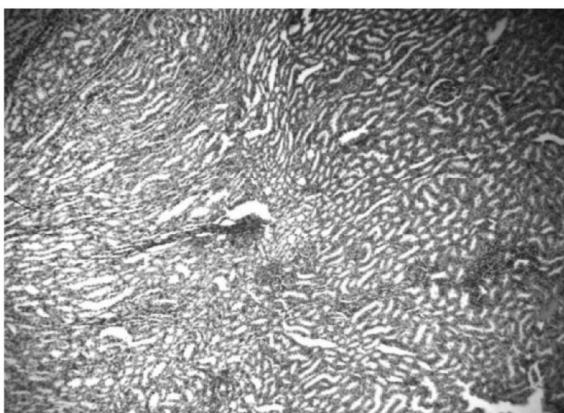
**Рис. 27.** Печінка нормальної гістоструктури щура групи 2. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X100.



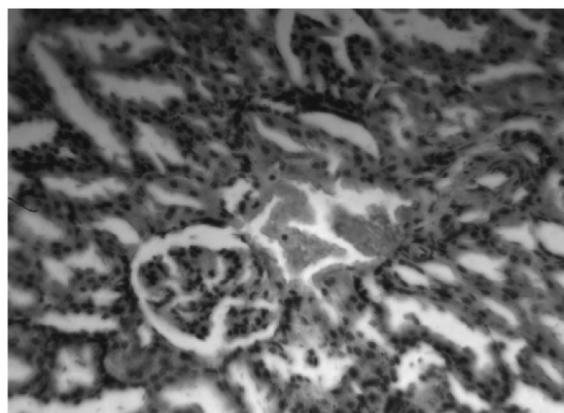
**Рис. 28.** Нормальні гепатоцити в печінці щура групи 3. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 1000. Імерсія.



**Рис. 29.** Водно-білкова дистрофія печінки щура групи 4. Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.



**Рис. 30.** Тканина нирки контролального щура.  
Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 100.



**Рис. 31.** Фрагмент тканини кори нирки щура групи 4.  
Забарвлення гематоксиліном і еозином. X 400.

## ВИСНОВКИ

1. Проведене гістологічне дослідження доводить відсутність специфічного впливу або більш виразного неспецифічного впливу на клітини і тканини головного мозку, спинного мозку, печінки та нирок щурів інтратекального введення препаратів меропенем, кліндоміцін, левофлоксацин, рифаміцин у поєднанні з дексаметазоном у відповідних дозах у порівнянні з введенням фізіологічного розчину.

2. Отримані результати підтверджують відсутність токсичного впливу на організм піддослідних тварин інтратекального способу введення препаратів, що досліджувались.

3. Інтратекальне введення меропенему, кліндоміцину, левофлоксацину та рифаміцину в поєднанні з дексаметазоном у відповідних дозах є безпечним та може бути рекомендоване для розробки дизайну та протоколу проведення клінічних досліджень з метою визначення ефективності інтратекальної терапії хворих на бактеріальні менінгоенцефаліти.

## ЛІТЕРАТУРА

- Шлапак І. П. Комбінована спінальна опіоїдна анестезія/аналгезія та її оцінка як методу адекватного антиноціцептивного захисту: автoreф. дис. ... д-ра мед. наук / І. П. Шлапак. – К., 1994. – 42 с.
- Intrathecal narcotics for obstetric analgesia in a community hospital / L. A. Rust, R. W. Waring, G. L. Hall, E. I. Nelson // Am. J. Obstet. Gynecol. – 1994. – V. 170, N 6. – P. 1643–1646; discussion 1646–1648.
- Эндolumбальная гормональная терапия в поллиативном лечении больных с диссеминированным раком предстательной железы / О. В. Леонов [и др.] // Эфферентная терапия. – 2003. – Т. 9, № 3. – С. 53–57.
- Clinical experience using intrathecal liposomal cytarabine to manage neoplastic meningitis in three patients with acute promyelocytic leukemia / R. F. Duarte, M. Arnan, I. Sanchez-Ortega [et al.] // Leuk. Res. – 2011. – V. 35, N 7. – P. 128–130.
- Опыт эндolumбального введения церебролизина при полушиарном инсульте / Б. С. Виленский, М. М. Одинак, Е. А. Широков, И. А. Вознюк // Журнал неврологии и психиатрии. – 2000. – Т. 100, № 1. – С. 31–34
- Falagas M. E. Intraventricular or intrathecal use of polymyxins in patients with Gram-negative meningitis: a systematic review of the available evidence / M. E. Falagas, I. A. Bliziotis, V. H. Tam // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2007. – V. 29, N 1. – P. 9–25.
- Експериментальне дослідження безпечності інтратекального застосування меропенему з дексаметазоном / [С.П. Борщов, І.В. Фільчаков, П.В. Сініцин, Н.М. Серединська] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – №3(34). – С.35–40.
- Експериментальне дослідження безпечності інтратекального застосування левофлоксацину / [С.П. Борщов, І.В. Фільчаков, П.В. Сініцин, Н.М. Серединська] // Український нейрохірургічний журнал – 2013. – № 3 (63). – С. 61–64.
- Експериментальне дослідження безпечності інтратекального застосування кліндоміцину / [С.П. Борщов, І.В. Фільчаков, П.В. Сініцин, Н.М. Серединська] // Профілактична медицина – 2012. – № 3–4 (19) – С.76–81.
- Експериментальне дослідження безпечності інтратекального застосування ріфаміцину / [С.П. Борщов, І.В. Фільчаков, П.В. Сініцин, Н.М. Серединська] // Профілактична медицина – 2015. – № 1–2 (24) – С.60–63.

## ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КРЫС ПРИ ИНТРАТЕКАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ

С.П. Борщов, Н.Н. Недопитанская

**РЕЗЮМЕ.** В работе приведены результаты морфологических исследований органов подопытных животных после интракраниального введения меропенема, клиндомицина, левофлоксацина и рифамицина в сочетании с дексаметазоном в соответствующих дозах в сравнении с введением физиологического раствора. Доказано отсутствие специфического воздействия или более выраженного неспецифического воздействия на клетки и ткани крыс препаратов по сравнению с физиологическим раствором.

**Ключевые слова:** интракраниальное введение, меропенем, клиндомицин, левофлоксацин, рифамицин, морфология.

## HISTOLOGICAL STUDY OF INTERNAL ORGANS OF RATS INTRACRANIAL EXPOSED TO ANTIBACTERIAL MEDICATIONS

S. Borshchov, N. Nedopitanska

**SUMMARY.** The results of the morphological study of preparations experimental animals after intracranial introduction of meropenem, clindamycin, levofloxacin, rifamycin in combination with dexamethasone at appropriate doses compared to saline administration. It was proved the absence of a specific reaction or more pronounced nonspecific reaction on cells and tissue rats compared with saline.

**Key words:** intracranial introduction, meropenem, clindamycin, levofloxacin, rifamycin, morphology.