

© А.С. Головацький, Т.В. Гарапко, 2017

УДК 611.438+599.23:612.438.4:615.212.7

А.С. ГОЛОВАЦЬКИЙ, Т.В. ГАРАПКО

*Ужгородський національний університет, медичний факультет, кафедра анатомії людини та гістології, Ужгород***СТРУКТУРНІ ЗМІНИ ТИМУСА ПРИ ДІЇ НА ОРГАНІЗМ ОПІОЇДУ**

У статті представлено дані щодо структурно-функціональних змін компонентів тимуса в динаміці шеститижневої дії налбуфіну, а також через один тиждень після відміни, які досліджували на напівтонких гістологічних зрізах товщиною 1–2 мкм. Перші зміни виявлено вже через один тиждень експерименту – збільшення щільності клітин. Через два-три тижні дії налбуфіну щільність клітин зменшується, вени та венули дещо розширюються, деформуються, стінка артерій та артеріол потовщується, гемокапіляри розширюються. Через чотири-п'ять тижнів дослідження всі зміни поглиблюються, зростає кількість апоптично змінених тимоцитів та епітеліоретикулоцитів у часточках тимуса. Еритроцити в просвіті судин деформовані, скупчені. Через шість тижнів впливу препарату зменшилася частка лімфоїдного компоненту в тимусі, вени розширені, деформовані, повнокровні, численні венули та артеріоли «порожні», артерії з потовщеною стінкою. Через один тиждень після відміни зворотних змін немає.

**Ключові слова:** тимус, налбуфін, тимоцити, епітеліоретикулоцити, апоптоз

**Вступ.** Сучасна медицина вже тривалий час використовує знеболюючі властивості опіоїдів із лікувальною метою [7]. Незважаючи на процвітання опіоїдної наркоманії в суспільстві, дана група анальгетиків користується високим попитом у фармакології [2].

Опіоїди – це речовини подібні до опіатів за фармакологічною дією, але отримані штучним (напівсинтетичним або синтетичним) шляхом. Для української клінічної наркології більш звичним є термін «опіати», а в закордонній (особливо англійській) літературі, переважно, використовують термін «опіоїди». Дослідження структурних змін органів і тканин при дії опіоїдів є однією з актуальних проблем медицини. Представником опіоїдних анальгетиків є налбуфін (нубаін), який є напівсинтетичним опіоїдом, похідним фенантрена і за своєю структурою подібний до морфіну і налоксону [7, 11].

Останнім часом у фаховій літературі почали з'являтися праці, в яких проаналізовано вплив налбуфіну на деякі органи і тканини (язик, очне яблуко, шкіру, мозочок, підшлункову залозу) [1, 5, 6, 9, 10]. Проте немає жодних даних щодо дії цих речовин на органи лімфоїдної (імунної) системи, зокрема на первинний (центральный) орган – тимус. Тимус є спеціалізованим органом імунної системи, в якому дозрівають Т-клітини [4, 8].

**Мета дослідження.** Вивчити морфофункціональні зміни структурних компонентів та судинного русла тимуса в динаміці шеститижневого впливу на організм налбуфіну, а також через один тиждень після відміни введення.

**Матеріали та методи.** Експериментальними тваринами обрано 52 білих шурів-самців репродуктивного віку з початковою масою тіла 140–150 г. Дослідження проводили згідно з положеннями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986),

Директивами Ради Європи 2010/63/EU, Законом України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001).

Ін'єкції препарату «Налбуфін» проводили внутрішньом'язово щоденно 1 раз на добу в однаковий проміжок часу (10–11 година) впродовж 42 діб, підвищуючи дозу кожні 7 діб. Експериментальні тварини розподілено на 8 груп: перша група (5 особин) – інтактні тварини; друга група (5 особин), яким упродовж 1 тижня щоденно вводили внутрішньом'язово опіоїд налбуфін у дозі 8 мг/кг; третя група (5 особин), яким упродовж 2 тижня дозу налбуфіну збільшили до 15 мг/кг; четверта група (5 особин), яким упродовж 3 тижня дозу налбуфіну збільшили до 20 мг/кг; п'ята група (5 особин), яким упродовж 4 тижня дозу налбуфіну збільшили до 25 мг/кг; шоста група (5 особин), яким упродовж 5 тижня дозу налбуфіну збільшили до 30 мг/кг; сьома група (5 особин), яким упродовж 6 тижня дозу налбуфіну збільшили до 35 мг/кг; восьма група (5 особин), у яких забирали матеріал через один тиждень після відміни препарату. Контролем слугували 12 білих шурів-самців, яким вводили 0,9% розчин хлориду натрію.

Препарат налбуфін вводили згідно з патентом №76564 U Україна «Спосіб моделювання фізичної опіоїдної залежності у шурів» [3].

Напівтонкі зрізи товщиною 1–2 мкм виготовляли на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція). Їх забарвлювали метиленовим синім. Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа MICROmed SEO SCAN, фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Часточка тимуса експериментальної тварини че-

рез один тиждень дії налбуфіну, як і в інтактній групі тварин побудована з кіркової та мозкової речовини. Проте щільність клітин зросла як у кірковій, так і в мозковій речовині. Тимоцити

типової форми, між тимоцитами розміщені епітеліоретикулоцити, які своїми відростками утворюють «каркас» органа (рис. 1 А, Б). Гемокапіляри не розширені.

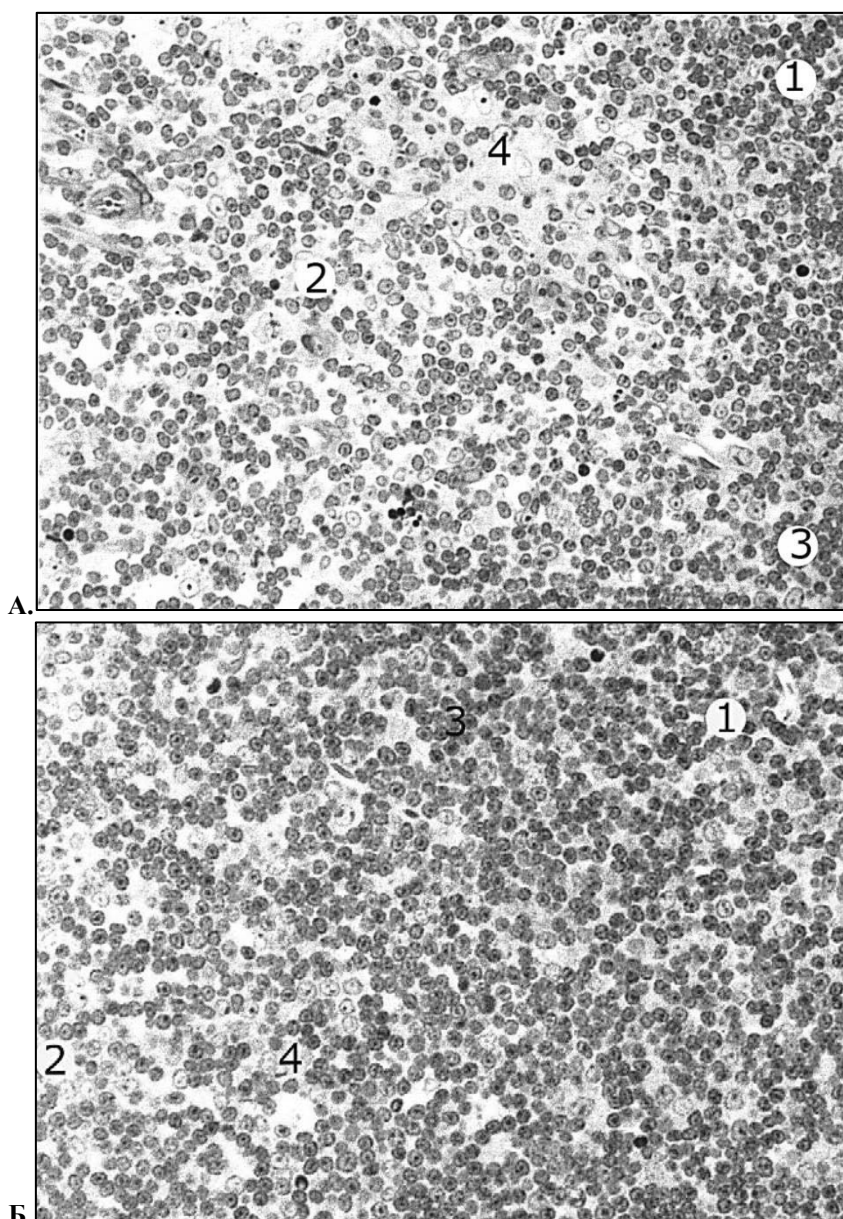


Рис. 1. Будова часточки тимуса інтактного білого щура-самця (А) та тварини через один тиждень дії налбуфіну (Б). 1 – кіркова речовина часточки; 2 – мозкова речовина часточки; 3 – тимоцити; 4 – епітеліоретикулоцити. Напівтонкий зріз. Мікрофотографія. Забарвлення метиленовим синім. Зб.: ×200.

Через два тижні щоденного введення налбуфіну в тимусі експериментальних тварин дещо збільшується відносна площа кіркової речовини та зменшується відносна площа мозкової речовини. Щільність клітин у часточці зменшується, порівняно з попереднім терміном. Міжклітинні простори дещо розширені. Тимоцити та епітеліоретикулоцити зберігають притаманну їм форму. Гемокапіляри дещо розширені, деформовані, еритроцити розташовані у просвіті гемокапіляра «монетним стовпчиком». Стінка артерій дещо потовщена (рис. 2 А). Вени деформовані, повнокровні (рис. 2 А, Б).

Через три тижні експерименту на напівтонких зрізах часточок тимуса експериментальних тварин часто трапляються апоптично змінені тимоцити та епітеліоретикулоцити, зокрема в мозковій речовині, через що вона на препаратах світліша. Збільшується кількість пухкої сполучної тканини в перегородках та її набряк, що зумовлює потовщення капсули, кіркових і міжчасточкових перегородок. Вени розширені, деформовані, повнокровні. Стінка венул потовщена, вони деформовані (рис. 3). Гемокапіляри розширені, зростає їхній діаметр, у просвіті деформовані еритроцити.

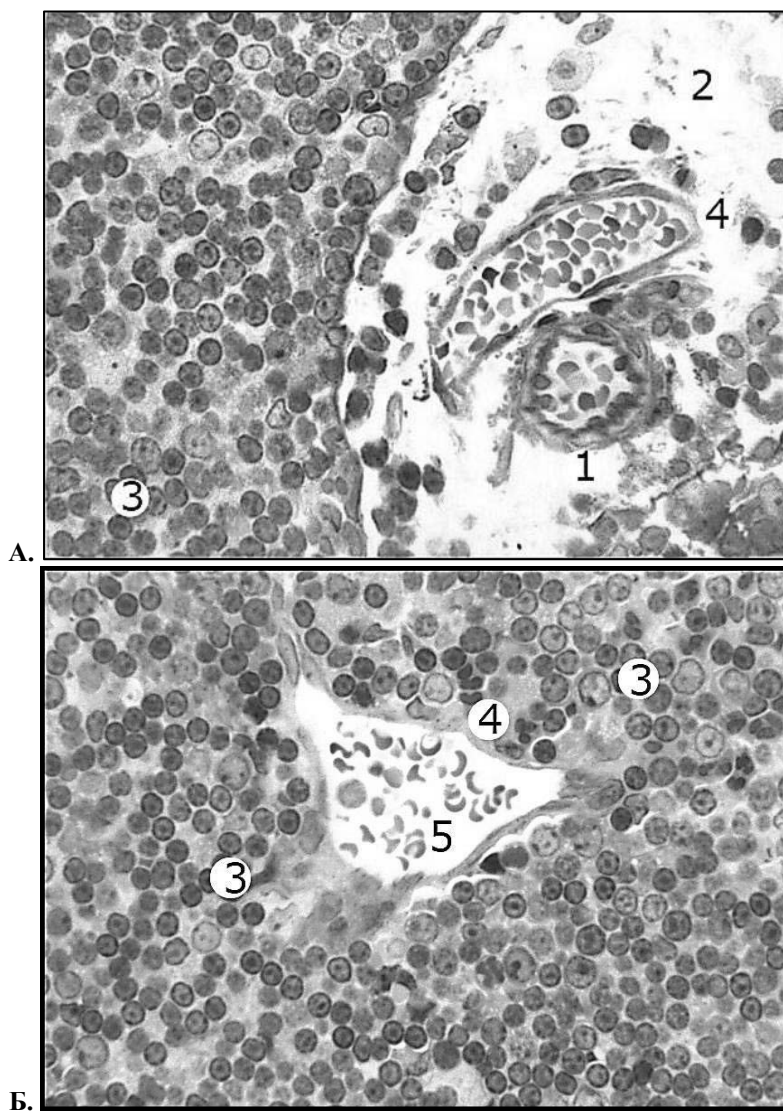


Рис. 2. Збільшена площа середньої оболонки (медії) артерії (1) у міжчасточковій перегородці (2) тимуса білого щура-самця через два тижні дії налбуфіну. 3 – тимоцити; 4 – розширена і повнокровна вена; 5 – деформований еритроцит у просвіті вени. Напівтонкий зріз. Мікрофотографія. Забарвлення метиленовим синім. Зб.:  $\times 400$ .

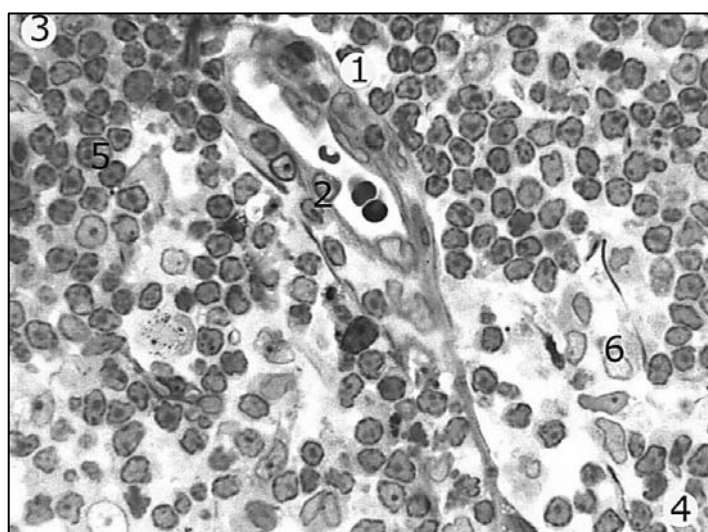


Рис. 3. Потовщена стінка венули (1) та випинання набряклого ендотеліюцита (2) в просвіті у часточці тимуса білого щура-самця через три тижні дії налбуфіну на межі кіркової (3) та мозкової (4) речовини. 5 – тимоцити; 6 – епітеліоретикулоцит. Напівтонкий зріз. Мікрофотографія. Забарвлення метиленовим синім. Зб.:  $\times 400$ .

Через чотири тижні дії налбуфіну в тимусі білих щурів-самців репродуктивного віку структурні зміни поглиблюються. У часточках чітко диференціюється кіркова та мозкова речовини і межі між ними. Збільшена кількість пухкої сполучної тканини в капсулі, кіркових і міжчасточкових перегородках, ці структури набряклі. Навколо органа збільшується кількість жирової тканини. Виявлено розширення міжклітинних просторів, нечіткі межі між тимоцитами.

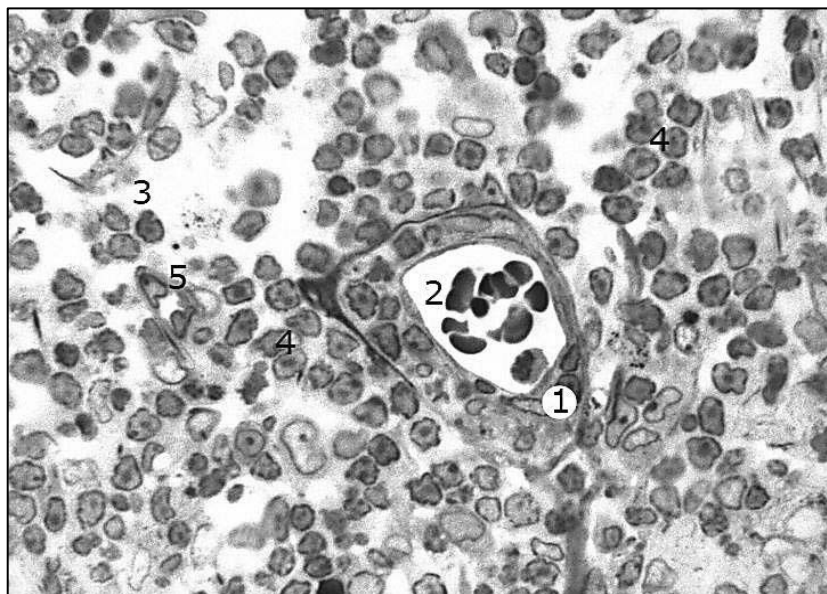


Рис. 4. Мікроскопічні зміни часточки тимуса тварини через чотири тижні дії налбуфіну. 1 – потовщена стінка вени, яка оточена епітеліоретикулоцитами; 2 – еритроцити в просвіті судини; 3 – мозкова речовина часточки; 4 – тимоцити; 5 – гемокapіляр. Напівтонкий зріз. Мікрофотографія. Забарвлення метиленовим синім. Зб.:  $\times 400$ .

На напівтонких зрізах тимуса білих щурів-самців репродуктивного віку через п'ять тижнів введення налбуфіну виявлено подальші патологічні структурні зміни: збільшується кількість жирової тканини як навколо органа, так і в міжчасточковій сполучній тканині, збільшується кількість деструктивно змінених тимоцитів, епітеліоретикулоцитів і макрофагів, розширюються вени і венули в кірковій та мозковій речовинах, вони повнокровні. Судини деформуються. Просвіт судин щільно заповнений форменими елементами крові з ознаками агрегації, адгезії та тромбоутворення. Одночасно трапляються «порожні» судини. Стінка артерій та артеріол потовщена, їхній просвіт кровонаповнений. Навколосудинна пухка сполучна тканина з ознаками набряку, інфільтрована лімфоцитами. Діаметр гемокapілярів збільшений.

Також наявні гемокapіляри з потовщеною стінкою, випинами плазмолемі в їх просвіт настільки, що він набуває щілиноподібної форми, що призводить, імовірно, до неможливості проходження формених елементів крові через судину. У паренхімі

вени та венули розширені та повнокровні (рис. 4). Стінка артерій та артеріол потовщена і набрякла, колагенові волокна розшаровані. В їхньому просвіті багато формених елементів, які подекуди прикріплені до стінки судини, ознаки тромбоутворення. Спостерігається навколосудинний набряк. Збільшується діаметр гемокapілярів. У просвіті гемокapілярів деформовані еритроцити, розміщені «монетним стовпчиком», часто прикріплюються до луменальної поверхні ендотеліоцитів.

тимуса є поодинокі еритроцити, що свідчить про пошкодження стінки судини і вихід крові за її межі (рис. 5).

Через шість тижнів щоденного введення налбуфіну всі зміни поглиблюються, збільшується кількість розширених вен з пошкодженою стінкою, що призводить до виходу елементів крові в паренхіму органа. Виявлено значний набряк не тільки навколосудинних структур, але й паренхіми. У міжчасточкових перегородках велика кількість розширених і повнокровних судин, паренхіма світліша, що пов'язано зі зменшенням частки функціонуючого компоненту – тимоцитів. Зростає кількість тимоцитів з ознаками апоптозу та макрофагів.

Стінка артерій потовщена, є ознаки склерозу. Судини гомомікроциркуляторного русла розширені, повнокровні, їхня стінка пошкоджена. Спостерігається набряк та інфільтрація лімфоцитами і макрофагами навколосудинної пухкої сполучної тканини. Численні мікросудини «порожні». У ланках гомомікроциркуляторного русла наявні значні патологічні зміни (рис. 6).

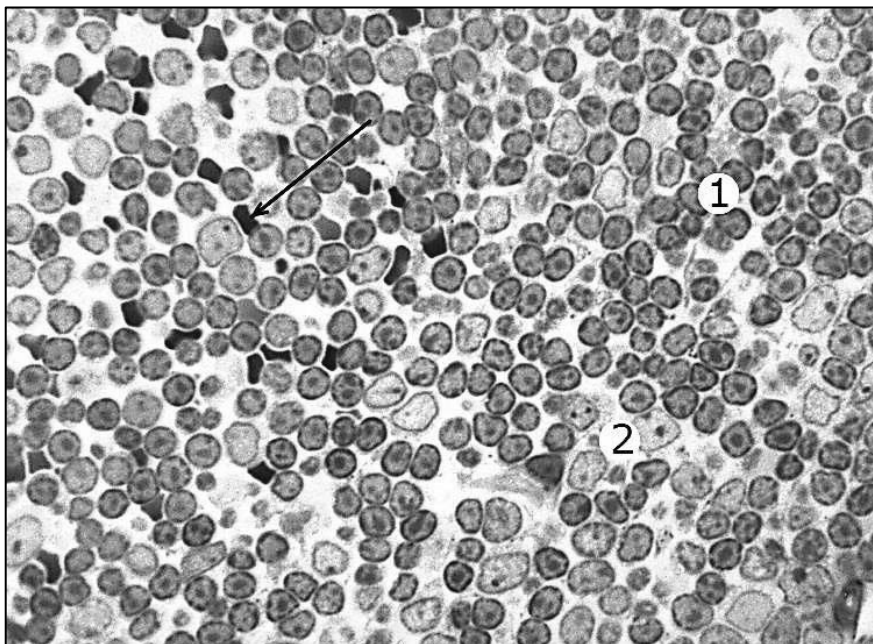


Рис. 5. Мікроскопічні зміни часточки за груднинної залози білого щура-самця через п'ять тижнів введення налбуфіну. 1 – тимоцити; 2 – епітеліоретикулоцит. Еритроцити в паренхімі тимуса (стрілка). Напівтонкий зріз. Мікрофотографія. Забарвлення метиленовим синім. Зб.:  $\times 300$ .

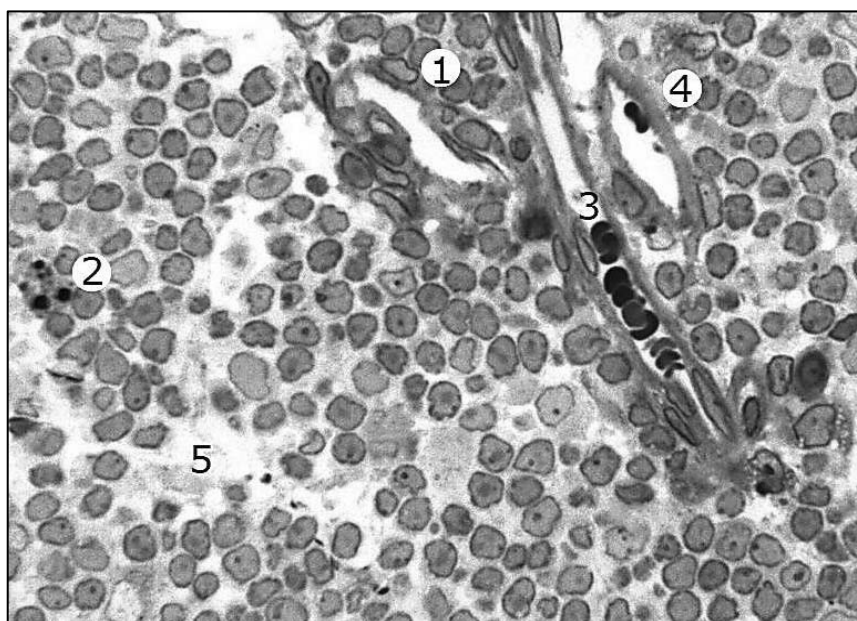


Рис. 6. Мікроскопічні зміни часточки тимуса білого щура-самця через шість тижнів введення налбуфіну. 1 – деформована «порожня» артеріола; 2 – фагоцитоз макрофагом уламків тимоцитів; 3 – розташування еритроцитів «монетним стовпчиком» в просвіті гемокапіляра; 4 – деформована венула; 5 – міжклітинний набряк. Мікрофотографія. Напівтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. Зб.:  $\times 300$ .

На препаратах тимуса білих щурів-самців через один тиждень після відміни налбуфіну зворотних змін не виявлено. Капсула, кіркові та міжчасточкові перегородки потовщені, набряклі. Препарат «світліший», що свідчить про зменшення щільності лімфоїдного компоненту. Збільшується кількість деструктивно змінених клітин. Вени значно розширені, повнокровні та деформовані. Численні судини з

порушеною цілісністю стінки, що сприяє крововиливам у паренхіму тимуса. Спостерігається адгезія та агрегація еритроцитів крові в просвіті судин. Діаметр артерій дещо збільшений, їхня стінка потовщена, є ознаки склерозу, просвіт помірно заповнений кров'ю. Артеріоли, венули та гемокапіляри розширені, деформовані. Трапляються як переповнені кров'ю, так і «порожні» судини (рис. 7).

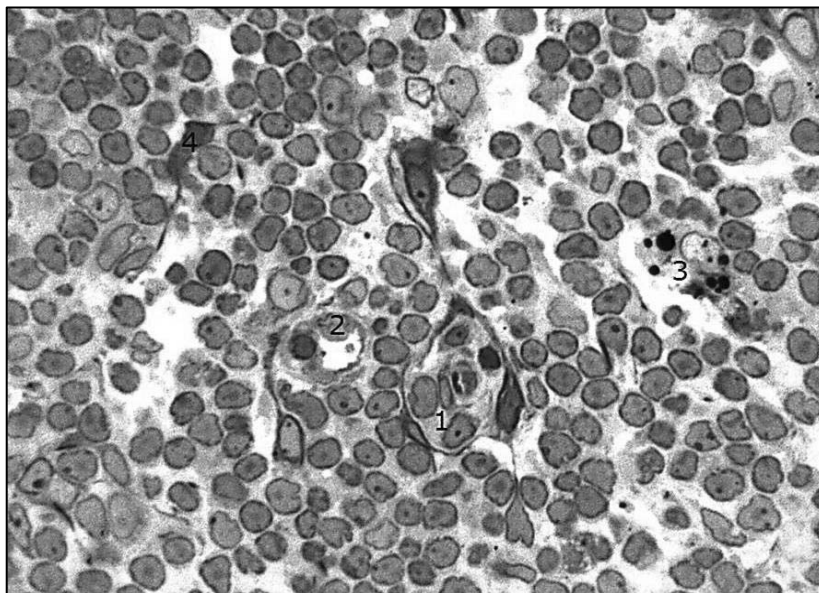


Рис. 7. Мікроскопічні зміни часточки загруднинної залози білого щура-самця через один тиждень після відміни налбуфіну. 1 – набряк ендотеліоцитів у стінці гемокапіляра, майже повне закриття просвіту; 2 – «пустий» гемокапіляр з випинами ядерної частини ендотеліоцитів у його просвіт; 3 – макрофаг з фрагментами тимоцитів у цитоплазмі; 4 – апоптоз тимоцитів. Напівтонкий зріз. Мікрофотографія. Забарвлення метиленовим синім. Зб.:  $\times 400$ .

**Висновки.** Через один тиждень експерименту збільшується щільність клітин в часточках тимуса. Через два тижні дії налбуфіну щільність клітин зменшується, гемокапіляри дещо розширені, еритроцити в просвіті розміщені «монетним стовпчиком». Через три тижні вени та венули дещо розширюються, деформуються, стінка артерій та артеріол потовщується, гемокапіляри розширені. Через чотири тижні дослідження всі зміни поглиблюються, зростає кількість апоптично змінених тимоцитів та епітеліоретикулоцитів у часточках тимуса. Еритроцити в просвіті судин деформовані, скупчені. Через п'ять тижнів трапляються як де-

формовані «порожні» судини, так і розширені повнокровні. Численні судини з пошкодженою стінкою. Через шість тижнів впливу препарату зменшилася частка лімфоїдного компоненту в тимусі, вени розширені, деформовані, повнокровні, численні венули та артеріоли «порожні», артерії з потовщеною стінкою. Еритроцити в паренхімі залози, що свідчить про пошкодження стінки судин. Через один тиждень після відміни зворотних змін немає. Збільшується кількість деструктивно змінених клітин. Спостерігаються глибокі деструктивно-дегенеративні зміни компонентів тимуса.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Зміни на електронномікроскопічному рівні в тканинах язика під впливом малих доз опіоїду в кінці 2 і 4 тижнів (експериментальне дослідження) / І.О. Онисько, Р.М. Онисько, А.П. Король [та ін.] // Вісник Вінницького нац. мед. ун-ту. — 2013. — Т. 17, № 2. — С. 332—337.
2. Зріз наркологічної ситуації в Україні (дані 2010 року) / А.М. Вієвський, М.П. Жданов, С.В. Сидяк [та ін.]. — Київ: Український медичний та моніторинговий центр з алкоголю та наркотиків МОЗ України, 2011. — 22 с.
3. Пат. 76564 U Україна, МПК Ф 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.
4. Черкасов Е.В. Структурні зміни тимуса при експериментальній опіковій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії лактопротеїну-С / Е.В. Черкасов // Український морфологічний альманах. — 2012. — Т. 10, № 2. — С. 165—168.
5. Якимів Н.Я. Мікроструктурна характеристика райдужно-рогівкового кута очного яблука щурів при опіоїдному впливі / Н.Я. Якимів, Ю.Я. Кривко // Світ медицини та біології. — 2013. — № 4. — С. 120—124.
6. Diskovskiy I.S. Reparative processes of the skin under influence of opioid in experiment / I.S. Diskovskiy // Folia Medica Cassoviensia. — 2015. — Vol. 70, № 1. — P. 27—28.
7. Lee M.C. Imaging opioid analgesia in the human brain and its potential relevance for understanding opioid use in chronic pain / M.C. Lee, V. Wanigasekera, I. Tracey // J. Neuropharmacology. — 2014. — Vol. 84, № 100. — P. 123—130.

8. Pearse G. Normal Structure, Function and Histology of the Thymus / G. Pearse // *Toxicol Pathol.* — 2006. — Vol. 34. — P. 504—514.
9. Peculiarities of vascular tunic microstructure of the white rat eyeball under the effect of opioid / L. Matshuk-Vatseba, U. Pidvalna, A. Kost // *Romanian Journal of Morphology and Embryology.* — 2015. — Vol. 56, № 3. — P. 1057—1062.
10. Попык P. Dynamics of ultrastructural changes exocrine part of rat pancreas under the influence of opioid / P. Popyk, L. Matshuk-Vatseba // *The Pharma Innovation Journal.* — 2015. — Vol. 4, № 4. — P. 63—65.
11. The effect of the prolonged injection of nalbuphine on the structural organization of angioarchitecture of organs / L. Matshuk-Vatseba, U. Pidvalna, A. Bekesevych [et al.] // *Праці наукового товариства ім. Шевченка: Лікарський збірник. Медицина і біологія.* — 2015. — Т. XLIII. — С. 81—93.

A.S. HOLOVATSKYI, T.V. HARAPKO

*Uzhhorod National University, Medical Faculty, Department of Human Anatomy and Histology, Uzhhorod*

#### STRUCTURAL CHANGES IN THE THYMUS AFTER EXPOSURE TO THE ORGANISM OPIOID

The article analyzes the structural and functional changes in the components of the thymus in dynamic six-week action nalbuphine and one week after discontinuation, who studied at sections 1-2  $\mu\text{cm}$  thick. The first changes detected after one week experiment increasing cell density. After two-three weeks of action nalbuphine cell density decreases, venules and veins dilate slightly deformed, wall thickens arteries and arterioles, capillaries expanded. After four-five weeks deepening study changes, the number of apoptotic thymocytes and epithelial reticular cells altered in the lobes of the thymus. Red blood cells in the lumen of blood vessels deformed and crowded. After six weeks of drug exposure the share of lymphoid component in the thymus, the veins are dilated, twisted, full-fledged, arterioles and venules many «empty», with thickened artery wall. After one week after discontinuation of reversible changes are not.

**Key words:** thymus, nalbuphine, thymocytes, epithelial reticular cells, apoptosis

**Стаття надійшла до редакції: 8.02.2017 р.**