

© Ю.Я. Кривко, Н.І. Гресько, 2017

УДК 611.348-0.18.73-019:615.212.7

Ю.Я. КРИВКО, Н.І. ГРЕСЬКО

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, медичний факультет, кафедра нормальної анатомії, Львів

УЛЬТРАСТРУКТУРНА ПЕРЕБУДОВА СТІНКИ ОБОДОВОЇ КИШКИ ЗА ХРОНІЧНОГО ВПЛИВУ ОПІОЇДУ (НАЛБУФІНУ) В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Дослідження стосується хронічного впливу опіоїду на стан ультраструктурної організації стінки ободової кишки і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри нормальної анатомії та оперативної хірургії з топографічною анатомією Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Структурна організація, ангіоархітектоніка та антропометричні особливості органів у внутрішньо- та позаутробному періодах розвитку, за умов екзо- та ендопатогенних факторів» (номер державної реєстрації: 0115U000041). Експериментальне дослідження проведено на 24 білих щурах-самцях репродуктивного віку (4,5–5,0 місяця) масою тіла 180–220 г. Упродовж 6 тижнів тваринам щоденно внутрішньом'язово вводили налбуфін у наростаючих дозах. Контролем були 9 білих щурів, яким вводили 0,9 % розчин хлориду натрію. В ході роботи використано метод електронномікроскопічного дослідження. Матеріал дослідження представлений ультраструктурними зрізами стінки ободової кишки експериментальних тварин. Результати експериментального дослідження свідчать, що хронічний вплив опіоїду зумовлює значні дистрофічні зміни структурних компонентів слизової оболонки ободової кишки. Ультраструктурна реорганізація проявляється деструктивними процесами в стовпчастих епітеліоцитах, мікрворсинки яких дезорієнтовані, подекуди зруйновані. В келихоподібних клітинах наявний лізис секреторних гранул. Отримані експериментальні дані можуть бути використані в практичній медицині для розуміння патогенезу та профілактики захворювань органів травної системи, спричинені вживанням наркотичних речовин.

Ключові слова: ультраструктура, ободова кишка, опіоїд, експеримент

Вступ. Розвиток фармакотерапії та порушення рецептурного режиму відносно вільно доступних лікарських засобів зумовлює збільшення частки хворих, залежних від офіційних наркотичних анальгетиків [8, 11]. Опіоїди давно використовують у медицині задля придушення кашлю, усунення небажаної перистальтики кишкового тракту, проте найчастіше у клінічній практиці їх використовують як знеболюючий препарат при лікуванні хронічного болю в онкологічних хворих, знеболення в післяопераційний період [1, 19]. У силі знеболювальної дії з опіоїдними анальгетиками можуть конкурувати небагато лікарських засобів і перспективність їх використання неможливо недооцінювати [13, 16]. Однак, тривале та систематичне застосування наркотичних анальгетиків спричинює низку несприятливих ефектів, формуючи хронічну ендогенну інтоксикацію із закономірним розвитком фізичної залежності та глибокої загальмованості загальної реактивності організму відносно різноманітних інфекційних процесів [17, 18, 20]. Особливо ця проблема загострилася в останні два роки через напружене політико-соціальним становище і проведення АТО [14]. Клініка опіоїдної наркоманії вивчена достатньо, проте незрозумілими залишаються питання щодо структурних змін тканин при застосуванні наркотичних засобів [7]. У літературі є відомості про морфологічну перебудову, що розвивається в різних органах [2–6, 9, 12, 15] при дії опіоїдів, але особливе місце у структурі патології внутрішніх органів при опійній наркоманії займають ураження органів травної системи. Аналіз фахової літератури показав, що

практично відсутні дослідження, присвячені особливостям ультраструктурної будови товстої кишки за впливу опіоїдів.

Мета дослідження. З'ясувати особливості ультраструктурної перебудови слизової оболонки ободової кишки за умов тривалого введення налбуфіну в експерименті.

Матеріали та методи. Дослідження виконані на 24 білих щурах-самцях репродуктивного віку (4,5–5,0-місячних) масою тіла 180–220 г. Піддослідні тварини розподілено на три серії по 5 щурів у кожній: у першій серії вивчено ультраструктуру ободової кишки білих щурів через 2 тижні введення налбуфіну, у другій серії дослідів – через 4 тижні перебігу експерименту, а у третій серії встановлено перебудову ультраструктури ободової кишки білих щурів через 6 тижнів введення налбуфіну. Контролем слугували 9 білих щурів, яким вводили 0,9 % розчин хлориду натрію. Експеримент проводили протягом 6 тижнів – піддослідним тваринам щоденно вводили внутрішньом'язово налбуфін у наростаючих дозах: I тиждень – 8 мг/кг, II тиждень – 15 мг/кг, III тиждень – 20 мг/кг, IV тиждень – 25 мг/кг, V тиждень – 30 мг/кг, VI тиждень – 35 мг/кг [10]. Матеріал дослідження представлений ультраструктурними зрізами стінки ободової кишки експериментальних тварин. У ході роботи використовувався метод електронномікроскопічного дослідження. Тварини виводилися з експерименту шляхом передозування внутрішньочеревинного наркозу з використанням тіопенталу натрію (з розрахунку 25 мг/кг). Відразу після смерті тварин здійснювався забір і стандартне

проведення матеріалу для електронної мікроскопії. На ультрамикротомі УЖТП-3 за допомогою скляних ножів виготовили ультратонкі зрізи. Для дослідження відбирали стрічки зрізів сріблястого або ніжно-цитринового кольору. Зрізи контрастували спочатку у 2% розчині ураніацетату, а потім – цитрату свинцю. Вивчення і фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопа УЕМВ-100 К при напрузі прискорення 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопа $\times 4000$.

Усіх тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, експерименти проведені у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986 р.), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Результати досліджень та їх обговорення. У слизовій оболонці ободової кишки шурів, яким протягом двох тижнів вводили налбуфін, у поверхневих колоноцитах виявили дистрофічні зміни їх органел. Як і у контрольних шурів стовпчасті епітеліоцити мають призматичну форму, а на їх апікальній поверхні розташовані мікрворсинки,

які формують облямівку, вкриту глікокаліксом. Однак, у деяких колоноцитах виявляли дефекти мікрворсинок у вигляді зміни їх форми та кута нахилу (рис. 1). У цитоплазмі таких колоноцитів розташовані численні електроннопрозорі вакуолі. Також виявляли мітохондрії з просвітленим матриксом та дезорганізованими кристами. Між поверхневими колоноцитами слизової оболонки ободової кишки виявляли численні келихоподібні клітини в стані екзоцитозу. В апікальній частині їх цитоплазми накопичена велика кількість секреторних гранул низької електронної щільності мембрани, частини гранул зруйновані. Ядра таких функціонально активних клітин розташовані в базальній частині цитоплазми, мають овальну форму з незначними інвагінаціями каріолеми. Новоутворені секреторні гранули розташовані поблизу ядер, помірної електронної щільності і оточені розширеними профілями каналців ендоплазматичної сітки. Також спостерігаються келихоподібні клітини, які мають пікнотично змінені ядра, в яких мембрана ядерної оболонки місцями нечітко контурована, перинуклеарні простори вузькі. У цитоплазмі таких клітин наявні поодинокі мітохондрії, які містять невелику кількість крист та електронно світлий матрикс, каналці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі вузькі та короткі, цитоплазматична мембрана потовщена.

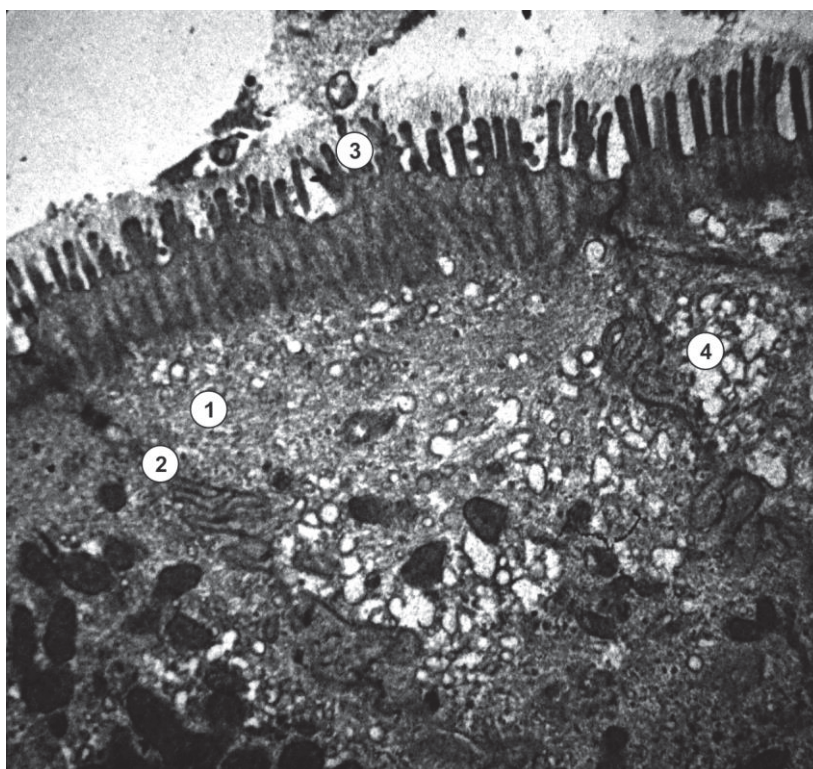


Рис. 1. Ультраструктура слизової оболонки ободової кишки білого щура-самця репродуктивного віку за умов двотижневого введення налбуфіну. 1 – цитоплазма стовпчастого епітеліоциту; 2 – каналці агранулярної ендоплазматичної сітки; 3 – мікрворсинки; 4 – електроннопрозорі вакуолі.

Електронна фотографія. Збільшення $\times 4000$.

У щурів, яким протягом чотирьох тижнів вводили налбуфін, деструктивні зміни колоноцитів в епітеліальній пластинці слизової оболонки ободової кишки більш виражені ніж такі, як у щурів, яким вводили налбуфін впродовж двох тижнів. У складі епітеліальної пластинки спостерігали келихоподібні клітини, у яких у над'ядерній частині цитоплазми наявні поодинокі, великі секреторні гранули, розташовані біля комплексу Гольджі. У деяких келихоподібних клітинах цитоплазма містила багато великих секреторних гранул середньої електронної щільності, які займали центральну й апікальну ділянку, ядра цих клітин зміщені в базальний полюс. У перинуклеарній зоні цитоплазми розташовані вузькі каналці ендоплазматичної

сітки та цистерни комплексу Гольджі, а також наявні поодинокі мітохондрії, які містили електронно просвітлений матрикс і невелику кількість крист. Внутрішньоклітинну реорганізацію виявляли також у стовпчастих епітеліоцитах з облямівкою. Такі колоноцити містили пікнотично змінені, неправильної форми ядра, у каріоплазмі яких переважав гетерохроматин. У цитоплазмі таких клітин спостерігаються вакуолоподібні структури, переважно над ядрами та в апікальних ділянках, а також гіпертрофовані мітохондрії з електронно світлим матриксом та зруйнованими кристами. Плазмолема клітин утворює чисельні інвагінації. Мікроворсинки на апікальній поверхні таких епітеліоцитів відшаровані, фрагментовані (рис. 2).

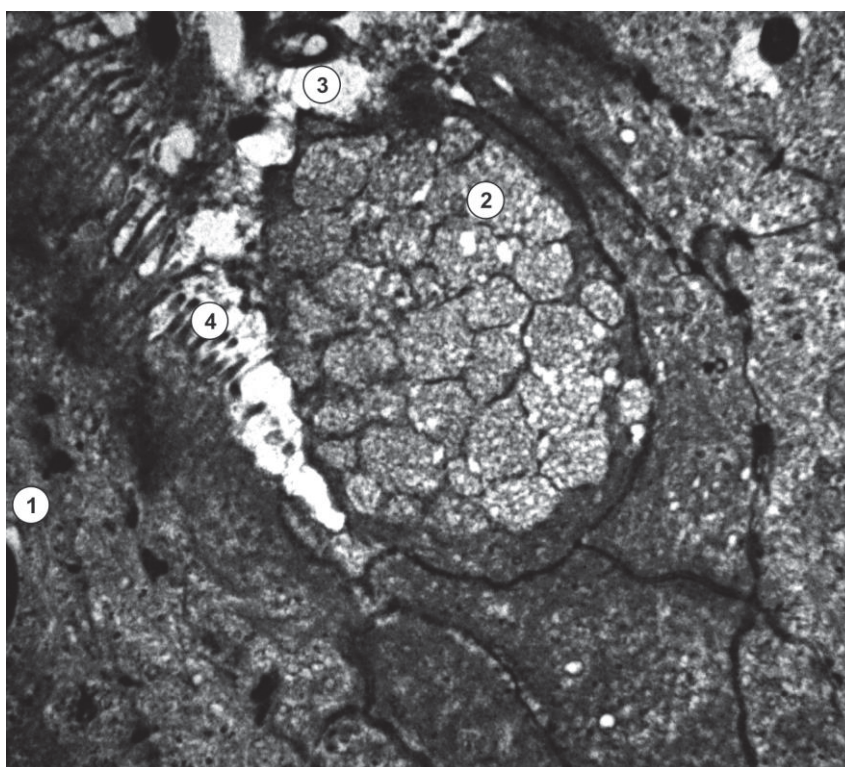


Рис. 2. Ультраструктура слизової оболонки ободової кишки білого щура-самця репродуктивного віку за умов чотиритижневого введення налбуфіну. 1 – цитоплазма стовпчастого епітеліоциту; 2 – секреторні гранули; 3 – просвіт крипти; 4 – деструктивно змінені мікроворсинки. Електронна фотографія. Збільшення $\times 4000$.

Через 6 тижнів введення щурам налбуфіну спостерігається прогресування патологічних змін ультраструктурних компонентів слизової оболонки ободової кишки. Так, у стовпчастих епітеліоцитах переважають деструктивні процеси над синтетичними, майже всі органели деструктивно змінені. Мікроворсинки стовпчастого епітелію дезорієнтовані, подекуди коротші, а деякі зруйновані, відсутній глікокалікс (рис. 3). У келихоподібних клітинах наявний лізіс секреторних гранул. В ядрах конденсований хроматин, ядерна оболонка не суцільна, мембрани мітохондрій деструктуровані, розширені цистерни комплексу Гольджі та каналці

ендоплазматичної сітки. У поверхневих колоноцитах слизової оболонки ободової кишки спостерігали такі дистрофічні зміни: набряк мітохондрій, каналці і цистерни ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі розширені, дезорганізовані, розташовані хаотично. Ядра поліморфні, їхня каріолема утворює чисельні інвагінації. Форма колоноцитів змінена. Частина стовпчастих епітеліоцитів та келихоподібних клітин ободової кишки в стадії функціональної напруги, що проявляється гіперплазією мембран гранулярної ендоплазматичної сітки та мітохондрій, а також збільшення числа полісом та рибосом. У келихоподібних клітинах

скупчення гранул зі зруйнованою зовнішньою мембраною. Наявні виражені зміни в мітохондріях поверхневих колоноцитів слизової оболонки ободової кишки, які містили просвітлений матрикс, дезорганізовані кристи, мембрани яких несучільні деструктуровані. Епітеліальна пластинка дезорганізована, не суцільна, наявне потовщення слизового бар'єру та некротичні зміни колоноцитів.

нізовані кристи, мембрани яких несучільні деструктуровані. Епітеліальна пластинка дезорганізована, не суцільна, наявне потовщення слизового бар'єру та некротичні зміни колоноцитів.

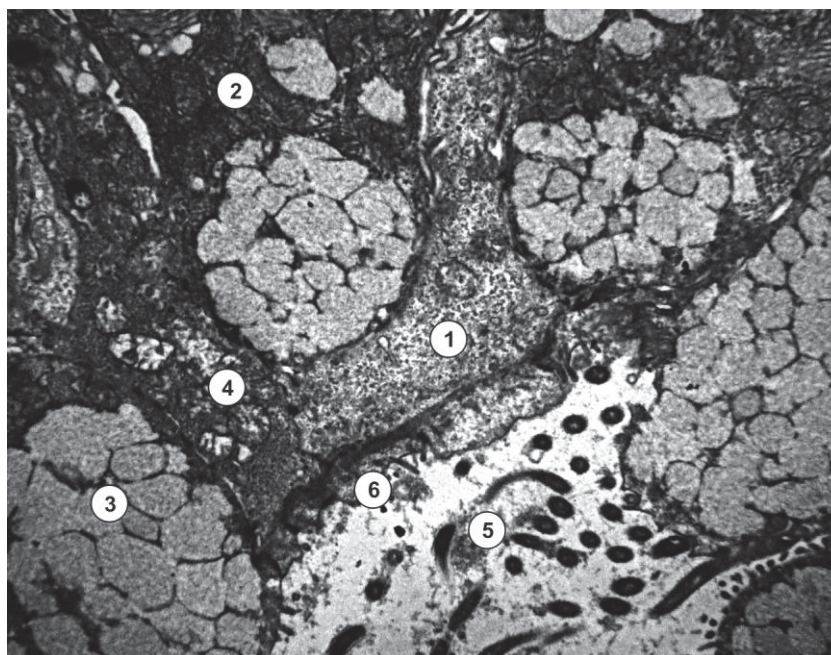


Рис. 3. Ультраструктура слизової оболонки ободової кишки білого щура-самця репродуктивного віку за умов шеститижневого введення налбуфіну. 1 – цитоплазма стовпчастого епітеліоцита; 2 – цитоплазма келихоподібної клітини; 3 – секреторні гранули; 4 – пошкоджені мітохондрії; 5 – просвіт крипти; 6 – деструктивно змінені мікрроворсинки. Електронна фотографія. Збільшення $\times 4000$.

Висновки. Хронічний вплив опіюду зумовлює значні дистрофічні зміни структурних компонентів слизової оболонки ободової кишки білих щурів-самців репродуктивного віку, що може сприяти виникненню кишкової патології. На початкових стадіях експерименту переважають компенсаторно-приспосувальні процеси, які впродовж наступних термінів змінюються дистрофічно-запальними проявами, що наростають. Ультраструктурна реорганізація проявляється деструктивними процесами в стовпчастих епітеліоцитах, мікрроворсинки яких дезорієнтовані, а деякі зруйновані, органи в стані деструкції.

Ядра поліморфні, їх каріолема утворює чисельні інвагінації. У келихоподібних клітинах лізис секреторних гранул. Епітеліальна пластинка дезорганізована, несучільна, наявне потовщення слизового бар'єру та некротичні зміни колоноцитів. Введення налбуфіну щурам впродовж 6 тижнів призводить до розвитку процесів, що є підґрунтям до розвитку патологічних змін при кишкових захворюваннях. Отримані експериментальні дані можуть бути використані в практичній медицині для розуміння патогенезу та профілактики захворювань органів травної системи, що спричинені вживанням наркотичних речовин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бекесевич А.М. Вплив наркотичних середників на структурну організацію нервової тканини / А.М. Бекесевич // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». — 2015. — Вип. 1 (51). — С. 218—221.
2. Бекесевич А.М. Морфометричний аналіз ангіоархітектоніки кори мозочка за умов впливу опіюду / А.М. Бекесевич // Світ медицини та біології. — 2014. — № 4 (46). — С. 68—71.
3. Валько О.О. Зміни паренхіми клубових лімфатичних вузлів білих щурів при тривалому опіюдному впливі та через один тиждень після його відміни / О.О. Валько // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». — 2017. — Вип. 1 (55). — С. 5—10.
4. Гарапко Т.В. Структурні зміни мозкової речовини часточок тимуса білих щурів при шеститижневій дії опіюду налбуфіну / Т.В. Гарапко // Проблеми клінічної педіатрії. — 2016. — № 1—2 (31—32). — С. 19—25.
5. Головацький А.С. Структурні зміни тимуса при дії на організм опіюду / А.С. Головацький, Т.В. Гарапко // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». — 2017. — Вип. 1 (55). — С. 15—21.

6. Головацький А.С. Закономірності структурно-функціональних змін судин тимуса при довготривалій дії опію / А.С. Головацький, Т.В. Гарапко // Проблеми клінічної педіатрії. — 2017. — № 1—2 (35—36). — С. 94—102.
7. Гресько Н.І. Структурна перебудова стінки товстої кишки за впливу чинників зовнішнього та внутрішнього середовищ / Н.І. Гресько // Вісник проблем біології і медицини. — 2016. — № 2 (2). — С. 58—61.
8. Давидович О.В. Фармакотерапія больового синдрому / О.В. Давидович, В.С. Копча, К.О. Маслій // Рациональная фармакотерапія. — 2011. — № 4 (21). — С. 66—68.
9. Логаш М.В. Патоморфологічні зміни печінки щура під впливом опію на мікроструктурному рівні / М.В. Логаш // Вісник проблем біології і медицини. — 2016. — Т. 2 (129), Вип. 2. — С. 177—184.
10. Пат. №76564 У Україна, МПК А 61 К 31/00 Спосіб моделювання фізичної опіюїдної залежності у щурів / заявники: Р.М. Онисько, Є.В. Пальтов, В.Б. Фік, І.В. Вільхова, Ю.Я. Кривко, Н.Я. Якимів, О.С. Фітькало; патентовласник: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. — № u201207124; заявл. 12.06.2012; опубл. 10.01.2013 // Бюл. №1.
11. Підвальна У.Є. Структурна організація органів і систем під впливом опіюїдів / У.Є. Підвальна // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. — 2014. — №1 (65). — С. 71—78.
12. Підвальна У.Є. Структурні особливості судинної оболонки очного яблука за умов довготривалого опіюїдного впливу в експерименті / У.Є. Підвальна // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. — 2014. — Т. 14, №4 (48). — С. 209—212.
13. Покотило П.Б. Імуногістохімічне дослідження передсердь білого щура під дією опіюїдів / П.Б. Покотило // Світ медицини та біології. — 2014. — № 4 (46). — С. 140—142.
14. Радченко Т.М. Гендерні особливості поширеності та клініко-психопатологічних проявів опіюїдної залежності у жінок / Т.М. Радченко // Український вісник психоневрології. — 2016. — Т. 24, вип. 2. — С. 78—81.
15. Якимів Н.Я. Ультраструктурна характеристика структур райдужно-рогівкового кута очного яблука щурів після опіюїдного впливу / Н.Я. Якимів // Світ медицини та біології. — 2014. — № 2. — С. 185—188.
16. Anti-inflammatory effect of dual nociceptin and opioid receptor agonist, BU08070, in experimental colitis in mice / M. Zielińska, T.B. Haddou, G. Cami-Kobeci [et al.] // European journal of pharmacology. — 2015. — Vol. 765 — P. 582—590.
17. Bailey C.P. Opioids: cellular mechanisms of tolerance and physical dependence / C.P. Bailey, M. Connor // Curr. Opin. Pharmacol. — 2005. — Vol. 5, №1. — P.60—68.
18. Effect of peripheral opioid receptor agonists on depressive activity of ethanol / M.M. Trigub, N.G. Bogdanova, A.A. Kolpakov [et al.] // Bull. Exp. Biol. Med. — 2014. — Vol. 156, № 6. — P. 778—780.
19. Opioids and the treatment of chronic pain: controversies, current status, and future directions / A. Rosenblum, L.A. Marsch, H. Joseph, R.K. Portenoy // Exp. Clin. Psychopharmacol. — 2008. — Vol. 16, № 5. — P. 405—416.
20. The pharmacological basis of opioids / C. Ghelardini, L.Di Cesare Mannelli, E. Bianchi // Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism. — 2015. — Vol. 12 (3). — P. 219—221.

Yu.Ya. KRYVKO, N.I. HRESKO

Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Medical Faculty, Department of Normal Anatomy, Lviv

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF THE COLON'S WALL CAUSED BY CHRONIC OPIOID (NALBUPHINE) EFFECT DURING EXPERIMENT

Our study deals with chronic effect of the opioid on the the ultrastructural organization of the colon wall. This article is a fragment of the scheduled scientific work of the Department of General Anatomy «Structural organization, angioarchitecture and anthropometric peculiarities of the organs during intra- and extrauterine periods of development under the effect of exo- and endopathogenic factors» (state registration number 0115U000041). The experiment was carried out on 24 mature white male rats, 180–220 g body weight. The animals were injected every day by «Nalbuphine» for 6 weeks and the dose was increased weekly. 9 white rats to which 0,9% sodium chloride was injected served as the control group.

The electronmicroscopic method was used during the research. The research material was presented by ultrastructural sections of the colon wall of the experimental animals. The results of the experimental study indicate that the chronic effect of the opioid causes significant dystrophic changes in the structural components of the mucous membrane of the colon. Ultrastructural reorganization is manifested by destructive processes in columnar epitheliocytes, microvilli which are disorientated, are sometimes destroyed. In Goblet cells – lysis of secretory granules. The obtained experimental data can be used in practical medicine to understand the pathogenesis and prevention of diseases of the organs of the digestive system, causing the use of narcotic substances.

Key words: ultrastructure, colon, opioid, experiment

Стаття надійшла до редакції: 4.09.2017 р.