

ЗМІНИ ЕНДОТЕЛІОЦИТІВ ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ОБОДОВОЇ КИШКИ НА СУБМІКРОСКОПІЧНОМУ РІВНІ ЗА УМОВ ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ НАЛБУФІНУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів, Україна)

Анотація: Наше дослідження стосується тривалого впливу налбуфіну (опіоїду) на стан ендотеліоцитів судин гемомікроциркуляторного русла ободової кишки на субмікроскопічному рівні. Результати експериментального дослідження свідчать, що тривалий вплив опіоїду призводить до дезорганізації ендотеліоцитів на субмікроскопічному рівні вже через 2 тижні експерименту і наростають впродовж наступних термінів дослідження. Зокрема, виявляли збільшені, неправильної форми ядра ендотеліоцитів, набряк цитоплазми з пошкодженими органелами, базальна мембрана була потовщена, що є підґрунтям для погіршення кровопостачання досліджуваного органу та розвитку кишкової патології.

Ключові слова: ендотеліоцити, ультраструктура, ободова кишка, налбуфін, експеримент.

Abstract. The research is about the prolonged exposure to the nalbuphine (opioid) on the endotheliocytes of the vessels of the haemomicrocirculatory bed of colon at the submicroscopic level. The results of the investigation show that the prolonged opioids exposure leads to disorganization of endotheliocytes at the submicroscopic level already after 2 weeks of the experiment and grew over the next periods of the investigation. Specifically, we observed enlarged, irregularly shaped of endotheliocytes nuclei, their cytoplasm swollen and organelles are damaged in it, the basement membrane thickened, that plays an important role in the interruption of the blood supply to examined organ and development of intestinal pathology.

Key words: endotheliocytes, ultrastructure, colon, nalbuphine, experiment.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Стаття є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри нормальної анатомії «Морфо-функціональні особливості органів у пре – та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операціях та ожирінні» (№ державної реєстрації 0120U002129), яка виконується у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького.

Вступ.

Зменшення болю є одним із ключових завдань покращення якості життя. Погане лікування болю обумовлює кардіоваскулярні, респіраторні, гастроінтестинальні, ниркові, імунологічні, коагуляційні, нейропсихологічні ефекти, включаючи гнів, тривогу, хронічний біль, депресію, посттравматичний стресовий розлад [1, 2]. Серед знеболюючих агентів при лікуванні больового синдрому є препарати опіоїдного ряду, у силі знеболювальної дії з якими можуть конкурувати небагато лікарських засобів і перспективність їх використання неможливо недооцінювати [3, 4]. Проте систематичне зловживання опіоїдами спричинює ряд несприятливих ефектів, формуючи хронічну ендогенну інтоксикацію із закономірним розвитком фізичної залежності та глибокої загальмованості загальної реактивності організму, що проявляється їх руйнівною дією, яка стосується як психічного, так і соматичного здоров'я [5, 6]. Особливе місце в структурі патології внутрішніх органів при опіоїдній наркоманії займає товста кишка [7]. Одними з перших на патогенні чинники реагують судини гемомікроциркуляторного русла розвитком патологічного процесу, що проявляється морфофункціональними розладами [8]. Тому подальше вивчення особливостей ультраструктури судин товстої кишки за допомогою сучасних методів є актуальним.

Наше дослідження присвячене змінам ендотеліоцитів судин гемомікроциркуляторного русла ободової кишки на субмікроскопічному рівні за тривалого впливу налбуфіну.

Мета дослідження.

З'ясувати особливості змін ендотеліоцитів судин гемомікроциркуляторного русла ободової кишки на субмікроскопічному рівні за умов тривалого впливу налбуфіну в експерименті.

Об'єкт і методи дослідження.

Дослідження виконані на 24 білих щурах-самцях репродуктивного віку (4,5–5,0-місячних) масою тіла 180–220 г. Тварини випадковим чином були розділені на дві групи – експериментальну (15 тварин) та контрольну (9 тварин). Піддослідні тварини розподілено на три серії по 5 щурів у кожній: у першій серії вивчено ультраструктуру ендотеліоцитів судин ободової кишки білих щурів через 2 тижні введення налбуфіну, у другій серії дослідів – через 4 тижні перебігу експерименту, а у третій серії встановлено ультраструктурну перебудову ендотеліоцитів судин ободової кишки білих щурів через 6 тижнів введення налбуфіну. Для виявлення впливу наркотичного анальгетику налбуфіну ми дослідили ультраструктуру ендотеліоцитів судин ободової кишки контрольної групи тварин через 2, 4, 6 тижнів та порівняли її з такою у щурів, яким вводили налбуфін в ті самі терміни дослідження. Контролем були тварини яким вводили 0,9% розчин хлориду натрію. Експеримент проводили протягом 6 тижнів налбуфін експериментальним тваринам вводили щоденно внутрішньом'язово в наростаючих дозах за наступною схемою: 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 [9]. Матеріал дослідження представлений ультраструктурними зрізами стінки ободової кишки експериментальних

тварин. У ході роботи використовувався метод електронномікроскопічного дослідження. Тварини виводилися з експерименту шляхом передозування внутрішньоочеревинного наркозу з використанням тіопенталу натрію (з розрахунку 25 мг/кг). Відразу після смерті тварин, здійснювався забір і стандартне проведення матеріалу для електронної мікроскопії. На ультрамікротомі 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 уранілацетату, а потім – цитрату свинцю. Вивчення і фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопа УЕМВ-100 К при напрузі прискорення 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопу $\times 1000$ – 8000 .

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 дослідження та їх обговорення.

Електронномікроскопічні дослідження засвідчили, що ендотеліюцити судин гемомікроциркуляторного русла вже через 2 тижні експериментального впливу налбуфіну втрачають свою структуру. Ядра таких ендотеліюцитів містили гетерохроматин у вигляді осміофільних грудочок сконцентрованих вздовж ядерної мембрани, яка подекуди формувала випини та інвагінації. В центральній частині ядер виявляли розташовані гранули неконденсованого хроматину з низькою електронною щільністю. В складі стінки гемокapілярів спостерігався набряк цитоплазми ендотеліюцитів, виявляли дрібні вакуолі. Люмінальна поверхня клітинної оболонки була з нечіткими контурами, що було зумовлено її інвагінаціями та випинами. В окремих ендотеліюцитах судин гемомікроциркуляторного русла поруч зі збереженими органелами спостерігали наявність і структурно змінених. Зокрема, частина мітохондрій містили гомогенний матрикс середньої електронної щільності, кристи окремих були деструктуровані, матрикс грубоволокнистий. Базальна мембрана нерівномірною, місцями потовщена, проте добре контурована (рис. 1).



Рисунок 1 – Кровоносний капіляр власної пластинки слизової оболонки ободової кишки білого щура через 2 тижні введення налбуфіну. Електронна мікрофотографія. 36.: $\times 4000$. Позначення: 1 – еритроцит в просвіті кровоносного капіляра; 2 – цитоплазма ендотеліюцита; 3 – ядро ендотеліюцита; 4 – базальна мембрана; 5 – периваскулярний набряк інтерстицію.

На 4-му тижні експериментального введення налбуфіну деструктивні зміни з боку ендотеліюцитів наростали, так їх ядра були неправильної форми, великих розмірів стосовно цитоплазми та покриті дезорганізованою ядерною оболонкою. У каріоплазмі спостерігали грудки гетерохроматину, які локалізувалися переважно біля ядерної оболонки. Люмінальна поверхня клітинної оболонки була з нечіткими контурами, внаслідок її інвагінації та випинів. У цитоплазмі спостерігали деструктуризацію органел, набряк мітохондрій, про що свідчить зміна форми, розмірів, їхня вакуолізація та руйнування крист. Базальна мембрана ендотеліюцитів була потовщена, подекуди розшарована, нечітка. У венулах та артеріолах також спостерігали зміни ядра і цитоплазми ендотеліюцитів. Ядра мали різну форму, їх каріоплазма була осміофільна. В перинуклеарних ділянках цитоплазми таких ендотеліюцитів виявляли деструктивно змінени



Рисунок 2 – Ультраструктурні зміни венули у слизовій оболонці ободової кишки тварини за умов 4-тижневого введення налбуфіну. Електронна мікрофотографія. 36.: $\times 4000$. Позначення: 1 – просвіт венули; 2 – цитоплазма ендотеліюцита; 3 – ядро ендотеліюцита; 4 – периваскулярний набряк інтерстицію; 5 – базальна мембрана.



Рисунок 3 – Капіляр підслизової основи ободової кишки білого щура через 6 тижнів введення налбуфіну. Електронна мікрофотографія. 36.: ×4000. Позначення: 1 – ядро ендотеліоцита; 2 – цитоплазма ендотеліоцита; 3 – лапаті маси в просвіті капіляра; 4 – розпушення базальної мембрани; 5 – периваскулярний набряк.

органели. Цитоплазматичні ділянки ендотеліоцитів були стоншені, плазмолемі їх нерівні, місцями нечіткі. Виявляли порушені ендотеліальні контакти. На окремих ділянках базальна мембрана була потовщена, неоднорідна (рис. 2).

При електронномікроскопічному дослідженні ендотеліоцитів судин ободової кишки тварин через 6 тижнів введення налбуфіну виявляли електроннощільні, збільшені, неправильної форми ядра, внаслідок

док посилення інвагацій каріолеми. В цитоплазмі таких клітин спостерігали набряк та чисельні вакуолі, дистрофічні та деструктивні зміни органел. Їх люменальна поверхня утворювала чисельні вирости цитоплазми. В мітохондріях ендотеліоцитів виявляли лізис зовнішніх мембран та крист. Цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки були розширені їх мембрани містили мало рибосом. Базальна мембрана була розпушена. Основна речовина в ній дезорганізована (рис. 3).

Висновки.

Встановлено, що вже через 2 тижні введення налбуфіну виникають реактивні зміни ендотеліоцитів на субмікроскопічному рівні які проявлялися збільшенням ядер ендотеліоцитів та появою деструктивно змінених органел в їхній цитоплазмі. Подальше введення наркотичного анальгетика налбуфіну до шести тижнів поглиблює деструк-

тивні зміни, в результаті чого виникає ендотеліальна дисфункція. Провідною ланкою в розвитку патології судин в стінці ободової кишки при дії налбуфіну на субмікроскопічному рівні є мітохондріальна недостатність ендотеліоцитів, яка структурно виявляється лізисом зовнішніх мембран і крист цих органел, що призводить до дефіциту енергетичного забезпечення внутрішньоклітинних синтетичних реакцій і репаративних процесів.

Література

1. Trescot AM, Glaser SE, Hansen H, Benyamin R, Patel S, Manchikanti L. Effectiveness of opioids in the treatment of chronic non-cancer pain. *Pain Physician*. 2008;11:181-200.
2. Strohush OM, Bilynskyi PI. Multymodalne znebolyuvannya boyovoyi travmy. *Trauma*. 2015;16(1):5-12. [in Ukrainian].
3. Lee MC, Wanigasekera V, Tracey I. Imaging opioid analgesia in the human brain and its potential relevance for understanding opioid use in chronic pain. *Neuropharmacology*. 2014;84(100):123-30.
4. Volkow ND, McLellan AT. Opioid abuse in chronic pain – misconceptions and mitigation strategies. *N Engl J Med*. 2016;374:1253-1263.
5. Bekesevych AM. Vplyv narkotychnykh serednykiv na strukturnu organizaciyu nervovoyi tkanyny. *Naukovyy visnyk Uzhgorods'kogo universytetu. Seriya: Medycyna*. 2015;(1):218-221. [in Ukrainian].
6. Ivasivka KP, Paltov EV, Kryvko YuYa. Vplyv molekuly opioidnykh preparativ na patomorphologichnu dezorhanizatsiyu orhaniv ta system. *World Science*. 2019;2(8):33-39. [in Ukrainian].
7. Leppert W. The impact of opioid analgesics on the gastrointestinal tract function and the current management possibilities. *Contemp Onkol (Pozn)*. 2012;16(2):125-131.
8. Bekesevych AM. Osoblyvosti strukturnoi organizacii lanok gemomikrocyrkulyatornogo rusla kory mozochka shchura za umov 2- ta 4-tyzhnevogo vvedennya opioidu. *Klinichna anatomiya ta operatyvna khirurgiya*. 2016;15(1):24-27. [in Ukrainian].
9. Onysko RM, Paltov YeV, Fik VB, Vilkhova IV, Kryvko YuYa, Yakymiv NYa, ta in., vynakhidnyky; L'vivs'kyi natsional'nyy medychnyy universytet imeni Danyla Halyts'koho, patentovlasnyk. Sposib modelyuvannya fizychnoi opioidnoi zalezhnosti u shchuriv. Patent Ukrainy. № 76564. 2013 Sich 10. [in Ukrainian].