

Х.П. Івасівка
Є.В. Пальтов
З.З. Масна
І.В.Челпанова
М.В. Голейко

Львівський національний ме-
дичний університет імені Да-
нила Галицького

Надійшла: 30.10.2021

Прийнята: 15.12.2021

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.56-61>

УДК:611.321.018.3/.73:615.212.7:616.076.4

УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИ- СТИКА СЛИЗОВОЇ ТА ХРЯЩІВ ГОРТАНІ ЩУРА НА 21 ТА 28 ДОБУ ЕК- СПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОПОЇДНОГО ВПЛИВУ

Ivasivka Kh.P. , Paltov E.V. , Masna Z.Z. , Chelpanova I.V. , Holeyko M.V. 

Ultrastructural characteristics of the rats laryngeal mucosa and cartilage on the 21 and 28 days of the experimental opioid effect.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.


ABSTRACT. Background. Today, the issue of opioid use and dependence is extremely acute and is being addressed in the field of public health due to its widespread use. In Ukraine, according to official data from the Ministry of Health and the Ministry of Internal Affairs, there are 150,000 drug users, about 70% of whom use opioids, mostly under the age of 35. **Goal.** The aim of our study was to study the ultrastructural organization of the laryngeal mucosa and cartilage on the 21st and 28th days of opioid exposure. **Methods.** The material of the study were sexually mature, outbred rats males in the number of 32 animals, weighing 80 g, aged 4.5 months. Before collecting necropsy material, the animal was removed from the experiment with diethyl ether. The mucosa and cartilage of the rats larynx were used as material for ultrastructural examination. Ultrastructural capsule were prepared according to conventional methods. **Results.** As a result of the collection of experimental material after 21 days in patients exposed to an opioid analgesic at a dose of 20 mg/kg at the ultrastructural level revealed an increase in dyscirculatory changes, which were most pronounced in the vessels of the laryngeal mucosa. In particular, the lumens of many hemocapillaries were enlarged, overflowing with erythrocytes, most of which were deformed. As a result of the collection of experimental material after 28 days in shurs under the influence of opioid analgesic at a dose of 25 mg/kg at the ultrastructural level revealed an increase in alternative changes of epithelial cells, increased polymorphonuclear infiltration of the lamina propria mucosa and submucosal base processes (mainly stasis and redness) in the vessels of different parts of the larynx. **Conclusion.** At the end of the 21st day of the experimental opioid effect in rats, at the ultrastructural level revealed the progression of dyscirculatory changes, which were most pronounced in the vessels of the lamina propria of the laryngeal mucosa. Degenerative changes developed in some endotheliocytes, which were accompanied by destruction of their mitochondrial crystals and homogenization of the matrix. In the venous channel dyscirculatory changes were more pronounced than in the arterial. Degenerative changes progressed in the chondrocytes of the cartilaginous tissue of the epiglottis. Alternative changes in hyaline cartilage chondrocytes were also observed. At the end of the 28th day of the experimental opioid effect in rats, at the ultrastructural level, warming of alternative changes of epithelial cells, intensification of polymorphonuclear infiltration of the mucosal plate and submucosal plate, as well as pronounced dyscirculatory processes (mainly stasis and hyperemia) were detected.

Key words: larynx, electron microscopy, opioid effect, rat.

Citation:

Ivasivka KhP, Paltov EV, Masna ZZ, Chelpanova IV, Holeyko MV. [Ultrastructural characteristics of the rats laryngeal mucosa and cartilage on the 21 and 28 days of the experimental opioid effect]. *Morphologia*. 2021;15(4):56-61. Ukrainian.


DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.4.56-61>

 Ivasivka Kh.P. 0000-0003-4372-225X

 Paltov E.V. 0000-0002-2622-4753

 Masna Z.Z. 0000-0003-2057-7061

 Chelpanova I.V. 0000-0001-5215-814X

 Holeyko M.V. 0000-0002-4019-8715

✉ ilona.med75@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

На сьогоднішній день питання вживання та залежності від опіоїдів стоїть надзвичайно гостро та розглядається в площині громадського здоров'я через широкую розповсюдженість [1, 2, 3]. В Україні, згідно з офіційними даними МОЗ та МВС, нараховується 150 тисяч наркоспоживачів, серед них близько 70% вживають опіоїди, здебільшого це особи віком до 35 років [4].

Мета. Метою проведеного нами дослідження було вивчити ультраструктуру організації слизової та хрящів гортані наприкінці двадцять першої та двадцять восьмої діб опіоїдного впливу.

Матеріали та методи

Матеріалом дослідження слугували статевозрілі, безпородні шури самці в кількості 32-ти тварин, масою 80 г, віком 4,5 місяців. Тваринам проводили ін'єкції препарату налбуфін дом'язево, щоденно 1 раз на добу в одному проміжку часу (10-11 година ранку) впродовж 28 діб. Доза налбуфіну становила 22 мг/кг впродовж третього тижня, 29 мг/кг впродовж четвертого тижня, експериментального дослідження. Таким чином створювали умови хронічного опіоїдного впливу [5]. Тварини були поділені на 3 групи. 1-а група контрольна, яка впродовж 28 діб отримувала ін'єкції фізіологічного розчину дом'язево в одному проміжку часу (10-11 годин ранку); 2-а група тварин отримувала налбуфін впродовж 21 доби в одному проміжку часу (10-11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець третього тижня експериментального опіоїдного впливу); 3-а група тварин отримувала налбуфін впродовж 28 діб в одному проміжку часу (10-11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець четвертого тижня експериментального опіоїдного впливу). Усі тварини знаходились в умовах віварію і робота, що стосувалася питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” [Страсбург, 1985], Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики [Київ, 2001]. Комісією з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01. 11. 2000 року (протокол № 10 від 26.12. 2011 року).

Перед проведенням забору некропсійного матеріалу тварину виводили з експерименту за допомогою диетилового ефіру. Як матеріал для ультраструктурного дослідження використали слизову та хрящі гортані шурів. Ультраструктурні препарати готували за загальноприйнятою методикою [6, 7, 8].

Результати та їх обговорення

У результаті проведеного забору експериментального матеріалу через 21 добу у шурів, що знаходилися під впливом опіоїдного анальгетика в дозі 20 мг/кг на ультраструктурному рівні виявлено, наростання дисциркуляторних змін, що були найбільш виражені в судинах власної пластинки слизової оболонки шлуночків гортані. Зокрема, просвіти багатьох гемокапілярів були збільшені, переповнені еритроцитами, більшість з яких були деформовані (рис 1-5).



Рис. 1. Гемокапіляр через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$. 1 збільшення просвіту капіляра з деформованим еритроцитом.



Рис. 2. Збільшений просвіт гемокапіляра через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$. 1 – інвагінований ендотеліоцит; 2 набряк базальної мембрани; 3 –періцит.

Деякі з деформованих еритроцитів прилягали до цитоплазматичної мембрани люменальної поверхні ендотеліоцитів. В окремих ендотеліоцитах розвивались дегенеративні зміни, що супроводжувались деструкцією крист їх мітохондрій та гомогенізацією матриксу. Окремі ендотеліоцити зазнавали некротичних змін. У таких клітинах ядро було зменшене в об'ємі, ущільнене, заповнене інтенсивно конденсованим

хроматином. У різних ділянках цитоплазми локалізуються чисельні дрібні мікропіноцитозні везикули, що місцями зазнавали деформації. Гіалоплазма ендотеліоцитів, що зазнають альтеративних змін неоднорідно набрякала, дещо просвітлювалась.



Рис. 3. Гемокапіляр через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. 36. x4000. 1 порушення форми ядра ендотеліоцита 2 деформований еритроцит.

В окремих гемокапілярах еритроцити розташовувались у декілька рядів (рис.5). Спостерігали розвиток сладж-феномену.

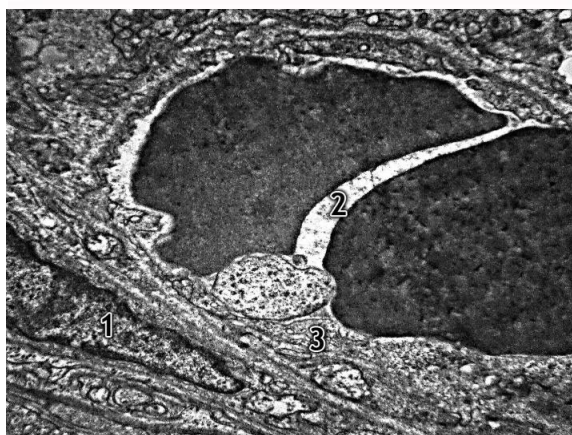


Рис. 4. Збільшення просвіту гемокапіляра через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. x4000. 1 – деформоване ядро ендотеліоцита 2 деформований еритроцит; 3 – набряк базальної мембрани.

У венозному руслі дисциркуляторні зміни були більш вираженими ніж в артеріальному. Перивазальні набряки були виражені помірно. Окрім фібробластів у стромі нагромаджувались поодинокі лімфоцити, нейтрофіли та плазматичні клітини.

В основній речовині власної пластинки слизової оболонки та підслизовій основі збільшувалась кількість фібробластів.

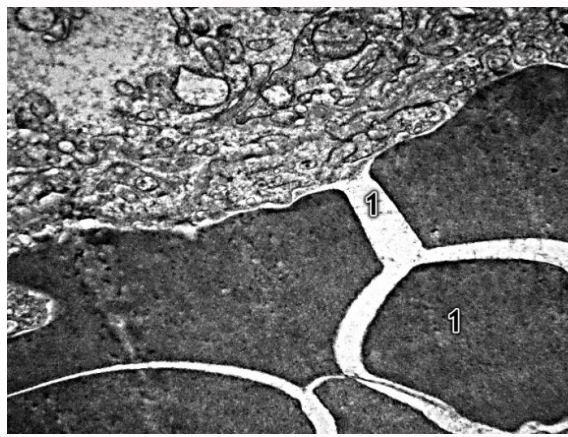


Рис. 5. Значне збільшення просвіту гемокапіляра через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. x6000. 1 –деформовані еритроцити у збільшеному просвіті гемокапіляра.

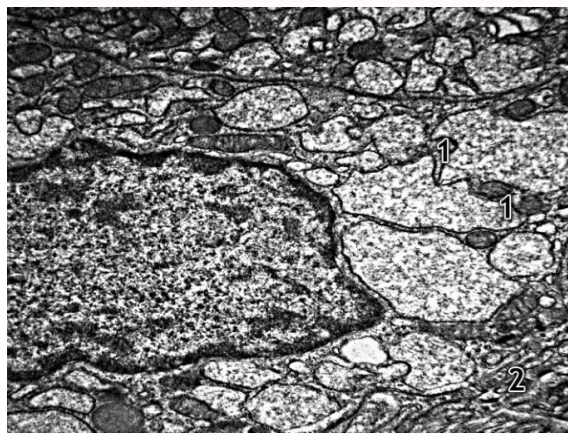


Рис.6.Фібробласт через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. x6000. 1 розширення каналців гранулярної ендоплазматичної сітки; 2 –розширення каналців гладкої ендоплазматичної сітки.

Відзначали розширення каналців гладкої та гранулярної ендоплазматичної сітки фібробластів (рис.6), що були заповнені дрібнозернистою масою середньої електронної щільності. Відзначали збільшення кількості та потовщення фібрил колагенових волокон, що локалізувались поблизу фібробластів.

У хондроцитах хрящової тканини надгортаника прогресували дегенеративні зміни, що супроводжувались нагромадженням в цитоплазмі чисельних жирових вакуолей. Також спостерігали альтеративні зміни хондроцитів гіалінових хрящів.

У результаті проведеного забору експериментального матеріалу через 28 діб у шурів, що знаходилися під впливом опіоїдного анальгетика в дозі 25 мг/кг на ультраструктурному рівні виявили наростання альтеративних змін клітин епітеліального пласту, посилення поліморфноклітинної інфільтрації власної пла-

стинки слизової оболонки та підслизової основи, а також виражені дисциркуляторні процеси (переважно стаз та гіперемію) у судинах різних відділів гортані.

В епітеліальному пласті ділянок гортані, які вкриті одношаровим багаторядним війчастим епітелієм реєстрували розвиток деструктивних змін окремих війчастих епітеліоцитів, а також гіперсекрецію слизу келихоподібними клітинами. Зокрема, спостерігали фрагментацію та руйнування війок, що розташовуються на апікальній поверхні війчастих епітеліоцитів. Гіалоплазма війчастих епітеліоцитів була просвітлена, містила надмірну кількість лізосом. Також відзначали просвітлення матриксу мітохондрій та руйнування крист.

На поверхні слизової оболонки різних відділів гортані були присутні ділянки де нагромаджувались розрихлені маси середньої електронної щільності. Епітеліальний пласт на глотковій поверхні базальної частини надгортанника неоднорідно потовщувався.

Також відзначали збільшення просвітів гемокапілярів, переповнення їх деформованими еритроцитами (рис.7,8), що супроводжувалось деструктивними змінами ендотелію, склеюванням еритроцитів, а місцями розвитком перивазальних набряків (рис.9). Окрім еритроцитів та плазми крові гемокапіляри містили поодинокі лімфоцити та нейтрофіли. Також реєстрували вихід лімфоцитів, нейтрофілів, а інколи еозинофілів за межі гемокапілярів, нагромадження їх в основній речовині сполучної тканини.

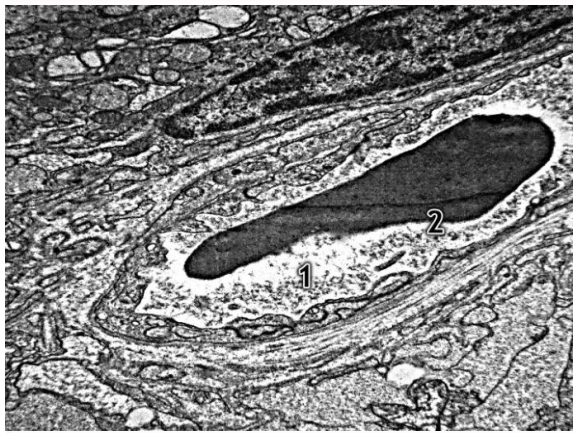


Рис. 7. Гемокапіляр через 28 діб опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$. 1 збільшення просвіту гемокапіляра; 2 –деформований еритроцит.

Також, у стромі зустрічались тканинні базофіли. Відзначали неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон, які набухали, втрачали поперечну посмугованість, а в деяких ділянках зазнавали фрагментації та лізісу.

У хондроцитах гіалінових хрящів відзначали розширення цистерн комплексу Гольджі, кана-

льців гладкої та гранулярної ендоплазматичної сітки. Унаслідок руйнування рибосом спостерігали дегрануляцію гранулярної ендоплазматичної сітки. Окремі каналці гладкого ендоплазматичного ретикулуму були різко розширенні, у них візуалізувались електроннопрозорі дрібнозернисті маси.

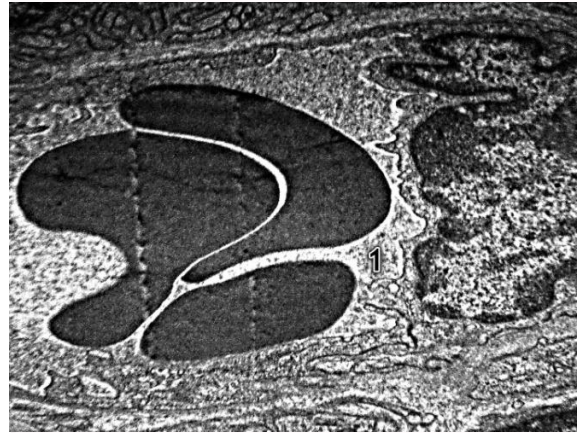


Рис. 8. Гемокапіляр через 28 діб опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$. 1 значне збільшення просвіту гемокапіляра; 2 –деформовані еритроцити в просвіті.

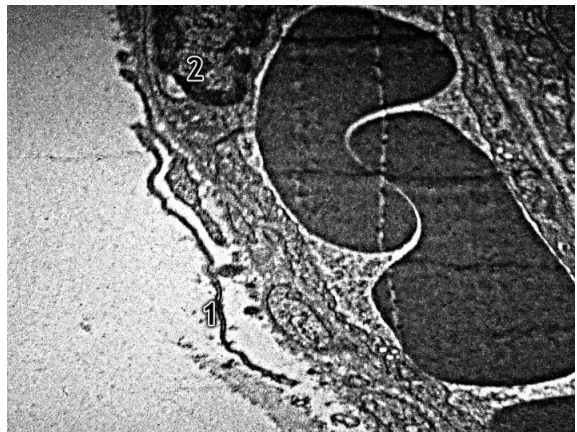


Рис. 9. Гемокапіляр через 28 діб опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$. 1 перивазальний набряк; 2 – ядро ендотеліоцита.

Відзначали неоднорідну осміофільність перичелюлярного хрящового матриксу унаслідок чергування ділянок просвітлення, із зонами нагромадження мас середньої електронної щільності.

Висновки

1. Наприкінці 21-ї доби експериментального опіоїдного впливу у шурів, на ультраструктурному рівні виявлено, прогресування дисциркуляторних змін, що були найбільш виражені в судинах власної пластинки слизової оболонки шлуночків гортані. В окремих ендотеліоцитах розвивались дегенеративні зміни, що супроводжувались деструкцією крист їх мітохондрій та

гомогенізацією матрису. У венозному руслі дисциркуляторні зміни були більш вираженими ніж в артеріальному. У хондроцитах хрящової тканини надгортанника прогресували дегенеративні зміни. Також спостерігали альтеративні зміни хондроцитів гіалінових хрящів.

2. Наприкінці 28 і доби експериментального опіоїдного впливу у шурів, на ультраструктурному рівні виявили прогресування альтеративних змін клітин епітеліального пласту, посилення поліморфноклітинної інфільтрації власної пластинки слизової оболонки та підслизової основи, а також виражені дисциркуляторні процеси (переважно стаз та гіперемію) у судинах різних відділів гортані.

Перспективи подальших досліджень

Проведені нами дослідження допоможуть вивчити наростання патоморфологічних проявів на ультраструктурному рівні у слизовій та хрящах гортані на двадцять першу та двадцять сьо-

му доби опіоїдного впливу. На підставі цієї інформації можна спостерігати за динамікою прогресування дисциркуляторних у ланках гемомікроциркуляторного русла слизової гортані, що в подальшому надасть можливість встановити адекватні терміни медикаментозної корекції патоморфологічних змін в результаті опіоїдного впливу.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональні особливості органів у пре та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операціях та ожирінні» (номер державної реєстрації 0120U002129).

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела References

1. Mamina OO, Mother OO. Chemical toxicological research of narcotic substances in the organs of poisoned rats. Zaporozhye Medical Journal. 2006; 6: 140-142.

2. Ovcharenko MS. [Opioid dependence: clinical and pathogenetic epidemiological, pathopsychological aspects, methods of treatment and prevention]. author's ref. dis. for science. degree d. honey. n: spec. 14.01.17 Narcology. Kharkiv. 2013:19. Ukrainian.

3. Vievsky AM, Zhdanova MP, Sidiyak SV. National Drug Situation Report for the European Monitoring Center for Drugs and Drug Addiction of Ukraine. Development trends, in-depth review of selected topics. Kyiv; 2011: 96 p.

4. Vievsky AM, Zhdanova MP, Sidiyak SV,

Beznogykh VS, Grishchenko AI, Lepekha KI, and others. Slice of the drug situation in Ukraine. Kyiv; 2012: 25 p.

5. Onysko RM, Paltov EV, Fik VB, Vilkhova IV, Kryvko YuYa, Yakymiv NA, Fitkalo OS, 2013 declaratory patent for invention №76564.

6. Glauert AM. Fixatson, dehydration and embedding of biological specimens. In: Practical methods in electron microscopi. North-Holland. American Elsevier. 1975: 207p.

7. Stempac JG, Ward RT. An improved staining method for electron microscopy. J. Cell Biology. 1964; 22: 697-701.

8. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in tlectron microscopy. J. Cell Biology. 1963; 17: 208-212.

Івасівка Х.П., Пальтов Є.В., Масна З.З., Челпанова І.В., Голейко М.В. Ультраструктурна характеристика слизової та хрящів гортані щура на 21 та 28 добу експериментального опіоїдного впливу.

РЕФЕРАТ. Актуальність. На сьогоднішній день питання вживання та залежності від опіоїдів стоїть надзвичайно гостро та розглядається в площині громадського здоров'я через широку розповсюдженість. В Україні, згідно з офіційними даними МОЗ та МВС, нараховується 150 тисяч наркоспоживачів, серед них близько 70% вживають опіоїди, здебільшого це особи віком до 35 років. **Мета.** Метою проведеного нами дослідження було вивчити ультраструктурну організацію слизової та хрящів гортані на 21 та 28 му доби опіоїдного впливу. **Методи.** Матеріалом дослідження слугували статево зрілі, безпородні щури самці в кількості 32- ти тварин, масою 80 г, віком 4,5 місяців. Перед проведенням забору некропсійного матеріалу тварину виводили з експерименту за допомогою диетилового ефіру. В якості матеріалу для ультраструктурного дослідження використовували слизову та хрящі гортані шурів. Ультраструктурні препарати готували за загальноприйнятою методикою. **Результати.** В результаті проведеного забору експериментального матеріалу через 21 добу у шурів, що знаходилися під впливом опіоїдного анальгетика в дозі 20 мг/кг на ультраструктурному рівні виявлено наростання дисциркуляторних змін, що були найбільш виражені в судинах власної пластинки слизової оболонки шлуночків гортані. Зокрема, просвіти

багатьох гемокапілярів були збільшені, переповнені еритроцитами, більшість з яких були деформовані. У результаті проведеного забору експериментального матеріалу через 28 діб у шурів, що знаходилися під впливом опіоїдного анальгетика в дозі 25 мг/кг на ультраструктурному рівні виявили наростання альтеративних змін клітин епітеліального пласту, посилення поліморфноклітинної інфільтрації власної пластинки слизової оболонки та підслизової основи, а також виражені дисциркуляторні процеси (переважно стаз та гіперемію) у судинах різних відділів гортані. **Підсумок.** Наприкінці 21-ї доби експериментального опіоїдного впливу у шурів, на ультраструктурному рівні виявлено, прогресування дисциркуляторних змін, що були найбільш виражені в судинах власної пластинки слизової оболонки шлуночків гортані. В окремих ендотеліоцитах розвивались дегенеративні зміни, що супроводжувались деструкцією крист їх мітохондрій та гомогенізацією матриксу. У венозному руслі дисциркуляторні зміни були більш вираженими ніж в артеріальному. У хондроцитах хрящової тканини надгортанника прогресували дегенеративні зміни. Також спостерігали альтеративні зміни хондроцитів гіалінових хрящів. Наприкінці 28-ї доби експериментального опіоїдного впливу у шурів, на ультраструктурному рівні виявили прогресування альтеративних змін клітин епітеліального пласту, посилення поліморфноклітинної інфільтрації власної пластинки слизової оболонки та підслизової основи, а також виражені дисциркуляторні процеси (переважно стаз та гіперемію) у судинах різних відділів гортані.

Ключові слова: гортань, електронна мікроскопія, опіоїдний вплив, шур.

Ивасивка Х.П., Пальтов Е.В., Масна З.З., Челпанова И.В., Голейко М.В. Ультраструктурная характеристика слизистой и хрящей гортани крысы на 21 и 28 сутки экспериментального опиоидного воздействия.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Сегодня, вопрос применения и зависимости от опиоидов стоит очень остро и рассматривается в плоскости общественного здоровья из-за широкого распространения. В Украине, согласно официальным данным Минздрава и МВД, насчитывается 150 тысяч наркопотребителей, среди них около 70% употребляют опиоиды, в основном это лица в возрасте до 35 лет. **Цель.** Целью проведенного нами исследования было изучить ультраструктурную организацию слизистой и хрящей гортани на 21 и 28 сутки опиоидного воздействия. **Методы.** Материалом исследования служили зрелые, беспородные крысы самцы в количестве 32 животных, массой 80 г, в возрасте 4,5 месяцев. Перед проведением забора некропсийного материала животных выводили из эксперимента с помощью диэтилового эфира. В качестве материала для ультраструктурного исследования использовали слизистую и хрящи гортани крыс. Ультраструктурные препараты готовили по общепринятой методике. **Результаты.** В результате проведенного забора экспериментального материала через 21 сутки у крыс, находившихся под влиянием опиоидного анальгетика в дозе 20 мг/кг на ультраструктурном уровне выявлено, нарастание дисциркуляторных изменений, наиболее выраженные в сосудах собственной пластинки слизистой желудочков гортани. В частности, просветы многих гемокапилляров были увеличены, переполнены эритроцитами, большинство из которых были деформированы. В результате проведенного забора экспериментального материала через 28 суток у крыс, находившихся под влиянием опиоидного анальгетика в дозе 25 мг/кг на ультраструктурном уровне выявили нарастание альтеративных изменений клеток эпителиального пласта, усиление полиморфноклеточной инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой, а также процессы (преимущественно стаз и гиперемия) в сосудах разных отделов гортани. **Итог.** В конце 21-х суток экспериментального опиоидного воздействия у крыс, на ультраструктурном уровне выявлено, прогрессирование дисциркуляторных изменений, которые были наиболее выражены в сосудах собственной пластинки слизистой желудочков гортани. В отдельных эндотелиоцитах развивались дегенеративные изменения, сопровождавшиеся деструкцией крист их митохондрий и гомогенизацией матрикса. В венозном русле дисциркуляторные изменения были более выраженными, чем в артериальном. В хондроцитах хрящевой ткани надгортанника прогрессировали дегенеративные изменения. Также наблюдали альтеративные изменения хондроцитов гиалиновых хрящей. В конце 28-х суток экспериментального опиоидного воздействия у крыс, на ультраструктурном уровне определяли нарастание альтеративных изменений клеток эпителиального пласта, усиление полиморфноклеточной инфильтрации собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы, а также выраженные дисциркуляторные процессы (преимущественно стаз и гиперемия) в сосудах разных отделов гортани.

Ключевые слова: гортань, электронная микроскопия, опиоидное воздействие, крыса.