



УДК 611.438+599.23:612.438.4:615.212.7:616.13:616.145.73

ЗАКОНОМІРНОСТІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН СУДИН ТИМУСА ПРИ ДОВГОТРИВАЛІЙ ДІЇ ОПІОЇДУ

Головацький А.С., Гарапко Т.В.

ДВНЗ «Ужгородський національний університет», медичний факультет, кафедра анатомії людини та гістології, м. Ужгород

Вступ

Актуальним соціальним і медичним питанням сучасності є опіюдна наркоманія [3]. Опіюїди вже давно використовуються в медицині з лікувальною метою. Представником даної групи препаратів є налбуфін (нубаін) – наркотичний анальгетик, напівсинтетичний опіюїд, похідний фенантрена [9, 10]. Проте в сучасній фаховій літературі недостатньо вивчено й описано вплив опіюїдів на органи лімфоїдної (імунної) системи. Трапляються дані про шкідливість впливу на будову тимуса таких шкідливих чинників та станів, як циклофосфамід, імунофан, циклофосфан, толуол, епіхлоргідрин, індометацин, гістинат, метиловий спирт, налоксон, гіперосмолярний розчин, опікова хвороба [1, 5, 6, 8, 11]. Є лише поодинокі дані щодо впливу наркотичних препаратів на цей важливий орган.

Тимус або загруднинна залоза – первинний (центральний) орган імунної системи. Саме від активності й стану даного органа залежить вираженість захисних реакцій організму на екзота ендоантигени, тому що в загруднинній залозі відбувається антигенезалежна проліферація та диференціація субпопуляції Т-лімфоцитів, які потрапляють у кров і розносяться по всьому організму, заселяючи Т-залежні зони вторинних лімфоїдних (імунних) органів, для забезпечення клітинного імунітету [5, 7].

Мета дослідження

Вивчити закономірності структурно-функціональних змін судин тимуса при довготривалій дії на організм опіюїду налбуфіну.

Матеріали і методи

Дослідження проведено на 52 білих щурах-самцях репродуктивного віку з початковою масою 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, ухваленими 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 – 5 особин, яким упродовж 1 тижня щоденно вводили внутрішньом'язово опіюїд налбуфін у дозі 8 мг/кг; третя – 5 особин, яким упродовж 2 тижня дозу налбуфіну збільшили до 15 мг/кг; четверта – 5 особин, яким упродовж 3 тижня дозу налбуфіну збільшили до 20 мг/кг; п'ята – 5 особин, яким упродовж 4 тижня дозу налбуфіну збільшили до 25 мг/кг; шоста – 5 особин, яким упродовж 5 тижня дозу налбуфіну збільшили до 30 мг/кг; сьома – 5 особин, яким упродовж 6 тижня дозу налбуфіну збільшили до 35 мг/кг; восьма – 5 особин, у яких забирали матеріал через один тиждень після відміни препарату. Контролем слугували 12 білих щурів-самців, яким вводили 0,9% розчин хлориду натрію.

Препарат налбуфін вводили згідно з патентом №76564 У Україна «Спосіб моделювання фізичної опіюїдної залежності у щурів» [4].

Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа MICROmed SEO SCAN, фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів [2].

Морфометричні дослідження здійснювали за допомогою програм ВидеоТест-5.0, КАА-РА Image Base та Microsoft Excel на персональному комп'ютері, використовуючи систему візуального аналізу. Зображення з гістологічних препаратів на монітор комп'ютера виводили з мікроскопу MICROmed SEO SCAN та за допомогою відеокамери Vision CCD Camera.

Результати досліджень

Тимус білих щурів кровопостачають численні гілки загруднинної залози, вони галузяться на міжчасточкові і внутрішньочасточ-

кові артерії (рис. 1). Від цих судин відходять дугові артерії, від яких формуються судини гемомікроциркуляторного русла.

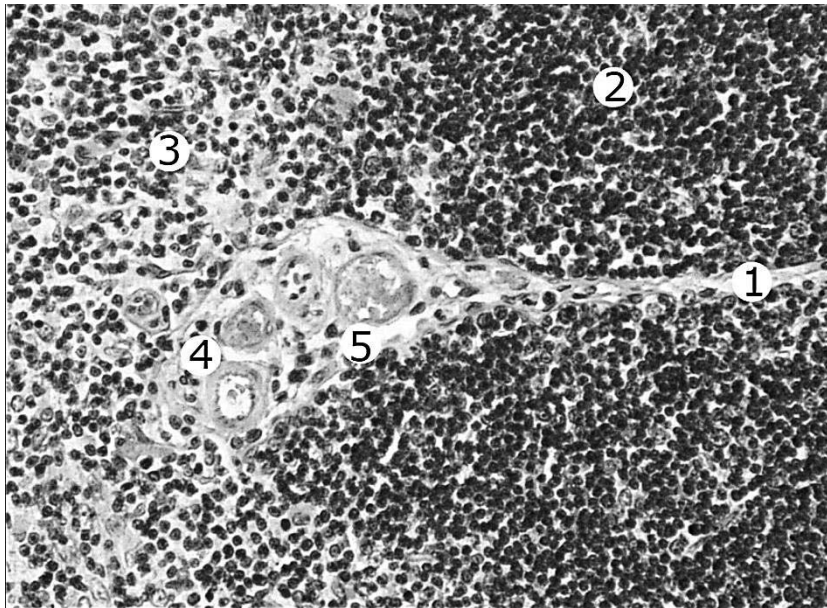


Рис. 1. Мікроскопічна організація тимуса інтактного білого щура-самця репродуктивного віку.

1 – кіркова перегородка; 2 – кіркова речовина часточки; 3 – мозкова речовина часточки;

4 – міжчасточкова артерія; 5 – міжчасточкова вена. Мікрофотографія.

Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 15$.

Площа середньої оболонки (медії) артерій від початку дослідження поступово достовірно збільшується, досягаючи максимальних значень через п'ять тижнів введення налбуфіну – $(1763,87 \pm 16,74)$ мкм², яка на 22,8 % біль-

ша за показник інтактної групи тварин. Надалі цей параметр зменшується і через один тиждень після відміни становить $(1686,34 \pm 15,72)$ мкм², що на 17,4 % більше ($p < 0,001$) за такий параметр інтактної групи тварин (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка змін параметрів артерій тимуса білих щурів-самців контрольної та експериментальних груп ($M \pm m$)

Група, термін експерименту	Sm (мкм ²) – площа медії	Спр (мкм ²) – площа просвіту	Коефіцієнт Вогенворта (%)
Перша група – інтактні тварини	1436,29 \pm 18,43	514,70 \pm 7,41	290,60 \pm 5,04
Друга група – через 1 тиждень	1571,61 \pm 16,73***	546,57 \pm 6,26**	287,54 \pm 5,98
Третя група – через 2 тижні	1593,73 \pm 14,87***	551,75 \pm 7,54***	288,85 \pm 4,09
Четверта група – через 3 тижні	1635,45 \pm 16,76***	540,59 \pm 4,87**	302,53 \pm 5,78
П'ята група – через 4 тижні	1734,57 \pm 20,13***	532,31 \pm 5,95	325,86 \pm 4,77***
Шоста група – через 5 тижнів	1763,87 \pm 16,74***	543,68 \pm 6,15**	324,43 \pm 6,89***
Сьома група – через 6 тижнів	1742,73 \pm 14,78***	538,78 \pm 5,32*	323,46 \pm 5,32***
Восьма група – через 1 тиждень після відміни	1686,34 \pm 15,72***	535,30 \pm 4,65*	315,03 \pm 4,67***

* – величини, які статистично достовірно відрізняються від показників інтактної групи тварин: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.



Площа просвіту артерій коливається упродовж всього дослідження, але є найбільшою ($p < 0,001$) через два тижні – ($551,75 \pm 7,54$). Повторно ця площа збільшується до ($543,68 \pm 6,15$) мкм^2 через п'ять тижнів дії налбуфіну ($p < 0,01$). Через один тиж-

день після відміни площа просвіту артерій дещо зменшується, у порівнянні з показником попередньої групи тварин, і становить ($535,30 \pm 4,65$) мкм^2 , що на 4,0 % більше ($p < 0,05$) за цей показник в інтактній групі тварин (табл. 1, рис. 2).

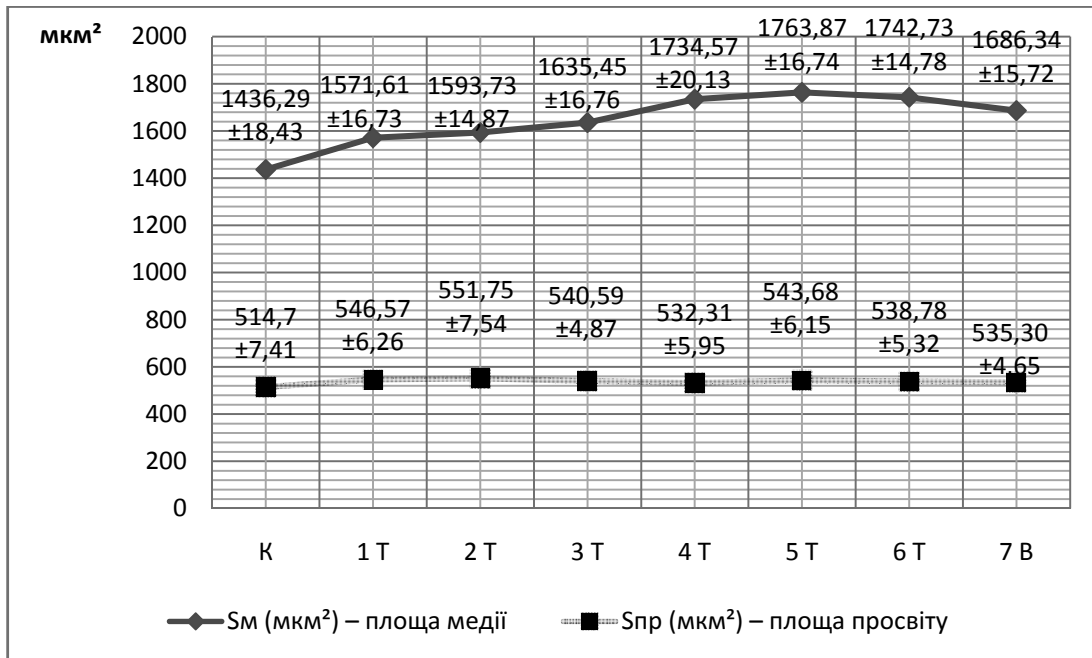


Рис. 2. Діаграма: динаміка змін площі медії та площі просвіту артерій часточок тимуса білих щурів-самців після тривалого введення налбуфіну, де: К – контрольна інтактна група; 1 Т – через 1 тиждень введення налбуфіну; 2 Т – через 2 тижні введення налбуфіну; 3 Т – через 3 тижні введення налбуфіну; 4 Т – через 4 тижні введення налбуфіну; 5 Т – через 5 тижнів введення налбуфіну; 6 Т – через 6 тижнів введення налбуфіну; 7 В – через 1 тиждень після відміни налбуфіну.

Коефіцієнт Вогенворта, який відображає пропускну спроможність артерій, фазово змінюється і через один тиждень дії налбуфіну незначно зменшується до ($287,54 \pm 5,98$) %, після чого починає різко збільшуватися, досягаючи максимального значення через чотири тижні введення препарату ($325,86 \pm 4,77$)%. Потім поступово зменшується і через один тиждень після відміни становить ($315,03 \pm 4,67$) %, який на 8,4 % більший за такий параметр інтактної групи тварин (табл. 1, рис. 3). Тобто пропускну спроможність артерій впродовж перших чотирьох тижнів експерименту змен-

шується, а в наступні два тижні спостереження, а також через тиждень після відміни дещо збільшується.

Через один тиждень дії налбуфіну вени та венули дещо розширені. Діаметр артерій не змінений, їхній просвіт збільшений (рис. 4).

При мікроскопічному аналізі гістологічних препаратів тимуса експериментальних тварин через два тижні щоденного введення налбуфіну просвіт артерій помірно заповнений елементами крові. Вени заповнені кров'ю зі зміненою формою, розширені (рис. 5).

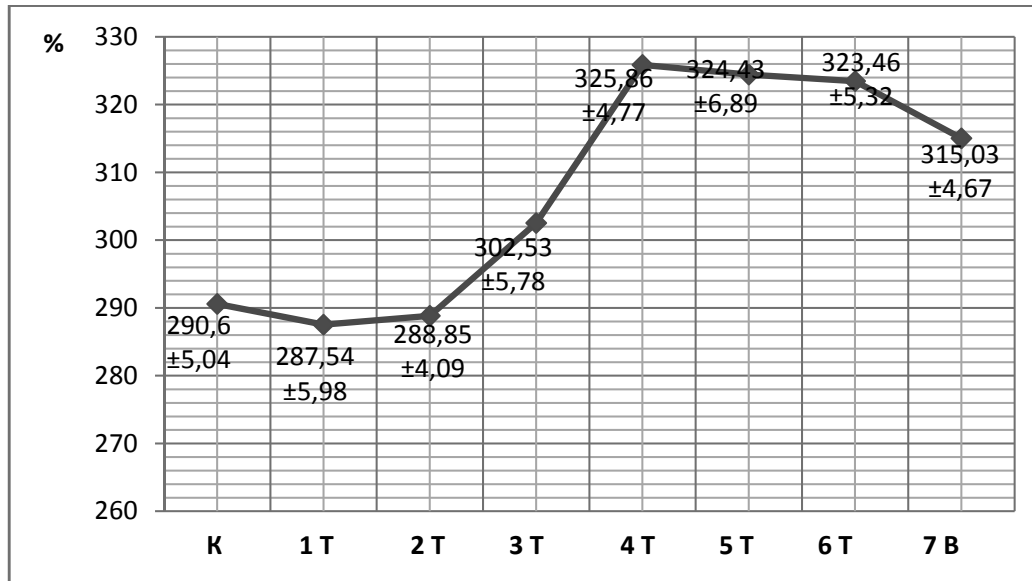


Рис. 3. Діаграма: динаміка змін коефіцієнта Вогенворта артерій часточок тимуса білих щурів-самців після тривалого введення налбуфіну, де: К – контрольна інтактна група; 1 Т – через 1 тиждень введення налбуфіну; 2 Т – через 2 тижні введення налбуфіну; 3 Т – через 3 тижні введення налбуфіну; 4 Т – через 4 тижні введення налбуфіну; 5 Т – через 5 тижнів введення налбуфіну; 6 Т – через 6 тижнів введення налбуфіну; 7 В – через 1 тиждень після відміни налбуфіну.

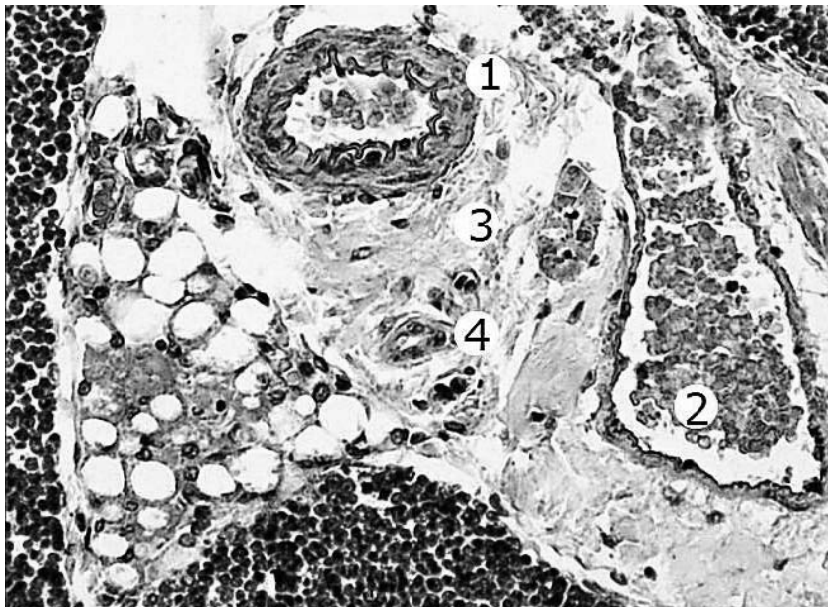


Рис. 4. Збільшення просвіту міжчасточкової артерії (1) та розширення і кровонаповнення міжчасточкової вени (2) у міжчасточковій перегородці (3) тимуса тварини через один тиждень дії налбуфіну. 4 – артеріола. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 15$.

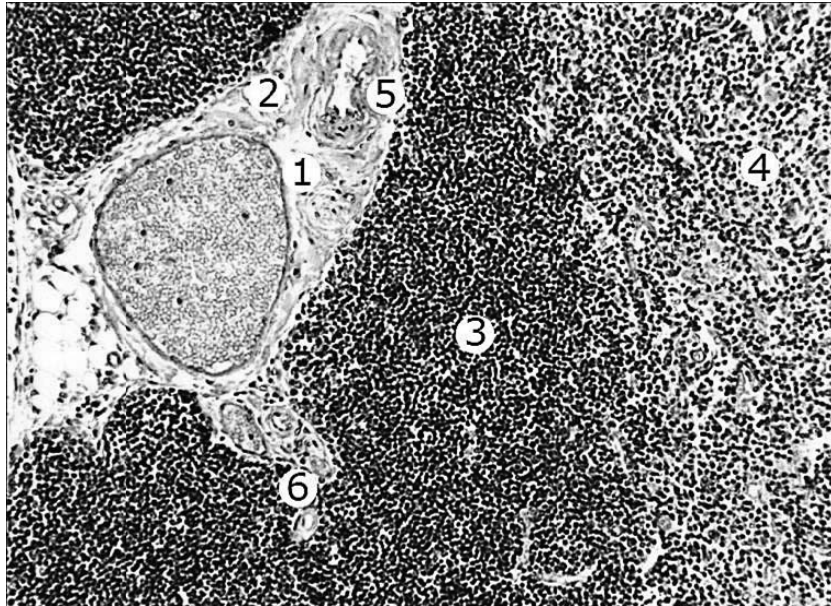


Рис. 5. Розширена і кровонаповнена вена (1) у міжчасточковій перегородці (2) тимуса тварини через два тижні дії налбуфіну. 3 – кіркова речовина часточки; 4 – мозкова речовина часточки; 5 – міжчасточкова артерія; 6 – гемокapіляр. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 8$.

Через три тижні введення налбуфіну білим щурам самцям репродуктивного віку на гістологічних препаратах часточок тимуса виявлено, що просвіт вен і венул дещо розширений, вони повнокровні, навколосудинна сполучна тканина набрякла, інфільтро-

вана лімфоцитами. Стінка артерій і артеріол потовщена через набряк ендотеліоцитів. У просвіті деяких вен та артерій наявні адгезія та агрегація еритроцитів. Спостерігається навколосудинний набряк (рис. 6).

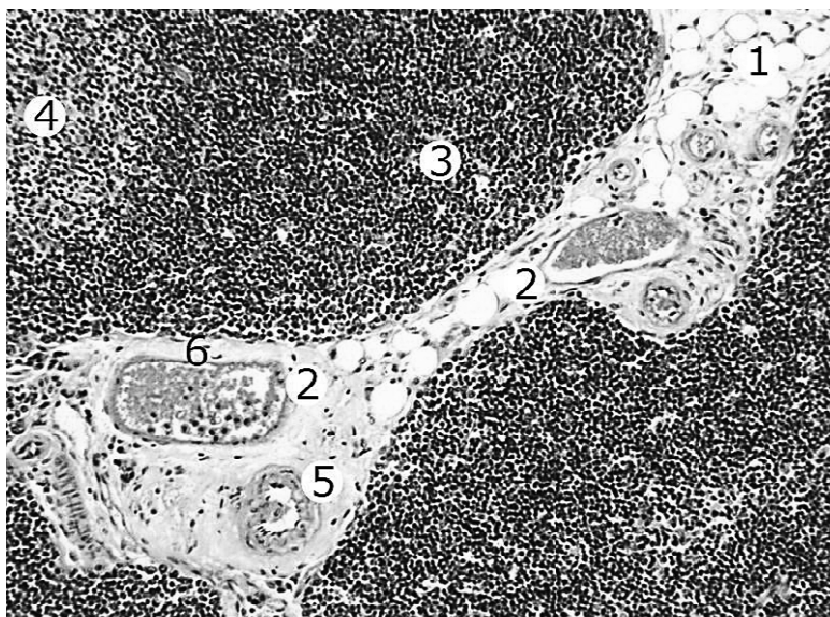


Рис. 6. Потовщена і дещо набрякла сполучна тканина міжчасточкової перегородки (1) та розширена і повнокровна міжчасточкова вена (2) у тимусі білого щура-самця через три тижні введення налбуфіну. 3 – кіркова речовина часточки; 4 – мозкова речовина часточки; 5 – потовщена медія та розширений просвіт міжчасточкової артерії середнього калібру; 6 – навколосудинний набряк. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 8$.

Через чотири та п'ять тижнів дії налбуфіну в тимусі білих щурів-самців репродуктивного віку структурні зміни судинного русла поглиблюються. Вени та венули розширені та повнокровні. Базальна мембрана гемокапілярів розпушена і набрякла. Стінка артерій та

артеріол потовщена і набрякла, колагенові волокна розшаровані (рис. 7). В їхньому просвіті багато формених елементів, які подекуди прикріплені до стінки судини, ознаки тромбоутворення. Спостерігається навколосудинний набряк. Збільшується діаметр гемокапілярів.

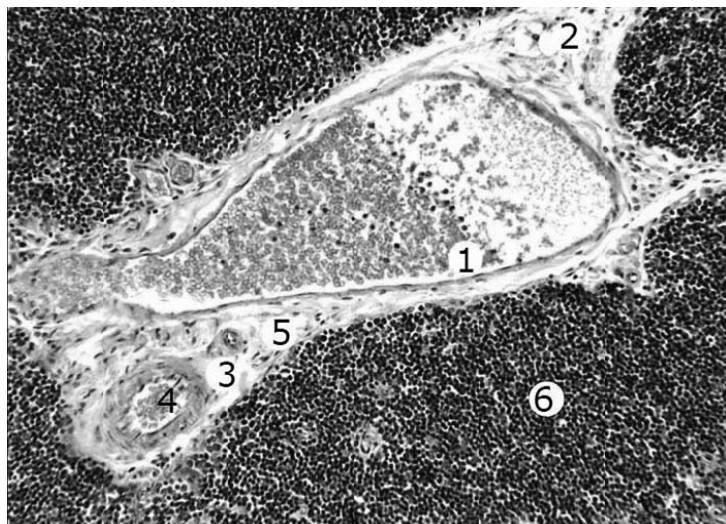


Рис. 7. Розширена та деформована повнокровна міжчасточкова вена (1), міжчасточкова перегородка (2), потовщена стінка міжчасточкової артерії (3), ознаки агрегації еритроцитів та тромбоутворення в просвіті артерії (4), навколосудинний набряк та інфільтрація сполучної тканини лімфоцитами (5), кіркова речовина часточки (6) загруднинної залози білого щура-самця через чотири тижні дії налбуфіну. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 8$.

При мікроскопічному аналізі гістологічних препаратів тимуса білих щурів-самців репродуктивного віку через шість тижнів щоденного введення налбуфіну виявлено подальше пошкодження стінки розширених вен з виходом елементів крові в паренхіму органа (рис. 8).

Відбувається набряк не тільки навколосудинних структур, але і паренхіми. Стінка ар-

терій потовщена, набрякла та склерозована. Артеріоли, венули та гемокапіляри розширені, повнокровні, їхня стінка пошкоджена. Навколосудинна пухка сполучна тканина інфільтрована лімфоцитами і макрофагами, набрякла. Деякі мікросудини «порожні», їхній просвіт майже непомітний.

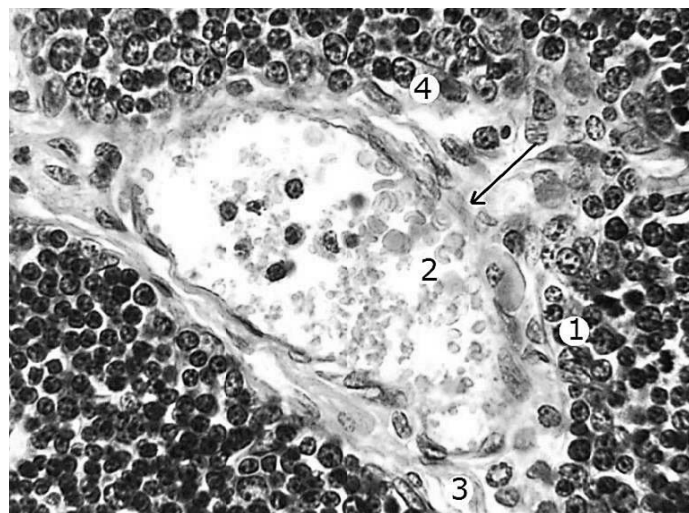


Рис. 8. Розширена вена (1) з пошкодженою стінкою (стрілка), формування тромба (2) в просвіті вени, навколосудинний набряк (3) та набряк кіркової речовини (4) часточки загруднинної залози білого щура-самця через шість тижнів введення налбуфіну. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: об. $\times 40$, ок. $\times 15$.



При мікроскопічному аналізі гістологічних препаратів тимуса білих щурів-самців через один тиждень після відміни налбуфіну виявлено зміни, подібні до попередньої групи тварин, зворотних змін не виявлено. Вени розширені, повнокровні, у багатьох із них цілісність стінки порушена. Спостерігається адгезія та агрегація еритроцитів крові в просвіті судин, вихід формених елементів крові в паренхіму загруднинної залози. Діаметр артерій

дещо збільшений, стінка потовщена, склерозована, просвіт помірно заповнений кров'ю (рис. 9). Є ділянки гемокапілярів з розшаруванням та відшаруванням базальної мембрани. Судини гемомікроциркуляторного русла розширені. Трапляються як переповнені кров'ю, так і «порожні» судини з зіркоподібним просвітом. Є багато пошкоджених капілярів, що сприяє крововиливам у паренхіму тимуса.

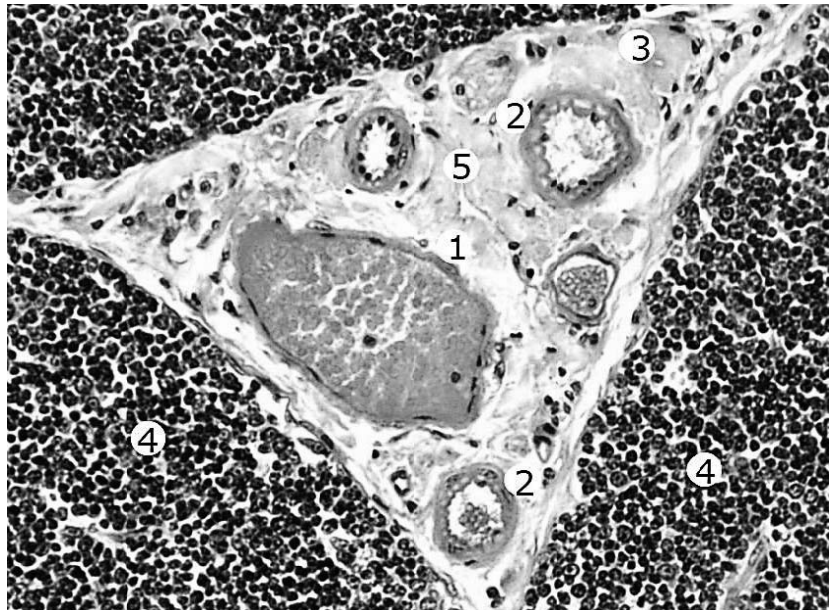


Рис. 9. Розширена і повнокровна міжчасточкова вена (1) з агрегацією еритроцитів у її просвіті, міжчасточкова артерія (2) з потовщеною стінкою, навколосудинний набряк (3) та інфільтрація лімфоцитами міжчасточкової перегородки, кіркова речовина часточки (4), потовщена і набрякла міжчасточкова перегородка (5) у тимусі білого щура-самця через один тиждень після відміни налбуфіну. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 15$.

Висновки

Після довготривалого впливу на організм налбуфіну спостерігаються такі морфологічно-функціональні зміни судин тимуса білих щурів самців репродуктивного віку:

1) площа середньої оболонки (медії) артерій збільшилася від $1436,29 \pm 18,43$ мкм² (інтактні тварини) до $1686,34 \pm 15,72$ мкм² (через один тиждень після відміни);

2) площа просвіту артерій збільшилася від $514,7 \pm 7,41$ мкм² (інтактні тварини) до $535,30 \pm 4,65$ мкм² (через один тиждень після відміни);

3) коефіцієнт Вогенворта збільшився від $290,6 \pm 5,04$ % (інтактні тварини) до $315,03 \pm 4,67$ % (через один тиждень після відміни);

4) вени впродовж експерименту розширюються, деформуються, повнокровні. Зростає кількість вен з пошкодженою стінкою. Спостерігається адгезія та агрегація еритроцитів крові в просвіті судин;

5) діаметр артерій поступово збільшується, стінка потовщується, з'являються ознаки склерозу, просвіт помірно заповнений кров'ю.



Резюме. Мета дослідження – вивчити закономірності структурно-функціональних змін судин тимуса при довготривалій дії на організм опіоїду налбуфіну.

Матеріали та методи – дослідження проведено на 52 білих щурах-самцях репродуктивного віку. Ін'єкції препарату «Налбуфін» проводили внутрішньом'язово щоденно 1 раз на добу в однаковий проміжок часу протягом 42 діб, підвищуючи дозу кожні 7 діб. Експериментальні тварини розподілено на 8 груп. Методами дослідження є гістологічні, морфометричні, статистичні.

Результати дослідження. За термін експерименту (шість тижнів, а також через один тиждень після відміни) відбувається збільшення площі середньої оболонки (медії) артерій на 17,4%, площі просвіту артерій – на 4 %, коефіцієнта Вогенворта – на 8,4 %. Вени розширюються, деформуються. Діаметр артерій дещо збільшується, стінка потовщується.

Висновки. Вже через один тиждень щоденного введення налбуфіну відзначено морфофункціональні зміни судин тимуса білих щурів-самців репродуктивного віку. Всі зміни впродовж експерименту збільшуються і поглиблюються. Через один тиждень після відміни суттєвого покращення морфо-функціонального стану судин не виявлено.

Ключові слова: налбуфін, тимус, щур, міжчасточкова артерія, вена.

Patterns of structural and functional changes of vessels thymus during long-term opioid action

Holovatskyi A.S., Harapko T.V.

Summary. The goal to examine patterns of structural and functional changes in the blood vessels of the thymus long-term effects on the body opioid nalbuphine.

Materials and methods. Research conducted on 52 white male rats reproductive age. Injection drug “nalbuphine” performed intramuscularly daily 1 per day in the same period of time within 42 days, increasing the dose every 7 days. Experimental animals are divided into 8 groups. Research methods is histological, morphometric, statistical.

Research results. During the experiment period (six weeks and one week after discontinuation) is to increase the area of secondary membrane (medial) artery by 17.4%, the area of the lumen of the arteries to 4%, coefficient Vohenvorta to 8.4%. The veins dilate and deformed. The diameter of the arteries increased slightly, wall thickens.

Conclusions. Within one week of daily administration of nalbuphine observed morphological and functional changes of vessels thymus white male rat reproductive age. All changes during the experiment increased and deepened. After one week after discontinuation of significant improvement morpho-functional state of the vessel were found.

Key words: nalbuphine, thymus, rat, interlobular artery, vein.

ЛІТЕРАТУРА

1. Волошин В.М. Морфологічні зміни тимуса статевозрілих білих щурів після інгаляційного впливу толуолу / В.М. Волошин // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вип. 4, Т. 1 (104). – С. 247–250.
2. Гістологія з основами гістологічної техніки / В.П. Пішак, Л.Я. Федонюк, В.В. Заважаєва [та ін.]. – Київ: Кондор, 2008. – С. 205–207.
3. 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.
4. Пат. 76564 У 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.
5. Черкасов Е.В. Структурні зміни тимуса при експериментальній опікоївій хворобі у щурів за умов її лікування шляхом внутрішньовенної інфузії лактопротеїну-С / Е.В. Черкасов // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, № 4. – С. 135–141.
6. Cyclophosphamide enhances immunity by modulating the balance of dendritic cell subsets in lymphoid organs / T. Nakahara, H. Uchi, A. M. Lesokhin [et al.] // Blood. – 2010. – Vol. 115, № 22. – P. 4384–4392.



7. Pearse G. Normal Structure, Function and Histology of the Thymus / G. Pearse // *Toxicol Pathol.* – 2006. – Vol. 34. – P. 504–514.
8. Kashchenko S.A. Changes of thymus structure of mature white rats after cyclophosphanum application / S.A. Kashchenko, A.A. Zakharov // *Macedonian journal of medical sciences.* – 2008. – № 1 (suppl. 1). – P. 36–37.
9. Relationship Between Endogenous Opioid Function and Opioid Analgesic Side Effects / R.K. Gupta, S. Bruehl, J.W. Burns [et al.]: Author manuscript // *Reg. Anesth. Pain. Med.* – 2014. – Vol. 39, № 3. – P. 219–224.
10. The search for novel analgesics: targets and mechanisms / T.L. Yaksh, S.A. Woller, R. Ramachandran, L.S. Sorkin // *Prime Rep.* – 2015. – № 7. – P. 56.
11. Zakharov A.A. Morphological changes of thymus structure of immature rats after imunofan administration / A.A. Zakharov // *Український медичний альманах.* – 2009. – Т. 12, № 1 (дода-ток). – С. 66–67.