

ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА

© О.О. Валько, 2017

УДК 611.428: 611.018, 834: 599.23: 612.426: 615.212.7

О.О. ВАЛЬКО

Ужгородський національний університет, медичний факультет, кафедра анатомії людини та гістології, Ужгород

ЗМІНИ ПАРЕНХІМИ КЛУБОВИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ТРИВАЛОМУ ОПІОЇДНОМУ ВПЛИВІ ТА ЧЕРЕЗ ОДИН ТИЖДЕНЬ ПІСЛЯ ЙОГО ВІДМІНИ

У статті наведені дані щодо динаміки змін відносних площ кіркової та мозкової речовин клубових лімфатичних вузлів білих щурів-самців репродуктивного віку при тривалому шеститижневому впливі опіоїду набуфіну на організм та через один тиждень після відміни препарату. Встановлено, що ці зміни мають фазовий характер, через один тиждень експерименту достовірно збільшується відносна площа кіркової речовини, зменшується відносна площа мозкової речовини, кірково-мозковий індекс достовірно максимально зростає з $1,46 \pm 0,04$ (інтактні тварини) до $1,82 \pm 0,05$. По закінченню експерименту (через шість тижнів) і через тиждень після відміни препарату дані значення показників не повертаються до показників норми. Відносна площа кіркової речовини залишається на 1,88 % більшою за показник інтактної групи, відповідно відносна площа мозкової речовини на 1,88 % є меншою за норму, КМІ становить $1,59 \pm 0,5$ при нормі $1,46 \pm 0,04$. Дані зміни вказують на незворотний вплив набуфіну на структуру клубових лімфатичних вузлів.

Ключові слова: лімфатичний вузол, лімфоїдний вузлик, вплив, щур, набуфін

Вступ. Опіоїди відомі людству понад 6000 років, вони як снодійні та знеболюючі засоби використовувалися в часи давньогрецької цивілізації. Їхнє застосування згадується Гіппократом. Сучасні опіоїди – це речовини синтетичного та напівсинтетичного походження, які за хімічним складом є спорідненими з опіоїдними рецепторами, що забезпечують певну психовегетативну дію: зниження порогу больової чутливості; емоційні відчуття, переважно позитивні; сонливість і деякі типові вегетативні реакції: збудження центру блукаючого нерва, блювотного центру, пригнічення кишкової перистальтики, зниження основного обміну та температури тіла [7, 18].

Набуфін – напівсинтетичний опіоїд, наркотичний анальгетик, похідний фенантрена. Є агоністом каппа-рецепторів і антагоністом мю-рецепторів, порушує міжнейронну передачу больових імпульсів на різних рівнях ЦНС, впливаючи на вищі відділи головного мозку. Завдяки таким властивостям широко використовується в медицині [3, 19].

Різка зростання захворюваності на опіоїдну наркоманію, при якій порушується психічне та соматичне здоров'я, великий економічний і моральний збиток ставлять проблему опійної наркоманії в ряд найважливіших медичних і соціальних проблем у багатьох країнах [1, 8]. У наш час це явище має епідемічні ознаки. У науковій літературі опубліко-

вані дані щодо впливу опіоїду набуфіну на низку органів: шкіру, кінцевий мозок, підшлункову залозу, язик, очне яблуко [5, 6, 7, 9, 12, 14, 15]. Також вивчено вплив набуфіну на первинний лімфоїдний орган – тимус [3, 4], але відсутні дані щодо його впливу на вторинні лімфоїдні органи, зокрема на лімфатичні вузли, в яких знешкоджуються антигени різного генезу, відбувається антигензалежна проліферація та диференціація Т- і В-лімфоцитів і формується конкретна імунна відповідь на їх дію [2, 10, 16, 17]. Тому нас зацікавило питання щодо вивчення впливу набуфіну на лімфатичні вузли, яке є актуальним у наш час.

Мета дослідження. Встановити закономірність змін відносних площ кіркової та мозкової речовин клубових лімфатичних вузлів білих щурів-самців репродуктивного віку при тривалій шеститижневій дії на організм опіоїдного анальгетику набуфіну та через один тиждень після відміни препарату.

Матеріали та методи. Дослідження виконано на 52 безпородних білих щурах-самцях репродуктивного віку (1,5-місячних), з початковою масою 140–150 г. Вибір експериментальних тварин обумовлений тим, що будова лімфатичних вузлів білих щурів принципово не відрізняється від будови лімфатичних вузлів людини [10, 11]. Препарат «Набуфін» тваринам вводили в праву сідничну ділянку внутрішньом'язово щоденно впродовж

6 тижнів. Щотижня дозу препарату для ін'єкцій поступово збільшували в зростаючому порядку, згідно з патентом № 76564 U «Спосіб моделювання фізичної опіоїдної залежності у щурів» [13].

Всі піддослідні тварини розподілено на 8 груп: 1 група – 5 інтактних щурів; 2 група – 5 особин, яким вводили налбуфін щоденно впродовж 1 тижня у дозі 8 мг/кг; 3 група – 5 щурів, яким налбуфін вводили впродовж 2 тижнів, збільшивши дозу до 15 мг/кг упродовж другого тижня; 4 група – 5 тварин, яким налбуфін вводили упродовж 3 тижнів, збільшивши дозу налбуфіну до 20 мг/кг протягом третього тижня; 5 група – 5 особин, яким вводили налбуфін 4 тижні, збільшивши дозу до 25 мг/кг упродовж четвертого тижня; 6 група – 5 тварин яким вводили налбуфін протягом 5 тижнів, збільшивши дозу до 30 мг/кг упродовж п'ятого тижня; 7 група – 5 щурів, яким вводили налбуфін упродовж 6 тижнів, підвищивши дозу до 35 мг/кг упродовж шостого тижня; 8 група – 5 особин, яким упродовж сьомого тижня не вводили опіоїд. Дозу налбуфіну обрано згідно з патентом №76564 U «Спосіб моделювання фізичної опіоїдної залежності у щурів» [13].

Утримували експериментальних тварин в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, згідно з угодою від 18.11.2013 року про співробітництво між кафедрою нормальної анатомії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького та кафедрою анатомії людини та гістології медичного факультету Ужгородського національного університету. Експерименти проводили згідно з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Директивами Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Законом України №3447-І «Про захист тварин від жорсткого поводження», «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухвалених І Національним конгресом України з біоетики (2001), про що свідчить акт

комісії з біоетики медичного факультету Ужгородського національного університету (протокол № 4 від 18.12.2015).

Клубові лімфатичні вузли забирали після знечуження піддослідних тварин внутрішньоочеревинним наркозом з використанням тіопенталу (з розрахунку 25 мг/кг). Фіксували матеріал у 10 % нейтральному формаліні, зневоднювали в зростаючих концентраціях етилового спирту (50°, 70°, 90° та абсолютному) та заливали у парафінові блоки. На гістологічних препаратах товщиною 5–7 мкм, забарвлених гематоксилином та еозином визначали морфометрично, використовуючи систему візуального аналізу гістологічних препаратів, відносно площі кіркової та мозкової речовин, кірково-мозковий індекс (КМІ) клубових лімфатичних вузлів білих щурів-самців при тривалому впливі опіоїду. Зображення з гістологічних препаратів на монітор комп'ютера виводили з мікроскопу MICROMed SEO SCAN та за допомогою відеокамери Vision CCD Camera. Морфометричні дослідження проведені за допомогою програм ВидеоТест-5,0, KAPPA Image Base та Microsoft Excel на персональному комп'ютері.

Статистичну обробку цифрових даних проводили за допомогою програмного забезпечення «Excel» та «STATISTICA» 6.0 з використанням параметричного методу. Цифрові величини представлені вибірковими середніми та стандартною похибкою ($M \pm m$). Достовірність середніх величин (p) визначали за t -критерієм Стьюдента з рівнем вірогідності $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати дослідження представлені в таблиці 1 і на рисунках 1–4.

У інтактних тварин відносна площа кіркової речовини клубових лімфатичних вузлів білих щурів-самців репродуктивного віку дорівнює $59,18 \pm 0,68$ %, а відносна площа мозкової речовини становить $40,82 \pm 0,67$ %, КМІ – $1,46 \pm 0,04$ % (табл. 1, рис. 1, 3).

Таблиця 1

Динаміка змін відносних площ кіркової і мозкової речовин, кірково-мозкового індексу клубових лімфатичних вузлів білих щурів-самців інтактною та експериментальних груп ($M \pm m$)

Група, термін експерименту	S відн. кірк., %	S відн. мозк., %	КМІ
Інтактні тварини	$59,18 \pm 0,68$	$40,82 \pm 0,67$	$1,46 \pm 0,04$
Через 1 тиждень	$64,35 \pm 0,60^{***}$	$35,65 \pm 0,59^{***}$	$1,82 \pm 0,05^{***}$
Через 2 тижні	$63,30 \pm 0,71^{***}$	$36,70 \pm 0,69^{***}$	$1,74 \pm 0,05^{***}$
Через 3 тижні	$63,53 \pm 0,52^{***}$	$36,47 \pm 0,54^{***}$	$1,75 \pm 0,04^{***}$
Через 4 тижні	$63,22 \pm 0,59^{***}$	$36,78 \pm 0,61^{***}$	$1,73 \pm 0,05^{***}$
Через 5 тижнів	$62,02 \pm 0,70^{**}$	$37,98 \pm 0,69^{**}$	$1,65 \pm 0,05^{**}$
Через 6 тижнів	$61,97 \pm 0,48^{**}$	$38,03 \pm 0,50^{**}$	$1,64 \pm 0,03^{**}$
Через тиждень після відміни	$61,06 \pm 0,71$	$38,94 \pm 0,70$	$1,59 \pm 0,05^*$

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

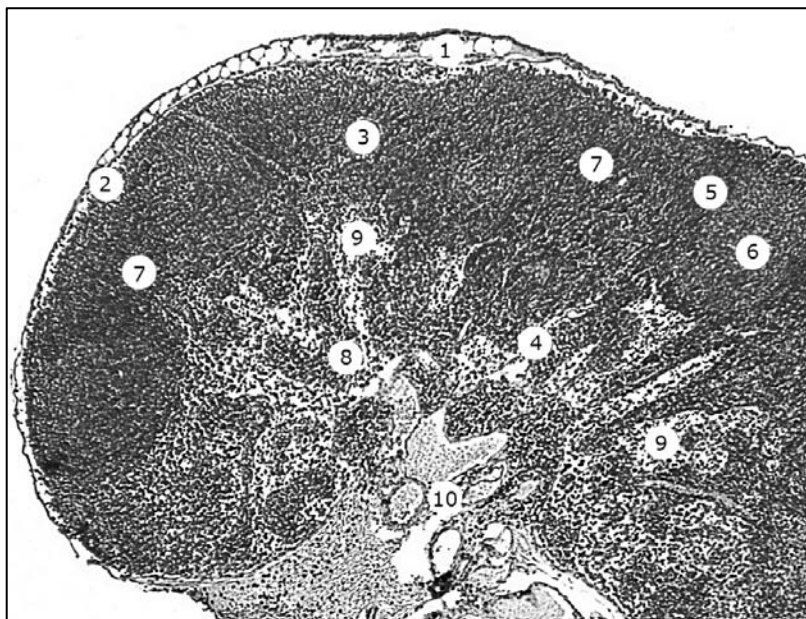


Рис. 1. Клубовий лімфатичний вузол інтактного білого щура-самця репродуктивного віку: 1 – капсула; 2 – крайова лімфатична пазуха; 3 – кіркова речовина; 4 – мозкова речовина; 5 – крайова зона лімфоїдного вузлика; 6 – лімфоїдний вузлик із зародковим центром (центром розмноження); 7 – міжвузликова зона (кіркове плато); 8 – мозковий тяж; 9 – мозкова проміжна лімфатична пазуха; 10 – ворота вузла. Забарвлення

гемаатоксилином і еозином. Зб.: об. $\times 10$, ок. $\times 8$.

Через один тиждень введення налбуфіну достовірно збільшується на 5,17% відносна площа кіркової речовини у порівнянні з інтактними тваринами з $59,18 \pm 0,68$ % до $64,35 \pm 0,6$ % ($p < 0,001$). Через 2 тижні експерименту даний показник дещо зменшується до $63,30 \pm 0,71$ % ($p < 0,001$), але залишається достовірно більшим у порівнянні з інтактною групою тварин (табл. 1, рис. 2).

Упродовж усього експерименту відносна площа кіркової речовини клубових лімфатич-

них вузлів щурів-самців поступово, але незначно зменшується і через 6 тижнів становить $61,97 \pm 0,96$ %, що на 2,79% більше за показник інтактної групи. Через один тиждень після відміни налбуфіну цей показник наближається до показників інтактної групи тварин і становить $61,06 \pm 0,71$ %, але на 1,88% залишається більшим від показників відносної площі кіркової речовини лімфатичних вузлів інтактних щурів (табл.1, рис. 4).

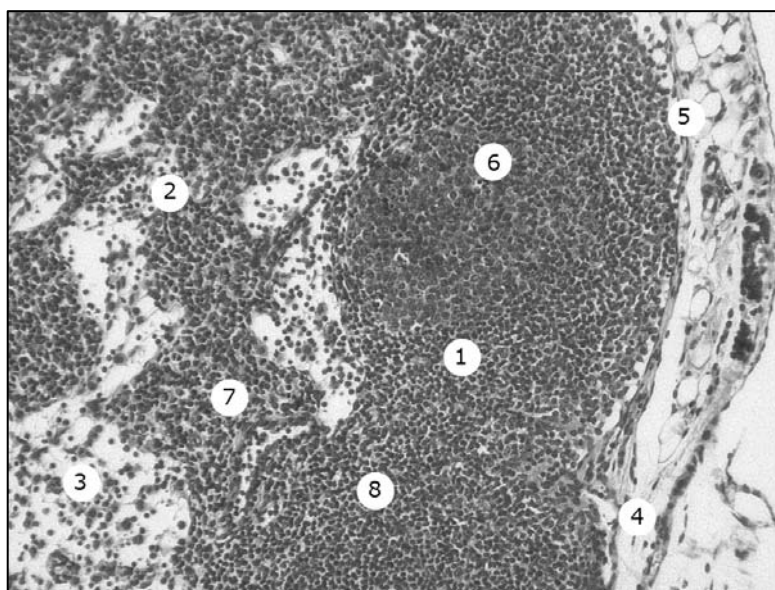


Рис. 2. Клубовий лімфатичний вузол білого щура-самця репродуктивного віку через 1 тиждень експерименту: збільшується відносна площа кіркової речовини (1), зменшується відносна площа мозкової речовини (2), мозкові проміжні лімфатичні пазухи заповнені клітинами лімфоїдного ряду (3); 4 – крайова лімфатична пазуха; 5 – капсула вузла; 6 – лімфоїдний вузлик; 7 – мозковий тяж; 8 – прикіркова ділянка кіркової речовини. Забарвлення гематоксилином і еозином. Зб.: об. $\times 10$, ок. $\times 8$.

При дослідженні відносної площі мозкової речовини клубових лімфатичних вузлів щурів-самців нами встановлено, що вже через один тиждень після дії опіюду налбуфіну даний показник достовірно зменшується на 5,17% – з $40,82 \pm 0,67\%$ до $35,65 \pm 0,59\%$ ($p < 0,001$). Через два тижні експерименту відносна площа мозкової речовини незначно збільшується стосовно попередньої групи тварин і становить $36,70 \pm 0,69\%$, а через шість тижнів дії налбуфіну даний показник становить $38,03 \pm 0,5\%$, що на 2,79% менше від показників інтактної групи тварин. Через тиждень після відміни препарату

налбуфіну даний показник наближається до показника відносної площі мозкової речовини інтактних тварин і становить $38,94 \pm 0,70\%$, що лише на 1,88% менше від норми (табл. 1, рис. 2, 4).

Динаміку змін відносних площ кіркової і мозкової речовини клубових лімфатичних вузлів відображає кірково-мозковий індекс (таб. 1, рис. 3). КМІ максимально збільшується у 1,24 разу через один тиждень після дії налбуфіну. Це пояснюється компенсаторно-приспосувальною реакцією організму на дію чужорідного агента, в даному випадку налбуфіну [2, 5].

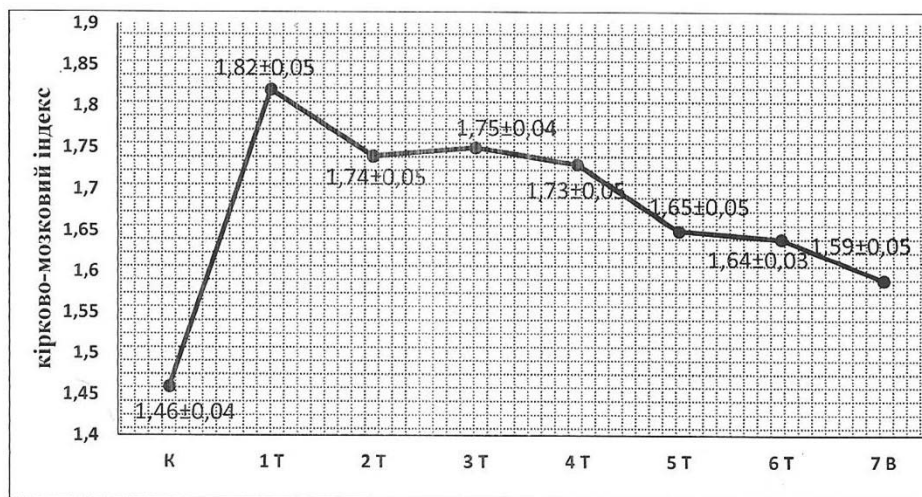


Рис. 3. Динаміка змін кірково-мозкового індексу клубових лімфатичних вузлів контрольної та експериментальних груп білих щурів самців.

К – інтактна група; 1Т – через 1 тиждень введення налбуфіну; 2Т – через 2 тижні введення налбуфіну; 3Т – через 3 тижні введення налбуфіну; 4Т – через 4 тижні введення налбуфіну; 5Т – через 5 тижнів введення налбуфіну; 6Т – через 6 тижнів введення налбуфіну; 7В – через 1 тиждень після відміни препарату.

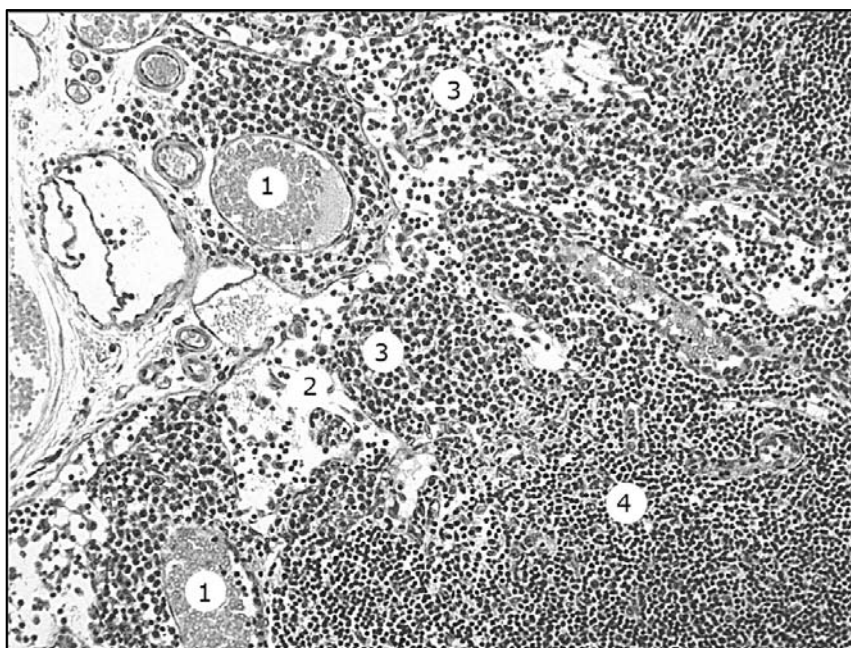


Рис. 4. Клубовий лімфатичний вузол білого щура-самця репродуктивного віку через тиждень після відміни налбуфіну: 1 – повнокровна вена в складі мозкового тяжа; 2 – мозкова проміжна лімфатична пазуха заповнена клітинами лімфоїдного ряду; 3 – мозкові тяжі; 4 – прикіркова ділянка кіркової речовини. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: об. $\times 20$, ок. $\times 8$.

Висновки. Після тривалого шеститижневого впливу опіюду налбуфіну на організм щура відбуваються достовірні фазові зміни його паренхіми. Через один тиждень достовірно збільшується відносна площа кіркової речовини з $59,18 \pm 0,68$ % до

$64,35 \pm 0,6$ % та зменшується відносна площа мозкової речовини з $40,82 \pm 0,67$ % до $35,65 \pm 0,59$ %. Ці фазові зміни відображає КМІ. Такі зміни вказують на незворотний вплив налбуфіну на структуру клубових лімфатичних вузлів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аналітично-статистичний довідник 1990–2008 рр. Епідемія алкоголізму та наркотикоманії в дзеркалі медичної статистики МОЗ України. — Х.: Плеяда, 2009. — 168 с.
2. Волошин Н.А. Внутритрубная антигенная стимуляция как модель для изучения морфогенеза органов / Н.А. Волошин, Е.А. Григорьева, О.Г. Куц [и др.] // Морфологические ведомости. — 2006. — № 1—2. — С. 57—58.
3. Гарапко Т.В. Мікроскопічні зміни тимуса щурів за довготривалим впливом опіюду / Т.В. Гарапко, А.С. Головацький // Проблеми клінічної педіатрії. — 2016. — № 1—2 (31—32). — С. 19—25.
4. Гарапко Т.В. Структурна реорганізація кіркової речовини часточок тимуса щурів при дії налбуфіну / Т.В. Гарапко, А.С. Головацький, К.С. Волков, З.М. Небесна // Вісник проблем біології і медицини. — 2006. — Вип. 3, Т. 1 (131). — С. 177—182.
5. Головацький А.С. Структурна організація судинної оболонки очного яблука за умов впливу опіюду в експерименті / А.С. Головацький, У.Є. Підвальна // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». — 2015. — Вип. 2 (52). — С. 8—12.
6. Дісковський І.С. Особливості мікроструктури шкіри щура за умов впливу опіюду / І.С. Дісковський // Експериментальна і клінічна медицина. — 2014. — № 3 (64). — С. 61—64.
7. Зінько А.В. Вплив опіюду на ультраструктуру променистого вінця кінцевого мозку в експерименті / А.В. Зінько, Л.Р. Матешук-Вацеба // Світ медицини та біології. — 2014. — № 4 (47). — С. 78—81.
8. Зріз наркологічної ситуації в Україні (дані 2010 року) / А.М. Вієвський, М.П. Жданов, С.В. Сидяк [та ін.]. — К.: Український медичний та моніторинговий центр з алкоголю та наркотиків МОЗ України, 2011. — 22 с.
9. Кашенко С.А. Особенности ультрамикроскопического строения вилочковой железы крыс после введения циклофосфана / А.С. Кашенко // Український медичний альманах. — 2003. — Т. 6, № 3. — С. 66—69.
10. Маляр Вол.В. Морфологічна характеристика структурних компонентів ділянкових лімфатичних вузлів матки у інтактних білих щурів-самців / Вол.В. Маляр // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». — 2008. — Вип. 34. — С. 32—35.
11. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы (Лабораторные животные) / А.Д. Ноздрачев, Е.Л. Поляков. — СПб.: Лань, 2001. — 464 с.
12. Онисько І.О. Мікроструктурні зміни в язиці, викликані впливом малих доз опіюду протягом 70-ох і 84-ти діб (експериментальне дослідження) / І.О. Онисько, Р.М. Онисько, О.Є. Маєвський // Український морфологічний альманах. — 2013. — Т. 11, № 2. — С. 72—76.
13. ПАТ. У 76564 Україна МПК Ф 61 К 31/00 Спосіб моделювання фізичної опіюдної 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.
14. Підвальна У.Є. Структурні особливості судинної оболонки очного яблука за умов довготривалого опіюдного впливу в експерименті / У.Є. Підвальна // Вісник української медичної стоматологічної академії «Актуальні проблеми сучасної медицини». — 2014. — Т.14, Вип. 4 (48). — С. 209—212.
15. Попик П.М. Морфологічні зміни судин підшлункової залози при перитоніті, спричиненому введенням налбуфіну в експерименті / П.М. Попик // Вісник морфології. — 2014. — Т. 20, № 1. — С. 170—172.
16. Сапин М. Р. Лимфатическая система и ее роль в иммунных процессах / М. Р. Сапин // Морфология. — 2007. — Т. 131, № 1. — С. 18—23.
17. Черкасов В.Г. Структура органів імунної системи після дії малих доз іонізуючого випромінювання / [Черкасов В.Г., Мотуляк А.П., Стеченко Л.О., Левицький В.А.]. — Івано-Франківськ — К.: Квант, 2008. — 208 с.
18. Experimental model of ocular hypertension in the rat: study of the optic nerve capillaries and action of hypotensive drugs / D. Florentina, A. Villena, L. Vidal [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2010. — Vol. 51, №2. — P. 946—951.
19. Kropshofer H. Antigen presenting cells: from mechanisms to drug development / H. Kropshofer, A. B. Vogt. — Weinheim : Wiley-VCH, 2005. — 611 p.

O.O. VALKO

Uzhhorod National University, Faculty of Medicine, Department of Human Anatomy and Histology, Uzhhorod

THE CHANGES OF WHITE RATS' PARENCHYMA LYMPHATIC NODES WITH PROLONGED OPIOID INFLUENCE AND ONE WEEK AFTER ITS CANCELLATION

The article presents data on dynamics of changes in relative cortex areas and medulla iliac lymphatic nodes of white male rats of reproductive age with prolonged six weeks exposure of the opioid nalbuphine on the body and one week after discontinuation of therapy. These changes were established to have phase character, the relative area of cortex significantly increases after one week of experiment, medulla's relative area decreases, and cortical-medullary index significantly increased from $1,46 \pm 0,04$ (intact animals) to $1,59 \pm 0,05$. At the end of the experiment (in six weeks) and one week after discontinuation, data values of parameters are not returned to normal.

The relative area of cortex remains 1788% higher than in the intact group, accordingly medulla's relative area is at 1788% less than the norm, CMI is $1,59 \pm 0,05$ at a rate of $1,46 \pm 0,04$. These changes indicate an irreversible effect on the structure of nalbuphine iliac lymph nodes.

Key words: lymph nodes, lymphoid nodule, influence, rat, nalbuphin

Стаття надійшла до редакції: 12.01.2017 р.