

УДК 616.37-002:612.397

П.М. Попик, Л.Р. Матешук-Вацеба

Кафедра нормальної анатомії (зав. – доц. В.Б. Фік) Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

УЛЬТРАСТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ЕНДОКРИННОЇ ЧАСТИНИ ТА ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЗА УМОВ ДОВГОТРИВАЛОГО ВПЛИВУ ОПІОЇДУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Резюме. Стаття присвячена дослідженню ультраструктури підшлункової залози білого щура за умов впливу опіоїду. В роботі наведені нові данні щодо особливостей змін ультраструктури ендокриноцитів та ланок гемомікроциркуляторного русла через 2, 4 і 6 тижнів впливу опіоїду. Перші зміни ультраструктурної організації ланок гемомікроциркуляторного русла ендокринної частини підшлункової залози спостерігаються вже через 2 тижні введення щурам налбуфіну і наростають впродовж наступних термінів експерименту. Довготривалий вплив опіоїду зумовлює значні дистрофічні зміни інсулоцитів, зокрема, втрату правильної форми, каріопікноз та каріорексис ядер, набряк та просвітлення цитоплазми, розвиток мікрокістозної дегенерації клітин, розпушення та дезорганізацію базальної мембрани, що може призводити до порушення функції ендокринної частини підшлункової залози. Введення налбуфіну щурам впродовж 6 тижнів призводить до розвитку процесів, що є підґрунтям патологічних змін, які характерні для склерозу судин, циркуляторної гіпоксії, порушень в коагуляційній та фібринолітичній системах, розвитку навколокапілярного набряку і розростання сполучної тканини, порушення трансдотеліального транспорту. Робота є основою для подальших досліджень морфологів і клініцистів щодо розробки в перспективі нових методів діагностики, профілактики та лікування захворювань підшлункової залози у наркозалежних та пацієнтів, які змушені впродовж тривалого часу приймати опіоїди.

Ключові слова: ендокринна частина підшлункової залози, ультраструктура, щур, опіоїд.

Наркоманію визнано глобальною медико-соціальною проблемою XXI століття [1, 2]. Вживання опіоїдів та опіатів обумовлює розвиток структурних змін різних органів і систем, що суттєво знижує тривалість і якість життя наркозалежних [3, 4]. Відомо, що у таких пацієнтів підвищується ризик серцево-судинних захворювань, розвитку печінкової та ниркової недостатності [5]. Проте у фаховій літературі трапляються лише поодинокі відомості щодо впливу опіоїдів на органи ендокринної системи, незважаючи на те, що саме гормони є чи не найважливішими стимуляторами повноцінного обміну речовин [6-8]. Підшлункова залоза відіграє ключову роль в обмінних процесах організму і є особливо чутливою до екзо- та ендопатогенних чинників [9, 10]. Вказане вище обумовило вибір теми та мети дослідження.

Мета дослідження: з'ясувати особливості ультраструктурної організації ендокринної час-

тини та ланок гемомікроциркуляторного русла підшлункової залози щурів за умов 6-тижневого введення налбуфіну.

Матеріали і методи. Дослідження виконані на 24 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 4,5-5,5 місяців і масою тіла 150-170 г. Експериментальні тварини розподілено на 3 серії: у першій серії (5 щурів) вивчено структуру ендокринної частини та ланок гемомікроциркуляторного русла підшлункової залози білих щурів через 2 тижні введення налбуфіну, у 2 серії дослідів (5 щурів) вивчено зміни ангіоархітекτονіки та ультраструктури ендокринної частини підшлункової залози білих щурів через 4 тижні перебігу експерименту, а в 3 серії дослідів (5 щурів) встановлено перебування капілярного русла та ультраструктури ендокринної частини підшлункової залози білих щурів через 6 тижнів введення налбуфіну. Контролем слугували 9 білих щурів, яким вводили фізіоло-

гічний розчин.

Введення налбуфіну проводили внутрішньом'язово 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 [11].

При виконанні роботи використовувався метод електронної мікроскопії. Тварин виводили з експерименту шляхом передозування внутрішньоочеревинного наркозу з використанням тіопенталу натрію (з розрахунку 25 мг/кг). Відразу після смерті тварини здійснювався забір і стандартне проведення матеріалу для електронної мікроскопії. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікротомі УЖТП-3 за допомогою скляних ножів. 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 з допомогою мікроскопа УЕМВ-100К при напрузі прискорення 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопу 4000-8000х.

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.

Через 2 тижні введення щурам налбуфіну, як і в контролі, ендокринна частина підшлункової залози зберігає характерну для неї ультраструктуру, має вигляд невеликих скупчень клітин-панкреатичних острівців, розташованих у часточках між панкреатичними ацинусами. Острівці вміщують ендокринні клітини-інсулоцити, між якими локалізовані гемокапіляри фенестрованого типу, оточені перикапілярними просторами. Інсулоцити переважно мають вигляд невеликих клітин з помірно розвинутою гранулярною ендоплазматичною сіткою, добре розвинутим комплексом Гольджі, містять мітохондрії, а також секреторні гранули (рис. 1).

Серед інсулоцитів можна розрізнити В-клі-

тини і А-клітини. В-клітини становлять основну масу клітин острівців, розміщені в центрі острівців. У таких клітинах вміст гранул виокремлений широким світлим обвідком від мембрани, ядро переважно одне, велике, округлої або овальної форми, в нуклеоплазмі містяться 1-2 ядрця, на

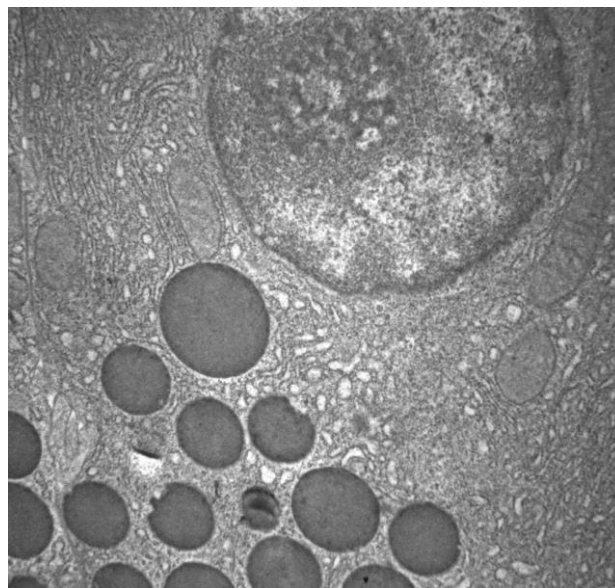


Рис. 1. Ультраструктурна організація підшлункової залози щура через 2 тижні введення опіюду. Електроннограма. $\times 8000$

внутрішній поверхні нуклеолеми розташовані грудки конденсованого хроматину. Секреторні гранули рівномірно розподілені в цитоплазмі, мітохондрії переважно розміщені в центрі клітини, мають округлу або овальну форму. А-клітини розміщені по периферії острівців, більші, ніж В-клітини, містять менше гетерохроматину, вміст гранул виокремлений від мембрани вузьким світлим обвідком, матрикс мітохондрій електронно-щільний, мембрани ендоплазматичної сітки розміщені паралельними рядами. Виявлено також поодинокі D-клітини, які мають зірчасту форму та містять поодинокі гранули без обвідка. До ендокриноцитів примикають капіляри фенестрованого типу діаметром $5,2 \pm 0,19$ мкм. У капілярах виявлено перші ознаки ангіопатії, зокрема спостерігається набряк ендотеліоцитів, просвіти капілярів набувають неправильної форми, ядерні ділянки ендотеліоцитів з електронно-щільними ядрами випинаються у просвіт судин (рис. 2).

Ядра ендотеліоцитів набувають надмірно видовженої форми, ядерна оболонка формує випини, хроматин розміщений маргінально. Базальна мембрана потовщена, зберігає суцільність, але подекуди не має чіткого контуру.

Через 4 тижні експерименту цитоплазма деяких ендокриноцитів містить дрібні безструктурні ділянки з низькою електронною щільністю (рис. 3). Базальна мембрана зберігає свою цілісність, але подекуди розширена, розпушена. Ядра мають чіткі контури, рівномірний розподіл хроматину, проте біля внутрішньої ядерної мембрани виявлено невелике скупчення гетерохроматину. Цистерни і вакуолі комплексу Гольджі розширені, ендоплазматична сітка гіпертрофована, в мітохондріях відбувається деструкція крист, органели гіпертрофовані. Капіляри розширені, заповнені деформованими клітинами крові (еритроци-

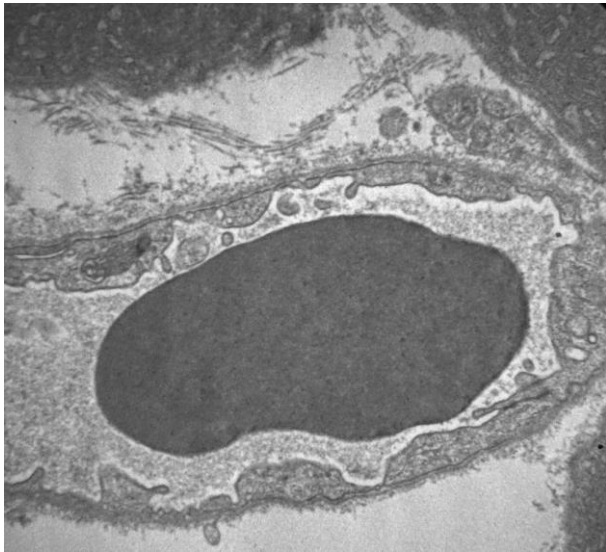


Рис. 2. Ультраструктура капіляра ендокринної частини підшлункової залози щура через 2 тижні введення опію. Електронограма. $\times 4000$

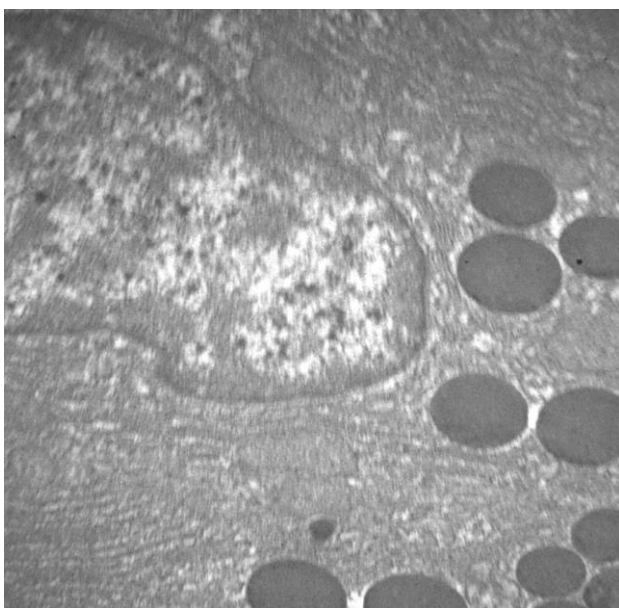


Рис. 3. Ультраструктурна організація інсулоцита підшлункової залози щура через 4 тижні введення опію. Електронограма. $\times 4000$

тами), фенестри розширені. Електронна щільність ендотеліоцитів капілярів зменшується, біля базальної поверхні цитолемі ендотеліоцитів виявлено піноцитозні міхурці, деякі ендотеліоцити значно випинають, а іноді злуцуються в просвіт судини, внаслідок чого базальна мембрана гемокапіляра подекуди оголена. Спостерігається розволокнення і потовщення базальної мембрани, контур її нечіткий. В ядрах перицитів хроматин розташовується маргінально, кристи мітохондрій розширені та фрагментовані.

Через 6 тижнів введення піддослідним тваринам налбуфіну інсулоцити дезорганізовані, окремі поверхневі частини ендокриноцитів перебувають на стадії десквамації в інтерстиції (рис. 4). Ядра таких клітин набувають видовжену неправильну форму, а їхній хроматин представлений, в основному, гетерохроматином, що концентрується по периферії. Ядра більшості інсулоцитів зморщені, із явищами каріопікнозу, мітохондрії збільшені, кількість крист мітохондрій зменшена.

Ядра інших інсулоцитів просвітлені, набрякші, зберігають округлу форму, характерним є зміщення ядер до того чи іншого полюса клітини, в нуклеоплазмі таких клітин, крім хроматину, виявлено великі вакуолі, обмежені одношаровою мембраною. Перинуклеарний просвіт розширений, мітохондрії набрякші, кристи більшості мітохондрій гомогенізовані. У цитоплазмі інсулоцитів виявлено скупчення великої кількості вакуолей, в результаті чого клітина набуває "пінистий" вигляд. У більшості клітин відсутні ознаки секреції,

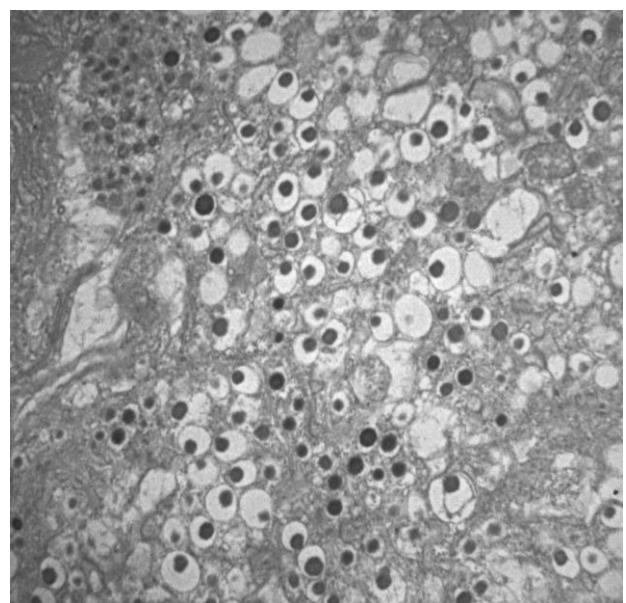


Рис. 4. Ультраструктурна організація ендокриноцита підшлункової залози щура через 6 тижнів введення опію. Електронограма. $\times 4000$

виявлено безструктурні ділянки цитоплазми. Просвіти цистерн ендоплазматичної сітки розширені, відбувається дегрануляція мембран комплексу Гольджі, вакуольна дистрофія.

Капіляри розширені і переповнені форменими елементами крові, спостерігаються сладжі еритроцитів. Ядра ендотеліоцитів з нерівними контурами нуклеолеми, яка формує глибокі інвагінації цитоплазми. Спостерігається згущення гетерохроматину на внутрішній поверхні ядерної мембрани. Люмінальна поверхня цитолемі нерівна, утворює численні випини, обернені в просвіт капіляра, містить значну кількість розширених фенестр. Мітохондрії ендотеліоцитів перебувають на різних стадіях руйнування. Базальна мембрана потовщена, без чітких меж. Ядра перицитів набувають видовженої форми з дрібними інвагінаціями, маргіналізацією ядерного хроматину, розширенням та фрагментацією крист мітохондрій. Перикапілярний просвіт вузької електронної щільності, позбавлений будь-яких структур, що свідчить про перикапілярний набряк. Навколо стінки деяких капілярів спостерігається надлишкова кількість сполучної тканини.

Висновки. 1. Перші зміни ультраструктурної організації ланок гемомікроциркуляторного ру-

сла підшлункової залози спостерігаються вже через 2 тижні введення шурам налбуфіну і наростають впродовж наступних термінів експерименту. Довготривалий вплив опіюду обумовлює значні дистрофічні зміни інсулоцитів, зокрема, втрату правильної форми, каріопікноз та каріорексис ядер, набряк та просвітлення цитоплазми, розвиток мікрокістозної дегенерації клітин, розпушення та дезорганізацію базальної мембрани, що може призводити до порушення функції ендокринної частини підшлункової залози. 2. Введення налбуфіну шурам впродовж 6 тижнів призводить до розвитку процесів, що є підґрунтям патологічних змін, які характерні для склерозу судин, циркуляторної гіпоксії, порушень в коагуляційній та фібринолітичній системах, розвитку навколокапілярного набряку і розростання сполучної тканини, порушення трансендотеліального транспорту.

Перспективи подальших досліджень. Робота є основою для подальших досліджень морфологів і клініцистів щодо розробки в перспективі нових методів діагностики, профілактики та лікування захворювань підшлункової залози у наркозалежних та пацієнтів, які змушені впродовж тривалого часу приймати опіюди.

Список використаної літератури

1. Егоров А.Ю. Эпидемиология и клинические особенности наркоманий и токсикоманий подростков и молодежи / А.Ю. Егоров, А.Г. Софронов // Вопросы психологии здоровья детей и подростков. – 2009. – № 9(1). – С. 22-34.
2. Зріз наркологічної ситуації в Україні (дані 2010 року) / А.М. Вієвський, М.П. Жданова, С.В. Сидяк [та ін.]. – К.: Український медичний та моніторинговий центр з алкоголю та наркотиків МОЗ України, 2011 – 22 с.
3. Bailey C.P. Opioids: cellular mechanisms of tolerance and physical dependence / C.P. Bailey, M. Connor // Curr. Opin. Pharmacol. – 2005. – V. 5, № 1. – P. 60-68.
4. Ligand-induced μ opioid receptor internalization in enteric neurons following chronic treatment with the opiate fentanyl / L. Anselmi, I. Jaramillo, M. Palacios [et al.] // J. Neurosci Res. – 2013. – V. 91(6). – P. 854-860.
5. Огурцов П.П. Лечение хронического гепатита С у лиц с наркотической зависимостью / П.П. Огурцов, Н.В. Мазурчик // Гепатологический форум. – 2007. – № 3. – С. 16-20.
6. Effect of opium addiction on diabetes / L. Azod, M. Rashidi, M. Afkhami-Ardekani [et al.] // Am. J. Drug. Alcohol. Abuse. – 2008. – № 13(4). – P. 383-388.
7. George S. Review of neuroendocrine correlates of chronic opiate misuse: dysfunctions and pathophysiological mechanisms / S. George // Addict. Disord. Treat. – 2005. – № 13(3). – P. 991-1109.
8. Gozashti M.H. The effect of opium addiction on thyroid function tests / M.H. Gozashti // Journal of Diabetes and Metabolic Disorders. – 2014. – V. 4. – P. 135-138.
9. Бархина Т.Г. Особенности ультраструктуры поджелудочной железы при экспериментальной коронаро-каротидной перфузии / Т.Г. Бархина, А.А. Молдавская, А.В. Савищев // Астраханский мед. жс. – 2010. – Т. 5, № 4. – С. 27-29.
10. Молдавская А.А. Ультрамикроскопическая организация поджелудочной железы в норме и при однократно действующих перегрузках в эволюционном аспекте / А.А. Молдавская, А.В. Савищев, М.В. Донской // Морфологические ведомости. – 2008. – № 3. – С. 9-10.
11. Пат. №76564 U Україна, МПК А 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.

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЭНДОКРИННОЙ ЧАСТИ И ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ОПИОИДОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме. Статья посвящена исследованию ультраструктуры поджелудочной железы белой крысы в условиях воздействия опиоида. В работе приведены новые данные об особенностях изменений ультраструктуры эндокриноцитов и звеньев гемомикроциркуляторного русла через 2, 4 и 6 недель воздействия опиоида. Первые изменения ультраструктурной организации звеньев гемомикроциркуляторного русла эндокринной части поджелудочной железы наблюдаются уже через 2 недели введения крысам налбуфина и нарастают в течение следующих сроков эксперимента. Долговременное влияние опиоида обуславливает значительные дистрофические преобразование инсулоцитов, в частности, изменения формы, кариопикноз и кариорексис ядер, отек и просветление цитоплазмы, развитие микрокистозной дегенерации клеток, разрыхление и дезорганизацию базальной мембраны, что приводит к нарушению функции эндокринной части поджелудочной железы. Введение налбуфина крысам в течение 6 недель обуславливает развитие патологических изменений, характерных для склероза сосудов, циркуляторной гипоксии, нарушений в коагуляционной и фибринолитической системах, паракапиллярного отека и разрастание соединительной ткани, нарушение трансэндотелиального транспорта. Работа является основой для дальнейших исследований морфологов и клиницистов по разработке в перспективе новых методов диагностики, профилактики и лечения заболеваний поджелудочной железы у наркозависимых и пациентов, которые вынуждены в течение длительного времени принимать опиоиды.

Ключевые слова: эндокринная часть поджелудочной железы, ультраструктура, крыса, опиоид.

ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF THE ENDOCRINE PART AND HEMOMICROCIRCULATORY BED OF THE PANCREAS WITH PROLONGED EXPOSURE TO OPIOIDS IN THE EXPERIMENT

Abstract. This article deals with the study of a albino rat pancreatic gland ultrastructure under condition of opioid influence. New data are given in this work concerning the peculiarities of changes of ultrastructure of endocrinocytes and the links of haemomicrocirculatory flow in 2, 4, 6 weeks of opioid effect. First changes of ultrastructural organization links of haemomicrocirculatory flow of pancreatic gland endocrine part are already observed in 2 weeks after injecting rats with nalbuphine, and they increase within the following terms of the experiment. Opioid long-lasting effect results in major dystrophic changes of b-cells, in particular, the loss of normal shape, karyopiknosis and karyorhexis of the nuclei, edema and clearing of cytoplasm, development of microcystic degeneration of cells, loosening and disorganization of basement membrane that can cause functional disorder of the endocrine part of the pancreas. Administration of nalbuphine within six weeks results in the development of processes which are the basis of pathological conditions that are typical for vascular sclerosis, circulatory hypoxia, the disorders of coagulative and fibrinolytic systems, the development of edema around the capillary and overgrowth of the connective tissue, the disorder of transendothelial transport. This work is the basis for further researches of morphologists and clinicians in order to develop prospective new methods of diagnostics, prevention and treatment of pancreatic gland diseases of drug addicts and patients who have to take opioids for a long time.

Key words: endocrine part of pancreatic gland, ultrastructure, rat, opioid.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Lviv)

Надійшла 07.05.2015 р.

Рецензент – проф. Волков К.С. (Тернопіль)