

MEDICAL SCIENCES

Мікроструктурна дезорганізація слизової оболонки ободової кишки за тривалого впливу налбуфіну в експерименті

Н. І. Гресько, А. М. Бекесевич, І. В. Вільхова, Х. А. Кирик, І. В. Гресько

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького
Corresponding author. E-mail: hreskonatalya@ukr.net

Paper received 27.04.22; Accepted for publication 19.05.22.

<https://doi.org/10.31174/SEND-NT2022-268X34-04>

Анотація. Дослідження стосується впливу налбуфіну на стан слизової оболонки ободової кишки на мікроструктурному рівні. Результати експериментального дослідження свідчать, що за тривалого впливу налбуфіну перші ознаки порушення структури слизової оболонки стінки ободової кишки з'являються вже через 2 тижні перебігу експерименту. Протягом наступних 4 тижнів дослідження спостерігали наростання дистрофічних та некробіотичних змін адьюменальних колоноцитів та келихоподібних клітин, порушення секреції слизу та зміна його складу.

Ключові слова: ободова кишка, опіоїд, ін'єкція, експеримент.

Вступ. Згідно даних епідеміологічних досліджень, поширеність больової симптоматики (без урахування пацієнтів з онкологічними захворюваннями) становить не менше 40 % випадків серед дорослого населення та має тенденцію до неухильного зростання [1]. В ряді препаратів, що використовують для лікування сильного болю в західному світі є опіоїди [2]. Адже небагато лікарських засобів можуть конкурувати у силі знеболювальної дії з опіоїдними анальгетиками і перспективність їх використання неможливо недооцінювати [3]. Завдяки своїм анальгезуючим властивостям в медичній практиці широко використовують напівсинтетичний опіоїдний анальгетик "Налбуфін" [4]. Препарат групи агоністів-антагоністів опіоїдних рецепторів фенантренового ряду [5]. Налбуфін, завдяки гемодинамічній стабільності та тривалості знеболення, застосовують в післяопераційний період, при інфаркті міокарда, ушкодженні м'яких тканин та переломах кісток [6]. Незважаючи на всі позитивні сторони налбуфіну, не слід забувати, що даний лікарський препарат належить до опіоїдів, терапевтична активність яких скомпрометована побічними ефектами, що включають седацию, фізичну залежність, пригнічення дихання та негативний вплив на органи шлунково-кишкового тракту [7,8]. Хоча до більшості побічних ефектів розвивається толерантність, проте небажані ефекти з боку шлунково-кишкового тракту залишаються постійною проблемою для більшості пацієнтів [9]. Тому, безумовно, актуальними є дослідження стінки ободової кишки на мікроструктурному рівні за впливу налбуфіну різної тривалості. Отримані дані допоможуть поглибити уявлення про вплив опіоїду, зокрема налбуфіну, на ободову кишку та розробити методи профілактики цих захворювань в гастроентерології.

Мета дослідження: з'ясувати особливості мікроструктурної організації слизової оболонки ободової кишки за умов тривалого впливу налбуфіну в експерименті.

Матеріали та методи. Дослідження виконані на 24 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 4,5-5,0-місяців і масою тіла 180-220 г.

Експериментальні тварини розділено на 3 групи: у першій групі (5 щурів) вивчено мікроструктуру слизової ободової кишки білих щурів через 2 тижні введення налбуфіну, у другій групі (5 щурів) мікроструктурні зміни слизової ободової кишки піддослідних тварин вивчено через 4 тижні перебігу експерименту, а в третій групі (5 щурів) вивчено структурні зміни слизової ободової кишки експериментальних тварин через 6 тижнів досліду. Контролем слугували 9 білих щурів, яким замість налбуфіну вводили 0,9 % розчин хлориду натрію.

Введення опіоїдного анальгетика налбуфіну здійснювали 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 [10].

Матеріал дослідження представлений гістологічними препаратами стінки ободової кишки експериментальних тварин. Для гістологічного дослідження зрізи стінки ободової кишки фарбували гематоксиліном і еозином та для оцінки слизоутворення проводили PAS-реакцію з дофарбуванням альціановим синім за Стідманом. Препарати вивчали за допомогою мікроскопа Leica DM 2500 та фотографували за допомогою камери Leica DFC 450 C при збільшеннях мікроскопа: об. x20, ок. x10; об. x40, ок. x10; об. x100, ок. x10.

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. Вже через 2 тижні введення налбуфіну в епітеліальній пластинці слизової оболонки стінки ободової кишки щурів виявляли дистрофічно змінені та десквамовані колоноцити. Адлюменальні колоноцити мали не однорідну структуру, частина з них не мали чітких контурів, містили ядра з ознаками конденсації хроматину, в їх цитоплазмі наявні великі оптично порожні вакуолі. Між поверхневими колоноцитами виявляли лімфоцити та збільшення кількості функціонально активних келихоподібних клітин в кишкових криптах, їх чисельність була більшою в порівнянні з такою у інтактних щурів. На дні крипт виявляли колоноцити на різних стадіях мітозу. Слизовий бар'єр в просвіті ободової кишки був потовщений, в порівнянні з контрольною групою тварин. Інколи у слизі візуалізувалися десквамовані келихоподібні клітини та поодинокі ентероцити. У складі слизу, що вкриває слизову оболонку наявні як кислі, так і основні глікопротеїни (рис. 1). У багатьох ділянках основні глікопротеїни переважають над кислими. Слід зазначити, що відзначається гіперсекреція слизу не лише келихоподібними клітинами, які розташовуються на поверхні слизової оболонки, але також келихоподібними екзокриноцитами багатьох кишкових залоз. Базальна мембрана переважної більшості кишкових залоз збережена, містить помірну кількість PAS-позитивних речовин.

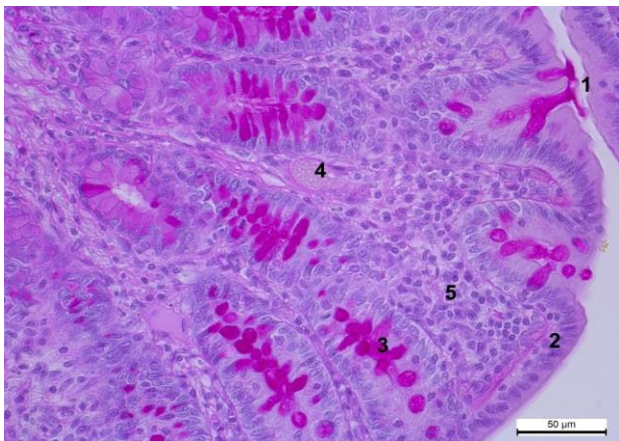


Рис. 1. Фрагмент слизової оболонки ободової кишки щура через 2 тижні введення налбуфіну. PAS-реакція з дофарбуванням альціановим синім за Сідманом. Позначення: 1-

слизовий секрет в просвіті кишки; 2-адлюменальні колоноцити; 3- функціонально активні келихоподібні клітини; 4- розширені та повнокровні кровоносні судини; 5- лейкоцитарна інфільтрація власної пластинки слизової оболонки.

Через 4 тижні експериментального дослідження впливу налбуфіну мікроскопічно в стінці ободової кишки щура встановлено дифузну десквамацію та дистрофічні зміни цитоплазми колоноцитів слизової оболонки. Зокрема їх ядро ущільнювалося, цитоплазма нерівномірно зафарбовувалася, в ній виявляли вакуолі, а на окремих ділянках колоноцити були відокремлені від власної пластинки. Також встановлено збільшену в порівнянні з попереднім терміном дослідження кількість функціонально активних келихоподібних клітин в кишкових криптах. Слизовий бар'єр на апікальній поверхні епітеліального покриву ободової кишки мав більшу товщину в порівнянні з таким у інтактних щурів в цей же термін спостереження, та у щурів, яким вводили налбуфін два тижні, містив основні та кислі глікопротеїни, серед яких виявляли формені елементи крові та десквамовані колоноцити (рис. 2). Просвіти кишкових крипт були розширені, заповнені слизом. Окремі кишкові залози розміщувалися хаотично, дезорганізовано. Базальна мембрана переважної більшості кишкових залоз була збережена, містила помірну кількість PAS-позитивних речовин.

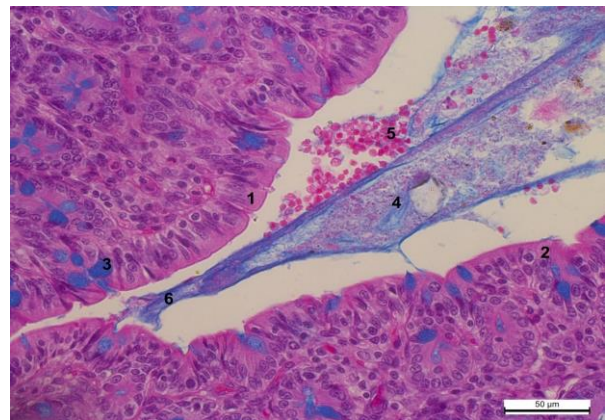


Рис. 2. Фрагмент слизової оболонки ободової кишки через 4 тижні введення налбуфіну. Альціановий синій за Сідманом. Позначення: 1- поверхневі колоноцити; 2- лімфоцити в епітеліальному пласті; 3-келихоподібні клітини; 4- збільшення кількості слизу на поверхні слизової оболонки; 5- еритроцити між пластами слизу; 6-кислі глікопротеїни у пластах слизу та в секреті келихоподібних клітин.

Через 6 тижнів експерименту дистрофічні та некробіотичні зміни в структурі стінки ободової кишки були більше виражені ніж такі як у щурів яким вводили налбуфін в попередні терміни дослідження. Поверхневі колоноцити були неоднорідні по структурі, їх ядро ущільнювалося, ставало однорідно базофільним (пікнотичним), цитоплазма нерівномірно зафарбовувалася містила вакуолі. Спостерігали дифузну десквамовамацію колоноцитів. Виявляли значно

збільшену кількість келихоподібних клітин у верхніх відділах кишкових крипт та морфологічні ознаки посилення секреції келихоподібними клітинами і зміни складу слизу. У секреті келихоподібних клітин наявні як кислі, так і основні глікопротеїни. Кислі глікопротеїни зосереджуються в секреті келихоподібних клітин, що розташовуються біля основи та у середній частині крипт. У той же час як кислі так і основні глікопротеїни наявні у келихоподібних клітинах, що розташовуються у верхній частині крипт та на поверхні слизової оболонки (рис. 3). Просвіти кишкових крипт були розширені, особливо у верхній третині, переповнені слизом та містили продукти розпаду колоноцитів. У кишкових криптах візуалізувалися фігури мітозів, в окремих кишкових залозах збільшувалася кількість малодиференційованих (камбіальних) епітеліоцитів. Базальна мембрана кишкових залоз та у складі колагенових волокон власної пластинки слизової оболонки виявили PAS-позитивні речовини.

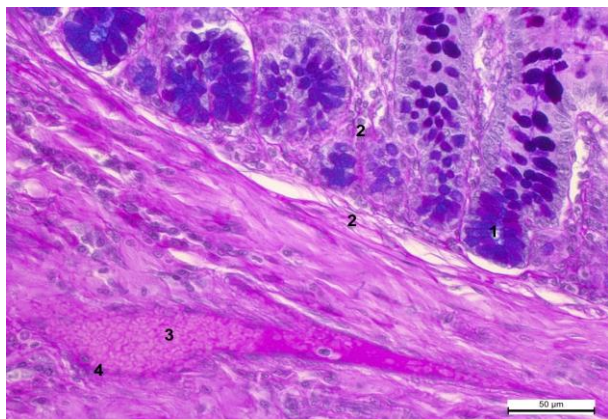


Рис. 3. Фрагмент слизової оболонки та підслизового прошарку стінки ободової кишки через 6 тижнів введення налбуфіну. PAS-реакція з дофарбуванням альціановим синім за Сідманом. Позначення: 1- основні та кислі глікопротеїни в секреті келихоподібних клітин; 2- колагенові волокна, що містять основні глікопротеїни у складі пухкої сполучної тканини власної пластинки слизової оболонки та в підслизовому прошарку; 3- розширений та повнокровний просвіт венули підслизового прошарку; 4-просяккання стінки венули PAS-позитивними речовинами.

Висновки. Отримані дані свідчать, що за умов впливу налбуфіну протягом двох тижнів останній викликає зміни слизової оболонки у вигляді, дифузного злушення поверхневого епітелію, підвищеної проліферативної активності клітин, що свідчить про активацію захисних процесів у слизовій оболонці. Також встановлено включення компенсаторних реакцій, що проявляються у збільшенні кількості функціонально активних келихоподібних клітин, спрямованих на відновлення слизового бар'єру товстої кишки. Тривале застосування налбуфіну зумовлює дистрофічні та некробіотичні зміни адлюменальних колоноцитів та келихоподібних клітин, порушення секреції слизу та зміна його складу.

Дані проведеного дослідження можуть бути використані у практичній медицині для профілактики, діагностики та лікування захворювань товстої кишки, зумовлених тривалим застосуванням опіоїдного анальгетика налбуфіну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бекеевич АМ. Вплив наркотичних середників на структурну організацію нервової тканини Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: Медицина. 2015;1(51):218-221.
2. Trescot AM, Glaser SE, Hansen H, et al. Effectiveness of opioids in the treatment of chronic non-cancer pain. Pain Physician. 2008;11:181–200.
3. Кривко ЮЯ, Гресько НІ. Ультраструктурна перебудова стінки ободової кишки за хронічного впливу опіюду (налбуфіну) в експерименті. Науковий вісник Ужгородського університету. 2017;2(56):29-33.
4. 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.
5. Валько ОО, Гарапко ТВ, Головацький АС, Кочмарь МЮ. Порівняльна характеристика субмікроскопічних змін паренхіми тимусу та клубових лімфатичних вузлів при довготривалому опіоїдному впливі. Bulletin of Medical and Biological Research. 2020;4(6):20-25.
6. Самохін АВ, Мельник ІВ, Бецко НВ. Знеболювання налбуфіном та морфіном після остеосинтезу кісткових відламків виростків великогомілкової кістки. Ліки України. 2014;3(20):61-63.
7. Івасівка ХП, Пальтов ЕВ, Кривко ЮЯ. Вплив молекули опіоїдного анальгетика у спектрі дії на структуру органів. World Science. 2019;2(9(49)):15-19.
8. Müller-Lissner S, Bassotti G, Coffin B, et al. Opioid-induced constipation and bowel dysfunction: a clinical guideline. Pain Med. 2017;18(10):1837–1863.
9. McNicol E, Horowicz-Mehler N, Fisk RA, et al. Management of opioid side effects in cancer-related and chronic noncancer pain: A systematic review. J Pain 2003;4:231–56.
10. Онисько РМ, Пальтов ЄВ, Фік ВБ, Вільхова ІВ, Кривко ЮЯ, Якимів НЯ, винахідники; Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, патенто-власник. Спосіб моделювання фізичної опіоїдної залежності у щурів. Патент України. № 76564. 2013 Січ 10.

REFERENCES

1. Bekesevych AM. The impact of drugs on the structural organization of the nervous tissue Scientific Bulletin of Uzhhorod University. Series: Medicine. 2015; 1(51): 218-221.
2. Trescot AM, Glaser SE, Hansen H, et al. Effectiveness of opioids in the treatment of chronic non-cancer pain. Pain Physician. 2008;11:181–200.
3. Kryvko YuYa, Hresko NI. Ultrastructural changes of the colon's wall caused by chronic opioid (nalbuphine) effect during experiment. Scientific Bulletin of Uzhhorod University. 2017;2(56):29-33.
4. 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.
5. Valko OO, Harapko TV, Holovatsky AS, Kochmar MYu. Comparative characteristics of submicroscopic changes of thymus parenchyma and iliac lymph nodes in long-term opioid effects. Bulletin of Medical and Biological Research. 2020;4(6):20-25.
6. Samokhin AV, Melnyk IV, Betsko NV. Anesthesia with nalbuphine and morphine after osteosynthesis of the bone fragments of the tibial condyles. Medicine of Ukraine. 2014;3(20):61-63.
7. Ivasivka KP, Paltov EV, Kryvko YuYa. Influence of opioid analgesic molecule in the spectrum of action on organ structure. World Science. 2019;2(8(48):33-39.
8. Müller-Lissner S, Bassotti G, Coffin B, et al. Opioid-induced constipation and bowel dysfunction: a clinical guideline. Pain Med. 2017;18(10):1837–1863.
9. McNicol E, Horowicz-Mehler N, Fisk RA, et al. Management of opioid side effects in cancer-related and chronic noncancer pain: A systematic review. J Pain 2003;4:231–56.
10. Onysko RM, Paltov EV, Fik VB, Vilkhova IV, Kryvko YuYa, Yakymiv NE, inventors; Danylo Halytsky Lviv National Medical University, patent owner. Method for modeling physical opioid dependence in rats. Patent of Ukraine. № 76564. 2013 Jan 10.

Microstructural disorganization of the colon mucosa under the long-term influence of nalbuphine in the experiment

N. I. Hresko, A. M. Bekesevych, I. V. Vilkhova, H. A. Kyryk, I. V. Hresko

Abstract. Our study deals with effect of the nalbuphine on the microstructure of the colon mucosa. The results of the experimental study show that with prolonged exposure to nalbuphine, the first signs of disruption of the structure of the mucous membrane of the colon wall appear after 2 weeks of the experiment. Over the next 4 weeks of the study, an increase in dystrophic and necrobiotic changes in adluminal colonocytes and goblet cells, impaired mucus secretion and changes in its composition were observed.

Keywords: colon, opioid, injection, experiment.