

УДК: 61191+61192:572.544

Метешук-Вацеба Л.Р., Дісковський І.С.

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ШКІРИ ЩУРІВ ПРИ ДОВГОТРИВАЛОМУ ВПЛИВІ ОПІОЇДУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Стаття присвячена дослідженню ультраструктури шкіри білого щура за умов впливу опіоїду. Метою дослідження є встановлення особливостей ультраструктури шкіри щура в динаміці довготривалого впливу налбуфіну. В роботі наведені нові дані щодо особливостей змін ультраструктури шкіри та ланок її гемомікроциркуляторного русла через 2, 4 і 6 тижнів впливу опіоїду. Перші зміни ультраструктурної організації ланок гемомікроциркуляторного русла шкіри спостерігаються вже через 2 тижні введення щурам налбуфіну і наростають впродовж наступних термінів експерименту. 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, апоптозу. Робота є основою для подальших досліджень і морфологів, і дерматологів щодо розробки в перспективі нових методів діагностики, профілактики та лікування захворювань шкіри у наркозалежних та пацієнтів, які змушені впродовж тривалого часу приймати опіоїди.

Ключові слова: шкіра, ультраструктура, щур, опіоїд.

Стаття є фрагментом планової наукової роботи кафедри нормальної анатомії «Структура органів та їх кровоносного русла в онтогенезі, під дією лазерного опромінення та фармацевтичних засобів, при порушеннях кровопостачання, реконструктивних операціях та цукровому діабеті», за номером державної реєстрації 0110U001854, яка виконується у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького згідно з державним планом та програмою.

Вступ

Сучасна медицина, на жаль, не може обійтись без застосування опіатів та опіоїдів з лікувальною метою [3, 5, 9, 10]. Результати дослідження впливу опіатів та опіоїдів на структуру органів поодинокі та суперечливі [2]. У людей, які змушені застосовувати тривалий час опіати, підвищена смертність від серцево-судинних захворювань, переважає ймовірність летальних випадків через печінкову та ниркову недостатність, регулярне вживання наркотичних середників руйнує імунну систему організму. Низка дослідників вважає, що ослаблення імунного захисту проявляється в порушенні внутрішньоклітинної захисної системи, шкірного бар'єру і слизових оболонок [1]. За останні роки в усьому світі збільшилась кількість випадків виникнення гангрени серед споживачів ін'єкційних наркотиків [2, 6, 8]. Саме шкіра є тим органом, який найперше реагує на екзо- та ендогенні впливи [4]. Незважаючи на актуальність і важливість проблеми, у фаховій літературі практично відсутні відомості про вплив опіоїдів на ультраструктурну організацію шкіри.

Мета дослідження

Встановити особливості ультраструктури шкіри щура в динаміці довготривалого впливу налбуфіну.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконані на 24 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 4,5-7,5 місяців і масою тіла 130-150 г.

Експериментальні тварини розподілено на 3 серії: у першій серії (5 щурів) вивчено ультраструктуру шкіри білих щурів через 2 тижні введення налбуфіну, у 2 серії дослідів (5 щурів) вивчено на ультрамікроскопічному рівні зміни шкіри білих щурів через 4 тижні перебігу експерименту, а в 3 серії дослідів (5 щурів) встановлено перебудову кровоносного русла та ультраструктури шкіри білих щурів через 6 тижнів введення налбуфіну. Контролем слугували 9 білих щурів, яким вводили фізіологічний 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 [7].

При виконанні роботи використовувався метод електронної мікроскопії. Тварина виводилася 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 УМТП-3М 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-100 К при напрузі прискорення 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопу 4000х.

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 (1986р.), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001р.).

Результати та їх обговорення

Через 2 тижні введення щурам налбуфіну виявлено перші зміни клітин епідермісу, а також пошкодження волокнистих структур, ланок гемомікроциркуляторного русла та залоз дерми.

У цей термін експерименту, як і тварин контрольної групи, епідерміс представлений роговим, зернистим, остистим та базальним шарами. Клітини рогового шару частково дезорганізовані. Електронна щільність ядра і цитоплазми клітин зернистого шару незначна, міжклітинні контакти представлені десмосомами, деякі з них розпадаються. Клітини остистого шару набувають заокругленої форми, хоч в контролі вони мають полігональну форму. Тонкофіламенти та тонофібрили, що прилягають до десмосом, частково дезорганізовані. Міжклітинні контакти остистого шару подекуди порушені. Ядра багатьох клітин базального шару набрякли, ядерця і нуклеолема їх частково дезорганізовані, базальна мембрана подекуди розпушена.

У сосочковому шарі дерми виявлено перші зміни з боку ланок гемомікроциркуляторного русла (рис. 1).



Рис. 1. Ультраструктура артеріоли сосочкового шару дерми щура через 2 тижні введення опіюду. Електронограма. х 4000

Просвіти артеріол та прекапілярних артеріол розширені, ядра ендотеліальних клітин великих розмірів стосовно цитоплазми, їх нуклеолема утворює пальцеподібні та куполоподібні випини. Внутрішньоклітинні мембранні структури, зокрема мітохондрії та ендоплазматична сітка, не мають чітких контурів. Просвіт гемокapілярів переважно не змінений, але цитоплазма та ядра їхніх ендотеліальних клітин підвищеної електронної щільності. Ядра більшості ендотеліоцитів, як і в контрольних щурів, видовженої форми, хроматин в них добре структурований. В сітчастому шарі спостерігаються потовщені пучки колагенових волокон, а також незначний набряк епітеліальних клітин кінцевих секреторних відділів та вивідних проток сальних та потових залоз.

Через 4 тижні експерименту дистрофічні зміни клітин зернистого шару переважно проявляються пікнозом ядер та вакуолізацією цитоплазми. Границі між клітинами нечіткі. В деяких клітинах остистого шару ядра займають значну частину клітини, а в деяких, навпаки, ядра зморщені, гіперхромні. В цитоплазмі таких клітин спостерігається вакуолізація. Клітини базального шару мають змінену форму і розміри, в ядрах деяких епідермоцитів хроматин конденсований, ядерця не виявляються, нуклеолема утворює інвагінації, в цитоплазмі спостерігаються вакуолі (рис. 2.).

Мітохондрії просвітлені, кристи деструктуризовані, простори між кристами розширені. Поряд з дистрофічно зміненими клітинами базального шару виявлено гіпертрофовані клітини. Ядра таких клітин збільшені, нуклеолема утворює інвагінації. Більшу частину ядра займає еухроматин, гетерохроматин виявлено лише на периферії ядра у вигляді тонкої смужки. В ядрах гіпертрофованих клітин базального шару розміщені 1 або 2 ядерця, в цитоплазмі – гіпертрофовані мітохондрії. У базальному шарі збільшується кількість лімфоцитів. Епідермальні макрофаги містять ядра з конденсованим хроматином на периферії і просвітленим в центрі, ядерця не виявляються. Для цитоплазми цих клітин теж характерна вакуолізація, мітохондрії гіперплазовані, гіпертрофовані, простори між кристами розширені, матрикс просвітлений.

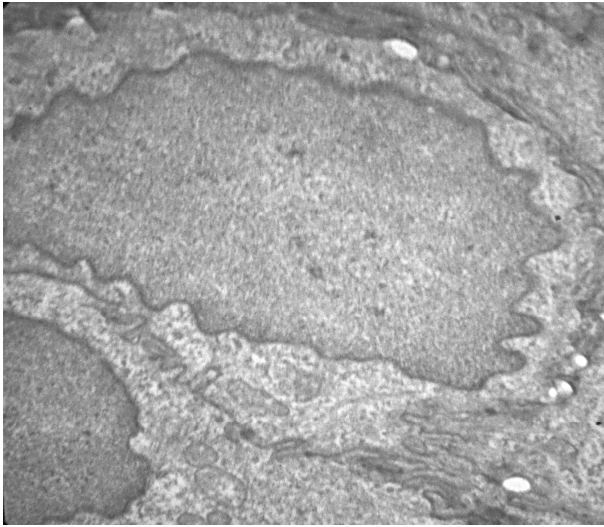


Рис. 2. Ультраструктура епідермоцита базального шару шкіри щура через 4 тижні введення опію. Електронограма. х 4000

В сосочковому шарі дерми зменшується кількість клітин сполучної тканини, виявлено просвітлення і розширення міжклітинних просторів, що свідчить про набряк. Просіти капілярів сосочкового шару дерми звужені за рахунок набряку цитоплазми ендотеліоцитів, а також випинів цитоплазми в просвіт. Виявлено ділянки адгезії еритроцитів та тромбоцитів до ендотелію. Венули повнокровні. В просвітах венул знаходяться ацидофільні лейкоцити, тромбоцити, еритроцити. Міжклеточні контакти розширені, що вказує на діapedез лейкоцитів через стінки венул. Базальна мембрана венул розпушена. Базальна мембрана потових залоз розпушена, фрагментована, міжклітинні контакти зруйновані, епітеліоцити дистрофічно змінені, «приплюснуті», ядра зморщені, гіперхромні, хроматин конденсований, ядерця не виявляються, мітохондрії просвітлені, кристи деструктуризовані. Клітини кінцевого секреторного відділу сальних залоз гіпертрофовані за рахунок набряку. Ядра їх збільшені, нуклеолема утворює інвагінації, мітохондрії гіперплазовані, кристи зруйновані. Просвіти вивідних проток сальних залоз заповнені фрагментами клітин, епітеліоцити вивідних проток дезорганізовані.

Через 6 тижнів введення щурам налбуфіну спостерігається прогресування змін епідермоцитів і структурних компонентів дерми (рис. 3).

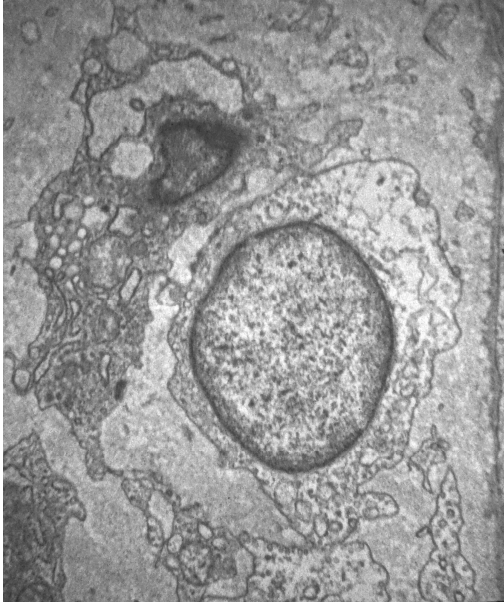


Рис. 3. Ультраструктура шкіри щура через 6 тижнів введення опію. Електронограма. х 4000

Міжклітинні простори розширені, епідермоцити мають низьку електронну щільність. Клітини зернистого шару набряклі, плазмалема їх розпушена, міжклітинні контакти представлені атрофованими десмосомами. В цитоплазмі клітин зернистого шару виявляються візовані мікрофіламенти, каналці ендоплазматичної сітки, які перебувають на різних етапах розпаду, мітохондрії вакуолізовані, спостерігається каріолізис. Клітини остистого шару епідермісу гіпертрофовані, їхні ядра збільшені і мають неправильну форму. Нуклеолема утворює численні куполоподібні випини, що мають вигляд передапоптичних тіл. Хроматин в ядрах клітин остистого шару конденсований, перинуклеарні простори просвітлені, розширені, мітохондрії гіпертрофовані, матрикс в них просвітлений, кристи зруйновані. В дермі розвивається атрофія і склероз. Значно

зменшується кількість фіброblastів. В сосочковому шарі дерми виявлено збільшення кількості тканинних базофілів, лімфоцитів. Стінка артеріол та прекапілярних артеріол потовщена, склерозована. В просвітах артеріол виявлено пристінкові тромби. Просвіти гемокапілярів заповнені скупченнями еритроцитів, в місцях розпушення плазмолем еритроцитів на люменальній поверхні ендотеліальних клітин виявлено їх злипання (рис. 4).



Рис. 4. Ультрaструктурa капілярa сосочкового шару дерми щурa через 6 тижнів введення опіюду. Електронoгрaмa. x 4000

Спостерігається венозне повнокрів'я, базальна мембрана стінки венул розпушена, колагенові волокна її деструктуровані. В периваскулярних просторах виявлено набряк сполучної тканини, численні лімфоцити, гістеоцити, еозинофільні лейкоцити, активовані макрофаги, контакти макрофагів з лімфоцитами. В сітчастому шарі дерми відмічено надлишок грубих гіалінізованих колагенових волокон, атрофовані потові та сальні залози, розміщені серед склерозованої тканини.

Висновки

Довготривалий вплив опіюду зумовлює значні дистрофічні зміни як епідермісу, так і структурних компонентів дерми, що може сприяти виникненню шкірних захворювань. Перші зміни ультрaструктурної організації ланок гемомікроциркуляторного русла шкіри спостерігаються вже через 2 тижні введення щурaм налбуфіну і нарастають впродовж наступних термінів експерименту. Введення налбуфіну щурaм впродовж 6 тижнів призводить до розвитку процесів, що є підґрунтям патологічних змін, які характерні для процесу склерозу судин, циркуляторної гіпоксії, порушень в коагуляційній та фібринолітичній системах, апоптозу.

Література

1. Дакал А.В. Особливості клінічного перебігу і лікування одонтогенних гнійно-запальних захворювань м'яких тканин у хворих, що вживають наркотики : автореф. дисертації на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук за спец. : 14.01.22 / А.В. Дакал. – Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика. – К., 2011. – 20 с.
2. 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.
3. Зріз наркологічної ситуації в Україні (дані 2010 року) / А.М. Вієвський, М.П. Жданова, С.В. Сидяк [та ін.]. – Київ : Український медичний та моніторинговий центр з алкоголю та наркотиків МОЗ України, 2011 – 22 с.
4. Катуніна О.Р. Морфофункціональна організація лимфоїдної ткани, асоційованої з шкірою та її роль в імунних реакціях / О.Р. Катуніна // Архив патологии. – 2011. – № 5. – С. 62-65.
5. Киржанова В.В. Основные показатели деятельности наркологической службы в РФ в 2007-2008 годах (анализ данных федерального статистического наблюдения) / В.В. Киржанова // Социальные аспекты здоровья населения. Информационно-аналитический вестник. – 2009. – № 3 (11).
6. 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.
7. Пат. №76564 У Україна, МПК А 61 К 31/00 Спосіб моделювання фізичної опіюдної залежності у щурів / заявники: Онисько Р.М., Пальтов С.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.
8. Шестакова И.В. Мионекроз у потребителей инъекционных наркотиков (клиническое наблюдение) / И.В. Шестакова, Н.Д. Ющук, О.Л. Тишкевич // Терапевтический архив. – 2010. – Том 82, N 11. – С. 37-40.
9. Assadian Q. Gas gangrene due to Clostridium perfringens in two injecting drug users in Vienna, Austria / Q. Assadian, A. Assadian, C. Senekowitsch [et al.] // Wien. Klin. Wschr. – 2004. – № 116 (7-8). – P. 264- 267.
10. Smith-Slatas C.L. Clostridium septicum infections in children: a case report and review of the literature / C.L. Smith-Slatas, M. Bourque, J.C. Salazar // Pediatrics. – 2006. – № 117 (4). – P. 796-805.

Реферат

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ОПИОИДА

Матешук-Вацеба Л.Р., Диковский И.С.

Ключевые слова: кожа, ультраструктура, крыса, опиоид.

Статья посвящена исследованию ультраструктуры кожи белой крысы в условиях воздействия опиоида. Целью исследования является определения особенностей ультраструктуры кожи крысы в условиях 6 – недельного воздействия налбуфина. В работе приведены новые данные об особенностях изменений ультраструктуры кожи и звеньев ее гемомикроциркуляторного русла через 2, 4 и 6 недель воздействия опиоида. Первые изменения ультраструктурной организации звеньев гемомикроциркуляторного русла кожи наблюдаются уже через 2 недели введения крысам налбуфина и нарастают в течение следующих сроков эксперимента. Введение налбуфина крысам в течение 6 недель приводит к развитию процессов, которые являются основой патологических изменений, характерных для склероза сосудов, циркуляторной гипоксии, нарушений в коагуляционной и фибринолитической системах, апоптоза. Работа является основой для дальнейших исследований как морфологов, так и дерматологов по разработке в перспективе новых методов диагностики, профилактики и лечения заболеваний кожи у наркозависимых и пациентов, которые вынуждены в течение длительного времени принимать опиоиды.

Summary

ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE SKIN OF RATS UNDER OPIOIDS EXPOSURE

Matshuk-Vatseba L.R., Diskovskiy I.S.

Keywords: skin, ultrastructure, rat, opioid.

This article investigates the ultrastructure of the skin of white rats under the opioid exposure. The aim of this study is to determine the characteristic of the ultrastructure of rat skin in a 6-week nalbuphine exposure. The paper presents new data on the characteristics of the skin and changes in the ultrastructure in the components of its hemomicrocirculatory bed in 2, 4 and 6 weeks of the opioid exposure. The first changes in the ultrastructural organization in the components of the skin hemomicrocirculatory bed were observed in 2 weeks since the administration of nalbuphine had been started, and grew over the next period of the experiment. The administration of nalbuphine for 6 weeks leads to the development of processes which are the basis of pathological changes typical for vascular sclerosis, circulatory hypoxia, disorders in the coagulation and fibrinolytic systems, apoptosis. This work is the foundation for further studies in morphology and dermatology to develop new methods of diagnosis, prevention and treatment of skin diseases in drug addicts and patients who have to take to opioids for a long period of time.