

Ранні морфологічні зміни колінного суглоба щурів після опіоїдного впливу

К. І. Войченко

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

Ключові слова:

аналгезуючі опіоїдні засоби, хрящ суглобовий, колінний суглоб, щур.

Патологія. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 386–389

DOI: 10.14739/2310-1237.2018.3.151871

E-mail: kostya_89@ukr.net

Мета роботи – вивчити ранні морфологічні зміни колінного суглоба щурів після експериментального опіоїдного впливу.

Матеріали та методи. Матеріал дослідження – статевозрілі беспородні щури-самці (n = 16) масою 80 г, віком 4,5 місяця. Тварин поділили на 2 групи: експериментальну і контрольну. Експериментальним щурам (n = 10) робили ін'єкції розчину налбуфіну гідрохлориду дигідрату в/м'язово, щоденно 1 раз на добу впродовж 7 діб; початкова доза препарату – 8 мг/кг. Так створювали умови хронічного опіоїдного впливу. Щури контрольної групи (n = 6) протягом 7 діб отримували ін'єкції фізіологічного розчину в/м'язово. Для гістологічного дослідження використали дистальний епіфіз стегнової та проксимальний епіфіз великогомілкової кісток щурів, враховуючи збереження топографічного співвідношення структурних компонентів колінного суглоба. Гістологічні препарати після декальцинації забарвлювали гематоксилином та еозином, азуром та азаном за Гейденгайном. Вимірювали товщину покривного синовіального шару суглобового хряща.

Результати. В експериментальних тварин після дії опіатів порушується архітектоніка суглобового хряща, відбувається потоншення покривного синовіального шару суглобового хряща. Визначена тенденція до зменшення кількості хондроцитів у зоні проліферації, а також до загального стоншення хряща.

Висновки. У ранньому періоді опіоїдного впливу у структурах колінного суглоба експериментальних щурів виникають зміни в синовіальному шарі та в зоні проліферації хондроцитів, які можуть бути передумовою наступних патологічних проявів опіоїдної хондропатії.

Ключевые слова:

аналгезирующие средства опиоидные, хрящ суставной, коленный сустав, крыса.

Патология. – 2018. – Т. 15, № 3(44). – С. 386–389

Ранние морфологические изменения сустава крыс после опиоидного влияния

К. И. Войченко

Цель работы – исследовать ранние морфологические изменения коленного сустава крыс после экспериментального опиоидного влияния.

Материалы и методы. Материал исследования – половозрелые беспородные крысы-самцы (n = 16) массой 80 г, в возрасте 4,5 месяца. Животных поделили на 2 группы: экспериментальную и контрольную. Экспериментальным животным (n = 10) проводили инъекции раствора налбуфина гидрохлорида дигидрата в/мышечно 1 раз в сутки в течение 7 дней; начальная доза – 8 мг/кг. Таким образом создали условия хронического опиоидного влияния. Крысы контрольной группы (n = 6) на протяжении 7 суток получали инъекции физиологического раствора в/мышечно. Для гистологического исследования использовали дистальный эпифиз бедренной и проксимальный эпифиз большеберцовой кости крыс, учитывая сохранение топографического соотношения структурных компонентов коленного сустава. Гистологические препараты после декальцинации окрашивали гематоксилином и еозином, азуром и азаном по Гейденгайну. Измеряли толщину покровного синовиального слоя суставного хряща.

Результаты. У экспериментальных животных после действия опиатов нарушается архитектура суставного хряща, происходит истончение покровного синовиального слоя суставного хряща, установлена тенденция к уменьшению количества хондроцитов в зоне пролиферации, а также к общему истончению хряща.

Выводы. В раннем периоде опиоидного влияния в структурах коленного сустава экспериментальных крыс возникают изменения в синовиальном слое и в зоне пролиферации хондроцитов, которые могут быть причиной последующих патологических проявлений опиоидной хондропатии.

Key words:

analgesics, cartilage articular, knee joint, rat.

Pathologia 2018; 15 (3), 386–389

Early morphological changes in the knee joint of rats after opioid exposure

K. I. Voitsenko

The objective is to study early morphological changes of rats' knee joint after experimental opioid exposure.

Materials and methods. Research material is mature, non-breeding male rats 4.5 months old (n = 16) with body weight 80 g. Animals were divided into 2 groups: experimental and control. The experimental group of rats (n = 10) got the injection of nalbuphine hydrochloride intramuscularly, one time per day during 7 days; initial dose – 8 mg/kg. The condition of chronic opioid exposure has been modeled. The rats of control group (n = 6) got the injection of physiological solution intramuscularly during 7 days. The distal epiphysis of rat thigh and proximal epiphysis of rat tibia taking into account the preservation of topographical correlation of the knee joint structural components have been used for histological analysis. Following decalcination, the histologic specimens have been stained with hematoxylin, eosin, azure and azan by Heidenhain. The thickness of the cover synovial layer of articular cartilage has been measured.

Results. The architectonics of articular cartilage distorts, the cover synovial layer of articular cartilage gets thinner due to experimental action of opiates. There is also tendency towards volume decrease of chondrocytes in proliferation zone and thickness loss of the cartilage.

Conclusions. At the early stage of opioid exposure the structure abnormality of laboratory rats' knee joint can be seen in the synovial layer and in the zone of chondrocytes proliferation. These research data can be a prerequisite for opioid chondropathy.

За даними сучасної статистики, патології кісткової, м'язової систем та ураження сполучної тканини становлять найпоширенішу групу серед дітей підліткового віку [1]. За останні роки велика кількість досліджень присвячена проблемі неконтрольованого вживання сильнодійних і психотропних препаратів медичного та сурогатного походження [2,3]. Є роботи, що присвячені вивченню впливу опіатів на морфологію внутрішніх органів і нервової системи: сітківку [4,5], мозочок [8,9], міокард [10], ободову кишку [11], мозолисте тіло [12]. Опубліковані дані, що свідчать про поширеність захворювань опорно-рухового апарату в осіб із залежністю від опіатів, які приймають наркотичні знеболювальні препарати. M. Ezzatabadipour et al. (2011) досліджували вплив морфіну на структурну організацію епіфізарного хряща статевозрілих щурів [13]. Нез'ясованим залишається питання щодо проявів токсичної хондропатії на основі опіоїдного впливу та появи, наростання дегенеративних змін структурних компонентів колінного суглоба. Детальне вивчення суглобових поверхонь колінного суглоба в експериментальному аспекті має велике теоретичне значення для встановлення закономірностей появи та наростання патоморфологічних проявів на тлі впливу опіатів.

Мета роботи

Вивчити ранні морфологічні зміни колінного суглоба щурів після експериментального опіоїдного впливу.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на 16 статевозрілих безпородних щурах-самцях масою 80 г, віком 4,5 міс. Тварин поділили на 2 групи: експериментальну і контрольну. Експериментальним щурам ($n = 10$) робили ін'єкції розчину налбуфіну гідрохлориду дигідрату в м'язово, щоденно 1 раз на добу в одному проміжку часу (10–11 година ранку) протягом 7 діб. Початкова доза препарату становила 8 мг/кг. Так створювали умови хронічного опіоїдного впливу [6]. Контрольна група ($n = 6$) протягом 7 діб отримувала ін'єкції фізіологічного розчину в м'язово в одному проміжку часу (10–11 година ранку).

Усі тварини перебували в умовах віварію. Робота, що стосувалася питань утримання, догляду, маркування, та всі інші маніпуляції виконали, дотримуючись положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [Страсбург, 1985], «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики [Київ, 2001]. Комісія з біоетики

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановила: наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно з наказом МОЗ України № 231 від 01.11.2000 р. (протокол № 10 від 26.12.2011 р.).

Для гістологічного дослідження використали дистальний епіфіз стегнової та проксимальний епіфіз великогомілкової кісток щурів, враховуючи збереження топографічного співвідношення структурних компонентів колінного суглоба. Гістологічні препарати після декальцинації забарвлювали гематоксиліном та еозином, азуром та азаном за Гейденгайном [7]. У зрізах вимірювали товщину покривного синовіального шару суглобового хряща. Дані опрацьовано методом варіаційної статистики.

Результати

У тварин контрольної групи в суглобовому хрящі дистального епіфіза стегнової кістки добре візуалізуються хондроцити всіх зон (рис. 1). У експериментальних щурів після завершення експерименту в порожнині суглоба визначили обривки тканин. Привертає увагу порушення стовпчастої структури суглобового хряща щурів експериментальної групи. На відміну від контрольних щурів, в експериментальних тварин чітку межу між морфофункціональними зонами суглобового хряща не визначили. Хондроцити розподілені нерівномірно. Суглобовий хрящ набуває мозаїчної структури, цитоплазма більшості хондроцитів усіх морфофункціональних зон вакуолізована. У суглобовому хрящі експериментальних тварин виявили ділянки розволокнення покривного синовіального шару суглобового хряща з утворенням на його поверхні неоднорідних заглиблень, які розташовані переважно на периферії суглобової поверхні (рис. 2). Визначили його потоншення порівняно з контрольними тваринами ($12,33 \pm 0,26$ мкм і $16,94 \pm 0,45$ мкм відповідно). Базальна пластинка тонка, переривчаста. Виявлені ділянки руйнування основної речовини покривного синовіального шару суглобового хряща. Спостерігали демаскування колагенових волокон поверхневої зони, внаслідок чого фіксують ділянки розволокнення міжтериторіального матриксу. На відміну від контрольних тварин, у перехідній зоні суглобової капсули експериментальних щурів визначили неупорядковане розташування волокон, котрі вплітаються в кісткову тканину.

В епіфізарному хрящі експериментальних тварин визначили тенденцію до зменшення кількості хондроцитів у зоні проліферації, а також до загального стоншення хряща.

В експериментальних щурів порушується архітектоніка перехідної частини суглобової капсули, що

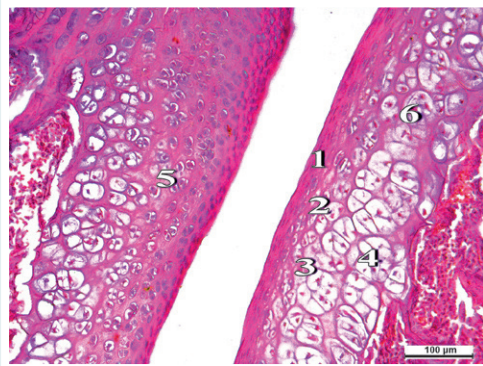


Рис. 1. Порожнина колінного суглоба щура в нормі.
1: поверхнева пластинка суглобового хряща; 2: хондроцити поверхневої зони; 3: хондроцити перехідної зони; 4: хондроцити глибокої зони; 5: суглобовий хрящ наколінника; 6: суглобовий хрящ дистального епіфіза стегнової кістки. Забарвлення гематоксиліном та еозинном. Зб.: $\times 200$.

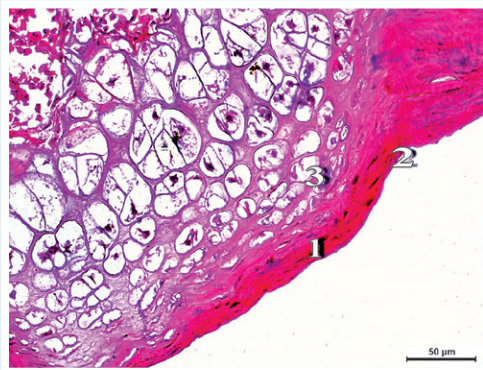


Рис. 2. Суглобовий хрящ дистального епіфіза стегнової кістки щура на 7 добу опіоїдного впливу. Забарвлення гематоксиліном та еозинном. Зб.: $\times 400$.

проявляється потовщенням, звитістю волокон, які влітають в матрикс хряща, деформують його. Визначили збільшення розмірів венозних і лімфатичних судин, поступове потовщення та лімфоцитарну інфільтрацію їхньої стінки. Синовіальний шар суглобової капсули набряклий, виявили осередки лімфоцитарної інфільтрації та сформовані лімфоїдні вузлики. Спостерігали збільшення шаруватості покривного шару синовіального шару та зрощення його з суглобовим хрящем.

Обговорення

Публікації останніх років свідчать про неоднозначність впливу препаратів опіоїдної групи на клітинному, тканинному та органному рівнях [8–12]. Але серед джерел вітчизняної та зарубіжної фахової літератури майже не виявили робіт, що висвітлюють вплив препаратів опіоїдної групи на структурну дестабілізацію клітинних шарів хрящового покриття колінного суглоба. Встановлено, що в експериментальних щурів визначається порушення цілісності покривного синовіального шару суглобового хряща. Це призводить до деструкції матриксу й базальної пластинки покривного синовіального шару, що, своєю чергою, відкриває доступ синовіальній рідині до хондроцитів суглобового хряща. Спостерігали розволокнення та стоншення покривного синовіального шару суглобового хряща, його інфільтрація лімфоцитами. Потовщення стінки венозних і лімфатичних судин суглобової капсули призводить до розвитку тканинної гіпоксії капсули, її набряку внаслідок порушення відтоку. Збільшення рівня гіпоксії призводить до активації ендотеліального судинного фактора росту, що ще більше посилює

процес деструкції [14]. Отримані дані щодо морфологічних змін тканин колінного суглоба на тлі тривалого впливу опіатів збігаються з результатами, які отримали під час вивчення реактивності колінного суглоба при експериментальному остеоартрозі [15]. Структурні зміни епіфізарного хряща експериментальних тварин відповідають даним, що отримані М. Ezzatabadipour et al. (2011), який описував потоншення епіфізарного хряща статевозрілих щурів після тривалого введення морфіну [13]. В результаті опіоїдного впливу виникали деструктивно-дегенеративні зміни суглобового хряща, що супроводжувались появою узур і початком формування фіброзного паннуса. Морфологічні зміни структур колінного суглоба, ймовірно, пов'язані зі зменшенням рівня тестостерону [13]. Описано, що в хондроцитах і синовіоцитах відбувається експресія рецепторів до опіатів [16], що може обґрунтувати можливість прямого токсичного впливу опіатів на суглобовий хрящ.

Отже, патоморфологічні зміни у тканинах різних органів при впливі опіоїдного анальгетика, як відзначено в результатах названих досліджень, мають мозаїчні прояви різної інтенсивності. Саме це зумовило актуальність здійснення експериментального дослідження патоморфологічних проявів опіоїдного впливу на порушення стратифікації клітинних елементів у шарах хрящового покриття колінного суглоба.

Висновки

1. Встановлено, що в експериментальних тварин після дії опіатів порушується архітектоніка суглобового хряща, відбувається потоншення покривного синовіального шару суглобового хряща порівняно з контрольними тваринами ($12,33 \pm 0,26$ мкм та $16,94 \pm 0,45$ мкм відповідно).

2. В епіфізарному хрящі експериментальних тварин спостерігали тенденцію до зменшення кількості хондроцитів у зоні проліферації, а також до загального стоншення хряща.

Перспективи подальших досліджень. Встановлені морфологічні зміни колінного суглоба після експериментального опіоїдного впливу можуть бути морфологічним підґрунтям для вивчення надалі проявів опіоїдної хондропатії в динаміці перебігу експериментальної опіоїдної інтоксикації.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.

Відомості про автора:

Войценко К. І., аспірант каф. нормальної анатомії, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна.

Сведения об авторе:

Войценко К. И., аспирант каф. нормальной анатомии, Львовский медицинский университет имени Даниила Галицкого, Украина.

Information about author:

Voitsenko K. I., Postgraduate Student of the Department of Normal Anatomy, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine.

Надійшла до редакції / Received: 26.09.2018

Після доопрацювання / Revised: 11.10.2018

Прийнято до друку / Accepted: 31.10.2018

Список літератури

- [1] Дудіна О.О. Ситуаційний аналіз стану здоров'я дитячого населення / О.О. Дудіна, А.В. Терещенков // Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України. – 2014. – №2. – С. 49–57.
- [2] Роль серцево-судинної системи в танатогенезі у опійних наркоманов другої стадії / А.П. Адрашкин, И.В. Саломатин, Б.Ф. Мурашов и др. – М., 2003. – С. 18.
- [3] Раецька Л.В. Тенденції поширення наркоманії в Україні / Л.В. Раецька // Боротьба з організованою злочинністю і корупцією (теорія і практика). – 2008. – №18. – С. 67–76.
- [4] Dynamics of the onset of pathological changes in the retinal layers at the end of the first week of opioid exposure / Y. Paltov, Y. Kryvko, V. Fik, et al. // Deutscher Wissenschaftsherald. German Science Herald. – 2016. – №2. – P. 30–33.
- [5] Pathomorphological manifestations in the retina layers during one – week of opioid analgesic exposure / Y. Paltov, Y. Kryvko, V. Fik, et al. // Natural Science Readings abstracts booc (May 19 – 22, 2016, Bratislava). – Bratislava, 2016. – P. 25–27.
- [6] Декларативний патент України на винахід №76564 2013 / Р. Онисько, С. Пальтов, В. Фік та ін.
- [7] Ромейс Б. Микроскопическая техника / Б. Ромейс. – М.: Медицина, 1953. – С. 71–72.
- [8] Бекесевич А.М. Особливості структурної організації ланок гемомікроциркуляторного русла кори мозочка щура за умов 2- та 4-тижневого введення опію / А.М. Бекесевич // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2016. – Т. 15. – №1. – С. 24–27.
- [9] Макар Б.Г. Морфологічні особливості мозочка білого щура в нормі та за умов двотижневого введення опію / Б.Г. Макар, А.М. Бекесевич // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». – 2015. – Вип. 2(52). – С. 20–23.
- [10] Особливості будови міокарду та його судинного русла у білих щурів на ранніх термінах (7 – 14 доби) перебігу експериментальної опіоїдної інтоксикації / П.Б. Покотило, М.В. Логаш, В.Ю. Покотило, Ю.Я. Кривко // Галицький лікарський вісник. – 2015. – Т. 22. – №3(2). – С. 50–53.
- [11] Кривко Ю.Я. Мікроструктурні зміни стінок ободової кишки за умов тривалого впливу опію в експерименті / Ю.Я. Кривко, Н.І. Гресько // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2017. – Т. 16. – №1. – С. 111–114.
- [12] Зінько А.В. Мікроструктурна організація мозолистого тіла кінцевого мозку за умов впливу опію в експерименті / А.В. Зінько, Г.Я. Костюк // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Вип. 2. – Т. 2(129). – С. 117–120.
- [13] The Effects of Morphine on Tissue Structure of the Growth Plate in Male Rats / M. Ezzatabadipour, M. Majidi, R. Malekpour-afshar, et al. // Iran J Basic Med Sci. – 2011. – Vol. 14. – Issue 6. – P. 514–520.
- [14] Zelzer E. VEGFA is necessary for chondrocyte survival during bone development / E. Zelzer, R. Mamluk, N. Ferrara // Development. – 2004. – Vol. 131. – Issue 9. – P. 2161–2171.
- [15] Григорьева Е.А. Лектингистохимические особенности суставного хряща крыс с моделированным остеоартрозом / Е.А. Григорьева, Н.А. волошин // Украинський морфологічний альманах. – 2010. – Т. 8. – №2. – С. 40–43.
- [16] Böhm M. Role of Proopiomelanocortin-Derived Peptides and Their Receptors in the Osteoarticular System: From Basic to Translational Research / M. Böhm, S. Grässel // Endocr Rev. – 2012. – Vol. 33. – Issue 4. – P. 623–651.

References

- [1] Dudina, O. O., & Tereshchenko, A. V. (2014) Sytuatsiyni analiz stanu zdorovia dytyachoho naselennia [Situational analysis of children's population health state]. *Visnyk sotsialnoi hihieny ta orhanizatsii okhorony zdorovia Ukrainy*, 2, 49–57. [in Ukrainian].
- [2] Adrashkin, A. P., Salomatina, I. V., Murashov, B. F., et al. (2003) *Rol' serdechno-sosudistoy sistemy v tanatogeneze u opijnykh narkomanov vtoroy stadii [The role of the cardiovascular system in the ontogenesis of opiate addicts of the second stage]*. Moscow. [in Russian].
- [3] Raietska, L. V. (2008) Tendentsii poshyrennia narkomanii v Ukraini [Trends in the spread of drug addiction in Ukraine]. *Borotba z orhanizovanoiu zlochynnistiu i koruptsiieiu (teoriia i praktyka)*, 18, 67–76. [in Ukrainian].
- [4] Paltov, Y. V., Kryvko, Y. Y., Fik, V. B., Vilkhova, I. V., Ivasivka, K. P., Pankiv, M. V., & Voitsenko, K. I. (2016) Dynamics of the onset of pathological changes in the retina layers at the end of the first week of opioid exposure. *Deutscher Wissenschaftsherald. German Science Herald*, 2, 30–33.

- [5] Paltov, Y., Kryvko, Y., Fik, V., Vilkhova, I., Ivasivka, K., Pankiv, M., & Voitsenko, K. (2016) Pathomorphological manifestation in the retina layers during one – week of opioid analgesic exposure. *Natural Science Readings abstracts booc*, (P. 25–27). Bratislava.
- [6] Onysko, R., Paltov, Y., Fik, V., Vilkhova, I., Kryvko, Y., Yakimiv, N., & Fitkalo, O. Deklaratsiyni patent Ukrainy na vynakhid №76564 2013. [in Ukrainian].
- [7] Romejs, B. (1953) *Mikroskopicheskaya tekhnika [Microscopic technique]*. Moscow: Medicina. [in Russian].
- [8] Bekesevych, A. M. (2016) Osoblyvosti strukturnoi orhanizatsii lanoк hemomikrotsyrkulatornoho rusla kory mozochka shchura za umov 2- ta 4-tyzhnevoho vvedennia opioidu [Structural organization features of hemomicrocirculation links in the cerebellar cortex of rats under conditions of 2- and 4-week injection of opioids]. *Klinichna anatomia ta operatyvna khirurgiia*, 15(1), 24–27. [in Ukrainian].
- [9] Makar, B. H., & Bekesevych, A. M. (2015) Morfolohichni osoblyvosti mozochka biloho shchura v normi ta za umov dvoityzhnevoho vvedennia opioidu [Morphological features of the white rat's cerebellum in norm and under the influence of opioid during 2 weeks]. *Naukovyi visnyk Uzhhorodskoho universytetu. Seria «Medytsyna»*, 2(52), 20–23. [in Ukrainian].
- [10] Pokotylo, P. B., Logash, M. V., Pokotylo, V. Yu., & Kryvko, Y. Ya. (2015) Osoblyvosti budovy miokardu ta yoho sudynnoho rusla u bilykh shchuriv na rannikh terminakh (7 – 14 doby) perebihu eksperymentalnoi opioidnoi intoksykatsii [Features of the Structure of the Myocardium and its Vascular Bed in Albino Rats within the Early Period (7–14 Days) of Experimental Opioid Intoxication]. *Halytskyi likarskyi visnyk*, 22, 3(2), 50–53. [in Ukrainian].
- [11] Kryvko, Yu. Ya., & Hresko, N. I. (2017) Mikrostrukturni zminy stinok obodovoi kysky za umov tryvaloho vplyvu opioidu v eksperymentі [Microstructural changes of the colon wall under prolonged opioids exposure in experiment]. *Klinichna anatomia ta operatyvna khirurgiia*, 16(1), 111–114. [in Ukrainian]. doi: 10.24061/1727-0847.16.1.2017.24.
- [12] Zinko, A. V., & Kostyuk, G. Y. (2016) Mikrostrukturna orhanizatsiia mozolystoho tila kintsevoho mozku za umov vplyvu opioidu v eksperymentі [Microstructural organization of the corpus callosum of the forebrain under the influence of opioid in experiment]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, 2, 2(129), 117–120. [in Ukrainian].
- [13] Ezzatabadipour, M., Majidi, M., Malekpour-afshar, R., Eftekhari-vaghefi, S. H., & Nematollahi-mahani, S. N. (2011) The Effects of Morphine on Tissue Structure of the Growth Plate in Male Rats. *Iran J Basic Med Sci.*, 14(6), 514–520. doi: 10.22038/IJBMS.2011.5050.
- [14] Zelzer, E., Mamluk, R., Ferrara, N., Johnson, R. S., Schipani, E., & Olsen, B. R. (2004) VEGFA is necessary for chondrocyte survival during bone development. *Development*, 131(9), 2161–2171. doi: 10.1242/dev.01053.
- [15] Grygoryeva, E. A., & Voloshyn, M. A. (2010) Lektynghistokhimicheskie osobennosti sustavnogo hryashha krysa s modelirovannym osteoartrozom [Lectinohistochemical peculiarities of osteoarthrosis articular cartilage in rats]. *Ukrainskyi morfologichnyi almanakh*, 8(2), 40–43. [in Russian].
- [16] Böhm, M., & Grässel S. (2012) Role of Proopiomelanocortin-Derived Peptides and Their Receptors in the Osteoarticular System: From Basic to Translational Research. *Endocr Rev*, 33(4), 623–651. doi: 10.1210/er.2011-1016.