

Л.Р. Матешук-Вацеба
І.І. Гірняк




Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
Львів, Україна

Надійшла: 22.07.2020
Прийнята: 12.09.2020

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.59-64>

УДК: 611.367-018.1:615.212.7]-08

МІКРО- ТА УЛЬТРАСТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ СТІНКИ СПЛЬНОЇ ЖОВЧНОЇ ПРОТОКИ ЗА УМОВ ЧОТИРИТИЖНЕВОГО ВПЛИВУ ОПОЇДУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Mateshuk-Vatseba L.R.  , Hirniak I.I.  Micro- and ultrastructural organization of the common bile duct wall during four-week opioid effect in the experiment.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. The widespread use of narcotic agents in clinical practice to obtain analgesic and anti-inflammatory effects requires a comprehensive morphological study of the structural organization of organs during the effect of opioids. Despite the urgency of the problem, only a few works have been devoted to the effect of opioids on the morphological state of the bile ducts. **Objective:** to establish the features of changes in the micro- and ultrastructural organization of the common bile duct during the four-week opioid administration in the experiment. **Methods.** We used histological, electron microscopic, morphometric, and statistical methods. A computer program ImageJ was used to measure the diameter of the lumen and thickness of the common bile duct wall. **Results.** After 4 weeks of nalbuphine administration, the common bile duct of experimental animals is dilated, its wall is disorganized, the layer of epitheliocytes (cholangiocytes) of the duct mucous membrane is deformed, often without clear contours. The cytoplasm of cholangiocytes is enlightened, mitochondria have the damaged crystals, a granular endoplasmic reticulum is destructured, the nuclei of epithelial cells lost their characteristic columnar shape, became rounded, contained condensed chromatin along the nuclear membrane, found nuclei in a state of apoptosis and karyopyknosis. Own plate of the mucous membrane in the common bile duct is fluffy and swollen, the glands are destructured and shifted in the direction of the epithelial layer. The bundles of smooth myocytes of the muscular membrane are stratified and separated by wide layers of connective tissue. Mitochondria of myocytes are swollen, cristae of many mitochondria are homogenized; in most of myocytes, there are revealed the unstructured sites of cytoplasm in a condition of small vacuole dystrophy. The arterioles of the common bile duct wall are dilated, their wall is thickened; in lumens, there was a formation of wall thrombi, the venules are expanded, the walls of venules are thinned. **Conclusion.** Four-week administration of the Nalbuphine opioid leads to profound changes in the micro- and ultrastructure of the common bile duct wall in experimental white rats. There is the dilatation of the common bile duct, thickening of its wall, the signs of exudative-proliferative inflammatory process predominate in the mucous membrane, there are developed the vacuolar dystrophy of myocytes in the muscular membrane of the common bile duct and fibro-sclerotic changes in the connective tissue layers.

Key words: common bile duct, microstructure, ultrastructure, opioid, experiment.

Citation:

Mateshuk-Vatseba LR, Hirniak II. [Micro- and ultrastructural organization of the common bile duct wall during four-week opioid effect in the experiment]. *Morphologia*. 2020;14(3):59-64. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.59-64>

 Lesya Mateshuk-Vatseba 0000-0002-3466-5276

 Ihor Hirniak 0000-0002-6810-1460

 lvatseba@gmail.com

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Вступ

Дослідження особливостей внутрішньо- та позапечінкових жовчних проток за умов фізіологічної норми та при різних патологічних станах є надзвичайно актуальним для сучасної медичної науки, про що свідчить наявність великої кількості наукової фахової літератури, присвяченої морфології жовчних проток [1-6]. Пошкодження

епітелію слизової оболонки жовчних проток призводить до важких структурних змін печінки, обумовлюючи високу смертність [7]. Холангіоцити становлять лише 3-5% від загальної кількості клітин печінки, але мають унікальну морфологію [8, 9]. Широке використання наркотичних середників у клінічній практиці з метою отримання знеболювального та протизапального ефе-

ктів вимагає комплексного морфологічного дослідження особливостей структурної організації органів за умов впливу опіоїдів [10-12]. Можна передбачити негативну дію опіоїдів на морфологічний стан жовчних проток. Описано швидко прогресуюче руйнування внутрішньопечінкових жовчних проток, пов'язане із застосуванням наркотичних середників [13], вплив опіоїду кетаміну на жовчні шляхи [14]. Серед не обструктивних етіологій дилатації спільної жовчної протоки переважає споживання опіоїдів [15]. Опіоїди можуть викликати підвищення основного тиску і частоти фазових скорочень сфінктера Одді, що призводить до розширення жовчних проток. Проте наведені у фаховій літературі результати досліджень, присвячених особливостям мікро- та ультраструктури спільної жовчної протоки за умов застосування опіоїдів, вимагають доповнення, часто суперечливі [16].

Мета дослідження – встановити особливості змін мікро- та ультраструктурної організації спільної жовчної протоки за умов чотири тижневого введення опіоїду «Налбуфін» в експерименті.

Матеріали та методи

Матеріалом дослідження слугували гістологічні та ультрамікроскопічні зрізи стінки спільної жовчної протоки 20 статевозрілих білих щурів-самців, віком 3,5-5,0 місяців і масою тіла 180-200 г.

Для гістологічного дослідження зрізи фарбували гематоксиліном і еозином. Препарати вивчали та фотографували при збільшеннях мікроскопа: $\times 400$, $\times 1000$. Для фотографування мікропрепаратів використовували комп'ютерну систему «Aver Media». Для вимірювання діаметра просвіту та товщини стінки спільної жовчної протоки застосовували комп'ютерну програму ImageJ. Для статистичного опрацювання отриманих цифрових даних використовували програмне забезпечення «Excel» та «STATISTICA» 6.0.

При виконанні роботи використовувався також метод електронної мікроскопії. Ультратонкі зрізи спільної жовчної протоки готували на ультрамікромомі УЖТП-3 за допомогою скляних ножів. Для дослідження відбирали стрічки зрізів сріблястого або ніжно-цитринового кольору. Зрізи контрастували спочатку у 2% розчині ураніацетату, а потім – цитрату свинцю. Вивчення і фотографування матеріалу проводили з допомогою мікроскопа УЕМВ-100 К при напрузі прискорення 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопа 4000-8000 \times .

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. Контролем слугували 10 білих щурів, яким вводили 0,9 % розчин хлориду натрію.

Усіх тварин утримували в умовах віварію

Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, експерименти проведені у відповідності з принципом біоетики, що викладені в Декларації Хельсінкі, положенні Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиві Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986р.) та Законі України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009).

Результати та їх обговорення

Через 4 тижні введення налбуфіну стінка спільної жовчної протоки експериментальних тварин дезорганізована, пласт епітеліоцитів (холангіоцитів) слизової оболонки протоки деформований, часто без чітких контурів, подекуди перервний, спостерігали випини епітелію, проліферацію холангіоцитів, а в деяких місцях – злушення холангіоцитів у просвіт спільної жовчної протоки, ядра епітеліальних клітин набрякли, втрачали характерну для них колоноподібну форму, ставали округлими (рис. 1).

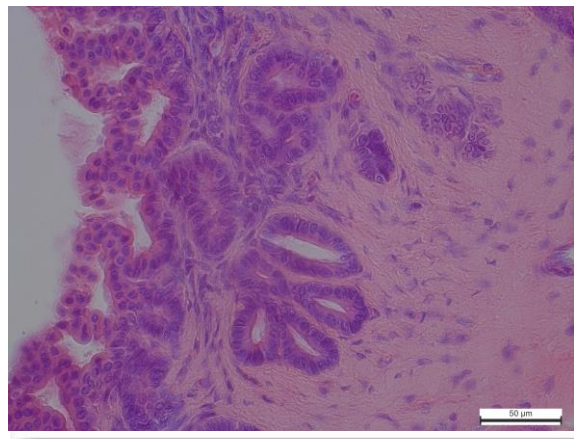


Рис. 1. Фрагмент спільної жовчної протоки білого щура через 4 тижні впливу налбуфіну. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. $\times 400$.

Власна пластинка слизової оболонки спільної жовчної протоки набрякла, розпушена, подекуди розшарована, залози деструктуровані, зміщені в напрямку епітеліального пласту, у просвітах деяких залоз – застій секрету. Пучки гладких м'язових волокон розшаровані, розділені широкими прошарками сполучної тканини, частково втратили спіральну організацію (рис. 2). Сполучна тканина адвентиційної оболонки в стані набряку, артеріоли дилатовані, їхня стінка потовщена, в просвітах відбувалося формування пристінкових тромбів, капіляри гіперемійовані, стінка багатьох капілярів ушкоджена, виявляли діapedезні крововиливи, венули розширені, стінки венул стоншені. У просвіті спільної жовчної протоки формувалися жовчні корки, відбувалася адгезія їх до апікальної поверхні холангіоцитів, як це видно на рис. 2.

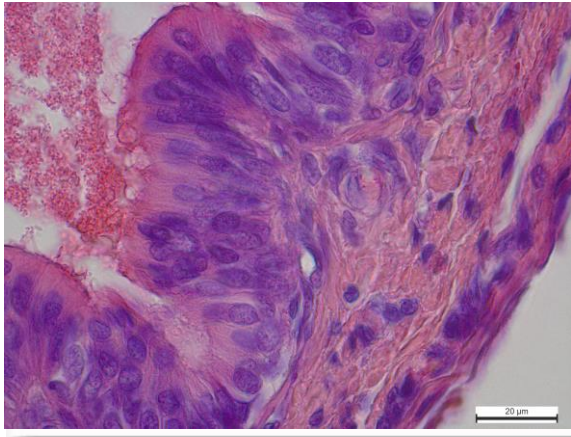


Рис. 2. Фрагмент спільної жовчної протоки білого щура через 4 тижні впливу налбуфіну. Забарвлення гематоксилином і еозином. Мікрофотографія. $\times 1000$.

Морфометричний аналіз показав виразну дилатацію спільної жовчної протоки, поздовжній діаметр просвіту протоки зростав до $462,98 \pm 24,15$ мкм (контроль – $126,97 \pm 3,19$ мкм, $p < 0,05$), поперечний діаметр – до $275,57 \pm 18,34$ мкм (контроль – $72,79 \pm 13,52$ мкм, $p < 0,05$). Товщина стінки спільної жовчної протоки достовірно збільшувалася і становила $217,29 \pm 18,09$ мкм (контроль – $144,77 \pm 3,91$ мкм, $p < 0,05$).

При електронномікроскопічному дослідженні стінки спільної жовчної протоки білих щурів через 4 тижні введення налбуфіну була порушена структура холангіоцитів, їхні контури змінювалися, клітини переважно набували округлої форми, цитоплазма просвітлена внаслідок набряку, виявляли вакуолі та злиття піноцитозних пухирців, мітохондрії набрякли з пошкодженими кристами, зерниста ендоплазматична сітка деструктурована, одні ядра містили конденсований хроматин, розміщений по краях ядра, інші ядра просвітлені, ядерце зміщене до краю ядра, ядерна оболонка з глибокими інвагінаціями, виявляли ядра в стані апоптозу та каріопікнозу (рис. 3, 4).

Мікроворсинки апікального полюсу клітин вкорочені, деякі зруйновані, відшаровані у просвіт протоки, везикули набрякли, часто зливалися між собою, формуючи мікрокісти, спостерігали розпушення, набряк, розволокнення базальної мембрани, руйнування міжклітинних контактів.

Сполучна тканина власної пластинки слизової оболонки спільної жовчної протоки дезорганізована (рис. 5).

М'язова оболонка теж дезорганізована. Ядра більшості гладких міоцитів набували неправильної форми, а їхній хроматин представлений, в основному, гетерохроматином, що концентрувався по периферії (рис. 6).

Перинуклеарний та перичелюлярний просвіти розширені, мітохондрії набрякли, кристи більшості мітохондрій гомогенізовані. В більшо-

сті міоцитів виявлено безструктурні ділянки цитоплазми.

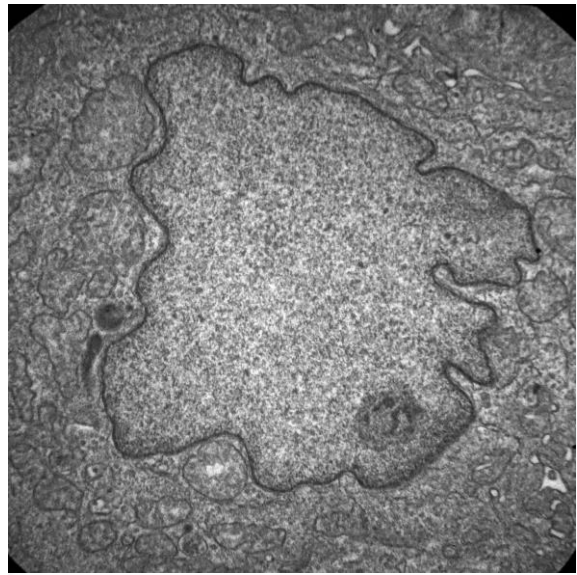


Рис. 3. Холангіоцит слизової оболонки спільної жовчної протоки білого щура через 4 тижні впливу налбуфіну. Електронна мікрофотографія. $\times 8000$.

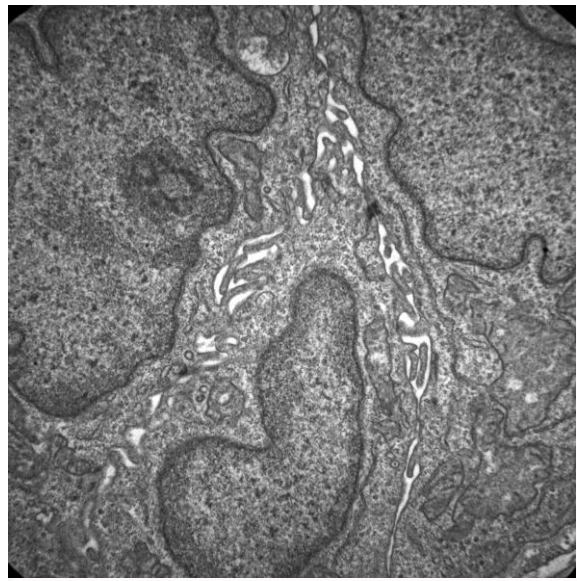


Рис. 4. Фрагмент епітеліального пласту слизової оболонки спільної жовчної протоки білого щура через 4 тижні впливу налбуфіну. Електронна мікрофотографія. $\times 4000$.

Через 4 тижні введення налбуфіну в гемокapілярах стінки спільної жовчної протоки експериментальних тварин виявляли значні зміни – їхня стінка потовщувалася, ендотеліоцити набрякали, у їхній цитоплазмі містилися численні мітохондрії і вільні рибосоми. Ядерна частина цитоплазми випинала у просвіт гемокapіляра. Грудочки хроматину в ядрах ендотеліоцитів розміщені на периферії ядра.

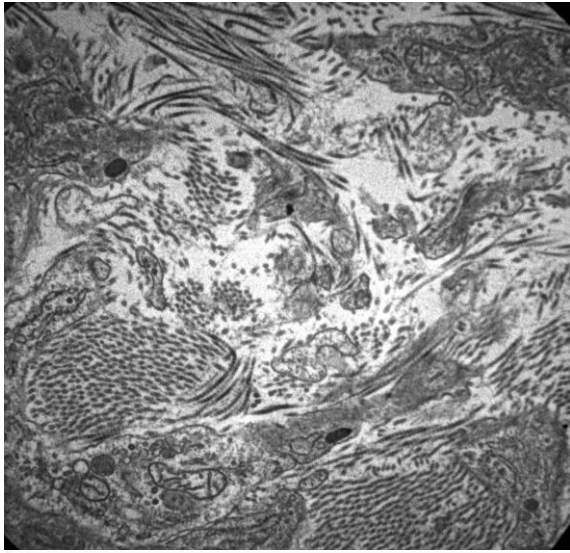


Рис. 5. Власна пластинка слизової оболонки спільної жовчної протоки білого щура через 4 тижні впливу налбуфіну. Електронна мікрофотографія. $\times 8000$.

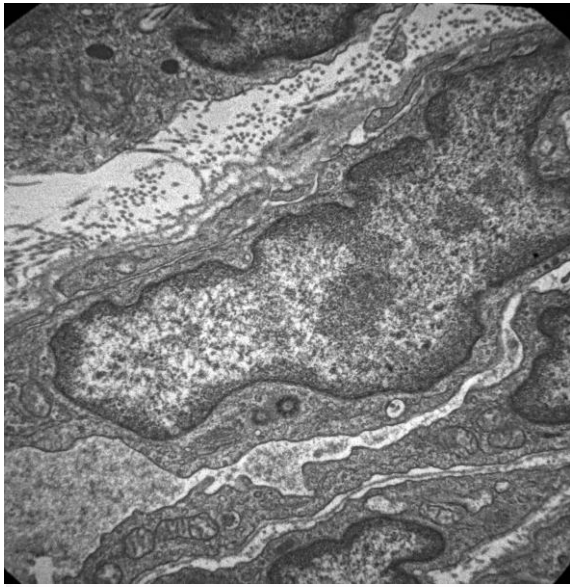


Рис. 6. Фрагмент м'язової оболонки спільної жовчної протоки білого щура через 4 тижні впливу налбуфіну. Електронна мікрофотографія. $\times 4000$.

Апікальна плазмолема у деяких місцях випиналася в просвіт судини та утворювала мікроросинки. Ендоплазматична гранулярна ендоплазматична сітка фрагментована, комплекс Гольджі містив розширені пухирці, які перетворювалися часто на мікрокісти, у мітохондрій – розріджений матрикс та поодинокі кристи.

У контрольних білих щурів у цей термін експерименту мікро- та ультраструктурна організація стінки спільної жовчної протоки збережена.

Підсумок

Таким чином, було встановлено, що чотири-тижневє введення опіюїду «Налбуфін» призводить до глибоких змін мікро- та ультраструктури стінки спільної жовчної протоки експериментальних білих щурів. Морфометричний аналіз показав виразну дилатацію спільної жовчної протоки, а також потовщення її стінки у 1,5 рази. Останнє підтверджує переважання ознак ексудативно-проліферативного запального процесу в слизовій оболонці спільної жовчної протоки після тривалого впливу опіюїду. У м'язовій оболонці спільної жовчної протоки розвивалася вакуольна дистрофія міоцитів та фіброзно-склеротичні зміни у сполучнотканинних прошарках.

Перспективи подальших розробок

Дані проведеного дослідження можуть бути використані у практичній медицині при діагностиці та лікуванні патологічних станів спільної жовчної протоки, зумовлених тривалим застосуванням опіюїдів.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науководослідної роботи «Структурна організація, ангіоархітектоніка та антропометричні особливості органів у внутрішньо- та позаутробному періодах розвитку, за умов впливу екзо- та ендогенних факторів» (номер державної реєстрації 0115U000041).

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Літературні джерела

References

1. Cordi S, Godard C, Saandi T, Jacquemin P, Monga SP, Colnot S, Lemaigre FP. Role of β -catenin in development of bile ducts. *Differentiation*. 2016;91(1-3):42-49. doi:10.1016/j.diff.2016.02.001.
2. Fan X, He L, Khadaroo PA, Zhou D, Lin H. Duplication of the extrahepatic bile duct: A case report and review of the literatures. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(8):e9953. doi:10.1097/MD.0000000000009953.
3. Giusto M, Barberi L, Di Sario F, Rizzuto E, Nicoletti C, Ascenzi F, Renzi A, et al. Skeletal muscle myopenia in mice model of bile duct ligation and carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis. *Physiol Rep*. 2017;5(7):e13153. doi:10.14814/phy2.13153.
4. Mercado MA, Vilatoba M, Contreras A, Leal-Leyte P, Cervantes-Alvarez E, Arriola JC, Gonzalez BA. Iatrogenic bile duct injury with loss of

confluence. *World J Gastrointest Surg.* 2015;7(10):254-260. doi:10.4240/wjgs.v7.i10.254.

5. Sarawagi R, Sundar S, Raghuvanshi S, Gupta SK, Jayaraman G. Common and Uncommon Anatomical Variants of Intrahepatic Bile Ducts in Magnetic Resonance Cholangiopancreatography and its Clinical Implication. *Pol J Radiol.* 2016;81:250-255. doi:10.12659/PJR.895827.

6. Sheen JM, Chen YC, Tain YL, Huang LT. Increased Circulatory Asymmetric Dimethylarginine and Multiple Organ Failure: Bile Duct Ligation in Rat as a Model. *Int J Mol Sci.* 2014;15(3):3989-4006. doi:10.3390/ijms15033989.

7. Hatano R, Akiyama K, Tamura A, Hosogi S, Marunaka Y, Caplan MJ, Ueno Y, et al. Knockdown of Ezrin Causes Intrahepatic Cholestasis by the Dysregulation of Bile Fluidity in the Bile Duct Epithelium in Mice. *Hepatology.* 2015;61(5):1660-1671. doi:10.1002/hep.27565.

8. Cheung AC, Pisarello MJ, LaRusso NF. Pathobiology of biliary epithelia. *Biochim Biophys Acta.* 2018;1864(4 Pt B):1220-1231. doi:10.1016/j.bbadis.2017.06.024.

9. Guerrier M, Attili F, Alpini G, Glaser S. Prolonged administration of secretin to normal rats increases biliary proliferation and secretin-induced ductal secretory activity. *Hepatobiliary Surg Nutr.* 2014;3(3):118-125. doi:10.3978/j.issn.2304-3881.2014.04.04.

10. Dai J, Wu XF, Yang C, Li HJ, Chen YL, Liu GZ, Song YZ, et al. Study of Relationship

Between the Blood Supply of the Extrahepatic Bile Duct and Duct Supply Branches from Gastrointestinal Artery on Imaging and Anatomy. *Chin Med J (Engl)* 2015;128(3):322-326. doi:10.4103/0366-6999.150097.

11. Soleimanpour H, Safari S, Shahsavari Nia K, Sanaie S, Alavian SM. Opioid Drugs in Patients With Liver Disease: A Systematic Review. *Hepat Mon.* 2016;16(4):e32636. doi:10.5812/hepatmon.32636.

12. Voronkov M. Administration of nalbuphine to heroin addicts. Feasibility and short-term effects. *Heroin Addict Relat Clin Probl.* 2008;10(1):19-24.

13. Kim HY, Yang HK, Kim SH, Park JH. Ibuprofen Associated Acute Vanishing Bile Duct Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis in an Infant. *Yonsei Med J.* 2014;55(3):834-837. doi:10.3349/ymj.2014.55.3.834.

14. Al-Nowfal A, Al-Abed YA. Chronic biliary colic associated with ketamine abuse. *Int Med Case Rep J.* 2016;9:135-137. doi:10.2147/IMCRJ.S100648.

15. DeAngelis C, Marietti M, Bruno M, Pellicano R, Rizzetto M. Endoscopic ultrasound in common bile duct dilatation with normal liver enzymes. *World J Gastrointest Endosc.* 2015 Jul 10;7(8):799-805. doi:10.4253/wjge.v7.i8.799.

16. Sundaram V, Björnsson ES. Drug-induced cholestasis. *Hepatol Commun.* 2017;1(8):726-735. doi:10.1002/hep4.1088.

Матешук-Вацеба Л.Р., Гірняк І.І. Мікро- та ультраструктурна організація стінки спільної жовчної протоки за умов чотиритижневого впливу опіюду в експерименті.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Широке використання наркотичних середників у клінічній практиці з метою отримання знеболювального та протизапального ефектів вимагає комплексного морфологічного дослідження особливостей структурної організації органів за умов впливу опіюдів. Незважаючи на актуальність проблеми, дії опіюдів на морфологічний стан жовчних проток присвячені лише поодинокі праці. **Мета:** встановити особливості змін мікро- та ультраструктурної організації спільної жовчної протоки за умов чотиритижневого введення опіюду в експерименті. **Методи.** Застосували гістологічний, електронномікроскопічний, морфометричний та статистичний методами дослідження. Для вимірювання діаметра просвіту та товщини стінки спільної жовчної протоки використали комп'ютерну програму ImageJ. **Результати.** Через 4 тижні введення налбуфіну спільна жовчна протока експериментальних тварин дилатована, стінка її дезорганізована, пласт епітеліоцитів (холангіоцитів) слизової оболонки протоки деформований, часто без чітких контурів. Цитоплазма холангіоцитів просвітлена, мітохондрії з пошкодженими кристами, зерниста ендоплазматична сітка деструктурована, ядра епітеліальних клітин втрачали характерну для них колоноподібну форму, ставали округлими, містили конденсований хроматин вздовж ядерної оболонки, виявляли ядра в стані апоптозу та каріопікнозу. Власна пластинка слизової оболонки спільної жовчної протоки, розпушена, в стані набряку, залози деструктуровані, зміщені в напрямку епітеліального пласту. Пучки гладких міоцитів м'язової оболонки розшаровані, розділені широкими прошарками сполучної тканини. Мітохондрії міоцитів набрякли, кристи багатьох мітохондрій гомогенізовані, в більшості міоцитів виявлено безструктурні ділянки цитоплазми в стані дрібновакуольної дистрофії. Артеріоли стінки спільної жовчної протоки дилатовані, їхня стінка потовщена, в просвітах відбувалося формування пристінкових тромбів, венули розширені, стінки венул стоншені. **Підсумок.** Чотиритижневе введення опіюду «Налбуфін» призводить до глибоких змін мікро- та ультраструктури стінки спільної жовчної протоки експериментальних білих щурів. Відбувається дилатація спільної жовчної протоки, потовщення її стінки, у слизовій оболонці переважають ознаки ексудативно-проліферативного запального процесу, в м'язовій оболонці спільної жовчної протоки розвивалася вакуольна дистрофія міоцитів та фіброзно-

склеротичні зміни у сполучнотканинних прошарках.

Ключові слова: спільна жовчна протока, мікроструктура, ультраструктура, опіоїд, експеримент.

Матешук-Вацеба Л.Р., Гирняк И.И. Микро- и ультраструктурная организация стенки общего желчного протока в условиях четырехнедельного влияния опиоида в эксперименте.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Широкое использование наркотических веществ в клинической практике с целью получения обезболивающего и противовоспалительного эффектов требует комплексного морфологического исследования особенностей структурной организации органов в условиях воздействия опиоидов. Несмотря на актуальность проблемы, влиянию опиоидов на морфологическое состояние желчных протоков посвящены лишь единичные работы. **Цель:** установить особенности изменений микро- и ультраструктурной организации общего желчного протока в условиях четырехнедельного воздействия опиоидов в эксперименте. **Методы.** Использовали гистологический, электронномикроскопический, морфометрический и статистический методы исследования. Для измерения диаметра просвета и толщины стенки общего желчного протока использовали компьютерную программу ImageJ. **Результаты.** Через 4 недели введение налбуфина общий желчный проток экспериментальных животных дилатирован, стенка его дезорганизована, слой эпителиоцитов (холангиоцитов) слизистой оболочки протока деформирован, без четких контуров. Цитоплазма холангиоцитов просветленная, митохондрии с поврежденными кристами, зернистая эндоплазматическая сеть повреждена, ядра эпителиальных клеток теряли характерную для них овальную форму, становились округлыми, содержали конденсированный хроматин вдоль ядерной оболочки, выявляли ядра в состоянии апоптоза и карнопикноза. Собственная пластинка слизистой оболочки общего желчного протока рыхлая, отечна, железы деструктурированы, смещены в направлении эпителиального слоя. Пучки гладких миоцитов мышечной оболочки расслоенные, разделены широкими слоями соединительной ткани. Митохондрии миоцитов набухшие, кристи многих митохондрий гомогенизированные, в большинстве миоцитов обнаружено бесструктурные участки цитоплазмы в состоянии мелковакуольной дистрофии. Артериолы стенки общего желчного протока дилатированы, их стенка утолщена, в просветах формировались пристеночные тромбы, вены расширены, стенки венул истонченные. **Заключение.** Четырехнедельное введение опиоида «Налбуфин» приводит к глубоким изменениям микро- и ультраструктуры стенки общего желчного протока экспериментальных белых крыс. Происходит дилатация общего желчного протока, утолщение ее стенки, в слизистой оболочке преобладают признаки экссудативно-пролиферативного воспалительного процесса, в мышечной оболочке общего желчного протока развивалась вакуольная дистрофия миоцитов и фиброзно-склеротические изменения в соединительнотканых прослойках.

Ключевые слова: общий желчный проток, микроструктура, ультраструктура, опиоид, эксперимент.