

М.В. Паньків
З.З. Масна
І.В. Челпанова
О.В. Дудок
М.Є. Ковальська

Львівський національний
медичний університет імені
Данила Галицького,
Львів, Україна






Надійшла: 30.08.2021

Прийнята: 16.09.2021

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.137-147>

УДК 714.616.711-018.3/4:615.212.7]-076.4

ДИНАМІКА ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІ- ЗАЦІ МІЖХРЕБЦЕВОГО ДИСКУ НА РІЗНИХ ТЕРМІНАХ ЕКСПЕРИМЕН- ТАЛЬНОГО ОПОЇДНОГО ВПЛИВУ ТА ПРИ ЙОГО ВІДМІНІ

Pankiv M.V.  ✉, Masna Z.Z. , Chelpanova I.V. , Dudok O.V. , Kovalska M.Ye.  Dynamics of pathomorphological changes of ultrastructural organization of intervertebral disc at different terms of experimental opioid influence and with its cancellation.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Patients with degenerative diseases of the spine - "difficult patients". Often, exhausted by long-term pain, they have a dependence, and sometimes tolerance to various analgesics, which greatly reduces the effectiveness of routinely used in the hospital anesthesia. **Objective.** The aim of our work was to study the features of pathomorphological manifestations of the structural components of the intervertebral disc at different terms of opioid influence and at the difference at the ultrastructural level in the experiment. **Methods.** The material of the study were sexually mature, white, nonlinear rats - males in the amount of 90 hundred animals, weighing 92 - 103 g, aged 4.5 months. Animals were injected with Nalbuphine at home, once daily for one day (10-11 am) for 42 days. The initial dose of Nalbuphine was 8 mg / kg during the first week, 15 mg / kg during the second week; 20 mg / kg during the third week; 25 mg / kg during the fourth week; 30 mg / kg during the fifth week and 35 mg / kg during the sixth week of the experimental opioid effect. Thus created the conditions for chronic opioid exposure. Intervertebral discs of rats were used as material for ultrastructural study. **Results and conclusion.** As a result of our study, we found that at the end of 21 days we found the progression of alternative changes in the cellular elements of the gelatinous nucleus, characterized by the development of necrotic changes in notochondral cells, as well as chondroptosis of chondrocytes. Preserved notochondral cells were rarely visualized. In some places, there were notochondral cells in which the nucleus disintegrated into separate fragments filled with heterochromatin, and the remains of organelle membranes were localized in the enlightened cytoplasm. Pronounced destructive changes were found in chondrocytes. After 28 days, the changes progressed, this was manifested by the fact that in the pulpal nucleus there were extensive cell-free zones filled with a significant amount of granular intensely osmophilic mass. Notochondral cells and most chondrocytes underwent necrotic changes. After 35 days at the ultrastructural level revealed pronounced changes in the structural elements of the gelatinous nucleus and fibrous ring. Extensive cell-free zones were localized in the gelatinous nucleus, with a somewhat compacted matrix in which an intensely osmophilic fine-grained deep mass accumulated. With the abolition of opioid exposure at the end of 56 days, we found pronounced changes in notochondral cells and in the vast majority of chondrocytes. The matrix of the gelatinous nucleus was compacted, it showed thickened collagen fibrils. Most of the cellular elements of the gelatinous nucleus were at different stages of necrosis, and some chondrocytes - chondroptosis. Vacuoles filled with enlightened contents also appeared in the cytoplasm. The nucleus was compacted, condensation of chromatin was observed. In such areas, the fibrils of collagen fibers were loose, stratified, disintegrated and lysed.



Key words: late terms, opioid influence, cancellation, intervertebral disc, rat.

Citation:

Pankiv MV, Masna ZZ, Chelpanova IV, Dudok OV, Kovalska MYe. [Dynamics of pathomorphological changes of ultrastructural organization of intervertebral disc at different terms of experimental opioid influence and with its cancellation]. Morphologia. 2021;15(3):137-47. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2021.3.137-147>

 Pankiv M.V. 0000-0002-3714-2577;  Masna Z.Z. 0000-0003-2057-7061

 Chelpanova I.V. 0000-0001-5215-814X;  Dudok O.V. 0000-0001-9513-3460

 Kovalska M.Ye. 0000-0002-6232-3951

✉ maruana2008@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Хворі з дегенеративними захворюваннями хребта - "складні пацієнти". Часто, змучені багаторічними болями вони стають залежні, а часом і толерантні до різних анальгетиків, що сильно знижує ефективність знеболювання при консервативному лікуванні. В умовах тотальної гіподинамії, неадекватних фізичних навантажень у поєднанні з впливом шкідливих факторів зовнішнього середовища патології хребта посідають одне з чільних місць серед проблем сучасної медицини (1-8).

Мета нашої роботи полягала у вивченні особливостей патоморфологічних змін структурних компонентів міжхребцевого диску на різних термінах опіоїдного впливу та при його відміні на ультраструктурному рівні в експерименті.

Матеріали та методи

Матеріалом дослідження слугували білі ставево зрілі, нелінійні щури – самці в кількості 90 тварин, масою 92 - 103 г, віком 4,5 місяців. Тваринам проводили ін'єкції препарату налбуфін дом'язево, щоденно 1 раз на добу в одному проміжку часу (10-11 година ранку) впродовж 42 діб. Початкова доза налбуфіну становила 8 мг/кг впродовж першого тижня, 15 мг/кг впродовж другого тижня; 20 мг/кг впродовж третього тижня; 25 мг/кг впродовж четвертого тижня; 30 мг/кг впродовж п'ятого тижня та 35 мг/кг впродовж шостого тижня експериментального опіоїдного впливу. Таким чином створювали умови хронічного опіоїдного впливу [9]. В подальшому впродовж двох тижнів тварини знаходилися без впливу опію.

Тварини були поділені на 6 груп. 1- а група контрольна, яка впродовж 42 діб отримувала ін'єкції фізіологічного розчину дом'язево в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку); 2- а група тварин отримувала налбуфін впродовж 21 доби в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець третього тижня експериментального опіоїдного впливу); 3- а група тварин отримувала налбуфін впродовж 28 діб в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець четвертого тижня експериментального опіоїдного впливу); 4- а група тварин отримувала налбуфін впродовж 35 діб в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець п'ятого тижня експериментального опіоїдного впливу); 5- а група тварин отримувала налбуфін впродовж 42 діб в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець шостого тижня експериментального опіоїдного впливу); 6- а група тварин яка впродовж двох тижнів знаходилась без впливу опіоїдного препарату з кінця 42 доби.

Усі тварини знаходились в умовах віварію,

експеримент проведено згідно з принципами біоетики у відповідності до положення Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001), що підтверджено висновком членів комісії з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 10 від 15 грудня 2019 р.). Перед проведенням забору матеріалу тварин виводили з експерименту за допомогою дибутилового ефіру. Як матеріал для ультраструктурного дослідження використали міжхребцеві диски щурів. Ультраструктурні препарати готували за загальноприйнятою методикою [10- 12].

Результати та їх обговорення

У результаті проведеного забору експериментального матеріалу через **21 добу** у щурів, що знаходилися під впливом опіоїдного анальгетика в дозі 20 мг/кг на субмікроскопічному рівні виявлено виникнення альтеративних змін клітинних елементів драглистого ядра, що характеризувались розвитком явищ некрозу нотохондральних клітин, а також виникненням хондроптозу хондроцитів. Збережені нотохондральні клітини візуалізувались рідко. Місцями траплялись нотохондральні клітини в яких ядро розпадалось на окремі фрагменти, що були заповнені гетерохроматином, а в просвітленій цитоплазмі локалізувались залишки мембран органел. Виражені деструктивні зміни виявили в хондроцитах. Зокрема, у цитоплазмі більшості хондроцитів з'являлись об'ємні та чисельні вакуолі, заповнені гетерогенним, переважно просвітленим, осміофільним вмістом (рис.1, 2).

В окремих хондроцитах з інтенсивноосміофільною цитоплазмою більшість цитоплазматичних відростків зазнавали деструкції.

Подекуди візуалізувались тонкі, неоднорідно розташовані цитоплазматичні ніжки з гетерогенним, переважно інтенсивноосміофільним вмістом. В цитоплазмі краще збережених хондроцитів була більша кількість вільних рибосом, спостерігалась гіпертрофія комплексу Гольджі та розширених фрагментів каналців гранулярної ендоплазматичної сітки з неоднорідно фіксованими рибосомами. У хондроцитах з помірноосміофільною цитоплазмою виявили накопичення вакуолей та вкорочення цитоплазматичних ніжок (рис. 3).

У колагенових волокнах фіброзного кільця відзначали прогресування деструктивних змін. У зовнішньому шарі волокнистого кільця реєстрували руйнування та розшарування фібрил колагенових волокон (рис. 4).

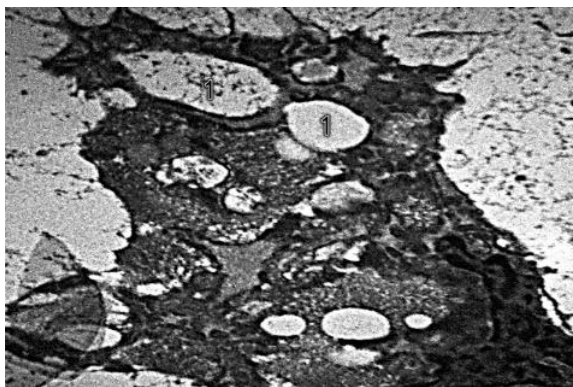


Рис. 1. Хондроцит через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.

1 – значна кількість вакуоль з світлим осміюфільним вмістом в цитоплазмі хондроцита.

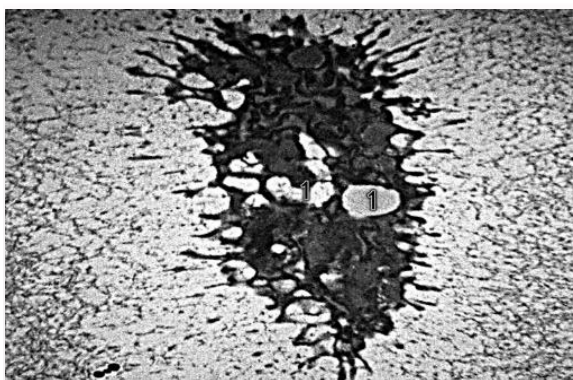


Рис. 2. Хондроцит через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.

1 – вакуолізація цитоплазми хондроцита.



Рис. 3. Хондроцит через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.

1 – вакуолі в цитоплазмі хондроцитів.

В окремих ділянках матриксу волокнистого кільця знаходилися нагромадження просвітлених осміюфільних мас.

У результаті проведеного аналізу експериментального матеріалу через 28 днів у шурів, що знаходилися під впливом опіоїдного анальгетика в дозі 25 мг/кг на ультраструктурному рівні виявлено, що у пульпозному ядрі виникли обширні

безклітинні зони, заповнені значною кількістю зернистої інтенсивноосміюфільної маси (рис.5). Зазначені зерна були різних розмірів, розташовувались нерівномірно, подекуди формуючи поодинокі скупчення. Також зауважили потовщення окремих фібрил колагенових волокон пульпозного ядра.

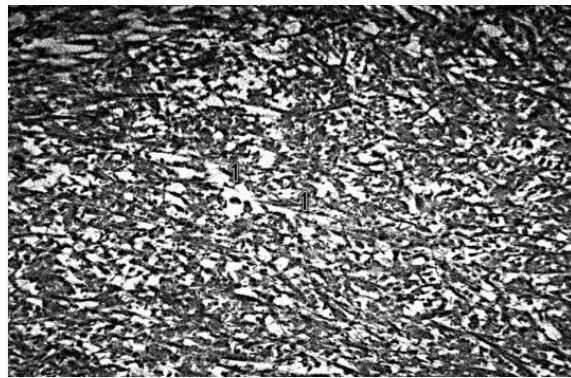


Рис. 4. Фіброзне кільце через 21 добу опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.

1 – руйнування та розшарування фібрил колагенових волокон фіброзного кільця.



Рис. 5. Драглисте ядро через 28 днів опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.

1 – значна кількість електроннощільних гранул в матриксі драглистого ядра; 2 – неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон.

Нотохондральні клітини та більшість хондроцитів зазнавали некротичних змін (рис.6). У таких хондроцитах цитоплазматичні відростки були зруйновані. Цитоплазма у більшості хондроцитів була інтенсивноосміюфільна, неоднорідно набрякла, у ній подекуди зустрічались вакуолі з просвітленим вмістом. Ядра в деяких клітинах з вираженими деструктивними змінами, не мало контурів, органили зазнавали дезінтеграції. Цитоплазматична мембрана була неоднорідною та зазнавала локальної фрагментації.

У цитоплазмі фібробластів з'являлись вакуолі (рис.7). Відзначали неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон (рис.8). У потовщених колагенових волокнах та у матриксі

драглистого ядра іноді нагромаджувались інтенсивноосміюфільні маси (рис.9). На окремих ділянках фіброзного кільця колагенові волокна лежали хаотично, частина з них зазнавали деструкції. В інших ділянках відзначали неоднорідне потовщення та фрагментацію колагенових волокон. Між ними з'являлись чисельні проміжки, які були заповнені просвітленими масами.

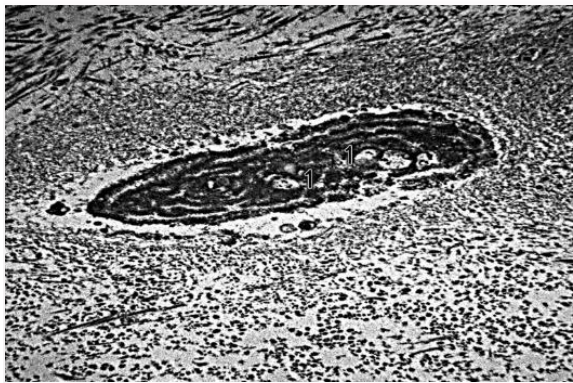


Рис. 6. Хондроцит через 28 днів опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.
1 – некротичні зміни хондроцита.

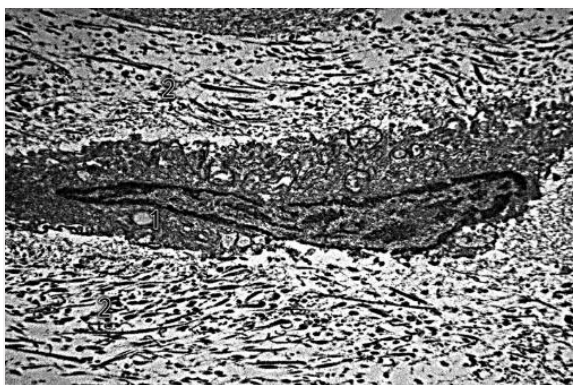


Рис. 7. Фібробласт через 28 днів опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.
1 – вакуолі в цитоплазмі фібробласта; 2 – неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон.

У результаті аналізу експериментального матеріалу через 35 днів у шурів, що знаходилися під впливом опіюїдного анальгетика в дозі 30 мг/кг на ультраструктурному рівні виявлено суттєві ультраструктурні зміни в різних компонентах драглистого ядра та волокнистого кільця. У драглистому ядрі знаходилися обширні безклітинні зони, з дещо ущільненим матриксом у якому накопичувалась інтенсивноосміюфільна дрібнозерниста глибока маса. У периферичних зонах драглистого ядра з'являлись невеликі ділянки з матриксом низької електронної щільності.

Переважає більшість хондроцитів зазнавала глибоких деструктивних змін. Такі клітини мали інтенсивноосміюфільну цитоплазму, у якій при-

вертали увагу розширені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі, а також вакуолі з електронноосміюфільним вмістом (рис.10).

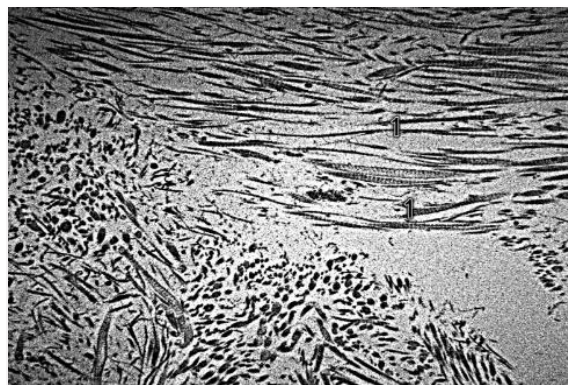


Рис. 8. Колагенові волокна через 28 днів опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.
1 – неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон.

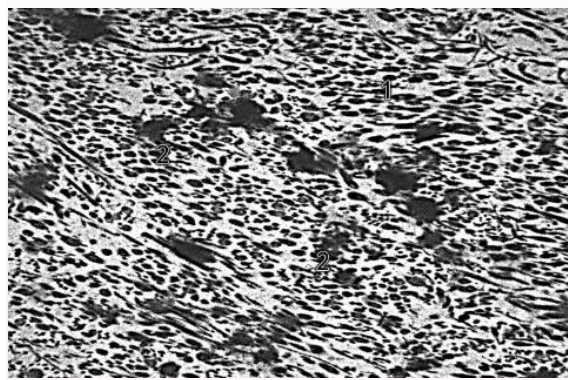


Рис. 9. Колагенові волокна через 28 днів опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.
1 – неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон; 2 – накопичення інтенсивно-осміюфільних мас у колагенових фібрилах та матрикс драглистого ядра.

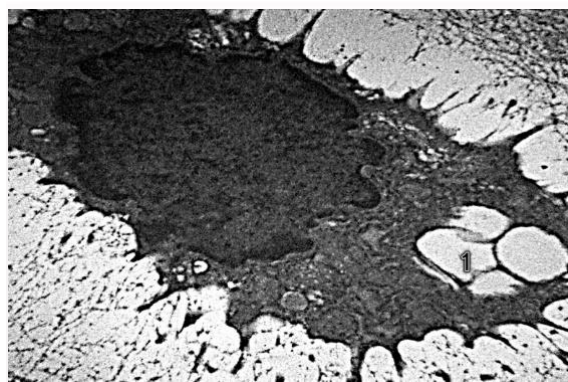


Рис. 10. Хондроцит через 35 днів опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.
1 – вакуолі в цитоплазмі хондроцита.

Подібні дегенеративні зміни розвивались в фібробластах. Зокрема, в їх ядрах збільшувався вміст гетерохроматину, в цитоплазмі з'являлись різних розмірів вакуолі округлої форми (рис.11, 12, 13) зі світлим слабоосміюфільним вмістом. Матрикс волокнистого кільця навколо фібробластів часто був просвітленим, фібрили колагенових волокон розташовувались некомпактно.



Рис. 11. Фібробласт через 35 діб опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.
1 – вакуолі в цитоплазмі фібробласта.

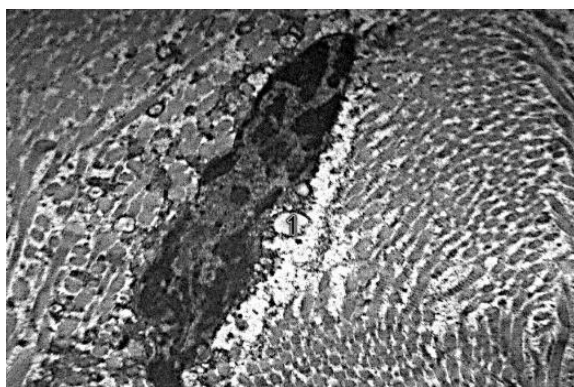


Рис. 12. Фібробласт через 35 діб опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.
1 – активна вакуолізація в цитоплазмі фібробласта.



Рис. 13. Фібробласт через 35 діб опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.
1 – вакуоль в цитоплазмі фібробласта.

Досить часто спостерігали неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон (рис. 14, 15, 16). У таких фібрилах поперечна посмугованість була нечіткою і стертою. Між фібрилами колагенових волокон подекуди з'являлися неоднорідно розширені проміжки протеогліканового матриксу, який був заповнений дрібнозернистою масою середньої електронної щільності.

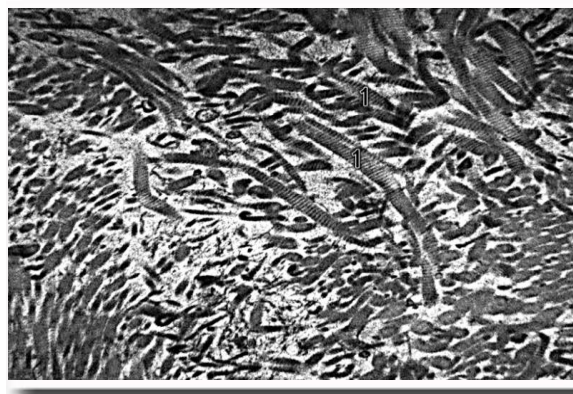


Рис. 14. Колагенові волокна через 35 діб опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.
1 – неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон.

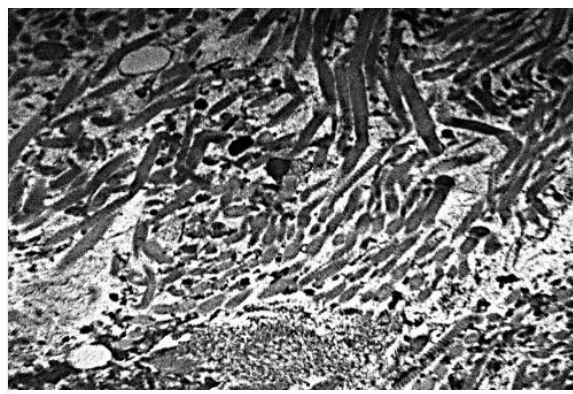


Рис. 15. Колагенові волокна через 35 діб опіюїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.
1 – неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон.

У результаті вивчення експериментального матеріалу через 42 доби у шурів, що знаходилися під впливом опіюїдного анальгетика в дозі 35 мг/кг, виявлено значні ультраструктурні зміни як у драглистому ядрі, так і у структурних елементах волокнистого кільця. Нотохондральні клітини зустрічалися рідко, деякі перебували у стані некрозу. Більшість хондроцитів також зазнавали альтеративних змін. Проте поряд з некротизованими хондроцитами зустрічались клітини з більш збереженою структурою у яких виявляли розвиток деструкції лише цитоплазматичних органел. У таких хондроцитах спостерігали вкорочення та фрагментація цитоплазматичних відростків (рис.17).

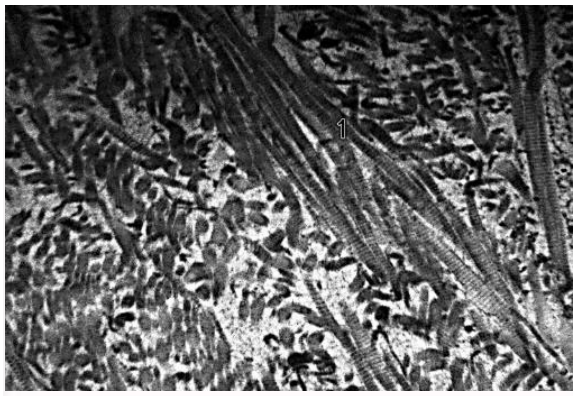


Рис. 16. Колагенові волокна через 35 днів опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.

1 – неоднорідне потовщення і набряк фібрил колагенових волокон.

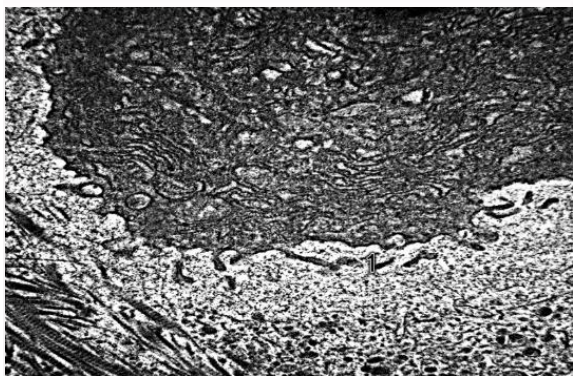


Рис. 17. Хондроцит через 42 доби опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.

1 – вкорочення та фрагментація цитоплазматичних відростків хондроцита.

У хондроцитів, що перебували на початкових етапах дегенерації посилювалась осміюфільність цитоплазми, у ній виявляли значну кількість каналців гранулярної ендоплазматичної сітки з рибосомами на їх поверхні, розширені цистерни комплексу Гольджі, що є характерним для початкових етапів розвитку хондроптозу. Також спостерігали розширення каналців гранулярної ендоплазматичної сітки хондроцитів, що були заповнені помірноосміюфільною дрібнозернистою масою.

У волокнистому кільці зустрічались активні фібробласти з добре розвиненою гранулярною ендоплазматичною сіткою на каналцях якої фіксувались чисельні рибосоми. Також у цитоплазмі візуалізувались вільні рибосоми та полісоми. Мітохондрії у цитоплазмі розташовувались хаотично, кристи окремих мітохондрій зазнавали дисконкомплексції, а матрикс про-світлювався (рис.18). Фібрили колагенових волокон часто розташовувались безладно (рис.19). Відзначали розшарування та неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон (рис.20, 21). У зовнішніх відділах волокнистого кільця

траплялись ділянки із зруйнованими колагеновими фібрилами (рис.22).

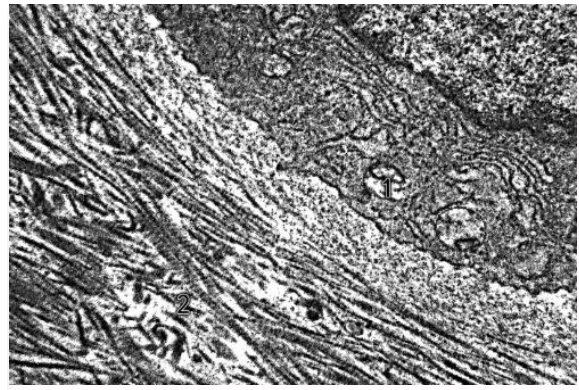


Рис. 18. Міжхребцевий диск через 42 доби опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.

1 – просвітлення матриксу та руйнування крист мітохондрій фібробласта; 2 – розшарування фібрил колагенових волокон.

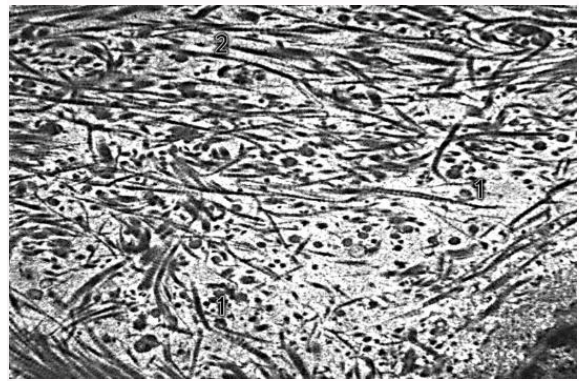


Рис. 19. Міжхребцевий диск через 42 доби опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.

1 – невпорядковане розташування фібрил колагенових волокон; 2 – розшарування та неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон.

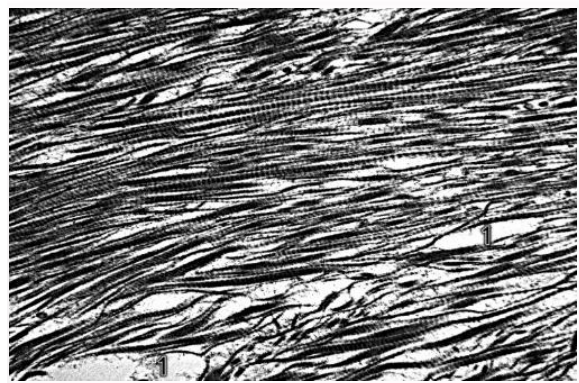


Рис. 20. Міжхребцевий диск через 42 доби опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.

1 – розшарування та неоднорідне потовщення фібрил колагенових волокон.



Рис. 21. Міжхребцевий диск через 42 доби опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.

1 – неоднорідне потовщення та хаотичне розташування фібрил колагенових волокон.

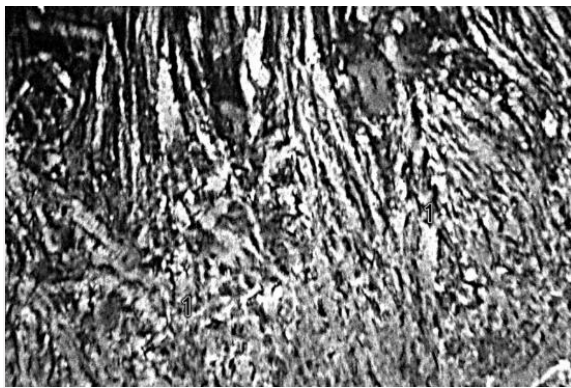


Рис. 22. Міжхребцевий диск через 42 доби опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.

1 – руйнування фібрил колагенових волокон.

Через 56 діб у шурів, що знаходилися впродовж двотижневої відміни опіоїду на ультраструктурному рівні виражені альтеративні зміни реєстрували у нотохондральних клітинах та у переважній більшості хондроцитів. Матрикс драглистого ядра ущільнювався, у ньому виявляли потовщені колагенові фібрили. Більшість клітинних елементів драглистого ядра перебували на різних стадіях некрозу, а деякі хондроцити – хондроптозу.

Колагенові фібрили волокнистого кільця на багатьох ділянках значно потовщувались. У проміжках між колагеновими волокнами виявляли просвітлені електроннонещільні маси. У фіброблестах, що розташовувались у волокнистому кільці виявляли розвиток дегенеративних процесів. Зокрема, значна частина мітохондрій фібробластів збільшувалась в об'ємі, набухала, їх матрикс просвітлювався, кристи вкорочувались або зазнавали руйнування (рис. 23, 24). Також у цитоплазмі з'являлись вакуолі, що були заповнені просвітленим вмістом. Ядро ущільнювалось, спостерігали конденсацію хроматину (рис. 25, 26). Відзначали фрагментацію ядра фібробластів (рис. 27). У таких клітинах ядро

розпадалось на окремі грудки.

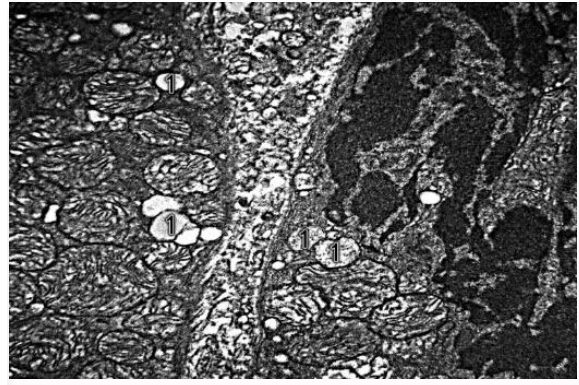


Рис. 23. Фібробласт шура через 56 діб опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.

1 – просвітлення матриксу та руйнування крист мітохондрій фіброблеста.

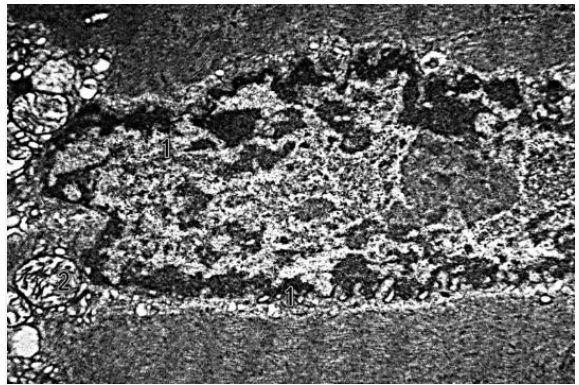


Рис. 24. Фібробласт шура через 56 діб опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.

1 – просвітлення матриксу та руйнування крист мітохондрій фіброблеста.

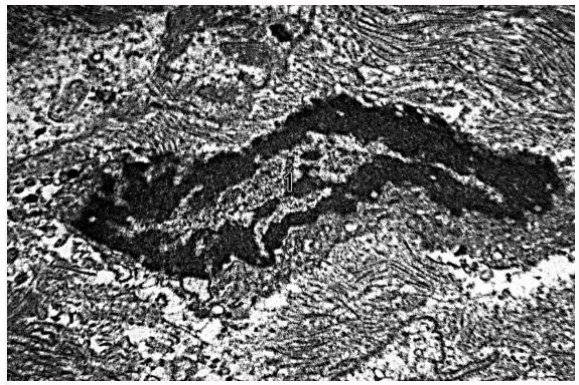


Рис. 25. Фібробласт шура через 56 діб опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.

1 – ущільнення та деформація ядра фіброблеста.

Позаклітинний матрикс волокнистого кільця просвітлювався (рис. 27), у ньому нагромаджувались вакуолі (рис. 28), що були заповнені гомогенним вмістом середньої електронної щільності. У таких ділянках фібрили

колагенових волокон розташовувались нещільно, розшаровувались, розпадались та зазнавали лізису.

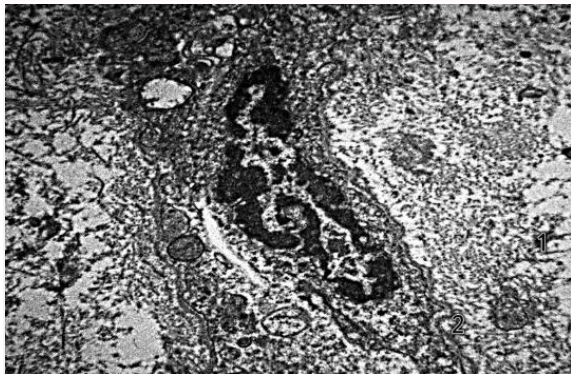


Рис. 26. Хондроцит щура через 56 днів опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.

1 – руйнування та відшарування відростків хондроцита; 2 – розширення каналців гранулярної ендоплазматичної сітки.

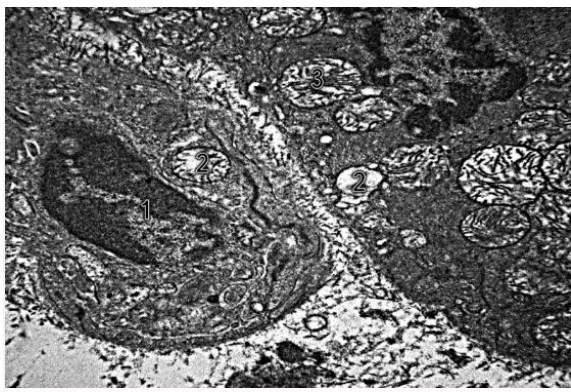


Рис. 27. Фібробласт щура через 56 днів опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 4000$.

1 – фрагментація ядра фібробласта; 2 – вакуолізація матриксу; 3 – вкорочення крист мітохондрій та просвітлення позаклітинного матриксу.

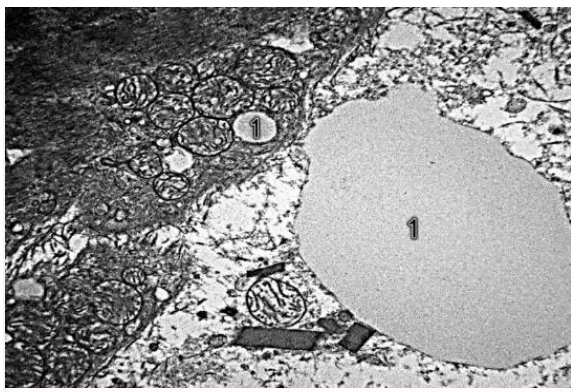


Рис. 28. Волокнисте кільце диска щура через 56 днів опіоїдного впливу. Мікрофотографія. $\times 6000$.

1 – просвітлення матриксу волокнистого кільця, нагромадження в ньому об'ємних вакуолей.

Висновки

1. Наприкінці 21 доби нами виявлено появу альтеративних змін клітинних елементів драглистого ядра, що характеризувались розвитком некротичних змін нотохондральних клітин, а також хондроптозу хондроцитів. Збережені нотохондральні клітини зустрічалися рідко. Інколи траплялись нотохондральні клітини, в яких ядро розпадалось на окремі фрагменти, що були заповнені гетерохроматином, а в просвітленій цитоплазмі перебували залишки мембран органел. Виражені деструктивні зміни виявили в хондроцитах. Зокрема, у цитоплазмі більшості хондроцитів з'являлись крупні та чисельні вакуолі, заповнені гетерогенним, переважно просвітленим осміофільним матеріалом. В окремих хондроцитах з інтенсивноосміофільною цитоплазмою більшість цитоплазматичних відростків зазнавали деструкції.

2. Через 28 днів зміни прогресували у вигляді появи у пульпозному ядрі обширних безклітинних зон, заповнених значною кількістю зернистої, інтенсивно осміофільної маси. Вказані зерна були різного розміру, розташовувались нерівномірно, іноді формували невеликі скупчення. Також було знайдено потовщення окремих фібрил колагенових волокон пульпозного ядра. Нотохондральні клітини та більшість хондроцитів зазнавали некротичних змін.

3. Через 35 днів на ультраструктурному рівні виявлено достатньо глибокі зміни в структурних елементах драглистого ядра та волокнистого кільця. У драглистому ядрі локалізувались обширні безклітинні зони, з ущільненим матриксом, у якому нагромаджувалась інтенсивноосміофільна дрібнозерниста маса. У периферичних зонах драглистого ядра з'являлись невеликі ділянки з матриксом низької електронної щільності. Переважна більшість хондроцитів зазнавала суттєвих деструктивних змін. Такі дегенеративні зміни розвивались в фібробластах. Зокрема, в їх ядрах зростав вміст гетерохроматину, в цитоплазмі з'являлись вакуолі округлої форми заповнені світлим слабоосміофільним матеріалом. Матрикс волокнистого кільця навколо фібробластів досить часто був просвітленим, фібрили колагенових волокон розташовувались нещільно.

4. Наприкінці 42 доби нотохондральні клітини візуалізувались рідко, перебували у стані некрозу. Більшість хондроцитів також зазнавали альтеративних змін. Проте поряд з некротизованими хондроцитами зустрічались клітини з більш збереженою структурою у яких зберігалися явища дегенерації цитоплазматичних органел. У таких хондроцитах спостерігали вкорочення та фрагментація цитоплазматичних відростків. Також було присутнім розширення каналців гранулярної ендоплазматичної сітки хондроцитів, які були заповнені помірноосміофільною дрібнозернистою масою.

5. На ультраструктурному рівні при відміні опіоїдного впливу наприкінці 56 доби нами було виявлені значні альтеративні зміни у нотохондральних клітинах та у переважній більшості хондроцитів. Матрикс драглистого ядра ущільнювався, на тлі якого виявляли потовщені колагенові фібрили. Більшість клітинних елементів драглистого ядра перебували на різних стадіях некрозу, а деякі хондроцити – хондроптозу. Також у цитоплазмі з'являлись вакуолі, що були заповнені просвітленим вмістом. Ядро ущільнювалось, спостерігали конденсацію хроматину. У деяких ділянках хондроматриксу фібрили колагенових волокон розташовувались нещільно, розшаровувались з лізисом окремих їхніх ділянок.

Перспективи подальших досліджень

Ультраструктурні зміни компонентів міжхребцевого диску у різні терміни експеримента-

льного опіоїдного впливу в перспективі слугуватиме формуванню ультраструктурного базового підґрунтя, якщо може бути використане для подальшого вивчення та порівняння ознак опіоїдної хондропатії при експериментальному опіоїдному впливі у більш віддалені терміни та при розробці оптимальних методів усунення деструкції міжхребцевих дисків.

Джерела фінансування

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної теми «Морфо-функціональні особливості органів у пре- та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операціях та ожирінні» (номер державної реєстрації 0120U002129).

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, пов'язаних з цим рукописом, на момент публікації не існує і не передбачається.

Літературні джерела

References

1. Arden N, Nevitt MC. Osteoarthritis: epidemiology. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2006;20(1):3-25. DOI: 10.1016/j.berh.2005.09.007
2. Petrovsky VV, Pykalyuk VS. [Ways of lymph outflow from the lumbosacral plexus]. *Ukrainian Medical Almanac.* 2012;15(6):206-211. Ukrainian.
3. Jordan KM, Arden NK, Doherty M, Bannwarth B, Bijlsma JW, Dieppe P. EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann Rheum Dis.* 2003;62(12):1145-1155.
4. Povoroznyuk VV. [Osteoporosis is a problem of the XXI century]. *The art of healing.* 2005;10:16-20. Ukrainian.
5. Kevin P, Alan L, Nicholas C. Anterior lumbar interbody fusion (ALIF) as an option for recurrent disc herniations: a systematic review and meta-analysis. *J. Spine Surg.* 2017;3(4):587-595. DOI:10.21037/jss.2017.11.04
6. Kosterin SB, Dedukh NV, Maltseva VE. [Morphology of the intervertebral disc and bone tissue of the apophyses of the vertebral bodies in the simulation of osteoporosis]. *Bulletin of problems of biology and medicine.* 2018;(1)142:285-291. Ukrainian. DOI:10.29254/2077-4214-2018-1-1-142-285-291
7. Kevin P, Vignesh R, Tommy MT. Systematic review of cortical bone trajectory versus pedicle screw techniques for lumbosacral spine fusion. *J. Spine Surg.* 2017;3(4):679-688. DOI:10.21037/jss.2017.11.03.
8. Findlay DM, Atkins GJ. Osteoblast-Chondrocyte Interactions in Osteoarthritis *Curr. Osteoporos Rep.* 2014;12(1):127-134. DOI:10.1007/s11914-014-0192-5
9. Pankiv MV, Paltov YV, Masna ZZ, Chelpanova IV, Kovalska MY. Dynamics of pathomorphological changes in the structural organization of the intervertebral disc at the end of the seventh and fourteenth day of experimental opioid exposure at the ultrastructural level. *Journal of Education, Health and Sport.* 2021;11(08):427-437.
10. Glauert AM. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. *American Elsevier.* 1975;5:189-200.
11. Stempac JG, Ward RT. An improved staining method for electron microscopy. *J. Cell Biology.* 1964;22:697-701.
12. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biology.* 1963;17:208-212.

Паньків М.В., Масна З.З., Челпанова І.В., Дудок О.В., Ковальська М.Є. Динаміка патоморфологічних змін ультраструктурної організації міжхребцевого диску на різних термінах експериментального опіоїдного впливу та при його відміні.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Хворі з дегенеративними захворюваннями хребта - "складні пацієнти". Часто, змучені багаторічними болями, вони мають залежність, а часом і толерантність до різних анальгетиків, що сильно знижує ефективність консервативного лікування. **Мета** нашої роботи полягала у вив-

ченні особливостей патоморфологічних змін структурних компонентів міжхребцевого диску на різних термінах опіоїдного впливу та при його відміні на ультраструктурному рівні в експерименті. **Методи.** Матеріалом дослідження слугували білі статеві зрілі, нелінійні щури – самці в кількості 90 тварин, масою 92 - 103 г, віком 4,5 місяців. Тваринам здійснювали ін'єкції препарату Налбуфін дом'язево, щоденно 1 раз на добу в одному проміжку часу (10-11 година ранку) впродовж 42 діб. Початкова доза Налбуфіну становила 8 мг/кг впродовж першого тижня, 15 мг/кг впродовж другого тижня; 20 мг/кг впродовж третього тижня; 25 мг/кг впродовж четвертого тижня; 30 мг/кг впродовж п'ятого тижня та 35 мг/кг впродовж шостого тижня експериментального опіоїдного впливу. Таким чином створювали умови хронічного опіоїдного впливу. В подальшому впродовж двох тижнів тварини знаходилися без впливу опію. Тварини були поділені на 6 груп. Перша група контрольна, яка впродовж 42 діб отримувала ін'єкції фізіологічного розчину дом'язево в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку); друга група тварин отримувала Налбуфін впродовж 21 доби в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець третього тижня експериментального опіоїдного впливу); третя група тварин отримувала Налбуфін впродовж 28 діб в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець четвертого тижня експериментального опіоїдного впливу); четверта група тварин отримувала Налбуфін впродовж 35 діб в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець п'ятого тижня експериментального опіоїдного впливу); п'ята група тварин отримувала Налбуфін впродовж 42 діб в одному проміжку часу (10 - 11 годин ранку) з наступним забором матеріалу дослідження (кінець шостого тижня експериментального опіоїдного впливу); шоста група тварин, яка впродовж двох тижнів знаходилась без впливу опіоїдного препарату з кінця 42 доби. Перед проведенням забору матеріалу тварин виводили з експерименту за допомогою дибутилового ефіру. Як матеріал для ультраструктурного дослідження використали міжхребцеві диски щурів. Матеріал для електронно-мікроскопічних досліджень готували за загальноприйнятою методикою. **Результати та висновки.** В результаті проведеного нами дослідження було встановлено, що наприкінці 21 доби прогресували альтеративні зміни клітинних елементів драглистого ядра, що характеризувались розвитком некротичних змін нотохондральних клітин, а також хондроптозу хондроцитів. Збережені нотохондральні клітини візуалізувались рідко. Подекуди, в нотохондральних клітинах спостерігалися явища каріорексису, в окремих фрагментах візуалізувався гетерохроматин, а в просвітленій цитоплазмі залишки клітинних органел. Виражені деструктивні зміни виявили в хондроцитах. Через 28 діб зміни прогресували, це проявлялося тим, що у пульпозному ядрі виникли обширні безклітинні зони, заповнені значною кількістю зернистої інтенсивно осміофільної маси. Нотохондральні клітини та більшість хондроцитів зазнавали некротичних змін. Через 35 діб на ультраструктурному рівні виявлено виражені зміни в структурних елементах драглистого ядра та волокнистого кільця. У драглистому ядрі локалізувались обширні безклітинні зони з дещо ущільненим матриксом, у якому нагромаджувалась інтенсивноосміофільна дрібнозерниста грудчаста маса. Переважна більшість хондроцитів зазнавала глибоких деструктивних змін. Також, дегенеративні зміни розвивались в фіброблестах. Наприкінці 42 доби нотохондральні клітини візуалізувались рідко, перебували у стані некрозу. Більшість хондроцитів також зазнавали альтеративних змін. Проте, поряд з некротизованими хондроцитами зустрічались клітини з більш збереженою структурою, у яких виникали прояви деструкції органел. При відміні опіоїдного впливу наприкінці 56 доби нами було виявлено, виражені альтеративні зміни у нотохондральних клітинах та у переважній більшості хондроцитів. Матрикс драглистого ядра ущільнювався, у ньому виявляли потовщені колагенові фібрили. Більшість клітинних елементів драглистого ядра перебували на різних стадіях некрозу, а деякі хондроцити – хондроптозу. Також, у цитоплазмі з'являлись вакуолі, що були заповнені просвітленим вмістом. Ядро ущільнювалось, спостерігали конденсацію хроматину. У таких ділянках фібрили колагенових волокон розташовувались нещільно, розшаровувались, розпадались та зазнавали лізису.

Ключові слова: пізні терміни, опіоїдний вплив, відміна, міжхребцевий диск, щур.

Паньків М.В., Масна З.З., Челпанова І.В., Дудок О.В., Ковальская М.Е. Динамика патоморфологических изменений ультраструктурной организации межпозвонкового диска на разных сроках экспериментального опиоидного воздействия и при его отмене.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Больные с дегенеративными заболеваниями позвоночника - "сложные пациенты". Часто, измученные многолетними болями они преобретают зависимость, а порой и толерантность к различным анальгетикам, что сильно снижает эффективность консервативного лечения. **Цель** нашей работы заключалась в изучении особенностей патоморфологических проявлений в структурных компонентах межпозвоночного диска на разных сроках опиоидного воздействия и при его отмене на ультраструктурном уровне в эксперименте. **Методы.** Материалом исследования были половозрелые, белые нелинейные крысы - самцы в количестве 90 животных, массой 92 - 103 г, в возрасте 4,5 месяцев. Животным осуществляли инъекции препарата Налбуфин внутримышечно, ежедневно 1 раз в сутки в одном промежутке времени (10-11 часов утра) в течение 42 суток. Начальная доза Налбуфина составляла 8

мг / кг в течение первой недели, 15 мг / кг в течение второй недели; 20 мг / кг в течение третьей недели; 25 мг / кг в течение четвертой недели; 30 мг / кг в течение пятой недели и 35 мг / кг в течение шестой недели экспериментального опиоидного воздействия. Таким образом создавались условия хронического опиоидного воздействия. В дальнейшем в течение двух недель животные находились без влияния опиоидов. Животные были разделены на 6 групп. 1-я группа контрольная, которая на протяжении 42 суток получала инъекции физиологического раствора внутримышечно в одном промежутке времени (10 - 11:00 утра) 2-я группа животных получала Налбуфин в течение 21 суток в одном промежутке времени (10 - 11:00 утра) с последующим забором материала исследования (конец третьей недели экспериментального опиоидного воздействия); 3-я группа животных получала Налбуфин в течение 28 суток в одном промежутке времени (10 - 11:00 утра) с последующим забором материала исследования (конец четвертой недели экспериментального опиоидного воздействия); 4-я группа животных получала Налбуфин в течение 35 суток в одном промежутке времени (10 - 11:00 утра) с последующим забором материала исследования (конец пятой недели экспериментального опиоидного воздействия); 5-я группа животных получала Налбуфин в течение 42 суток в одном промежутке времени (10 - 11:00 утра) с последующим забором материала исследования (конец шестой недели экспериментального опиоидного воздействия); 6- а группа животных которая на протяжении двух недель находилась без влияния опиоидного препарата с конца 42 суток. Перед проведением забора материала животных выводили из эксперимента с помощью дибутилового эфира. В качестве материала для ультраструктурного исследования использовали межпозвоночные диски крыс. Ультраструктурные препараты готовили по общепринятой методике. **Результаты и выводы.** В результате проведенного нами исследования было установлено, что в конце 21 суток прогрессировали альтернативные изменения клеточных элементов студенистого ядра и характеризовались развитием некротических изменений нотохондральных клеток, а также хондроцитозу хондроцитов. Сохраненные нотохондральные клетки визуализировались редко. Местами попадались нотохондральные клетки с явлениями кариорексиса, отдельные фрагменты ядра были заполнены гетерохроматином, а в просветленной цитоплазме были выявлены остатки клеточных органелл. Выраженные деструктивные изменения обнаружили в хондроцитах. Через 28 суток изменения прогрессировали, это проявлялось наличием в пульпозном ядре обширных бесклеточных зон, заполненных большим количеством зернистой, интенсивно осмиофильной массы. Нотохондральные клетки и большинство хондроцитов испытывали некротические изменения. Через 35 суток на ультраструктурном уровне выявлены выраженные изменения в структурных элементах студенистого ядра и волокнистого кольца. В студенистой ядре локализовались обширные бесклеточные зоны с несколько уплотненным матриксом, в котором накапливалась интенсивно осмиофильная мелкозернистая глибчатая масса. Подавляющее большинство хондроцитов испытывали тяжелые деструктивные изменения. Также, дегенеративные изменения развивались в фибробластах. В конце 42 суток нотохондральные клетки визуализировались редко, находились в состоянии некроза. Большинство хондроцитов также подвергались альтеративным изменениям. Однако, наряду с некротизированными хондроцитами, встречались клетки с практически сохраненной структурой, в которых отмечалось развитие дегенерации цитоплазматических органелл. При отмене опиоидного влияния в конце 56 суток нами были выявлены выраженные альтеративные изменения в нотохондральных клетках и в большинстве хондроцитов. Матрикс студенистого ядра уплотнялся, были видны утолщенные коллагеновые фибриллы. Большинство клеточных элементов студенистого ядра находились на разных стадиях некроза, а некоторые хондроциты - хондроцитоза. Также в цитоплазме появлялись вакуоли, которые были заполнены просветленным содержанием. Ядро уплотнялось, наблюдали конденсацию хроматина. В таких участках фибриллы коллагеновых волокон располагались неплотно, расслаивались, распадались и испытывали лизиса.

Ключевые слова: поздние сроки, опиоидное влияние, отмена, межпозвоночный диск, крыса.