

## АНОТАЦІЯ

*Гірняк І. І.* Структурні зміни жовчних проток під впливом опіюду (експериментальне дослідження).

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина, галузь знань 22 Охорона здоров'я. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, 2021.

Дисертаційна робота присвячена встановленню особливостей мікро- та ультрамікроскопічної організації поза- та внутрішньопечінкових жовчних проток у нормі та в різні терміни тривалого впливу опіюду в експерименті з метою розробки методів профілактики патології гепато-біліарної системи, зумовленої застосуванням наркотичних середників.

Уперше встановлено особливості архітекtonіки, мікро- та ультраструктури жовчних проток білих щурів у нормі та закономірності їхньої перебудови за умов 6-тижневого впливу налбуфіну. Отримано нові дані щодо особливостей галуження позапечінкових жовчних проток білих щурів у нормі, зокрема встановлено послідовність та варіанти формування спільної жовчної протоки. Уперше проведено комплексний морфометричний аналіз жовчних проток білих щурів на корозійних та гістологічних препаратах. Проведений статистичний аналіз дозволив систематизувати отримані експериментальні дані і подати порівняльну характеристику структурної організації жовчних проток у нормі та за умов впливу опіюду в експерименті.

Визначено, що в білого щура печінкові протоки формують спільну жовчну протоку (загальну печінкову протоку вважаємо доцільним називати спільною жовчною протокою, оскільки в білого щура відсутня міхурова протока, бо відсутній жовчний міхур). У білого щура спільна жовчна протока формується переважно від злиття 5-6 печінкових проток (58,33%): правої бічної, правої центральної, лівої бічної, лівої центральної, хвостової, а також

додаткової (поряд з хвостовою) або, навпаки, остання відсутня, проте є додаткова права (поряд з правою бічною). У 33,33% піддослідних білих щурів спостерігали формування спільної жовчної протоки з 4 печінкових проток: правої центральної, лівої центральної, хвостової та додаткової. При цьому права і ліва центральні протоки були розміщені дуже близько одна від одної. У двох піддослідних білих щурів (8,33%) спостерігали злиття лівих бічної та центральної проток в одну, або злиття правих бічної та центральної проток в одну, яка впадала в спільну жовчну протоку, а також наявність двох самостійних сегментарних проток, які впадали в спільну жовчну протоку. Вздовж спільної жовчної протоки розміщена жовчна частина підшлункової залози, кожна часточка якої мала свою протоку, що відкривалася у спільну жовчну протоку.

На рівні світлової мікроскопії підтверджено, що стінка міжчасточкових жовчних проток білого щура вистелена одним шаром кубоїдних епітеліоцитів – холангіоцитів, які прилягають до власної пластинки, утвореної тонким шаром сполучної тканини. При морфометричному аналізі гістологічних препаратів встановлено, що товщина стінки міжчасточкової жовчної протоки становила ( $2,67 \pm 0,41$ ) мкм, діаметр просвіту міжчасточкової жовчної протоки – ( $5,33 \pm 0,29$ ) мкм. Стінка сегментарних і печінкових жовчних проток, а також спільної жовчної протоки експериментальних тварин представлена слизовою, м'язовою та адвентиційною оболонками. Епітеліальні клітини – холангіоцити – мали виразні апікальну, базальну та латеральні поверхні (останніми контактували одна з одною), велике овальне ядро з чіткими контурами. У власній пластинці чітко помітно поодинокі, але досить великі залози. М'язова оболонка складалася з гладких міоцитів, організованих у пучки зі спіральним розташуванням. Адвентиційна оболонка багата судинами. На електронних мікрофотографіях жовчні каналці розміщені між двома рядами гепатоцитів, стінка жовчних каналців утворена плазмолемою біліарної поверхні гепатоцитів, що розташовані один навпроти другого. Просвіт жовчного каналця відокремлений від міжклітинного

простору завдяки щільним замикальним контактам між гепатоцитами. Холангіоцити міжчасточкових, сегментарних і печінкових жовчних проток, а також спільної жовчної протоки містили везикули на усіх поверхнях (базальній, бічних та апікальній), крім того їхній апікальний полюс був багатий мікрворсинками.

Через 2 тижні введення налбуфіну в експериментальних тварин при морфометричному аналізі гістологічних препаратів встановлено, що поздовжній діаметр просвіту спільної жовчної протоки становив  $(271,10 \pm 12,22)$  мкм, контроль –  $(167,13 \pm 11,21)$  мкм,  $p < 0,05$ , поперечний діаметр –  $(162,20 \pm 20,03)$ , контроль –  $(101,79 \pm 15,29)$  мкм, товщина стінки спільної жовчної протоки  $(139,20 \pm 15,76)$  мкм, контроль –  $(145,11 \pm 4,25)$  мкм. Достовірне збільшення поздовжнього діаметра просвіту спільної жовчної протоки свідчило про зміну форми її просвіту внаслідок двотижневої дії налбуфіну. Упродовж наступних 4 тижнів в процесі перебігу експерименту патологічні зміни наростали. Морфометричний аналіз через 4 тижні експерименту показав виразну дилатацію спільної жовчної протоки, поздовжній діаметр просвіту протоки зростав до  $(462,12 \pm 23,29)$  мкм,  $p < 0,05$ , поперечний діаметр – до  $(272,77 \pm 15,54)$  мкм,  $p < 0,05$ . Товщина стінки спільної жовчної протоки достовірно ( $p < 0,05$ ) збільшувалася і становила  $(214,50 \pm 14,95)$  мкм. Через 6 тижнів перебігу експерименту стінка спільної жовчної протоки деструктурована, часто важко було диференціювати границі її оболонки, пласт холангіоцитів дезорганізований, утворював численні складки, в окремих місцях виявлено стоншення епітеліального пласту внаслідок відшарування холангіоцитів, холангіоцити набували приплюсноті форми, відмічали поліморфізм їхніх ядер, ядра втрачали своє розміщення в центрі клітини, зміщувалися до апікальної поверхні клітини. Власна пластинка стінки спільної жовчної протоки розшарована, просвіти залоз нерівномірні, втратили правильну форму, переважно розширені, заповнені вмістом. Пучки гладких міоцитів розділені грубими прошарками сполучної тканини, спостерігали вакуольну дистрофію м'язової оболонки, адвентиційна

оболонка в стані набряку. При проведенні морфометричного аналізу часто неможливо було визначити поперечний діаметр просвіту спільної жовчної протоки, оскільки стінки її спадалися (склеювалися), просвіт протоки був деформований, поздовжній діаметр просвіту коливався від 294,88 мкм до 386,46 мкм ( $p < 0,05$ ), товщина стінки спільної жовчної протоки становила  $(177,82 \pm 27,72)$  мкм, що достовірно більше від показника контрольних тварин, але достовірно менше від показника експериментальних тварин на попередньому терміні експерименту, що підтверджує розвиток дистрофічно-дегенеративних процесів у стінці спільної жовчної протоки через 6 тижнів впливу налбуфіну. У цей термін експерименту виявляли також значні зміни судин гемомікроциркуляторного русла стінки спільної жовчної протоки, зокрема розширення венул, виразну гладком'язову гіперплазію міжчасточкових артеріол, стінка артеріол потовщена внаслідок плазматичного просякання, склерозу та гіалінозу, периваскулярно – набряк, лімфоцитарні інфільтрати.

При електронномікроскопічному дослідженні через 6 тижнів введення налбуфіну експериментальним білим щурам ядра холангіоцитів внутрішньо-та позапечінкових жовчних проток були неоднорідними за формою та електронною щільністю, часто фрагментовані, перебували в стані каріопікнозу та каріорексису, більшість – з численними інвагінаціями ядерної оболонки, з конденсованим по краях хроматином, без ядерця. Перинуклеарний простір розширений, просвітлений, що свідчило про розвиток перинуклеарного набряку. Цитоплазма була низької електронної щільності, в стані дрібновакуольної дистрофії, мітохондрії з набряклим матриксом та зруйнованими кристами, фрагменти гранулярної ендоплазматичної сітки гіпертрофовані, її цистерни розширені, подекуди зливалися, утворюючи безструктурні ділянки. Міжклітинні простори розширені, розвивався навколоцелюлярний набряк. Власна пластинка розпушена, набрякла, з хаотичним розміщенням колагенових волокон. Цитоплазма міоцитів м'язової оболонки стінки сегментарних і печінкових

жовчних проток, а також спільної жовчної протоки перебувала в стані мікрокістозної дегенерації, була слабкої електронної щільності, містила багато везикул та вакуолей, деструктурованих органел, великих мітохондрій заповнених прозорим гомогенним вмістом і з відсутніми кристам. Ядра міоцитів втрачали правильну видовжену форму, вкорочувалися, ставали клиноподібними, часто були фрагментованими, перебували в стані каріорексису. Наростав перинуклеарний та перицелюлярний набряк.

Таким чином, шеститижневе застосування налбуфіну зумовлює глибокі морфологічні зміни структурної організації стінок внутрішньо- та позапечінкових жовчних проток та їхньої ангіоархітекtonіки.

Отримані дані щодо особливостей архітекtonіки внутрішньо- та позапечінкових проток білого щура сприяють формуванню нових уявлень про будову шляхів відтоку жовчі вказаної експериментальної тварини. Результати мікро- та ультраструктурного дослідження жовчних проток впродовж 6 тижнів впливу опіюїду дозволяють встановити конкретні етапи морфологічних змін, зумовлених застосуванням налбуфіну. Результати роботи мають практичне значення для морфологів та хірургів, оскільки можуть служити морфологічною основою для розробки нових методів діагностики, профілактики та лікування патології жовчних проток у хворих, змушених тривалий час застосовувати опіюїди, а також у наркозалежних. Отримані результати дослідження структурних особливостей жовчних проток білого щура в нормі та при експериментальному впливі опіюїду є фундаментальними даними, на які можуть спиратися дослідники при вивченні проблем експериментальної та клінічної гастроентерології, абдомінальної хірургії.

**Ключові слова:** внутрішньо- та позапечінкові жовчні протоки, морфологічні особливості, налбуфін, експеримент.

## ABSTRACT

*I.I. Hirniak, Structural Changes in the Bile Ducts under the Influence of Opioids (Experimental Study).*

Qualifying scientific paper on the rights of the manuscript.

The thesis on competition of a scientific degree of the PhD (Doctor of Philosophy), Specialty 222 Medicine, Field of study 22 Healthcare. – Danylo Halytskyi Lviv National Medical University, Lviv, 2021.

The dissertation work is devoted to the establishment of the features of micro- and ultramicroscopic organization of the extra- and intrahepatic bile ducts in normal and at different times of long-term exposure to opioids in the experiment, to develop methods for the prevention of pathology of the hepatobiliary system caused by the use of narcotic drugs.

For the first time, the features of the architecture, micro- and ultrastructure of the bile ducts of white rats in the norm and the regularity of their restructuring under the conditions of 6-week of Nalbuphine exposure were established. New data on the peculiarities of branching of extrahepatic bile ducts of white rats in the norm were obtained, in particular, the sequence and variants of formation of the common bile duct were established. For the first time, a complex morphometric analysis of bile ducts of white rats on corrosion and histological specimens was performed. The conducted statistical analysis allowed to systematize the obtained experimental data and to give a comparative characteristic of the structural organization of the bile ducts in the norm and under the influence of opioid in the experiment.

It was determined that in the white rat the hepatic ducts form a common bile duct (the common hepatic duct is considered appropriate to call the common bile duct because the white rat has no vesical duct because there is no gallbladder). In white rats, the common bile duct is formed mainly from the fusion of 5-6 hepatic ducts (60%): right lateral, right central, left lateral, left central, caudal, and additional (along with the caudal) or, conversely, the latter is absent, however, there are additional rights (along with the right side). In 30% of experimental white

rats observed the formation of a common bile duct from 4 hepatic ducts: right lateral, right central, left lateral and left central. The right and left central ducts were placed very close to each other. In two experimental white rats (10%) observed the fusion of the left lateral and central ducts into one, which flowed into the common bile duct, as well as the presence of two independent segmental ducts, which flowed into the common bile duct. Along the common bile duct is the bile part of the pancreas, each lobe of which had its duct, which opened into the common bile duct.

At the level of light microscopy, it was confirmed that the wall of the interparticle bile ducts of white rats is lined with a single layer of cubic fringed epitheliocytes as cholangiocytes, which are adjacent to its plate formed by a thin layer of connective tissue. In the morphometric analysis of histological preparations, it was found that the wall thickness of the interparticle bile duct was  $(2.67 \pm 0.41) \mu\text{m}$ , the diameter of the clearance of the interparticle bile duct was  $(5.33 \pm 0.29) \mu\text{m}$ . The wall of the segmental and hepatic bile ducts, as well as the common bile duct of experimental animals, is represented by mucous, muscular and adventitial membranes. Epithelial cells as cholangiocytes had distinct apical, basal and lateral surfaces (the latter in contact with each other), a large oval nucleus with clear contours. In its own plate clearly visible single, but rather large glands. The muscular membrane consisted of smooth myocytes organized in bundles with a spiral arrangement. The adventitial membrane is rich in blood vessels. In electronic microphotographs, the bile ducts are located between two rows of hepatocytes, the wall of the bile ducts is formed by a plasmalemma of the biliary surface of hepatocytes, located opposite each other. The clearance of the bile duct is separated from the intercellular space due to tight closing contacts between hepatocytes. Cholangiocytes of the interparticle, segmental, and hepatic bile ducts, as well as the common bile duct, contained vesicles on all surfaces (basal, lateral, and apical), and their apical pole was rich in microvilli.

After 2 weeks of the Nalbuphine injection in experimental animals in the morphometric analysis of histological specimens found that the longitudinal

diameter of the clearance of the common bile duct was  $(272.77 \pm 15.09) \mu\text{m}$ , control was  $(126.97 \pm 3.19) \mu\text{m}$ ,  $p < 0.05$ , the transverse diameter was  $(97.36 \pm 10.86)$ , control was  $(72.79 \pm 13.52) \mu\text{m}$ ,  $p > 0.05$ , the wall thickness of the common bile duct  $(137.85 \pm 14.41) \mu\text{m}$ , control was  $(144.77 \pm 3.91) \mu\text{m}$ ,  $p > 0.05$ . A significant increase in the longitudinal diameter of the clearance of the common bile duct indicated a change in the shape of its clearance due to two weeks of the Nalbuphine effect. During the next 4 weeks during the experiment, the pathological changes increased. Morphometric analysis after 4 weeks of the experiment showed a pronounced dilatation of the common bile duct, the longitudinal diameter of the clearance of the duct increased to  $(462.98 \pm 24.15) \mu\text{m}$ ,  $p < 0.05$ , the transverse diameter to  $(275.57 \pm 18.34) \mu\text{m}$ ,  $p < 0.05$ . The wall thickness of the common bile duct significantly ( $p < 0.05$ ) increased and was  $(217.29 \pm 18.09) \mu\text{m}$ . After 6 weeks of the experiment, the wall of the common bile duct is destructured, it was often difficult to differentiate the boundaries of its membranes, the cholangiocyte layer is disorganized, formed numerous folds, in some places thinning of the epithelial layer due to detachment of cholangiocytes, cholangiocytes acquired polymorphism their nuclei, the nuclei lost their location in the centre of the cell, shifted to the apical surface of the cell. The own plate of a wall of a common bilious channel is stratified, gleams of glands are uneven, have lost the correct form, mainly expanded, filled with contents. Bundles of smooth myocytes are separated by coarse layers of connective tissue, observed vacuolar dystrophy of the muscular membrane, adventitial membrane in a state of oedema. When performing morphometric analysis, it was often impossible to determine the transverse diameter of the clearance of the common bile duct, because its walls collapsed (glued), the lumen of the duct was deformed, the longitudinal diameter of the lumen ranged from  $294.88 \mu\text{m}$  to  $386.46 \mu\text{m}$  ( $p < 0.05$ ), the wall thickness of the common bile duct was  $(176.44 \pm 26.34) \mu\text{m}$ , which is significantly greater than that of control animals, but significantly less than that of experimental animals in the previous period of the experiment, which confirms the development of dystrophic-degenerative processes in the common bile duct wall through 6 weeks



of nalbuphine exposure. During this period of the experiment, significant changes in the vessels of the hemomicrocirculatory tract of the common bile duct wall were also detected, in particular, dilated venules, distinct smooth muscle hyperplasia of interparticle arterioles, the arteriole wall is thickened due to plasma impregnation, sclerosis and hyalinosis, oedema, and lymphocytic infiltrates are perivascular.

At electronic and microscopic examination after 6 weeks of the Nalbuphine injection to experimental white rats, the nuclei of cholangiocytes of intra- and extrahepatic bile ducts were inhomogeneous in shape and electron density, often fragmented, were in a state of karyopyknosis and karyorrhexis, and most of them were with numerous invaginations of the nuclear envelope, with chromatin condensed at the edges, without a nucleolus. The perinuclear space is expanded, enlightened, which indicated the development of perinuclear oedema. The cytoplasm was of low electron density, in a state of small-vacuolar dystrophy, mitochondria with swollen matrix and destroyed crystals, fragments of the granular endoplasmic reticulum were hypertrophied, its tanks were expanded, sometimes merged to form unstructured areas. Intercellular spaces are expanded, pericellular oedema developed. Own plate is fluffy, swollen, with a chaotic arrangement of collagen fibres. The cytoplasm of myocytes of the muscular wall of the segmental and hepatic bile ducts, as well as the common bile duct, was in a state of microcystic degeneration, was weak electron density, contained many vesicles and vacuoles, destructured organelles, large mitochondria filled with transparent homogeneous content and with missing cristae. Myocyte nuclei lost the correct elongated shape, shortened, became wedge-shaped, were often fragmented, were in a state of karyorrhexis. Perinuclear and pericellular oedema increased.

Thus, six-week use of Nalbuphine causes profound morphological changes in the structural organization of the walls of the intra- and extrahepatic bile ducts and their angioarchitectonics.

The obtained data on the features of the architecture of the intra- and extrahepatic ducts of the white rat contribute to the formation of new ideas about the structure of the bile outflow tract of this experimental animal. The results of

micro- and ultrastructural study of the bile ducts during 6 weeks of opioid exposure allow establishing specific stages of morphogenesis of changes caused by the use of Nalbuphine. The results are of practical importance for morphologists and surgeons, as they can serve as a morphological basis for the development of new methods for diagnosing, preventing and treating bile duct pathology in patients forced to use opioids for a long time, as well as in drug addicts. The obtained results of the study of the structural features of the bile ducts of white rats in normal and experimental opioid exposure are fundamental data on which researchers can rely when studying the problems of experimental and clinical gastroenterology, and abdominal surgery.

**Keywords:** intra- and extrahepatic bile ducts, morphological features, Nalbuphine, experiment.

#### **Список публікацій здобувача за темою дисертації:**

**Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:**

1. Mateshuk-Vatseba LR, Hirniak II. Features of the structural organization of the interlobular bile ducts under conditions of prolonged exposure to opioids in the experiment. *Biomedical and Biosocial Anthropology*. 2019;36:11-15. DOI <https://doi.org/10.31393/bba36-2019-02> (*Особистий внесок – провів експериментальне дослідження, підготував матеріал, здійснив аналіз отриманих результатів, підготував статтю до друку*).
2. Hirniak II. The ultrastructural features of the hemocapillary channel in common bile duct during the long-term influence of opioid in the experiment. *Science and Education a New Dimension. Natural and Technical Sciences*. 2020; VIII(28):51-53. <https://doi.org/10.31174/SEND-NT2020-233VIII28-11>.
3. Матешук-Вацеба ЛР, Гірняк ІІ. Мікро- та ультраструктурна організація стінки спільної жовчної протоки за умов чотиритижневого впливу опіюду в експерименті. *Морфологія*. 2020;14(3):59-64.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.59-64>. *(Особистий внесок – провів експериментальне дослідження, підготував матеріал, здійснив аналіз отриманих результатів, підготував статтю до друку).*

4. Матешук-Вацеба ЛР, Гірняк П, Підвальна УЄ. Морфологічні особливості стінки спільної жовчної протоки за умов експериментального впливу опіюду. Вісник морфології – Reports of Morphology. 2020;26(2):26-31. DOI: 10.31393/morphology-journal-2020-26(2)-04. *(Особистий внесок – провів експериментальне дослідження, підготував матеріал, здійснив аналіз отриманих результатів, підготував статтю до друку).*

5. Матешук-Вацеба ЛР, Гірняк П. Динаміка ультраструктурних змін компонентів стінки спільної жовчної протоки при тривалому впливі опіюду в експерименті. Вісник проблем біології і медицини. 2020;3(157):237-241. DOI 10.29254/2077-4214-2020-3-157-237-241 *(Особистий внесок – провів експериментальне дослідження, підготував матеріал, здійснив аналіз отриманих результатів, підготував статтю до друку).*

#### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:**

6. Матешук-Вацеба ЛР, Гірняк П, Іванків ЯТ, Подолук МВ, Симівська РР. Особливості структурної організації стінки артеріол порожнистих органів за умов тривалого впливу опіюду. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Індивідуальна анатомічна мінливість органів та структур організму в онтогенезі”. Чернівці; 13-15 вересня 2018:104-107. *(Особистий внесок – підготував матеріал, який стосувався досліджуваного дисертантом органу, брав участь в аналізі отриманих результатів та підготовці тез до друку).*

7. Матешук-Вацеба ЛР, Гірняк П, Іванків ЯТ, Подолук МВ. Ультраструктурні зміни епітеліальних клітин слизової оболонки порожнистих органів за умов шеститижневого впливу опіюду в експерименті. Збірник тез доповідей VII Конгресу Наукового товариства

анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України. Одеса; 2-4 жовтня 2019:260-261. *(Особистий внесок – підготував матеріал, який стосувався досліджуваного дисертантом органу, брав участь в аналізі отриманих результатів та підготовці тез до друку).*

8. Hirniak II, Mateshuk-Vatseba LR. Comparative anatomy of human bile ducts and laboratory white rat. Abstracts of XI International scientific and practical conference “Perspectives of world science and education” (July 15-17, 2020) CPN Publishing Group, Osaka, Japan; 2020:7-10. <http://sci-conf.com.ua> *(Особистий внесок – провів експериментальне дослідження, підготував матеріал, провів аналіз отриманих результатів, переклав та підготував тези до друку).*

9. Mateshuk-Vatseba LR, Hirniak II. The ultrastructural organization of the bile ducts in normal and long-term effect of opioids in experiment. Abstracts of XI International scientific and practical conference “Perspectives of world science and education” (May 27-29, 2020) Congnum Publishing House, Liverpool, United Kingdom; 2020:141-145. <http://sci-conf.com.ua> *(Особистий внесок – провів експериментальне дослідження, підготував матеріал, провів аналіз отриманих результатів, переклав та підготував тези до друку).*

10. Матешук-Вацеба ЛР, Гірняк ІІ. Вплив опіюду “Налбуфін” на ультраструктуру холангіоцитів сегментарних жовчних проток білого щура. Збірник матеріалів науково-практичної конференції “Актуальні питання сучасної морфології”. Запоріжжя; 30 вересня – 2 жовтня 2020:76-78. *(Особистий внесок – провів експериментальне дослідження, підготував матеріал, провів аналіз отриманих результатів, підготував тези до друку).*

11. Гірняк ІІ, Матешук-Вацеба ЛР. Морфометричний аналіз стану печінкових проток та їхнього гемомікроциркуляторного русла за умов фізіологічної норми і впливу опіюду в експерименті. Матеріали XVIII Конгресу СФУЛТ. Львів; 1-3 жовтня 2020. *(Особистий внесок – провів експериментальне дослідження, підготував матеріал, провів аналіз отриманих результатів, підготував тези до друку).*

**Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:**

12. Гірняк П. Структурна організація жовчних проток за умов патології. Український журнал медицини, біології та спорту. 2020;5.1(23):9-20.  
<https://doi.org/10.26693/jmbs05.01.009>