

УДК: 611.842:615.212.7]-08

**Підвальна У.Є.**

## **СТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ СУДИННОЇ ОБОЛОНКИ ОЧНОГО ЯБЛУКА ЗА УМОВ ДОВГОТРИВАЛОГО ОПІОЇДНОГО ВПЛИВУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

*У фаховій літературі трапляються суперечливі відомості щодо тривалого впливу опіоїдів на структуру органів. Трапляються лише поодинокі розробки проблеми розвитку патологічних змін органа зору внаслідок впливу наркотичних засобів. Метою дослідження є встановлення особливостей структури та ланок гемомікроциркуляторного русла судинної оболонки очного яблука за умов 6-тижневого впливу опіоїду в експерименті. Матеріал дослідження представлений препаратами очей 24 щурів з ін'єкованим судинним руслом, мікро- та ультратонкими зрізами судинної оболонки очного яблука. Результати дослідження свідчать про глибокі деструктивні зміни структури усіх відділів судинної оболонки. Капілярний компонент зруйнований, артеріоли звивисті, просвіт їх нерівномірний, стінка їх потовщена, склерозована, венули розширені та деформовані. Сполучна тканина судинної оболонки представлена дезорганізованою основною речовиною підвищеної електронної щільності та значною кількістю колагенових волокон. Зменшення, порівняно з контролем, діаметра артеріол, щільності сітки обмінних судин, артеріоло-венулярного коефіцієнта, а також збільшення діаметра венул, коефіцієнта звивистості артеріол, показника трофічної активності тканини підтверджують розвиток деструктивних змін судинної оболонки очного яблука під впливом налбуфіну.*

Ключові слова: судинна оболонка, очне яблуко, опіоїд, щур.

*Стаття є фрагментом планової науково-дослідної роботи на тему «Структура органів та їх кровоносного русла в онтогенезі, під дією лазерного опромінення та фармацевтичних засобів, при порушеннях кровопостачання, реконструктивних операціях та цукровому діабеті» (номер державної реєстрації 0110U001854), що виконується на кафедрі нормальної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького згідно з державним планом та програмою впродовж 2010-2014 рр.*

### **Вступ**

Проблема опіоїдної наркоманії набула характеру розгорнутого епідемічного процесу. У зв'язку з чим в країнах Європи розроблена антинаркотична стратегія подолання проблеми виникнення поліетиологічної патології [7,8]. Переважно дослідження стосуються соціального, юридичного та психологічного аспектів, не акцентуючи увагу на те, що суттєві метаболічні та структурні зміни, рання інвалідизація і смертність хворих з опіоїдною залежністю потребують вивчення патогенетичних механізмів розвитку та прогресування множинних поліорганних коморбідних станів [1].

У фаховій літературі трапляються поодинокі та суперечливі відомості щодо тривалого впливу опіоїдів на структуру органів [2,9], зокрема досліджено мікроструктурні зміни в язиці, викликані впливом малих доз опіоїду [3], в тимусі та селезінці [4]. Розроблений спосіб моделювання поведінкових реакцій в експериментальних тварин при хронічному впливі опіоїду [5]. Щодо ураження очного яблука, то на даний час трапляються лише поодинокі розробки проблеми розвитку патологічних змін органа зору внаслідок впливу наркотичних засобів, зокрема вивчаються зміни функції зору в осіб з опіатною наркоманією [6]. Мета дослідження - встановити особливості структури та ланок гемомікроциркуляторного русла судинної оболонки очного яблука за умов 6-тижневого впливу опіоїду в експерименті.

### **Матеріали та методи дослідження**

Дослідження виконані на 24 статевозрілих білих щурах-самцях, віком 4,5-7,5 місяців і масою тіла 130-150 г. Введення налбуфіну проводили внутрішньом'язево за наступною схемою: I тиждень - 8 мг/кг, II тиждень - 15 мг/кг, III тиждень - 20 мг/кг, IV тиждень - 25 мг/кг, V тиждень - 30 мг/кг, VI тиждень - 35 мг/кг [5]. Забір матеріалу проводили через 6 тижнів введення препарату. Контролем слугували 9 білих щурів, яким вводили фізіологічний розчин.

Усіх тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, експерименти проведені у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986р.), Закону України №3447 - IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001р.).

Матеріал дослідження представлений препаратами очей щурів з ін'єкованим судинним руслом, мікро- та ультратонкими зрізами судинної оболонки очного яблука.

Для ін'єкції кровоносного русла очного яблука застосовували ін'єкційну масу, яка складалася зі суміші 20% розчину коларголу та гліцерину у співвідношенні 2:1. Просвітлення оболонок очного яблука проводили в гліцерині з 96% етиловим спиртом у співвідношенні 1:1 впродовж 3 діб, потім у чистому гліцерині. Для морфометричного аналізу стану гемомікроциркуляторного русла судинної

оболонки очного яблука використовували наступні кількісні критерії: діаметр мікросудин, артеріоло-венулярний коефіцієнт, коефіцієнт звивистості, щільність сітки обмінних судин, показник трофічної активності тканини. Статистичне опрацювання результатів дослідження проводили на комп'ютері за допомогою пакета прикладних програм для медико-біологічних та епідеміологічних досліджень «InStat». Зрізи очного яблука фарбували гематоксиліном і еозинном. Препарати вивчали та фотографували при збільшенні мікроскопа: об'єктив x 8, окуляр x 15. Для фотографування мікропрепаратів використовували комп'ютерну систему «Aver Media». Ультраструктурне дослідження судинної оболонки ока щура проводили на електронному мікроскопі УЕМВ-100К (Україна) при прискорюючій напрузі 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопа x 4000. Ультратонкі зрізи готували на ультрамікромомі УМТП – 3М за допомогою скляних ножів, виготовлених на приладі ССН-1.

### Результати та їх обговорення

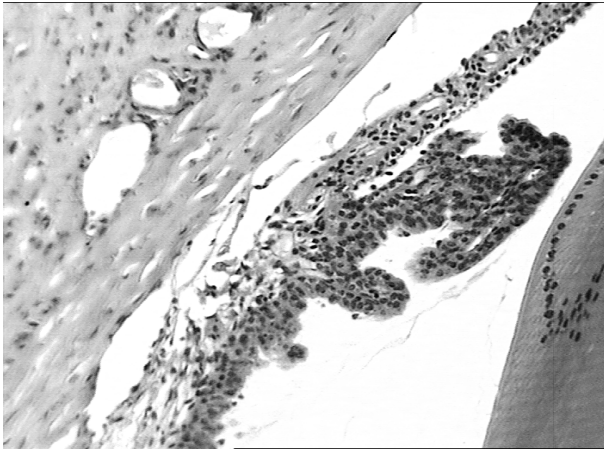
При дослідженні гемомікроциркуляторного русла райдужки через 6 тижнів введення налбуфіну судинні петлі капілярної петлястої сітки зіничного краю райдужки втрачають нижній, звивистий малюнок і часто обриваються біля зіничного краю райдужки, оскільки руйнується капілярний компонент петлі. Розширюються артеріоло-венулярні анастомози і кров з артеріол скидається у венозне русло, минаючи зруйновані капіляри (рис. 1).



Рис. 1 Гемомікроциркуляторне русло райдужки очного яблука білого щура за умов 6-тижневого введення налбуфіну. Мікрофото. Зб.: об. x 20, ок. x 5.

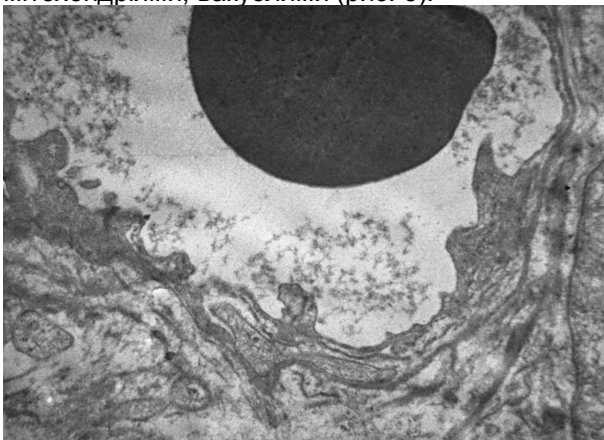
Спостерігається зміна калібру і щільності судин, порушення їх цілості, що підтверджується морфометричними показниками. Діаметр петлі зіничного краю райдужки зростає до  $19,6 \pm 0,5$  мкм ( $p < 0,05$ ), артеріоло-венулярний коефіцієнт зменшується до  $0,732 \pm 0,004$  ( $p < 0,05$ ), коефіцієнт звивистості артеріол зростає до  $0,62 \pm 0,02$  ( $p < 0,05$ ). Ще глибші зміни гемомікроциркуляторного русла виявлено у війкових відростках та власне судинній оболонці через 6 тижнів експерименту. Їх капілярне русло зруйноване, спостерігається облітерація капілярів, геморагії, мікроаневризми. Щільність сітки обмінних судин різко зменшується і становить  $57,6 \pm 12,0$  ( $p < 0,05$ ). Веноли власне судинної оболонки розширені, капіляри зруйновані, а збережені фрагменти капілярів різко розширені, діаметр їх подекуди становить  $20,0 \pm 10,0$  мкм, щільність сітки обмінних судин зменшена до  $60,4 \pm 2,4$  ( $p < 0,05$ ), а показник трофічної активності тканини збільшується до  $60,1 \pm 2,8$  мкм ( $p < 0,05$ ).

Через 6 тижнів введення щурам налбуфіну гістологічне дослідження підтверджує глибокі деструктивні зміни судинної оболонки очного яблука. Товщина власне судинної оболонки змінена за рахунок досить пухкого розміщення колагенових та еластичних волокон в її сполучній тканині. Між волокнами значно зменшена кількість клітинних елементів, трапляються поодинокі фібробласти, макрофаги. Переважають тонкостінні, розтягнені веноли. Стінка артеріол потовщена, склерозована. Подекуди стінка капілярів пошкоджена і спостерігається вихід крові за межі судин (мікрокрововиливи). Виявлено багато капілярів, в яких елементи крові відсутні, а в інших – агрегація еритроцитів. Характерним є виражений паравазальний набряк. Глибокі зміни виявлено й у війковому тілі. Волокна сполучної тканини розміщені пухко, між ними залягають поодинокі фібробласти і макрофаги. Веноли різко розширені, контури їх нерівномірні. Артеріоли звивисті, стінки їх склерозовані, потовщені, в більшості з них спостерігається агрегація еритроцитів, адгезія. Капіляри війкового відростка переважно зруйновані, стінки їх перервні. Виразний периваскулярний набряк, крововиливи. Епітелій, що вкриває війковий відросток, дезорганізований, фрагментований. М'язовий шар війкового тіла стоншений. Шари райдужки чітко не диференціюються. Веноли райдужки також розширені, контури їх нерівні, покручені. Навколо судин спостерігається значний набряк. Внутрішній пограничний шар райдужки розшаровується, стоншується і розривається. Контури шару переднього епітелію нерівномірні, звивисті, шар перервний. Зовнішній пограничний шар стоншений. Волокна сполучної тканини розміщені пухко, спостерігається набряк, склероз (рис. 2).



*Рис. 2 Судинна оболонка очного яблука білого щура за умов 6-тижневого введення налбуфіну. Мікрофото. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: об. x 8, ок. x 15.*

Ультрамікроскопічне дослідження підтверджує виражені порушення у мікроциркуляторному руслі судинної оболонки очного яблука щура внаслідок довготривалого опіоїдного впливу. Просвіти значної кількості гемокапілярів заповнені складжами еритроцитів, які перебувають в тісному контакті між собою та люменальною поверхнею ендотеліальних клітин. Цитоплазма ендотеліоцитів наповнена преципітатами та коагулятами. Базальна мембрана гемокапілярів є потовщеною, розшарованою, містить електронно-щільні депозити. Розшаровані частини базальної мембрани гемокапілярів часто перебувають в прямому контакті із колагеновими волокнами. При спостереженні артеріолярних ділянок мікроциркуляторного русла війкових відростків судинної оболонки через 6 тижнів введення налбуфіну виявляються артеріоли, ендотеліоцити яких мають стоншену цитоплазму і, в більшості випадків, своєю ядровмісною частиною глибоко випинають в просвіт артеріоли. Відзначено, що в ядрах пошкоджених ендотеліоцитів, які перебувають в стані каріорексису, переважає гетерохроматин, в них пошкоджена нуклеолема. Інша частина ендотеліальних клітин, що прилягає до базальної мембрани, дезорганізована, а їх цитоплазма наповнена преципітатами та коагулятами. Ядра ендотеліальних клітин неправильної форми, утворюють значну кількість випинів. Зауважено також, що люменальна поверхня ендотеліоцитів утворює значну кількість дрібних мікроворсинок, а цитоплазма містить вакуолізовані мітохондрії, в ній мало рибосом, полісом, піноцитозних міхурців. Міжклітинні контакти між ендотеліальними клітинами дезорганізовані, інколи виявляються ділянки базальної мембрани, що не прикриті цитоплазмою ендотеліоцита. Базальна мембрана нерівномірно потовщена, нечітка. До периферійних шарів стінки артеріол прилягає дезорганізована сполучна тканина, насичена пучками колагенових волокон. Люменальна поверхня ендотеліальних клітин венул утворює мікроворсинки, а цитоплазма вміщує незначну кількість піноцитозних пухирців, локальні скупчення рибосом і полісом, розширені каналці гранулярної ендоплазматичної сітки. Ядра ендотеліоцитів заповнені в основному гетерохроматином та покриті дезорганізованою нуклеолемою. Ядра утворюють куполоподібні випини. Базальна мембрана ендотеліоцитів потовщена, подекуди розшарована, нечітка. Сполучна тканина судинної оболонки представлена дезорганізованою основною речовиною підвищеної електронної щільності та значною кількістю колагенових волокон. Виявлено підвищеної електронної щільності фіброласти, цитоплазма яких заповнена гіпертрофованими мітохондріями, вакуолями (рис. 3).



*Рис. 3 Гемокапіляр райдужки очного яблука білого щура за умов 6-тижневого введення налбуфіну. Електронна мікрофотографія. Зб. 4000.*

### Висновки

Таким чином, макро-, мікро-, та електронно-мікроскопічне дослідження судинної оболонки

очного яблука білого щура за умов 6-тижневого введення налбуфіну показало глибокі деструктивні зміни структури усіх її відділів. Судинна оболонка ока знаходиться на стадії декомпенсації, коли капілярний компонент зруйнований, артеріоли звивисті, просвіт їх нерівномірний, стінка їх потовщена, склерозована, венули розширені та деформовані.

Сполучна тканина судинної оболонки представлена дезорганізованою основною речовиною підвищеної електронної щільності та значною кількістю колагенових волокон

Зменшення, порівняно з контролем, діаметра артеріол, щільності сітки обмінних судин, артеріоло-венулярного коефіцієнта, а також збільшення діаметра венул, коефіцієнта звивистості артеріол, показника трофічної активності тканини свідчать про деструктивні зміни судинної оболонки очного яблука під впливом налбуфіну.

## Література

1. Овчаренко Н.А. Динамические изменения показателей цитолиза, холестаза и липидограммы у наркозависимых больных / Н.А. Овчаренко, Л.Л. Пинский, Т.Н. Радченко [и др.] // Украинский журнал клинической та лабораторной медицины. – 2012. – Т. 7, № 4. – С. 116-119.
2. Думброва Н.Е. Ультраструктурные изменения элементов хориоретинального комплекса глаза крыс после действия метилового спирта / Н.Е. Думброва, Н.И. Молчанюк // Офтальмологический журнал. – 2009. – № 5. – С. 54–57.
3. Онисько І.О. Мікроструктурні зміни в язиці, викликані впливом малих доз опіоїду протягом 42-ох і 56-ти діб (експериментальне дослідження) / І.О. Онисько, Р.М. Онисько, А.П. Король [та ін.] // Вісник морфології. – 2013. – Т. 19, № 2. – С. 280-285.
4. Клименко Н.А. Морфофункциональное состояние тимуса и селезенки при воспалении на фоне действия неселективного блокатора опиоидных пептидов налоксона / Н.А. Клименко, И.В. Сорокина, И.А. Савенко [и др.] // Экспериментальная і клінічна медицина. – 2010. – № 1. – С. 10-15.
5. Пат. №76564 У Україна, МПК А 61 К 31/00 Спосіб моделювання фізичної опіоїдної залежності у щурів/ заявники: Онисько Р.М., Пальтов Є.В., Фік В.Б., Вільхова І.В., Кривко Ю.Я., Якимів Н.Я., Фітькало О.С. ; патентовласник Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького. – №201207124; заявл. 12.06.2012; опубл. 10.01.2013, Бюл. №1.
6. Якимів Н.Я. Мікроструктурна характеристика райдужно-рогівкового кута очного яблука щурів при опіоїдному впливі / Н.Я. Якимів, Ю.Я. Кривко // Світ медицини та біології. – 2013. – № 4. – С. 117-120.
7. Drug testing at school and in the workplace, final publication containing all texts produced and adopted by Committee in ethical issues and professional standards on the subject. Council of Europe, Pampidou Group: P-PG/Ethics. 2008. 5E.
8. Drugs Action Plan for 2009-2012. Notices from European Union institutions and bodies / Of. J. Eur. Union. IV (Notices). – 2008. – Vol. 326. – P. 7-25.
9. Experimental model of ocular hypertension in the rat :study of the optic nerve capillaries and action of hypotensive drugs / D. Florentina, A. Villena, L. Vidal [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2010. – Vol. 51, № 2. – P. 946-951.

## Реферат

### СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СОСУДИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗНОГО ЯБЛУКА В УСЛОВИЯХ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ОПИОИДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Пидвальна У.Е.

Ключевые слова: сосудистая оболочка, глазное яблоко, опиоид, крыса.

В научной литературе сведения о продолжительном воздействии опиоидов на структуру органов противоречивы. Имеются лишь единичные разработки проблемы развития патологических изменений органа зрения вследствие воздействия наркотических средств. Целью исследования является установление особенностей структуры и звеньев гемомикроциркуляторного русла сосудистой оболочки глазного яблока в условиях 6-недельного воздействия опиоида в эксперименте. Материал исследования представлен препаратами глаз 24 крыс с инъецированным сосудистым руслом, микро- и ультратонкими срезами сосудистой оболочки глазного яблока. Результаты исследования свидетельствуют о глубоких деструктивных изменениях структуры всех отделов сосудистой оболочки. Капиллярный компонент разрушен, артериолы извилистые, просвет их неравномерный, стенка их утолщена, склерозированна, венулы расширены и деформированы. Соединительная ткань сосудистой оболочки представлена дезорганизованным основным веществом повышенной электронной плотности и значительным количеством коллагеновых волокон. Уменьшение, по сравнению с контролем, диаметра артериол, плотности сетки обменных сосудов, артериоло-венулярного коэффициента, а также увеличение диаметра венул, коэффициента извилистости артериол, показателя трофической активности ткани подтверждают развитие деструктивных изменений сосудистой оболочки глазного яблока под влиянием налбуфина.

## Summary

### STRUCTURAL CHARACTERISTIC OF UVEA UNDER PROLONGED MODELLED OPIOIDS EXPOSURE

Pidvalna U. Ye.

Keywords: vascular tunic, eyeball, opioid, rat.

Present-day special literature provides contradictory information on prolonged effect produced by opioids on the structure of body organs. There are only a few of the reports focusing on the development of pathological changes in the organ of vision caused the impact of narcotic medicines. The aim of the study is to find out the characteristics of the structure and components of hemomicrocirculatory bed in uvea in a 6-week modelled exposure to the opioids. The material of the study included specimens of 24 rats with injected vascular bed, micro- and ultrathin sections of uvea. The findings demonstrate deep destructive changes in all the parts of the choroid. Capillary component is destroyed, the arterioles are sinuous, their lumen is uneven, their walls are thickened and sclerotic, and venules are dilated and deformed. The decrease in the diameter of the arterioles, the density of vascular network, arterioles-venular ratio, as well as increasing the diameter of venules, arterioles tortuosity factor, the index of the trophic activity of the tissue compared with the control group confirm the development of destructive changes in uvea caused by nalbuphine.