

УДК 617.721/713-091.8-02:615.212.7]-092.9

Н.Я. Якимів, Ю.Я. Кривко
 Львівський національний медичний університет ім. Д.Галицького, м. Львів

МІКРОСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙДУЖНО-РОГІВКОВОГО КУТА ОЧНОГО ЯБЛУКА ЩУРІВ ПРИ ОПІОЇДНОМУ ВПЛИВІ

На підставі проведеного комплексу морфологічних досліджень нами встановлені морфологічні особливості у будові райдужно-рогівкового кута щурів на різних термінах хронічного опіоїдного впливу. І доведено, що ступінь вираженості цих змін залежить від терміну введення опіоїдного анальгетика і найбільш виражені з боку структур мікроциркуляторного русла досліджуваної ділянки.

Ключові слова: райдужно-рогівковий кут, опіоїд, щур, мікроциркуляторне русло.

З розвитком медицини з'явилась потреба в ефективних знеболювальних засобах. Ця потреба прокладала опію шлях в історії. Поряд із медичним використанням, останнім часом усе більше поширюється немедичне вживання психотропних і сильнодіючих речовин, хворобливий потяг до яких зветься – токсикоманією. Протягом 2002–2007 років кількість осіб, які допускають немедичне вживання наркотиків, зросла майже в 1,4 рази. Сьогодні у світі зареєстровано майже 100 млн. наркоманів [6,12]. За даними Центру медичної статистики Міністерства охорони здоров'я України станом на 01.01.2012 року в Україні зареєстровано 5588 осіб (у 2010 році 5926) або 12,25 на 100 тисяч населення (у 2010 – 12,94), яким вперше в житті встановлено діагноз розладу розладу психіки та поведінки внаслідок вживання наркотичних речовин і взято під диспансерний нагляд. Серед них 2897 осіб вживають опіоїди [1].

Спостереження в амбулаторних клініках міністерства у справах ветеранів США показало, що люди які вживали кокаїн мають більш високий ризик розвитку глаукоми (на 45% у порівнянні із контролем) [11,13]. Результати патологоанатомічних досліджень останніх років дозволили виявити цілий комплекс змін з боку внутрішніх органів у споживачів опіатів, в тому числі з боку судинної системи [1,2,5,7,8,9,10]. Останнім часом зустрічаються поодинокі дослідження опіоїдного впливу на орган зору та інші органи. Патологія структур райдужно-рогівкового кута ока, яка виникає під впливом опіоїдів відноситься до однієї з актуальних проблем у галузі офтальмології. Порушення кровообігу органу зору нерідко є причиною сліпоти або слабобачення. Виявлення ознак даної патології при опіоїдному впливові дозволить своєчасно провести профілактичні та лікувальні заходи.

Метою роботи було дослідити вплив опіоїду на морфологічні особливості структур райдужно-рогівкового кута щурів на різних термінах.

Матеріал та методи дослідження. Вивчали морфологічні особливості райдужно-рогівкового кута у щурів-самців лінії Вістар (48 тварин). Початкова маса щурів складала 80 грам, вік тварин 1,5-2,0 міс. Яким у продовж 6 тижнів внутріочеревинно вводили опіоїдний анальгетик (налбуфін), з наступною послідовністю підвищення доз: 1-й тиждень - 8 мг/кг, 2-й тиждень-15 мг/кг, 3 тиждень-20 мг/кг, 4 тиждень - 25 мг/кг, 5 тиждень - 30 мг/кг, 6 тиждень - 35 мг/кг [4]. Забір матеріалу (очного яблука) проводили на 7, 14, 21, 28, 35, 42 добу експерименту. Перед проведенням забору біопсійного матеріалу тварину присипляли внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу (з розрахунку 25 мг/1кг), після чого проводилась енуклеація очного яблука для гістологічного дослідження. Характеристика досліджуваного матеріалу наведена в табл. 1. Гістологічний матеріал фіксували у 4% нейтральному формаліні, ущільнювали у парафін. Зрізи товщиною у 5-7 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином. Мікроскопічні дослідження і фотографування препаратів здійснювали з використанням мікроскопа МБІ-1 і цифровим фотоапаратом Nicon D3100.

Всі тварини утримувались в умовах віварію, і робота проводилась з дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург,1986), загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених І Національним конгресом України з біоетики(Київ 2001 р.), Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Експериментальні тварини розділені на 6 груп. Характеристика досліджуваного матеріалу наведена в таблиці.

Таблиця

Характеристика матеріалу дослідження

| Експериментальні групи тварин , термін експерименту | Мікроскопічне дослідження структур райдужно-рогівкового кута |
|---|--|
| Щурі яким вводили опіоїд 1 тиждень | 8 (5+3 контроль) |
| Щурі яким вводили опіоїд 2 тижні | 8 (5+3 контроль) |
| Щурі яким вводили опіоїд 3 тижні | 8 (5+3 контроль) |
| Щурі яким вводили опіоїд 4 тижні | 8 (5+3 контроль) |
| Щурі яким вводили опіоїд 5 тижнів | 8 (5+3 контроль) |
| Щурі яким вводили опіоїд 6 тижнів | 8 (5+3 контроль) |
| Всього | 48 |

Перед проведенням забору біопсійного матеріалу тварину присипляли внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу (з розрахунку 25 мг/1кг), після чого проводилась енуклеація очного яблука для гістологічного дослідження. Гістологічний матеріал фіксували у 4% нейтральному формаліні, ущільнювали у парафін. Зрізи товщиною у 5-7 мкм забарвлювали гематоксиліном та еозином. Мікроскопічні дослідження і фотографування препаратів здійснювали з використанням мікроскопа МБІ-1 і цифровим фотоапаратом Nicon D3100.

Результати дослідження та їх обговорення. В експериментальних тварин, яким вводили опіодний анальгетик протягом 7-ми діб, загальний план будови лімба не відрізняється від такого, як у контрольних тварин (рис. 1). Однак поряд з цим ми виявляємо судини мікроциркуляторного русла з ознаками повнокрів'я, гістіолімфо-цитарну інфільтрацію стромы та незначний набряк інтерстицію. Часто в кровоносних капілярах присутні сладжні еритроцитів. У венулах спостерігається розміщення лейкоцитів біля ендотелію. Просвіти лімфатичних судин також розширені, заповнені лімфою. В сполучній тканині лімба присутні чисельні нейтрофільні лейкоцити макрофаги та ацидофільні лейкоцити, а також лімфоцити. В рогівці кількість шарів клітин в передньому епітелії залишається постійною, як у контрольних щурів. У власній речовині рогівки, а саме у зовнішніх шарах, вогнищево присутній парацелюлярний набряк. Дренажна система лімба, яка складається із внутрішньосклеральної борозни, трабекулярної сітки, а також шлемового та колекторних каналів значно розширена. Колагенові волокна в глибоких шарах лімба розпушені.

Через 14 діб в експериментальній групі тварин, яким вводили опіод, зміни у будові райдужно-рогівкового кута полягали у прогресуванні змін, які були виявлені в попередньої експериментальної групи (рис 2).

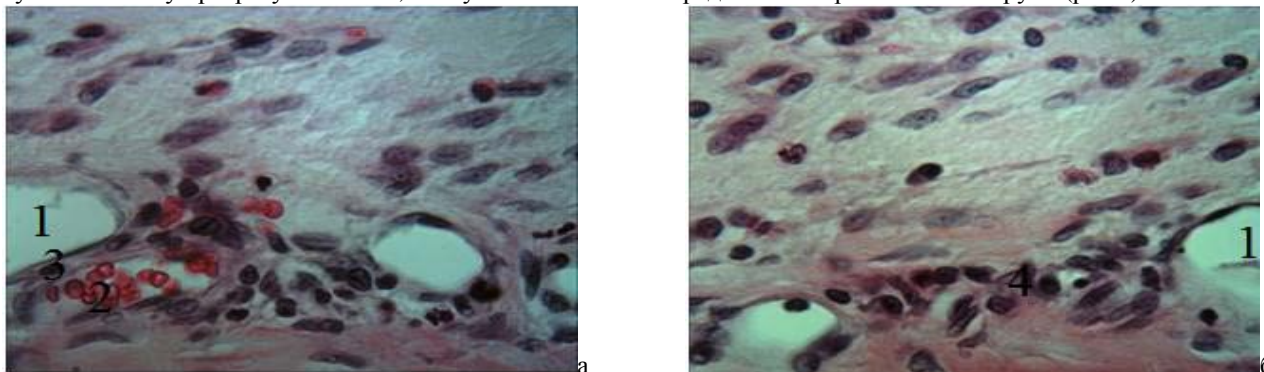


Рис. 1. Структури райдужно-рогівкового кута у щурів яким вводили опіод 7 діб. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. ок. х 40, об. х10. 1-шлемів канал; 2- судини мікроциркуляторного русла; 3- ендотеліцити в стінці шлемового каналу; 4- гіперплазія фібробластів в юкстаканалікулярній сполучній тканині.

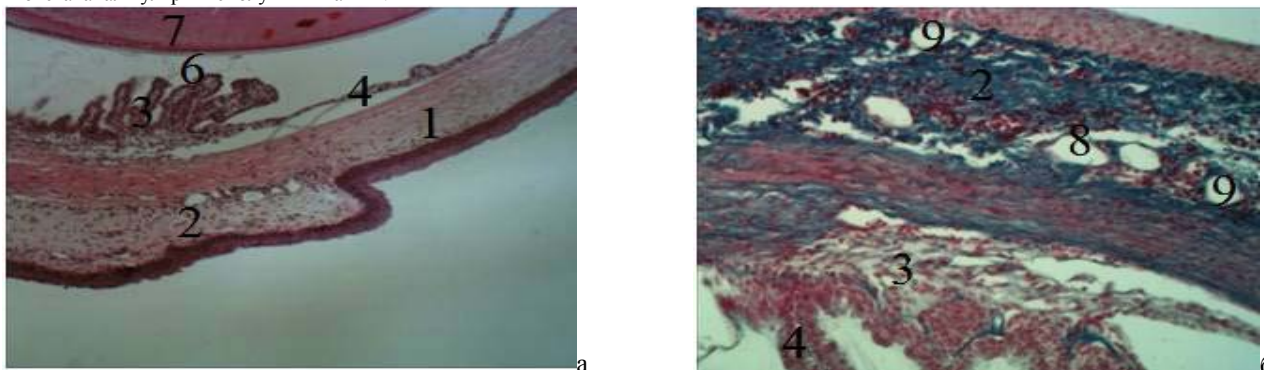


Рис. 2. Структури райдужно-рогівкового кута у щурів через 14 діб введення опіоду. А) Заб. г.-е. Зб. ок. х4, об. х10, Б) Заб. азаном. Зб. ок. х4, об. х20: 1-рогівка; 2-лімба; 3-війкове тіло; 4-райдужка; 6-волокна війкового пояса; 7-кришталік.

Базальна мембрана переднього епітелію лімба розпушена не однорідна по товщині, колагенові волокна в ній деструктуровані. В базальному та проміжному шарах епітеліального пласта збільшена кількість лімфоцитів. Серед епітеліоцитів базального шару збільшена чисельність фігур мітозу, що вказує на посилення процесів регенерації. Венозний синус склери, значно розширений на відміну від контрольних щурів (рис. 3). Де він представлений системою вузьких трубок вистелених ендотелієм. У щурів, яким вводили опіод 14 діб, ендотеліоцити в стінці венозного синуса не утворювали суцільного шару. Вогнищево виявляли ділянки десквамації та ділянки в яких ендотеліоцити розташовані у вигляді частоколу, що вказувало на проліферацію ендотеліоцитів. Базальна мембрана за своєю структурою є не однорідною, вогнищево розпушеною. Колагенові волокна в юкстаканалікулярній сполучній тканині, яка відділяла венозний синус склери від трабекулярної сітки та склери розпушені. Колекторні канали, що відводять вологу в венозні сплетення значно розширені. Кровоносні капіляри поблизу шлемового каналу повнокровні, артеріоли містять пристінкові тромби.

На 21 добу експерименту ,морфологічні зміни в будові досліджуваної ділянки більше виражені ніж в аналогічних структурах попередньої групи, так з'являються деструктуровані колагенові волокна (рис 4).

Через 28 діб в експериментальній групі тварин, яким вводили опіодний анальгетик, спостерігаються зміни у будові епітеліального покриву та у сполучній тканині лімба. Епітеліальний пласт не однорідний за товщиною, присутні ділянки в яких він витоншений або потовщений. В ядрах клітин остистого шару епітелію відсутні ядерця, що вказує на зменшення їх функціональної активності. У базальному шарі наявні вакуолізовані клітини. Міжклітинні контакти між ними розширені. В епітеліальному пласті візуалізуємо лімфоцити, їх чисельність значно більша ніж у щурів контрольної групи.

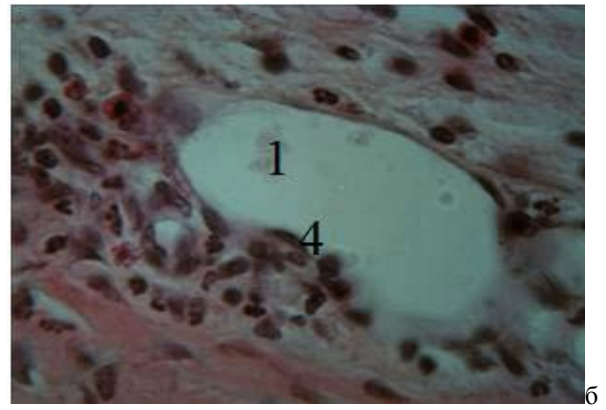
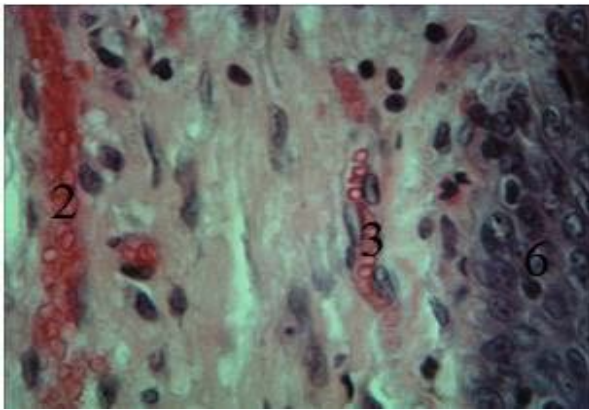


Рис. 3. Структури райдужно-рогівкового кута у щурів на 14 добу введення опіоїдного анальгетика. А) Заб. азаном. Зб. ок. x40, об. x10 Б) Заб. г.-е. Зб. ок. x40, об. x10: 1-шлемів канал; 2- венозне повнокрів'я; 3- сладжі еритроцитів в просвітах кровосносних капілярів; 4- ендотеліцити в стінці шлемового каналу; 6-лімфоцити в проміжному шарі переднього епітелію лімба.

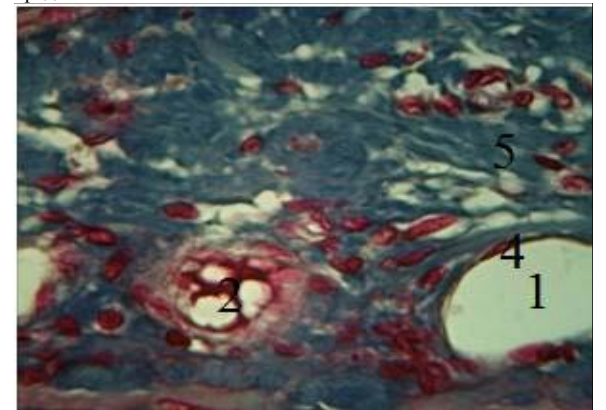
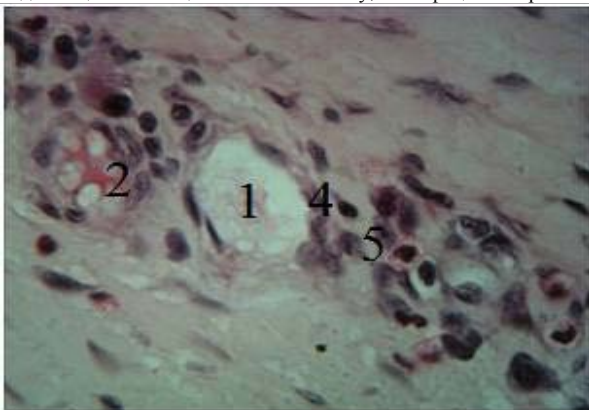


Рис. 4. Структури райдужно-рогівкового кута на 21 добу введення опіоїдного анальгетика. А) Заб. г.-е. Зб. ок. x4, об. x10, Б) Заб. азаном. Зб. ок. x40, об. x10: 1-шлемів канал; 2- венозне повнокрів'я; 3- сладжі еритроцитів в просвітах кровосносних капілярів; 4- ендотеліцити в стінці шлемового каналу; 5 - лейкоцитарна інфільтрація сполучної тканини навколо шлемового каналу.

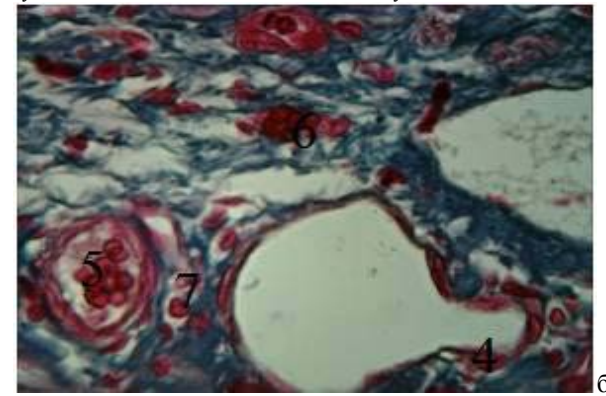
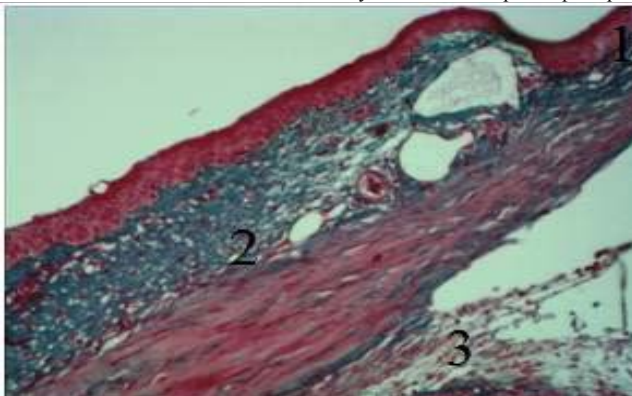


Рисунок 5. Структури райдужно-рогівкового кута у щурів на 28 добу введення опіоїду. Заб. азаном. Зб. ок. x10, об. x10: 1-рогівка; 2- лімб; 3-війкове тіло; 4- ендотеліцити в стінці шлемового каналу; 5- венозне повнокрів'я; 6- сладжі еритроцитів в просвітах кровосносних капілярів; 7 - лейкоцитарна інфільтрація сполучної тканини навколо шлемового каналу.

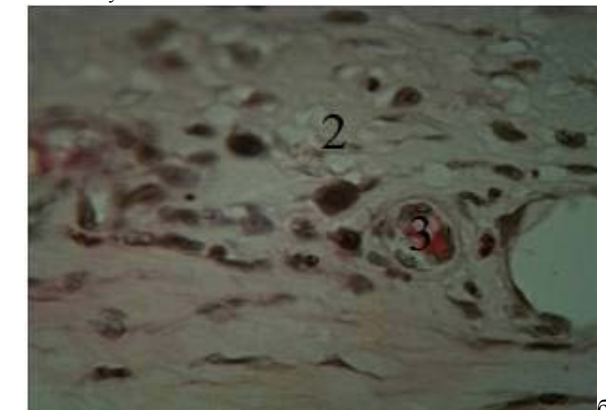
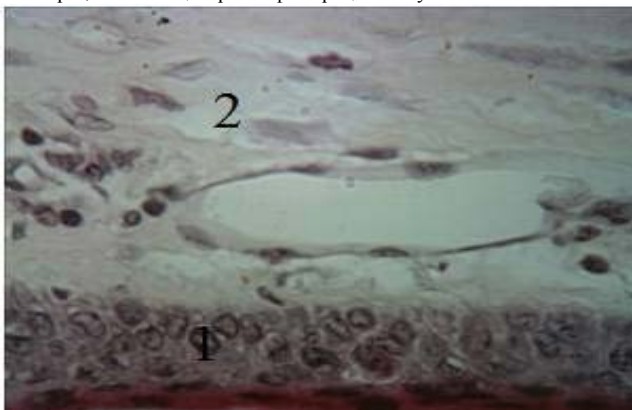


Рис. 6. Структури райдужно-рогівкового кута у щурів на 28 добу введення опіоїду. Заб. г.-е. Зб. ок. x40, об. x10 1 - передній епітелій лімба; 2 - набряк інтерстицію; 3 - венозне повнокрів'я.

Межа між епітеліальним пластом та сполучною тканиною згладжена. В базальній мембрані, яка відмежовує епітелій від власної речовини рогівки колагенові волокна розпушені, між ними виявляємо лімфоцити.

Спостерігаємо явища гіперплазії та гіпертрофії фібробластів, а також гіпертрофію колагенових волокон, які більше виражені ніж в попередньому терміні дослідження (рис. 5). Стінка кровоносних капілярів не суцільна. Виявляються ділянки десквамації ендотеліоцитів. Ендотеліоцити в стінках кровоносних капілярів неоднорідні по структурі. Так, поряд з нормохромними клітинами подібними до таких як у контрольних щурів виявляли клітини з просвітленою цитоплазмою, що вказує на набряк цитоплазми ендотеліоцитів. Базальна мембрана в стінках капілярів є розпушеною, зустрічаються ділянки діapedезних крововиливів навколо кровоносних капілярів. Просвіти венул розширені, різко повнокровні. У просвітах судин велика кількість гранулярних та агранулярних лейкоцитів. Подекуди у венулах є пристінкові тромби. Ендотеліальна вистілка в стінці венул не суцільна. Виявлялись ділянки десквамації ендотеліоцитів, стаз лейкоцитів, розміщення лейкоцитів біля ендотелію та явище діapedзу через стінки. Проникливість судинних стінок венул порушена. На що вказує виражений набряк інерстицію, периваскулярні геморагії, а також збільшена чисельність тканинних базофілів та лейкоцитів в периваскулярних просторах (рис 6).

На 35 добі опіоїдного впливу в рогівці присутня гіперплазія та гіпертрофія фібробластів, а також гіпертрофія колагенових волокон, яка більше виражена ніж в попередньому терміні дослідження. Пучки колагенових волокон втрачають чіткий напрямок, а також візуалізувалось їхнє розшарування та розпушеність. Цитоплазма фібробластів та фіброцитів з ознаками набряку. Їх ядра деструктивно змінені, часто пікнотичні.

Через 42 доби в експериментальній групі тварин, яким вводили опіоїд, на відміну від попереднього терміну спостереження серед лейкоцитів переважають ацидофільні лейкоцити, що вказувало на виникнення алергічних реакцій.

Надумок

Будова структур райдужно-рогівкового кута щурів при довготривалому впливі опіоїду змінюється залежно від терміну введення препарату. Реакція з боку мікроциркуляторного русла полягає у розширенні просвітів судин та повнокрів'ї, десквамації ендотеліоцитів, появи тромбоцитів, агранулярних та гранулярних лейкоцитів у просвітах з крайовою локалізацією та діapedез через стінки. Порушується будова та цілісність судинних стінок більшої частини венул та артеріол. З появою ацидофільних лейкоцитів можливий ризик виникнення алергічних реакцій. Порушується структура епітеального шару та сполучної тканини. Дані зміни вказують на зниження функціональної активності досліджуваної ділянки.

Література

1. Адрашкин А.П. Роль сердечно-сосудистой системы в танатогенезе у опийных наркоманов второй стадии/ А.П. Адрашкин, И.В. Саломатин, Б.Ф. Мурашов [и др.] // - М., - 2003.-С.18.
2. Бунин А.Я. Микроциркуляция глаза / А.Я. Бунин, Л.А. Качнельсон, А.А. Яковлев // - М.: Медицина, - 1984. - 175 с.
3. Вієвський А.М. Зріз наркотичної ситуації в Україні (дані за 2011 р.) / А.М.Вієвський, М.П.Жданова, С.В.Сидяк [та ін.] // -К., - 2012.-25 с.
4. Онисько Р.М. Пат. № 76564U Україна, МПК А 61 л 31/00. Спосіб моделювання фізичної опіоїдної залежності у щурів / Р.М. Онисько, Е.В. Пальтов, В.Б. Фік [та ін.]; патентовласник Львівський нац. мед. ун-т ім. Д.Галицького.-№ у 201207124; заявл.12.06.2012; опубл. 10.01.2013 Бюл. № 1.
5. Рохлина М.Л. Клинико - социальные последствия наркоманий / М.Л. Рохлина, А.А. Козлов, И.Я. Каплан // Вопросы наркологии. - 1998. - № 1. - С. 11-20.
6. Раецька Л.В. Тенденції поширення наркоманії в Україні / Л.В. Раецька // Боротьба з організованою злочинністю і корупцією.-2008.-№18.-С.
7. Сичкориз Л.М. Морфометрический анализ ангиоархитектоники ишемизированной радужки глаза / Л.М. Сичкориз, Л.Р. Матешук, М.П. Закута // Проблемы патологии в эксперименте и клинике, - 1989. - Т. 11. - С. 75.
8. Сергеев П.В. Рецепторы физиологически активных веществ / П.В. Сергеев, Н.Л. Шимановский, В.И. Петров // - Волгоград: Семь ветров, - 1999. - 640с.
9. Танчин И.А. Венозное русло глаза при нарушении периферического кровообращения / И.А. Танчин, З.З. Масна // Проблемы патологии в эксперименте и клинике, - 1991. - Т. 13. - С. 123.
10. Шабанов П.Д. Биология алкоголизма / П.Д. Шабанов, С.Ю. Калишевич // -С.Пб., - 1998.-271с.
11. Dustin D. «Substance use disorder and the risk of glaucoma» French / D. Dustin, M. Curtis, E. Harman [at al.] // Journal of Glaucoma.-2011.-Vol.20, № 7.- P.401-463.
12. Official Records of the Economic and Social Council Fourteenth Session, // Supplement №1 (E/2331). – 12 p.
13. Peant M.A. Alcohol, drugs and school leavers. / M.A. Peant, D.F. Peck, E. Samue1 // - London-Tavis-tock, - 1985.-130 p.
14. Volkov V.G. Assessment of the state of drug addicts from characteristics of oculomotor activity and visual-motor coordination / V.G.Volkov // Human physiol.-1994.-Vol.20, № 4.-P.256-262.
15. Volkov V.G. Changes in optical tracking function in opium addicts / V.G.Volkov // Human physiol.-1994.-Vol.19, № 5.-P.342-348.

Реферати

МИКРОСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАДУЖНО-РОГОВИЧНОГО УГЛА ГЛАЗНОГО ЯБЛОКА КРЫС ПРИ ОПИОИДНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Якимив Н.Я., Кривко Ю.Я.

На основании проведенного комплекса морфологических исследований нами установлены морфологические особенности в строении радужно-роговичного угла крыс на разных сроках хронического опииоидного воздействия. И доказано, что степень выраженности этих изменений зависит от срока введения опииоидного анальгетика и проявляются в первую очередь со стороны микроциркуляторного русла исследуемого участка.

Ключевые слова: радужно-роговичный угол, опииоид, крыса, микроциркуляторное русло.

MICROSTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF IRIDO-CORNEAL ANGLE OF THE EYE OF RATS UNDER THE INFLUENCE OF OPIOID

Yakymiv N.Y., Kryvko Y.Y.

Based on the complex morphological research, we established morphological features in the structure of irido-corneal angle in rats at different stages of chronic opiioid exposure. And it is proved that the severity of these changes depends on the duration of administration of opiioid analgesics and is shown primarily by the microvasculature of the investigated area.

Key words: irido-corneal angle, opiioid, rat, microcirculatory channel.

Стаття надійшла 2.11.2013 р.

Рецензент Гасюк А.П.