

**Н.Я. Якимів**

## **УЛЬТРАСТРУКТУРНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРУКТУР РАЙДУЖНО-РОГІВКОВОГО КУТА ОЧНОГО ЯБЛУКА ЩУРІВ НА 7-У, 14-У, 21-У, 28-У ДОБУ ОПІОЇДНОГО ВПЛИВУ**

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького*

**Якимів Н.Я.** Ультроструктурна характеристика структур райдужно-рогівкового кута очного яблука щурів на 7,14, 21, 28 добу опіоїдного впливу // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 28-31.

**Метою** дослідження є дослідити вплив опіоїду на структури райдужно - рогівкового кута щурів на ультроструктурному рівні, на різних термінах впливу, зокрема на 7-у, 14-у, 21-у та 28-у добу. Дослід виконаний на щурах-самцях лінії Вістар. В результаті електронномікроскопічного дослідження ультратонких зрізів ділянки райдужно-рогівкового кута ока встановлено, що у щурів, яким вводили опіоїд, морфологічні зміни в структурі лимба пов'язані з дистрофічними та деструктивними процесами в судинах кровоносного мікроциркуляторного русла які призводять до порушення гемодинаміки. Епітеліоцити переднього епітелію лимба також зазнали дистрофічних та деструктивних змін. В сполучній тканині виявлені ознаки периваскулярного та перичелюлярного набряку, а також дистрофічні та деструктивні зміни в цитоплазмі фібробластів, збільшення чисельності тканинних базофілів та гістіоцитів та деструкція колагенових волокон. Отримані нами дані про зміни ультроструктури райдужно-рогівкового кута ока можна екстраполювати на осіб, які вживають наркотичні речовини опіатної групи.

**Ключові слова:** ультроструктура, райдужно-рогівковий кут, очне яблуко, опіоїд

**Якимів Н.Я.** Ультроструктурная характеристика структур радужно-роговичного угла крыс на 7, 14, 21 и 28 сутки опиоидного влияния // Украинский морфологический альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 28-31.

**Целью** исследования является изучить влияние опиоида на структуры радужно - роговичного угла крыс на ультроструктурном уровне, на разных сроках воздействия, в частности на 7, 14, 21 и 28 сутки. Опыт выполнен на крысах - самцах линии Вистар. В результате электронномикроскопического исследования ультратонких срезов участка радужно - роговичного угла глаза установлено, что у крыс, которым вводили опиоид, морфологические изменения в структуре лимба связанные с дистрофическими и деструктивными процессами в сосудах кровеносного микроциркуляторного русла которые приводят к нарушению гемодинамики. Кератиоциты переднего эпителия лимба также подверглись дистрофическим и деструктивным изменениям. В соединительной ткани выявлены признаки периваскулярного и перичеллюлярный отека, а также дистрофические и деструктивные изменения в цитоплазме фибробластов, увеличение численности тканевых базофилов и гистиоцитов и деструкция коллагеновых волокон. Полученные нами данные об изменениях ультроструктуры радужно - роговичного угла глаза можно экстраполировать на лиц, употребляющих наркотические вещества опийной группы.

**Ключевые слова:** ультроструктура, радужно - роговичный угол, глазное яблоко, опиоид

**Yakymiv N.Y.** Ultrastructural characteristics of irido-corneal angle of eye of rats on 7th,14 th, 21st and 28th days of opiod influence // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 28-31.

The aim of this study is to investigate the effect of the opiod on the structure of irido - corneal angle of rats at the ultrastructural level, at different stages of exposure, particularly on 7th,14 th, 21st and 28th days. The experiment is carried out on male Wistar rats. As a result of electron microscope study of ultra- thin sections of the area of irido - corneal angle of the eye, it was found that morphological changes in the structure of the limb of rats, under the opiod, are connected with degenerative and destructive processes in the circulatory vessels of the microvasculature that violate hemodynamics. Keratinocytes of the anterior limb epithelial also undergone degenerative and destructive changes. In the connective tissue the signs of per vascular edema and per cellular swelling were revealed as well as the degenerative and destructive changes in the cytoplasm of fibroblasts, the increasing number of basophils and tissue histiocytes and the destruction of collagen fibers. Our data on changes in the ultra structure of rainbow - corneal angle of the eye can be extrapolated to people who use drugs of opiate group.

Keywords: ultrastructure, irido - corneal angle, eyeball, the opiod

**Актуальність:** Протягом останніх років проблема вживання наркотичних речовин набуває особливої актуальності, як у світі так і в Україні. Все більше поширюється немедичне вживання психотропних і сильнодіючих речовин. 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 [5,7]. Серед осіб, які вживають наркотичні речовини, приблизно половину складають ті, які вживають

препарати опіатної групи [1]. Проведені поодинокі дослідження іноземних авторів показали, що особи, які вживають наркотичні речовини даної групи, мають більш високий ризик розвитку глаукоми порівнянні із контролем [15,16]. Результати патологоанатомічних та експериментальних досліджень останніх років дозволили виявити цілий комплекс змін з боку внутрішніх органів у споживачів опіатів, в тому числі з боку судинної системи [6,8,9,11,12,13,14]. Останнім часом зустрічаються поодинокі дослідження

опіоїдного впливу на орган зору та інші органи [2,4,10]. На даний час актуальним питанням є вивчення, як в експериментальних, так і в клінічних дослідженнях впливу опіоїдів на структури очного яблука, зокрема райдужно-рогівкового кута ока. Так як порушення гемодинаміки органу зору нерідко є причиною захворювань, які ведуть до зниження гостроти зору та сліпоти. Виявлення ознак даної патології при опіоїдному впливові дозволить своєчасно провести профілактичні та лікувальні заходи.

**Мета:** Дослідити на ультраструктурному рівні вплив опіоїду на структури райдужно - рогівкового кута щурів на різних термінах впливу, зокрема на 7, 14, 21 та 28 добу. Стаття є частиною науково-дослідної роботи кафедри анатомії людини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Структура органів та їх кровоносного русла в онтогенезі, під дією лазерного опромінення та фармацевтичних засобів при порушеннях кровопостачання, реконструктивних операціях та цукровому діабеті» (номер держреєстрації 0110U001854) впродовж 2010 – 2014 рр.

**Матеріали і методи:** Вивчали морфологічні особливості райдужно-рогівкового кута у щурів-самців лінії «Вістар» (48 тварин). Яким у продовж 6 тижнів внутрішньоочередивно вводили опіоїдний анальгетик, з послідовним підвищенням доз [4]. Тварини були поділені на 6 груп, залежно від терміну виведення із експерименту. Збір матеріалу (очне яблуко) проводили на 7,14, 21, 28, 35, 42 добу експерименту. Перед проведенням забору біопсійного матеріалу (очного яблука) тварину присипляли внутрішньоочередивним введенням тіопенталу (з розрахунку 25 мг/1кг), після чого проводилась енукеація очного яблука для дослідження. Препарати для дослідження готували за загально прийнятою методикою. Вивчення і фотографування матеріалу проводили за допомогою мікроскопа УЕМВ – 100 К( Україна) при прискорюючій напрузі 75 кВ і збільшеннях на екрані мікроскопа 1500 х – 30000 х. 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 I Національним конгресом України з біоетики (Київ 2001 р.), Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

**Результати:** В результаті вивчення з допомогою електронного мікроскопа ультратонких зрізів райдужно-рогівкового кута очного яблука білого щура, виявлено, що опіоїдний вплив зумовлює ураження різних клітинних та неклітинних елементів досліджуваної ділянки. Так на 7 та 14 добу опіоїдного впливу в кератиноцитах базального шару епітелію лімба виявлялись гіпертрофовані мітохондрії. Ядерна оболонка їх утворювала чисельні інвагінації. Мембранні елементи

крист мітохондрій базального та проміжного шарів були розпушеними, а матрикс дезорганізований. В цитоплазмі епітеліоцитів поверхневого шару епітеліального покриву лімба також виявлялись деструктивно змінені мітохондрії. У цей термін спостереження серед клітин пухкої сполучної тканини переважали фіброласти та фіброцити, однак як і у інтактних щурів, подекуди виявлялись гістіоцити, тканинні базофіли, плазмоцити та поодинокі лімфоцити. Між вказаними клітинами розташовані обширні поля пучків колагенових волокон. В цитоплазмі фіброblastів виявлялись чисельні секреторні гранули, гіперплазовані та гіпертрофовані мітохондрії, що опосередковано вказує на посилені процеси синтезу.

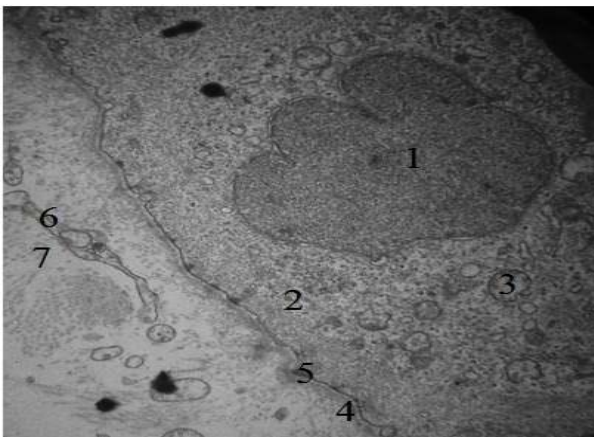
У просвітах кровоносних капілярів виявляли велике скупчення еритроцитів. Люмінальні поверхні ендотеліальних клітин гемокапілярів утворювали чисельні вирости у формі мікроворсинок. В цитоплазмі ендотеліоцитів розташовані мітохондрії в стані набряку. Кристи в деяких мітохондріях були деструктивно змінені. Ядра більшої частини ендотеліоцитів мали видовжену форму. Хроматин в таких ядрах добре структурований. Однак нуклеолема в деяких ядрах формувала чисельні інвагінації. Міжклітинні контакти між ендотеліоцитами гемокапілярів були подібні до таких у інтактних білих щурів. Базальна мембрана в стінці кровоносних капілярів неоднорідна за своєю структурою на 14 добу досліджу. Ультраструктура перичитів та адвентиційних клітин в стінках кровоносних капілярів за даних умов була подібною до такої як у інтактних білих щурів. Просвіти лімфатичних капілярів лімба були розширені.

Зміни трабекулярної сітки проявлялись у вигляді незначних змін в системі комірок, а саме появою на люмінальних поверхнях ендотеліальних клітин мікроворсинок, сплюсненням ендотеліоцитів та появою в їх цитоплазмі значної кількості юних мітохондрій.

У білих щурів, яким вводили опіоїд протягом 21 та 28 діб зміни в ультраструктурній організації кератиноцитів базального, проміжного та поверхневого шарів епітеліального пласта очного яблука більше виражені ніж в попередньому терміні спостереження. Так хроматин в ядрах кератиноцитів базального шару епітелію був конденсований. Каріолема утворювала чисельні інвагінації. В цитоплазмі кератиноцитів епітелію лімба розташовані чисельні вакуолі. Мітохондрії цитоплазми таких кератиноцитів були просвітленими, а кристи в них деструктивно змінені. Матрикс між кристами розширений. Однак поруч з дистрофічно зміненими кератиноцитами в базальному шарі епітелію лімба виявлялись групи кератиноцитів з гіпертрофованими ядрами, а їх каріолема містила чисельні інвагінації. Еухроматин у ядрах таких кератиноцитів займав більшу його частину. В ядрах кератиноцитів базального шару епітелію лімба розташовані одно або два добре структуровані ядрця. Міто-

хондрії в цитоплазмі таких кератиноцитів були гіпертрофованими. Поруч з гіпертрофованими мітохондріями були розташовані чисельні подібні до мітохондріальних «бруньок» структури, що може вказувати на активацію процесів утворення мітохондрій в цей термін спостереження.

Базальна мембрана, яка відділяла епітеліоцити від сполучної тканини лімба очного яблука була не однорідною. Поряд із ділянками структурно подібними до таких як у інтактних білих щурів, виявляли ділянки колагенових волокон в стані деструкції. Напівдесмосоми між базальною мембраною та плазматичними мембранами епітеліальних клітин базального шару епітелію лімба, виявлялись рідше ніж у інтактних щурів (рис. 1).

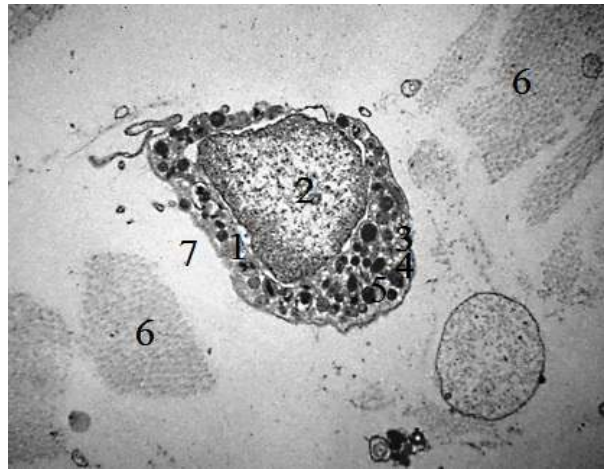


**Рисунок 1.** Ультраструктура кератиноцита базального шару покривного епітелію та базальної мембрани лімба очного яблука білого щура, якому вводили опіоїд протягом 21 доби. Електронограма x4000. 1-ядро базального кератиноцита; 2- цитоплазма базального кератиноцита; 3-мітохондрії, що знаходяться в стані деструкції; 4-розпушена базальна мембрана; 5-напівдесмосома; 6-цитоплазма фібробласта; 7-пучок колагенових волокон сполучної тканини лімба.

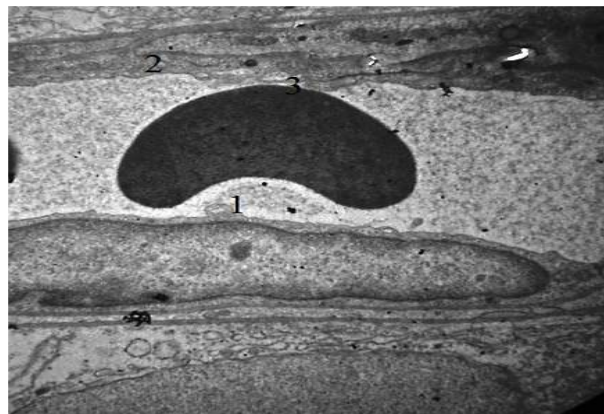
В сполучній тканині лімба поблизу деструктивно змінених ділянок колагенових волокон виявлялись макрофаги, в цитоплазмі яких розміщені чисельні лізосоми, та ацидофільні лейкоцити, цитоплазма яких містила чисельні секреторні гранули. Подекуди виявляли перичелюлярний набряк, однак набряк інтерстицію найбільше виражений в переваскулярних просторах. На відміну від попереднього терміну спостереження в сполучній тканині виявлялись чисельні тканинні базофіли, в цитоплазмі яких розташовані електроннощільні гранули та мітохондрії з просвітленим матриксом. Простори між мітохондріальними кристами, в таких мітохондріях, були розширеними. В цитоплазмі ряду тканинних базофілів виявлялись скупчення мітохондрій, що містили дезорганізовані кристи (рис. 2).

У білих щурів, яким вводили опіоїд протягом 21 та 28 діб зміни в структурі стінок та просвітів судин мікроциркуляторного русла прогресували і були більше виражені ніж на попере-

дньому терміні спостереження. Так в кровоносних капілярах просвіти були звуженими за рахунок набряку цитоплазми ендотеліоцитів, а також чисельних виростів цитоплазми в просвіти. Часто виявлялись ділянки адгезії еритроцитів та тромбоцитів до ендотеліоцитів. Тут також були значно більше виражені адгезія та діapedез лейкоцитів через стінки венул. При цьому виявлялись розширені міжендотеліальні контакти, неоднорідна структура базальної мембрани в стінках кровоносних судин. Нерівномірне потовщення базальної мембрани, набряк і вогнищева деструкція колагенових волокон, а також гіперплазія та гіпертрофія мітохондрій в цитоплазмі ендотеліоцитів більше виражена ніж в попередньому терміні спостереження (рис. 3).



**Рисунок 2.** Ультраструктура сполучної тканини лімба очного яблука білого щура, якому вводили опіоїд протягом 21 доби. Електронограма x4000. 1-тканинний базофіл; 2-ядро; 3- цитоплазма; 4- мітохондрія; 5-електронно щільна гранула; 6- пучок колагенових волокон; 7- інтерстицій лімба в стані набряку.



**Рисунок 3.** Ультраструктура стінки кровоносного капіляра лімба очного яблука білого щура, якому вводили опіоїд протягом 28 діб. Електронограма x4000. 1-виріст цитоплазми ендотеліоцита в просвіт капіляра; 2- цитоплазма перицита в стані набряку; 3-адгезія еритроцита до ендотеліоцита.

В дренажній системі ока протягом цього періоду наростали зміни, які проявлялись появою в цитоплазмі ендотеліальних клітин комірок

значної кількості дезорганізованих юних мітохондрій. Так в цитоплазмі даних клітин виявлялась поодинокі вакуолі різного діаметру. Між базальною мембраною комірки та базальною частиною ендоплазми ендотеліальних клітин, субепітеліальний пласт майже не проявлявся. Фібробласти трабекулярної сітки були гіпертрофованими та оточені значними кількостями дезорганізованих колагенових волокон.

**Висновки:** Таким чином ми можемо зробити висновок, що у щурів, яким вводили опію протягом 7-28 діб, зміни в структурі лімба на ультраструктурному рівні пов'язані з наростанням дистрофічних та деструктивних процесів в судинах кровоносного мікроциркуляторного русла які призводять до порушення гемодинаміки. Епітеліоцити переднього епітелію лімба також зазнали дистрофічних та деструктивних змін. В сполучній тканині виявлені ознаки периваскулярного та перицелюлярного набряку, а також дистрофічні та деструктивні зміни в цитоплазмі фібробластів, збільшення чисельності тканинних базофілів та гістіоцитів та деструкція колагенових волокон. Зміни трабекулярної сітки характеризуються змінами в ендотеліоцитах комірок.

**Перспективи подальшого розвитку у даному напрямку:** в результаті проведеного дослідження встановлено особливості структур райдужно-рогівкового кута очного яблука щурів на ультраструктурному рівні під впливом опію. Враховуючи те, що ультраструктурна будова райдужно-рогівкового кута у щурів наближена до такої у людей, отримані нами дані можуть бути основою для використання райдужно-рогівкового кута ока щура у подальших експериментальних дослідженнях практичної медицини. Ці дані також можна екстраполювати на осіб, які вживають наркотичні речовини опіюної групи.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

- Зріз наркотичної ситуації в Україні (дані за 2011 р.) / А.М. Вієвський, М.П. Жданова, С.В. Сидяк [та ін.].-К., 2012.-25 с.
- Онисько І. О. Мікроструктурні зміни в язиці, викликані впливом малих доз опію протягом 42-ох і 56-ти діб (експериментальне дослідження) / І.О. Онисько, Р.М. Онисько, А.П. Король, О.Є. Маєвський // Вісник морфології. – 2013. – Том 19. №2. – С. 280 – 285/
- Пат. № 76564U Україна, МПК А 61 л 31/00. Спосіб моделювання фізичної опіюної залежності у щурів / Онисько Р.М., Пальтов Е.В., Фік В.Б. [та ін.]; патентовласник Львівський нац. мед. ун-т ім. Д.Галицького.-№ у 201207124; заяв. 12.06.2012; опубл. 10.01.2013 Бюл. № 1.
- Підвальна У.Є. Морфометрична характеристика перебудови судинної оболонки очного яблука під впливом налбуфіну / У.Є. Підвальна // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2013.– т. 8, № 3.– С. 94-96.
- Расцька Л.В. Тенденції поширення наркоманії в Україні / Л.В. Расцька // Борьба з організованою злочинністю і корупцією.-2008.- №18.-С. 67-76.
- Роль сердечно-сосудистой системы в танатогенезе у опийных наркоманов второй стадии/ А.П. Адрапкин, И.В. Саломатин, Б.Ф. Мурашов, П.Ф. Панин: Тезисы докл. Рос.нац.конгр.кардиологов, 7-9 окт. 2003г.// От исследований к стандартам лечения.- М.,2003.- С.18.
- Рохлина М.Л. Клинико - социальные последствия наркоманий / М.Л. Рохина, А.А. Козлов, И.Я. Каплан // Вопросы наркологии.- 1998. - № 1. - С. 11-20.
- Сергеев П.В. Рецепторы физиологически активных веществ / П.В. Сергеев, Н.Л. Шимановский, В.И. Петров.- Волгоград: Семь ветров, 1999. - 640с.
- 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.
- Токсичне ураження зорових нервів внаслідок тривалого прийому левоміцетину на тлі наркотичної залежності від кодтерпіну / І.Я. Новицький, Н.Я. Якимів, О.М. Єрохова [та ін.] // Офтальмологический журнал.- 2012.- №3.- С.43-45.
- Шабанов П.Д. Биология алкоголизма / П.Д. Шабанов, С.Ю. Калишевич.-С.Пб., 1998.- 271с.
- Assessmant of the state of drug addicts from characteristics of oculomotor activity and visual-motor coordination / V.G. Volkov // Human physiol.- 1994.-V.20, № 4.-P.256-262.
- Changes in optical tracking function in opium addicts / V.G. Volkov // Human physiol.-1994.-V.19, № 5.-P.342-348.
- Morton W., Schuman S. Effects on the eyes and visual system from chemicals, drugs, metals and minerals // Toxicology of the eye 1993.- P. 24-29.
- Peant M.A., Peck D.F., Samuel E. Alcohol, drugs and school leavers. — London-Tavistock,1985.-130p.
- «Substance use disorder and the risk of glaucoma» French / Dustin D., Margo Curtis, E. Harman, Lynn E. // Journal of Glaucoma.-2011.– V.20, № 7.- pp.401-463.

Надійшла 17.03.2014 р.

Рецензент: проф. В.І.Лузін