

Е.В. Пальтов, О.А. Ковалишин, В.Б. Фік, Ю.Я. Кривко, Л.В. Пацкевич  
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів

## ПРОЯВИ ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН У ШАРАХ СІТКІВКИ ЧЕРЕЗ ДЕСЯТЬ ТИЖНІВ ОПІОЇДНОГО ВПЛИВУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

E-mail: orusia75@gmail.com

У представленій нами роботі була поставлена мета вивчити появу та прояви патоморфологічних ангіо - та нейроретинопатій на тлі хронічного впливу терапевтичних доз опіоїдного анальгетика. Поставлена мета була досягнута за допомогою використання гістологічної методики візуалізації сітківки. Гістологічні препарати готували за загальноприйнятою методикою з використанням барвників гематоксилін, еозин, та (азан) за методикою Гайденайна. Результати дослідження у майбутньому дозволять сформувати патоморфологічну базу, яка може бути використана з метою проведення порівняльної характеристики шарів сітківки та ланок її гемомікро-циркуляторного русла в нормі з даними термінів експериментального опіоїдного впливу та результатами корекції. Вказане вище в подальшому надасть можливість розробити методи оптимальної корекції ангіо - та нейроретинопатій, які виникли в результаті опіоїдного впливу.

**Ключові слова:** сітківка, шур, опіоїд, гемомікроциркуляторне русло.

*Дане дослідження є фрагментом НДР «Структурна організація, ангіоархітекtonіки та антропометричні особливості органів у внутрішньо та позаутробному періодах розвитку, за умов екзо – та ендопатогених факторів» (№ державної реєстрації 0115U000041).*

Незважаючи на те, що у доступній літературі існують праці у яких піднімається питання щодо патоморфологічних наслідків опіоїдної інтоксикації [1 - 4] і досі до кінця не висвітленим є питання, що стосується впливу опіоїдної інтоксикації на ланки гемомікроциркуляторного русла та шари сітківки. Особливо цікавим є питання патологічних проявів у шарах сітківки та ланках гемомікроциркуляторного русла у поверхневій та глибокій сітці сітківки та наслідки цього впливу. Зокрема, у патоморфології цього питання цікавим є поетапність наростання змін у шарах сітківки та їх глибина з паралельно виникаючими змінами у ланках гемомікроциркуляторного русла, що є патоморфологічним субстратом ангіо - та нейроретинопатій [4]. В подальшому ретельне вивчення даної проблеми дасть можливість відповісти на питання вибору терміна корегуючого впливу.

Враховуючи вищезазначене, вважаємо, що дане дослідження є актуальним як з точки зору морфології, так і з точки зору експериментальної та практичної офтальмології.

**Метою** роботи було вивчити появу та прояви патоморфологічних ангіо- та нейроретинопатій на тлі хронічного впливу терапевтичних доз опіоїдного анальгетика. Ці дослідження в подальшому можуть бути використаними для розробки методів оптимальної корекції ангіо- та нейроретинопатій, які виникли внаслідок опіоїдного впливу.

**Матеріал та методи дослідження.** Матеріалом дослідження слугували статево зрілі, безпородні шури-самці в кількості 15 – ти тварин, масою 270 г, віком 5,0 місяців. Тваринам проводили ін'єкції препарату налбуфін дом'язово, щоденно 1 раз на добу в одному проміжку часу (10 –11 година ранку) впродовж 42 діб. Початкова доза налбуфіну впродовж перших 2 – х тижнів становила 0,212 мг/кг, наступних 2 – х (II – IV тижня ) – 0,225 мг/кг, наступна (IV – VI тижня ) – 0,252 мг/кг, наступна (VI – VIII тижня) – 0,260 мг/кг, а впродовж (VIII – X тижня ) – 0,283 мг/кг. Таким чином, створювали умови хронічного опіоїдного впливу [4].

Тварини поділені на 2 групи. 1- а група тварин отримувала налбуфін протягом 70 діб з наступним забором матеріалу дослідження (кінець 10 тижня експериментального опіоїдного впливу); 2- а група контрольна, яка протягом 70 діб отримувала ін'єкції фізіологічного розчину дом'язово в одному проміжку часу (10 – 11 година ранку). Усі тварини знаходились в умовах віварію і робота, що стосувалася питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” [Стразбург, 1986], “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики [Київ, 2001], Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Комісією з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01. 11. 2000 року (протокол № 10 від 26.12. 2011 року), (протокол №2 від 20 лютого 2012 року). Перед проведенням забору прижиттєво матеріалу тварин присипляли внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу натрію (з розрахунку 25 мг/1кг). Як матеріал для мікροструктурного дослідження використали очні яблука шурів отримані методом посмертної енуклеації з подальшим врахуванням збереження топографічного співвідношення оболонки ока. Виготовляли гістологічні зрізи товщиною 5 – 7 мкм. Гістологічні препарати готували

за загальноприйнятою методикою з використанням барвника гематоксиліну, еозину та азану за методом Гайденайна [5]. Мікроскопічні дослідження та фотографування препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа МБІ – 1 і цифровим фотоапаратом Nicon D 3100.

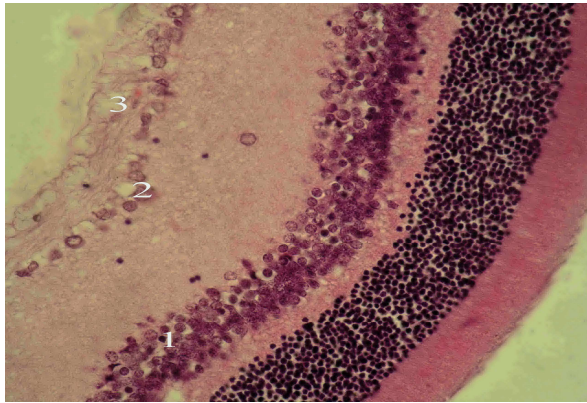


Рис. 1. Сітківка щура через десять тижнів введення опію: 1-перичелюлярний набряк у внутрішньому ядерному шарі; 2- ядра амакринових клітин та лімфоцити у внутрішньому сітчастому шарі; 3-перичелюлярний набряк та мікрокістозні порожнини у нервоволокнистому шарі. Заб. азаном 3б.: x 400.

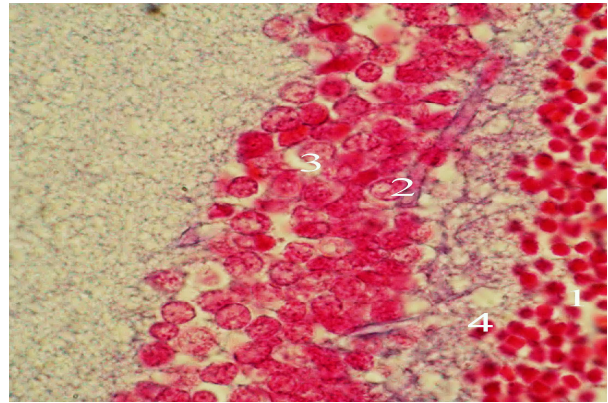


Рис. 2. Сітківка щура через десять тижнів введення опію: 1-розширені проміжки між ядрами у зовнішньому ядерному шарі; 2 – перичелюлярний набряк у внутрішньому ядерному шарі; 3- каріопікноз фотосенсорних та амакринових клітин; 4- мікрокістозна дегенерація зовнішнього сітчастого шару. Заб. азаном 3б.: x1000.

**Результати дослідження та їх обговорення.** В результаті проведеного нами мікроскопічного дослідження структурної організації шарів сітківки щура через десять тижнів перебігу експерименту цитоплазма пігментних епітеліоцитів (I) просвітлена, містить вакуолі. На окремих ділянках сітківки ядра пігментного епітелію лізовані (каріолізіс), цитоплазма розпадається на окремі фрагменти або сітчасту масу (плазмореक्सис), а в окремих клітинах цитоплазма розплавлена. Між групами фотосенсорних клітин (II) виявлено просвітлення, з формуванням мікрокістозних порожнин. У такі ділянки переміщуються ядра фотосенсорних клітин, як це показано на рис. 1. У зовнішньому пограничному шарі (III) на цьому терміні експерименту ознак патології не виявлено. У зовнішньому ядерному шарі (IV) збільшується кількість зморщених ядер неправильної форми, як це видно на рис. 2. Кількість рядів ядер зовнішнього ядерного шару сітківки в ділянці диска зорового нерва змінюється і становить 4–8. Слід зазначити, що некротичні зміни ядер фоторецепторів супроводжуються змінами їх аксонів та зовнішніх ділянок фотосенсорних клітин, що проявляється формуванням мікрокістозних порожнин у зовнішньому сітчастому шарі та руйнуванням, вкороченням зовнішніх ділянок фоторецепторів, а подекуди і розшаруванням внутрішніх ділянок фоторецепторів.

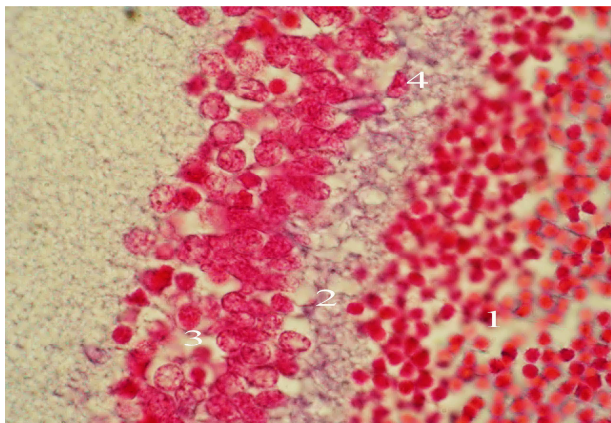


Рис. 3. Сітківка щура через десять тижнів введення опію: 1- нещільне розташування ядер у внутрішньому ядерному шарі; 2- мікрокістозна дегенерація зовнішнього сітчастого шару; 3- окремі пікнотичні ядра у внутрішньому ядерному шарі; 4- переміщення ядер амакринових клітин у внутрішній сітчастий шар. Заб. азаном 3б.: x1000.

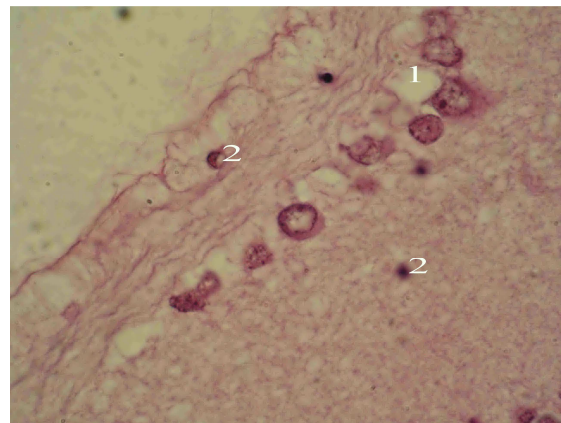


Рис. 4. Сітківка щура через десять тижнів введення опію: 1- мікрокістозна порожнина на межі гангліонарного та нервоволокнистого шарів; 2- лімфоцити у внутрішньому сітчастому та нервоволокнистому шарах. Заб. азаном 3б.: x 1000.

Кількість переміщених ядер біполярних клітин у зовнішній сітчастий шар (V) значно зростає. У деяких ділянках внутрішнього ядерного шару (VI) з'являються проміжки, незаповнені ядерними частинами клітин. Подекуди ядра амакринових клітин занурюються у внутрішній сітчастий шар. Виявлено ядра біполярних та амакринових клітин у стані каріопікнозу та каріорексису. Судини, які розміщені на межі між внутрішнім ядерним та внутрішнім сітчастим шарами мають збільшені просвіти, переповнені кров'ю. В окремих ділянках навколо ядер нервових

клітин внутрішнього ядерного шару формуються значні просвітлення (перичелюлярний набряк), як це показано на рис. 3.

У внутрішньому сітчастому шарі (VII) виявлено переміщені ядра амакринових клітин, а також лімфоцити. У гангліонарному шарі (VIII) виявлено ділянки, в яких гангліонарні клітини не формують суцільного шару, розміщені досить віддалено одна від одної. Деякі ядра неправильної форми, зморщені (караоікноз), при зафарбуванні азаном набувають інтенсивно червоного кольору. Цитоплазма в таких клітинах нерівномірно зафарбована, збирається в окремі грудки. На межі з нервоволокнистим шаром подекуди формуються мірокістозні порожнини, як це видно на рис. 4.

Капіляри гангліонарного шару зі збільшеними просвітами, переповнені кров'ю. Ендотелій капілярів з ознаками набряку, подекуди спостерігається проліферація ендотеліоцитів. Цитоплазма окремих ендотеліоцитів нерівномірно зафарбована, набрякла з ознаками гіпергідратації, має зернисту консистенцію. Стінки капілярів набряклі, нерівномірно потовщені. Сполучна тканина нервоволокнистого шару (IX) з виразними ознаками набряку. У внутрішньому пограничному шарі (X) колагенові волокна нерівномірно набряклі з явищами розволокнення.

### Висновок

Десятитижневий експериментальний опіоїдний вплив зумовлює вакуольну дистрофію та некротичні зміни пігментного епітелію, руйнування фотосенсорних клітин, мірокістозну дегенерацію зовнішнього сітчастого шару, вогнищеві некротичні зміни гангліонарних клітин та клітин внутрішнього ядерного шару, деструктуризацію гемомікроциркуляторного русла сітківки.

Перспективи подальших розробок полягають у тому, що отримані нами результати патоморфологічних проявів у шарах сітківки впродовж десяти тижнів опіоїдного впливу в подальшому можуть бути використані з метою проведення порівняльної характеристики, що стосується динаміки наростання патоморфологічних змін у шарах сітківки при короткотривалій та довготривалій дії малих доз опіоїдів, що в подальшому дасть можливість розробити методи оптимальної корекції ангіо - та нейроретинопатій, що виникли в результаті опіоїдного впливу.

### Список літератури

1. Raetska L.V. Trends in the spread of drug addiction in Ukraine. Fight against organized crime and corruption .- 2008; 318.
2. Treshchinsky IS, Kharchenko LA, Usenko VA. Some questions of drug addiction and substance abuse in Ukraine [Text]. Provisor. 1998; 4: 15-17.
3. Paltov E, Kryvko Y, Fik V, Vilkhova I, Ivasivka Kh, Pankiv M et al. Dynamics of the onset of pathological changes in the retinal layers at the end of the first week of opioid exposure. Deutscher Wissenschaftsherold. German Science Herald. 2016; 2: 30 – 33.
4. Patent №76565 Ukraine. Method of modeling of chronic opioid influence. E.V. Paltov, V.B. Fick, I.V. Vilkhova, R.M. Onisco, O.S. Fitkalo, Yu.Ya. Kryvko; Applicant and patent holder Danylo Halatsky Lviv National Medical University; published 01. 01. 2013; Bull. №1.
5. Romeys B. Microscopic technique. – М.: Medicine. 1953; 71 - 72.

### Реферати

#### ПРИЗНАКИ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СЛОЯХ СЕТЧАТКИ ЧЕРЕЗ ДЕСЯТЬ НЕДЕЛЬ ОПИОИДНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Пальтов Е.В., Ковалишин О.А., Фик В.Б., Кривко Ю.Я., Панкевич Л.В.

В представленной нами работе была поставлена цель изучить возникновение и проявления патоморфологических ангио – и нейроретинопатий на фоне хронического воздействия терапевтических доз опииодного анальгетика. Проставленная цель была достигнута при помощи использования гистологической методики визуализации сетчатки. Гистологические препараты готовили по общепринятой методике с использованием красителей гематоксилин, эозин, и (азан) по методу Гайденгайна. Результаты исследования в будущем позволят сформировать патоморфологическую базу, которая может быть использована с целью проведения сравнительной характеристики слоев сетчатки и зреньев ее гемомікроциркуляторного русла в норме с данными сроков экспериментального опииодного воздействия и результатами коррекции. Изложенное выше в дальнейшем даст возможность разработать методы оптимальной коррекции ангио – и нейроретинопатий, которые возникли в результате опииодного воздействия.

**Ключевые слова:** сетчатка, крыса, опииод, гемомікроциркуляторное русло.

Статья надійшла: 17.01.18 р.

#### MANIFESTATIONS OF PATHOMORPHOLOGICAL CHANGES IN RETINAL LAYERS AFTER TEN WEEKS OF OPIOID EXPOSURE IN THE EXPERIMENT

Paltov Ye.V., Kovalishin O.A., Fik V.B., Krivko Yu.Ya., Pankevych L.V.

The present work was aimed to study the appearance and manifestations of pathomorphological angio- and neuroretinopathy against the background of chronic effects of therapeutic doses of opioid analgesics. The purpose was achieved using the histological method of visualization of the retina. Histologic preparations were prepared according to the generally accepted method with the use of dye hematoxylin, eosin, and (azan) according to the method of Heidenghain. The results of the study in the future will allow the formation of a pathomorphological basis that can be used to perform a comparative characterization of the retina layers and its microcirculatory bloodstream in norm with the data of the experimental opioid effects and the correction results. The above will further provide an opportunity to develop methods for optimal correction of angio- and neurotrophic retinopathy that have arisen as a result of opioid exposure.

**Key words:** retina, rat, opioid, microcirculatory bloodstream.

Рецензент: Старченко І.І.