

УДК 611.84.018

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ДЕСИМПАТИЗАЦИИ ГЛАЗА КАК НОВЫЙ
СПОСОБ ВЫЗЫВАНИЯ КАТАРАКТЫ****Корсакова Н.В., Паштаев Н.П., Поздеева Н.А.***Чебоксарский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза
им. академика С.Н. Федорова» Росмедтехнологии»;**ФГОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»,
Чебоксары, e-mail: korsnv@rambler.ru*

В статье описан новый способ экспериментального моделирования катаракты *in vivo*, который инициирует формирование коркового вида помутнения хрусталика в обоих глазах и позволяет экспериментальным путем воссоздать у экспериментального животного гистологические и фенотипические изменения клеток хрусталика аналогично изменениям при возрастной корковой катаракте, выявленным у человека. Описанный в данной статье нетрудоемкий, патогенетически обоснованный, простой в использовании способ моделирования корковой катаракты *in vivo* позволит значительно повысить эффективность исследований по изучению патогенеза катаракты и разработке эффективных мер ее профилактики и терапии.

Ключевые слова: хрусталик, возрастная катаракта, корковая катаракта, экспериментальная модель

**EXPERIMENTAL AND MORPHOLOGICAL SUBSTANTIATION OF
SYMPATHECTOMY AS NEW METHOD OF CATARACT INDUCTION****Korsakova N.V., Pashtaev N.P., Pozdeeva N.A.***Cheboksary Branch, Interdepartmental Scientific-Technical Complex
«Academician S.N. Fedorov Eye Surgery»;**Department of medical biology, Chuvash State University by I.N. Ulianov, Cheboksary,
e-mail: korsnv@rambler.ru*

In this article the new method of experimental modeling of the cortical cataract is described. This method initiates the formation of the cortical cataract in both eyes and allows experimentally achieve the histological and phenotypical changes of the lens cells which are similar to human. This method is simple, proved by pathogenetic findings and it helps to rise the efficiency of investigations of cataract pathogenesis and to develop effective prophylaxis and therapy of the cataract.

Keywords: lens, senile cataract, cortical cataract, experimental modeling

По данным Всемирной организации здравоохранения, среди причин слепоты на долю катаракты приходится 43%. Заболеваемость среди лиц старше восьмидесяти лет составляет более 97% [5].

Однако различия в распространенности катаракты среди населения разных регионов, в сроках и локализации помутнения, динамике прогрессирования, а также возможность сохранения прозрачности хрусталика у определенной части людей преклонного возраста подтверждают необходимость поисков новых способов консервативного лечения и профилактики данного заболевания [6].

Исследование трофической функции нервной системы – важная и актуальная биологическая проблема при разработке способов поддержания стабильности тканевой дифференцировки и тканевого метаболизма живых организмов.

Современная литература, посвященная изучению изменений вегетативной нервной системы в онтогенезе, достаточно обширна и раскрывает важные механизмы

формирования многих возрастных заболеваний [1, 2, 7].

Доказано, что между видом формирующейся возрастной катаракты и характером вегетативного статуса пациента существует закономерность, определяющая локализацию и вид формирующегося помутнения хрусталика, что позволяет рассматривать возрастную катаракту в качестве местного проявления возрастного нейродегенеративного процесса [3, 4].

Таким образом, создание патогенетически обоснованной экспериментальной модели катаракты *in vivo*, способной адекватно отражать процесс патологического старения хрусталика, является важной, актуальной задачей современной офтальмологии и морфологии.

Цель исследования – разработать доступный, нетрудоемкий и высоко специфичный способ экспериментального моделирования коркового вида катаракты *in vivo*.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на 20 беспородных лабораторных кроликах массой 1800–2200 г, которым под

общей анестезией произведена двусторонняя симпатэктомия верхнего шейного ганглия хирургическим путем. С целью общей анестезии внутримышечно применены: рометар по 0,35 мл дважды с интервалом 10 мин, спустя 10 мин дополнительно вводят 0,1 мл золетил-100. Объектом исследования служил хрусталик глазного яблока, энуклеация которого производилась под общим наркозом через 12-14 месяцев с момента постановки эксперимента. Все действия, предусматривавшие контакт с животными, осуществлялись с учетом требований «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Сущность предлагаемого способа экспериментального моделирования коркового вида катаракты *in vivo* заключается в проведении хирургической двусторонней десимпатизации экспериментального животного путем иссечения верхнего симпатического сплетения, влекущего изменение тонуса симпатического отдела вегетативной нервной системы организма.

Применены следующие методы клинического и морфологического исследования: метод биомикроскопии переднего отдела глаза при помощи щелевой лампы с целью идентификации характера помутнения хрусталика; общегистологическая окраска гематоксилином-эозином; методы иммуногистохимического окрашивания с моноклональными антителами к нейрон-специфической эналазе (NSE), белку S-100 (S-100), виментину (Vim), панцитокератину (EMA) и α -гладкомышечному актину (α -SMA). Полученные цифровые данные обрабатывались по компьютерной статистической программе DVM 486DX-2 с использованием пакета программ Microsoft office.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенной двусторонней десимпатизации экспериментального животного уже через 5–7 месяцев при биомикроскопии переднего отрезка обоих глаз видны начальные признаки коркового помутнения хрусталиков, преимущественно в нижне-носовом квадранте: интенсивно отражающие свет, спицеобразные помутнения серовато-белого цвета, обращенные основанием к периферии хрусталика и расположенные в области его коры.

Через 12–14 месяцев с момента постановки эксперимента площадь описанных ранее при биомикроскопии переднего отрезка глаза серовато-белых помутнений коркового отдела хрусталиков обоих глаз значительно увеличилась, формируя ослепительные клиновидные помутнения с основанием, обращенным к периферии хрусталика. Кроме того, отмечается появление следующих признаков гидратации в области коры хрусталика – диссоциация клеток-волокон хрусталика, формирование водяных щелей и вакуолей.

Описанные макроскопические изменения хрусталиков экспериментального животного полностью соответствуют клинической картине созревающей возрастной катаракты коркового вида у человека, выявляемой при биомикроскопии переднего

отрезка глаза в ходе стандартного офтальмологического обследования.

Еще одним важным доказательством высокой специфичности предлагаемой модели является полная идентичность гистологических и иммуногистохимических изменений клеток хрусталика при формировании смоделированной предложенным способом корковой катаракты экспериментального животного и возрастной корковой катаракты человека (по результатам морфологического изучения послеоперационного материала помутневших хрусталиков).

Сравнительный гистологический анализ срезов хрусталиков с возрастной и смоделированной корковой катарактой после их окраски гематоксилином-эозином показал идентичные морфологические изменения: отчетливая гидратация коркового отдела хрусталика, диссоциация хрусталиковых клеток-волокон, клиновидные пространства, заполненные детритом и вакуолями. Ядерный отдел хрусталика сдавлен оводненными корковыми массами, но не имеет структурных отклонений от нормы.

Сравнительное иммуногистохимическое окрашивание с моноклональными антителами к нейрон-специфической эналазе (NSE), белку S-100 (S-100), виментину (Vim), α -гладкомышечному актину (α -SMA) и панцитокератину (EMA), во всех отделах интактного хрусталика человека и экспериментального животного не выявляет их специфического окрашивания, так как интактный хрусталик, являясь частью «забарьерного органа» (гематоофтальмический барьер), не имеет иммуногистохимических меток основных видов тканей организма. Однако при формировании в хрусталике возрастной или смоделированной предлагаемым способом корковой катаракты обнаружена выраженная иммунопозитивная реакция к определенным моноклональным антителам – NSE, Vim и белку S-100. Область ее проявления ограничена корковым отделом хрусталика. Возможность патогенетически обоснованного экспериментального моделирования коркового вида катаракты *in vivo*, воссоздающего фенотипические изменения клеток хрусталика при возрастной корковой катаракте у человека, подтверждается полным совпадением иммуногистохимических характеристик (таблица).

В последние годы появилась тенденция к изучению тонких морфологических, биохимических и иммуногистохимических механизмов формирования катаракты. Известно, что в условиях формирования различных видов катаракты у человека выявлены позитивные реакции клеток хрусталика к vimentin, в связи с чем авторами выдвигается

нуто предположение о трансформации эпителиальных клеток хрусталика в мезенхимальные в ходе катарактогенеза. По этой причине ряд авторов склонен называть такие измененные клетки миофибробластами или мезенхимальными клетками. По

мнению H.L. Nielsen et al. (2003) [10], в результате описанной пластичности фенотипа данных клеток, позволяющей осуществлять процесс эпителиально-мезенхимального перехода, указанные клетки приобретают различные функциональные дефекты.

Сравнительная иммуногистохимическая характеристика клеток хрусталика кролика и человека при экспериментальной и возрастной корковой катаракте

Иммуногистохим. метод	Нейрон-специфическая энолаза (NSE)		Белок S-100		Виментин (Vim)		α-гладкомыш. актин (α-SMA)		Панцитокератин (EMA)	
	кролик	человек	кролик	человек	кролик	человек	кролик	человек	кролик	человек
Объект наблюдения										
Интактный хрусталик	Окрашивание не выявлено		Окрашивание не выявлено		Окрашивание не выявлено		Окрашивание не выявлено		Окрашивание не выявлено	
Корковый вид катаракты	(+) в обл. коры	(+) в обл. коры	(+) в обл. коры	(+) в обл. коры	(+) в обл. коры	(+) в обл. коры	(-)	(-)	(-)	(-)

Примечание: (+) – иммунопозитивная реакция; (-) – иммунонегативная реакция.

Известна экспериментальная модель образования катаракты, основанная на влиянии трансформирующего фактора роста β, индуцирующего эпителиально-мезенхимальный переход в клетках хрусталика [9].

Приведенные выше данные мировой научной литературы подчеркивают важность изучения и демонстрируют возможность изменения клетками организма своих фенотипических характеристик в различных условиях [8], в том числе и в условиях катарактогенеза [10].

Приведенные в настоящей работе сведения послужили основанием для предложения «Способа экспериментального моделирования коркового вида катаракты in vivo» (Заявка на изобретение № 2011101611 от 18.01.2011 года).

Выводы

Таким образом, предложен доступный, нетрудоемкий и высоко специфичный способ экспериментального моделирования коркового вида катаракты in vivo, способный воссоздать гистологические и фенотипические изменения клеток хрусталика при возрастной корковой катаракте, выявленные у человека. Предлагаемый способ может найти широкое применение в научно-исследовательской практике офтальмологических, геронтологических, морфологических и фармакологических лабораторий.

Список литературы

1. Ажипа Я.И. О гормональном звене механизма нейрогенных дистрофий / Нервная трофика в физиологии и патологии. – М., 1970. – С. 117–126.
 2. Аршавский И.А. Очерки по возрастной физиологии. – М.: Медицина, 1967. – 476 с.

3. Волкова О.В. Нейродистрофический процесс (морфологические аспекты). – М., 1978. – 255 с.

4. Лепехина Л.М. Адаптационно-трофическое влияние шейных симпатических ганглиев в онтогенезе. – Л.: Наука, 1984. – 170 с.

5. Либман Е.С., Шахова Е.В. Состояние и динамика слепоты и инвалидности вследствие патологии органа зрения в России / 7-й Съезд офтальмолог. России: тезисы докладов. – М., 2000. – Ч. 2. – С. 209–214.

6. Мальцев Э.В., Павлюченко К.П. Биологические особенности и заболевания хрусталика. – Одесса: Астропринт, 2002. – 448 с.

7. Преобразования симпатико-адреналовой системы в пожилом и старческом возрасте как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний / В.Н. Швалев, Г. Гуски, А.А. Сокунов, Н.А. Тарский // Казанский медицинский журнал. – Казань, 2003. – Т. LXXXIV, № 6. – С. 401–408.

8. Bariety J., Hill GS., Mandet C. et al. Glomerular epithelial-mesenchymal transdifferentiation in pauci-immune crescentic glomerulonephritis / Nephrol. Dial. Transplant. – 2003. – Vol. 18, №9. – P. 1777–1784.

9. De Jongh R.U., Wederell E., Lovicu F.J. et al. Transforming growth factor-beta-induced epithelial-mesenchymal transition in the lens: a model for cataract formation / Cells. Tissues. Organs. – 2005. – Vol. 179, №1–2. – P. 43–55.

10. Nielsen H.L., Gudjonsson T., Villadsen R. et al. Collagen gel contraction serves to rapidly distinguish epithelial and mesenchymal-derived cells irrespective of α-smooth muscle actin expression / In Vitro Cell Dev. Biol. Anim. – 2003. – Vol. 39, №7. – P. 297–303.

Рецензенты:

Сергеева В.Е., д.б.н., профессор кафедры медицинской биологии ГОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», г. Чебоксары;
 Шилкин Г.А., д.м.н., профессор кафедры глазных болезней «Московский государственный медико-стоматологический университет», г. Москва.