

УДК 611.84.018

МОДЕЛИРОВАНИЕ IN VITRO НОВОГО СПОСОБА КОНСЕРВАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ВТОРИЧНОЙ КАТАРАКТЫ ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ВИДА**Корсакова Н.В.***ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова»,
Чебоксары, e-mail: korsnv@rambler.ru*

Вторичная катаракта является наиболее частым послеоперационным осложнением и развивается даже после успешно выполненной операции. Известно, что если подходы к профилактике и лечению этой патологии не улучшатся, то она станет второй по значимости причиной слепоты в мире после возрастной катаракты. В статье описан новый способ консервативного лечения и профилактики вторичной катаракты пролиферативного вида, основанный на важном участии трофических влияний нервной системы в изменении фенотипа клеток эпителия хрусталика. В эксперименте установлено, что ондансетрона гидрохлорида дигидрат и β -диметиламиноэтилового эфира бензгидрола гидрохлорид обладают в сравнении с изученными антикатарактальными глазными каплями превосходящей по эффективности способностью улучшать оптические свойства и капсулы помутневшего хрусталика. Изученный в эксперименте способ является новым патогенетически обоснованным способом лечения и профилактики пролиферативного вида вторичной катаракты.

Ключевые слова: хрусталик, возрастная и вторичная катаракта**THE SIMULATION IN VITRO OF NEW METHOD OF CONSERVATIVE TREATMENT AND PREVENTION OF SECONDARY CATARACT OF PROLIFERATIVE TYPE****Korsakova N.V.***Chuvash State University named after I.N. Uljanov, Cheboksary, e-mail: korsnv@rambler.ru*

The secondary cataract is the most frequent postoperative complication and develops even after successfully executed operation. It is known that if approaches to prevention and treatment of this pathology won't improve, it becomes the reason of a blindness second for the significance in a pattern after an age-related cataract. The method of conservative treatment simulated in experiment and prevention of a secondary cataract of proliferative type is based on important involvement of trophic influences of nervous system in change of phenotype of epithelium cells of lens. In experiment it is set that dehydrate of hydrochloride of ondansetron and hydrochloride of benzgidrola of β -dimetilaminoetilovogo air possess in comparison with the studied anticataractous eye drops ability exceeding by efficiency to improve optical properties of substance and a capsule of the grown turbid crystalline lens. The method studied in experiment is a reasonable method of treatment new pathogenetic and prevention of a proliferative type of a secondary cataract.

Keywords: lens, age-related and secondary cataract

Техника хирургического лечения катаракты постоянно совершенствуется, однако до настоящего времени она не лишена ряда послеоперационных осложнений, которые сопровождаются повторным, значительным снижением зрения (вторичная катаракта, кистозная дистрофия сетчатки и др.). Вторичная катаракта является наиболее частым послеоперационным осложнением и развивается даже после успешно выполненной операции. Частота ее возникновения колеблется от 3 до 87%, поэтому, если подходы к профилактике и лечению этой патологии не улучшатся, то она станет второй по значимости причиной слепоты в мире после возрастной катаракты [2, 7].

Важно отметить, что причина вторичной катаракты хирургически неустранима, так как сложившийся возрастной нейродистрофический процесс (возрастная катаракта) [5, 8, 10] побуждает клетки хрусталика к патологической регенерации, одним из

проявлений которой является изменение фенотипа этих клеток.

В настоящее время доказано, что фенотип клеток хрусталика при различных видах катаракты подвержен значительным изменениям. Выявлено, что при возрастной корковой и вторичной катаракте эпителий и волокна коркового отдела вещества хрусталика накапливают иммунореактивную метку к нейронспецифической энolahе, белку S-100 и виментину, но не проявляют иммунопозитивности к α -гладкомышечному актину и панцитокератину. Полученные данные свидетельствуют об общности патогенетических механизмов возрастной корковой и вторичной катаракты пролиферативного вида [4, 6, 10].

Также установлено, что важнейшим фактором изменения тканевой дифференцировки живых организмов является влияние трофической нервной системы. Установлено, что формирование пролиферативного

вида вторичной катаракты происходит на фоне преобладающих симпатических эффектов вегетативной нервной системы пациента; фиброзный вид вторичной катаракты формируется в условиях преобладающих парасимпатических влияний. Выявленная закономерность позволяет рассматривать вторичную катаракту в качестве локального проявления возрастного нейродистрофического процесса, что служит очередным доказательством важности трофической роли нервной системы в фундаментальном процессе поддержания стабильности тканевой дифференцировки и тканевого метаболизма [1, 5, 8].

Полноценность регенерации хрусталика у различных видов животных сильно варьируется – от восстановления небольших дефектов до полного восстановления утраченного хрусталика. У человека регенерации полноценного хрусталика не происходит, примером этому служит вторичная катаракта. Выделяют следующие виды вторичной катаракты:

1 – фиброз задней капсулы хрусталика (вторичная катаракта фиброзного вида);

2 – вторичная катаракта пролиферативного вида с образованием клеток-шаров Адамюка-Эльшнига (син. Жемчужины Эльшнига – это шарообразные клеточные конгломераты на внутренней поверхности капсулы хрусталика, возникающие вследствие избыточной регенерации клеток эпителия хрусталика, оставшихся после хирургического лечения катаракты, которые приобретают вытянутую, отростчатую или шаровидную форму, а также способность к пролиферации и миграции);

3 – утолщение капсулы хрусталика [2, 6, 11].

Важно, что в послеоперационном периоде у пациента с возрастной корковой катарактой достоверно чаще формируется вторичная катаракта пролиферативного вида, при этом у пациента с возрастной ядерной катарактой – фиброзного вида (фиброз задней капсулы хрусталика) [2, 6].

Очевидно, что решение проблемы первичного возрастного и вторичного послеоперационного катарактогенеза связано с необходимостью расширения современных представлений о регенерации хрусталика в возрастном аспекте.

Таким образом, поиск новых эффективных патогенетически обоснованных способов профилактики и лечения вторичной катаракты с учетом важной роли медиаторов в нейрогуморальной регуляции функционирования клеток эпителия хрусталика следует рассматривать как важную актуальную задачу для экспериментальной биологии и медицины.

Цель исследования – создание новой эффективной патогенетически обоснованной модели способа консервативного лечения и профилактики пролиферативного вида вторичной катаракты *in vitro*.

Материал и методы исследования

Исследованы капсула и вещество 60 хрусталиков, извлеченных интракапсулярно при энуклеации глазного яблока под глубоким внутривенным наркозом у 30 лабораторных белых крыс массой 120–160 г. Для внутривенного введения использована смесь: Rompum 2%: 235 μ l, Ketamin 50 mg/ml: 2656 μ l, NaCl 0,9%: 22109 μ l; на крысу весом 100 г вводится 500 μ l данного раствора. Помутнение коры хрусталиков крыс *in vitro* вызвано путем добавления к среде культивирования катарактогенного агента – кальция хлорид в конечной концентрации 0,18 мМ [9].

Влияние на прозрачность хрусталиков антикатарактальных глазных капель и веществ с предполагаемым антикатарактальным эффектом изучено следующими методами: метод биомикроскопии интракапсулярно извлеченных хрусталиков с целью идентификации вида экспериментальной катаракты; фотометрия с помощью прибора КФК-3 для количественного измерения оптической плотности хрусталика; статистическая достоверность результатов определена критерием Вилкоксона–Манна–Уитни [3].

Хрусталики, удаленные интракапсулярно, культивированы в течение 8 суток *in vitro* в питательной среде № 199 с добавлением катарактогенного агента и изучаемых антикатарактальных веществ: глазные капли «Офтан-Катахром», в состав которых входят цитохром С, аденозин, никотинамид в конечных концентрациях 0,135, 0,4 и 4 мг/мл соответственно; глазные капли «Квинакс», содержащие натрия азапентацен полисульфонат в конечной концентрации 0,03 мг/мл; ондансетрона гидрохлорида дигидрат в конечной концентрации 0,2 мг/мл (антагонист серотониновых рецепторов) и β -диметил-аминоэтилового эфира бензгидрола гидрохлорид или димедрол в конечной концентрации 10 мг/мл (блокатор H_1 -гистаминорецепторов).

Проведены следующие серии опытов: серия № 1 – питательная среда № 199 (10 хрусталиков); серия № 2 – питательная среда № 199 + кальция хлорид (10 хрусталиков); серия № 3 – питательная среда № 199 + кальция хлорид + одно из изучаемых антикатарактальных веществ (40 хрусталиков).

Все действия, предусматривавшие контакт с лабораторными животными, осуществлены с учетом требований «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» согласно Приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г. [3] и в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях» от 18.12.1986 г.

Результаты исследования и их обсуждение

За указанный период времени во всех хрусталиках серии № 1, культивируемых в питательной среде без добавления катарактогенного агента, полностью сохранены их прозрачность и морфология. По данным фотометрии оптическая плотность

хрусталиков данной серии в среднем равна $0,082 \pm 0,006$ А.

В серии № 2 на 3–4 сутки культивирования формируется выраженное помутнение коры хрусталиков (клиновидные помутнения серовато-белого цвета, обращенные основанием к экватору хрусталика, а вершиной к его ядру). Установлено, что оптическая плотность хрусталиков с экспериментальной корковой катарактой в среднем равна $0,68 \pm 0,02$ А ($P < 0,04$).

В серии № 3 установлено, что степень выраженности помутнения коры хрусталика и улучшение его оптических свойств различно в условиях добавления разных антикатарактальных веществ.

Добавление в питательную среду в качестве антикатарактального агента глазных капель «Офтан-Катахром» способствует уменьшению оптической плотности помутневших хрусталиков в 2,1 раза, которая в среднем равна $0,321 \pm 0,005$ А ($P < 0,1$).

При добавлении глазных капель «Квинакс» оптическая плотность хрусталиков в среднем составляет $0,308 \pm 0,004$ А ($P < 0,1$), что в 2,2 раза меньше, чем в серии № 2.

Антагонист серотониновых рецепторов способствует поддержанию прозрачности хрусталиков практически на уровне интактных и улучшает оптические свойства помутневших хрусталиков, удерживая их оптическую плотность на $0,202 \pm 0,01$ А ($P < 0,02$), что в 3,4 раза меньше, чем в серии № 2.

Добавление блокатора H_1 -гистаминорецепторов уменьшает оптическую плотность хрусталиков до $0,265 \pm 0,01$ А ($P < 0,1$), что в 2,6 раза меньше, чем в серии № 2.

Результаты оценки степени помутнения вещества и капсулы хрусталиков в различных сериях эксперимента, полученные с помощью визуального наблюдения при биомикроскопии, полностью совпадают с результатами фотометрического исследования хрусталиков после их культивирования *in vitro*.

Установлено, что ондансетрона гидрохлорида дигидрат и β -диметиламиноэтилового эфира бензгидрола гидрохлорид обладают в сравнении с широко известными антикатарактальными глазными каплями («OFTAN-Catachrom», «Quinax») превосходящей по эффективности способностью улучшать оптические свойства вещества и капсулы помутневшего хрусталика. С учетом выявленной ранее общности этиопатогенетических механизмов возрастной корковой и вторичной пролиферативной катаракты [6, 9, 10] полученные результаты позволили разработать новый способ

моделирования консервативного лечения и профилактики пролиферативного вида вторичной катаракты (заявка на изобретение Российской Федерации № 2012155416 от 19.12.2012 г.).

Важно отметить, что патогенетически обоснованная необходимость дифференцированного подхода к лечению разных видов вторичной катаракты способна значительно повысить качество, эффективность и снизить затраты государственного финансирования на лечебно-профилактические мероприятия вторичной катаракты, в том числе за счет снижения числа нуждающихся в хирургическом и лазерном лечении.

Приведенные в настоящей работе сведения послужили основанием для предложения «Способа экспериментального моделирования коркового вида катаракты *in vivo*» (заявка на изобретение РФ № 2012155291 от 19.12.2012 г.).

Заключение

Таким образом, предложенный способ моделирования *in vitro* консервативного лечения и профилактики вторичной катаракты пролиферативного вида позволяет приступить к проведению доклинических испытаний новых патогенетически обоснованных глазных капель, обладающих выраженным антикатарактальным эффектом.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» Министерства образования и науки Российской Федерации (номер соглашения 14.В37.21.0221).

Список литературы

1. Ажипа Я.И. Трофическая функция нервной системы. – М.: Наука, 1990. – 672 с.
2. Веселовская З.Ф. Катаракта. – Киев: Книга плюс, 2002. – 207с.
3. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования. – М.: Межакадемическое издательство ВПК, 2004. – 608с.
4. Корсакова Н.В., Сергеева В.Е., Петров С.Б. Иммуногистохимический анализ клеток хрусталика в условиях формирования разных видов возрастной катаракты у человека // Морфология. – СПб.: Эскулап, 2007. – Т. 132. – № 5. – С. 47–51.
5. Корсакова Н.В., Григорьев В.Н., Сергеева В.Е. Экспериментально-морфологическое обоснование десимпатизации глаза как нового способа вызывания катаракты // Морфология. – СПб.: Эскулап, 2011. – Т.140. – № 6. – С. 57–61.
6. Корсакова Н.В., Лузикова Е.М., Шацких О.А. и др. Иммунореактивность структур хрусталика в норме, при его возрастном корковом и вторичном помутнении у человека // Морфология. – СПб.: Эскулап, 2013. – Т. 143. – № 1. – С. 28–31.
7. Hernandez C.M. Cataracts: Causes, Symptoms, and Surgery. – New York: NovaPublishers, 2010. – 207 p.
8. Korsakova N.V., Grigoriev V.N., Sergeeva V.E. Morphological Basis of Desympathization of the Eye as a New Means of

Experimental Modeling of Cataract // Neuroscience and Behavioral Physiology, 2012. – Vol. 42. – T. 9. – P. 1024–1028.

9. Lorand L., Conrad S.M., Velasco P.T. Formation of a 55 000-weight cross-linked beta crystallin dimer in the Ca²⁺-treated lens. A model for cataract // Biochemistry. – 1985. – Vol. 24. – № 6. – P. 1525–1531.

10. Synder A., Omulecka A., Ratynska M. et al. A study of human lens epithelial cells by light and electron microscopy and by immunohistochemistry in different types of cataracts // Klin. Oczna. – 2002. – Vol. 104. – № 5–6. – P. 369–373.

11. Sveinsson O. The ultrastructure of Elschnig's pearls in a pseudophakic eye // Acta Ophthalmol. (Copenh). – 1993. – Vol. 71. – № 1. – P. 95–98.

References

1. Azhipa Ya.I. Trophic function of nervous system. M.: Science, 1990. 672p.

2. Veselovskaja Z.F. Cataract. Kiev: Book plus, 2002. 207 p.

3. Karkishhenko N.N. Biosimulation bases. M: Interacademic publishing house of military industrial complex, 2004. 608 p.

4. Korsakova N.V., Sergeeva V.E., Petrov S.B. Immunohistochemical analysis of lens cells in the conditions of formation of different types of age-related cataract at the person // Morphology. S-Pb.: Jeskulap, 2007. Vol. 132. no. 5. pp. 47–51.

5. Korsakova N.V., Grigoriev V.N., Sergeeva V.E. Experimental and morphological reasons for desimpatization of eye as new method of calling of a cataract // Morphology. S-Pb.: Jeskulap, 2011. Vol. 140. no. 6. pp. 57–61.

6. Korsakova N.V., Luzikova E.M., Shatskikh O.A. et al. Immunoreactivity of structures of lens in norm, in case of its age-related cortical and secondary cataract at the person // Morphology. SPb.: Jeskulap, 2013. Vol. 143. no. 1. pp. 28–31.

7. Hernandez C.M. Cataracts: Causes, Symptoms, and Surgery. New York: NovaPublishers, 2010. 207 p.

8. Korsakova N.V., Grigoriev V.N., Sergeeva V.E. Morphological Basis of Desympathization of the Eye as a New Means of Experimental Modeling of Cataract // Neuroscience and Behavioral Physiology, 2012. Vol. 42. T. 9. pp. 1024–1028.

9. Lorand L., Conrad S.M., Velasco P.T. Formation of a 55 000-weight cross-linked beta crystallin dimer in the Ca²⁺-treated lens. A model for cataract // Biochemistry. 1985. Vol. 24. no. 6. pp. 1525–1531.

10. Synder A., Omulecka A., Ratynska M. et al. A study of human lens epithelial cells by light and electron microscopy and by immunohistochemistry in different types of cataracts // Klin. Oczna. 2002. Vol. 104. no. 5-6. pp. 369–373.

11. Sveinsson O. The ultrastructure of Elschnig's pearls in a pseudophakic eye // Acta Ophthalmol. (Copenh). 1993. Vol. 71. no. 1. pp. 95–98.

Рецензенты:

Сергеева В.Е., д.б.н., профессор кафедры медицинской биологии с курсом вирусологии, ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», г. Чебоксары;

Паштаев Н.П., д.м.н., заведующий кафедрой офтальмологии и отоларингологии, ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова», директор Чебоксарского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», г. Чебоксары.

Работа поступила в редакцию 22.08.2013.