

УДК 617.7-001.31 -092.9: 616-076.4

© Коллектив авторов, 2013 г.

ПОСТКОНТУЗИОННЫЕ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ХОРИОРЕТИНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КОНТУЗИИ ГЛАЗА

Н. Е. Думброва, В. В. Вит, Т. А. Красновид, Н. И. Молчанюк, Н. П. Грубник

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины», лаборатория патоморфологии и электронной микроскопии (зав. д.м.н. проф. В.В. Вит); Отдел посттравматической патологии глаз (зав. отделом д.м.н. Т.А. Красновид), г. Одесса, Украина; Французский бульвар 49/51 65061, Украина, г. Одесса, Французский бульвар 49/51; E-mail: filatoveye@mail.ru

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF CHORIORETINAL COMPLEX IN EXPERIMENTAL MODEL OF EYE CONTUSION IN RABBITS

N. E. Dumbrova, V. V. Vit, T. A. Krasnovid, N. I. Molchanyuk, N. P. Grubnik

SUMMARY

Experimentally investigation conducted on 20 adult Shinshilla rabbits, weight 2-3,5 kg.

Term of the observation was from 1 week to 2 month. Contusion of the eye mild cases designed over open eyelids with special exploit construction. This paper presents the electron microscopy studies of chorioretinal complex in rabbit experimental model of mild cases eye contusion after 1 week, 1 and 2 months. Hydropic and destructive changes of these structures after 1 week were observed. After 1 month the changes were similar, but less intensive. Mitochondria reactions were found in all terms. After 2 months there were pathological focuses in chorioretinal complex.

ПОСТКОНТУЗИОННІ УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ ХОРИОРЕТИНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ КОНТУЗІЇ ОКА

Н. Е. Думброва, В. В. Віт, Т. А. Красновід, Н. І. Молчанюк, Н. П. Грубнік

РЕЗЮМЕ

Проведено електронно-мікроскопічні дослідження структур хоріоретинального комплексу при експериментальній контузії ока через 1 тиждень, 1 і 2 місяці після моделювання контузії очного яблука у кролів. Через 1 тиждень виявлені ранні гідропічні і деструктивні зміни цих структур. Через 1 місяць ці зміни зберігають свою спрямованість, хоча зменшуються по інтенсивності. У всі терміни дослідження виділяються реакції мітохондрій, які відповідають за енергетичний обмін в клітині. Через 2 місяці патологічні зміни не зникають, а формують вогнища, які можуть бути пусковими механізмами в розвитку різної патології органу зору. На експериментальній моделі легкого ступеня контузії у кроликів показані ультраструктурні зміни хоріокапілярного комплексу, які можуть бути пусковим механізмом розвитку в подальшому деструктивних змін.

Ключевые слова: ультраструктурные изменения, хориоретинальный комплекс, контузия глазного яблока, сетчатка, сосудистая оболочка.

Повреждения органа зрения относятся к числу актуальных и социально значимых проблем офтальмологии. По тяжести и частоте контузии занимают второе место после проникающих ранений глаза. Контузия глазного яблока может сопровождаться широким спектром повреждений сетчатки: от преходящего отёка до развития дистрофических изменений, приводящих к необратимому снижению зрения [2-8].

Несмотря на разнообразие применяемых препаратов, практически отсутствуют лекарственные средства, способные воздействовать на нейрорецепторный аппарат сетчатки и вызывать улучшение зрительных функций. В настоящее время в лечении контузии глазного яблока особое внимание уделяется нейропротекторной терапии.

В клинической практике широко применяют пептидные биорегуляторы для лечения возрастной

макулодистрофии, диабетической ретинопатии, глаукомной нейроретинопатии, проникающих ранений роговицы и др. [1].

В офтальмотравматологии особой тяжестью и часто неудовлетворительными исходами отличаются повреждения заднего сегмента глазного яблока.

К настоящему времени мы располагаем опытом лечения более 100 больных с повреждениями заднего сегмента глазного яблока, в комплекс лечения которых был включён ретиналамин. В изучении патогенеза и эффективности медикаментозной коррекции изменений сетчатки, развивающихся в результате контузии глазного яблока, важная роль принадлежит исследованиям на экспериментальной модели.

В существующей тесной структурно-функциональной взаимосвязи между сосудистой оболочкой и сетчаткой особенно важную роль играют

взаимоотношения между хориокапиллярами (ХК), пигментным эпителием сетчатки (ПЭС) и её фоторецепторными клетками (ФК).

Цель исследования – изучение изменений ультраструктуры хориоретинального комплекса при экспериментальной контузии лёгкой степени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены на 20 взрослых кроликах породы Шиншилла, весом 2–3,5 кг, находившихся в стационарных условиях на стандартном рационе вивариума ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины». Сроки наблюдения от 1 недели до 2 месяцев. Контузия глазного яблока лёгкой степени моделировалась через открытые веки с помощью специально разработанного нами устройства. Животные фиксировались в станке. Общая анестезия осуществлялась с помощью внутримышечного введения 10% раствора тиопентала натрия в дозе 1 мл/кг; эпibuльбарная – путем трёхкратных инстилляций 0,5% алкаина. Кролики были разделены на 2 группы: первая – опытная, в которой моделировалась контузия глазного яблока легкой степени тяжести. Вторая группа – контрольная (интактные животные). Исследовались ХК сосудистой оболочки и сетчатка через 1 неделю, 1 мес., 2 мес. после контузии. Эвтаназия животных осуществлялась методом воздушной эмболии под рауш-наркозом в соответствии с «Требованиями биоэтики Хельсинской декларации об этическом

регулировании медицинских исследований». Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани сосудистой оболочки и сетчатки фиксировались в 2,5 % растворе глютаральдегида на фосфатном буфере при значении рН – 7,4 с последующей дофиксацией 1% раствором осмиевой кислоты при том же рН буферного раствора. Затем образцы обезжовивались в спиртах восходящей крепости. Пропитывание материала и его заключение производилось в смеси эпон-аралдит. Ультратонкие срезы окрашивались растворами уранилацетата и цитрата свинца. Просматривались и фотографировались срезы в электронном микроскопе ПЭМ-100 - 01.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При электронно-микроскопическом исследовании через 1 неделю после моделирования контузии глазного яблока структура ХК, как и других микрососудов сосудистой оболочки, находится в пределах нормы, как и у интактных животных. Основная патология наблюдается в ПЭС. Слой его местами резко сужен, уплотнён, в то время как по соседству расширен, отёчен, значительно просветлён. На отдельных участках отмечается разрушение клеток ПЭС – как в центральной, так и в апикальной их частях. Базальная складчатость остаётся тесно связанной с мембраной Бруха, остальная часть клетки подвергается деструкции (рис. 1). НС ФК отслоены, а в межюточном пространстве лежат фрагменты ультраструктур клеток ПЭС.

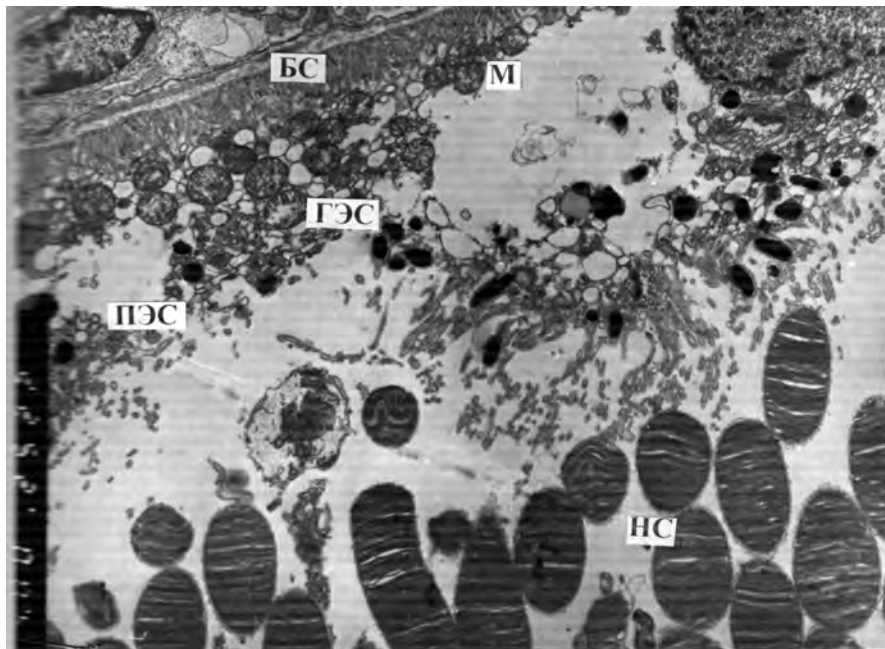


Рис. 1. Ультраструктура сетчатки кролика через 1 неделю после моделирования контузии сетчатки. Отёк и деструкция клеток ПЭС. Электронная микрофотография. X 4 000. Условные обозначения: ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, ГЭС – гладкая эндоплазматическая сеть, М – митохондрии, БС – базальная складчатость, НС – наружные сегменты.

Там, где клетки ПЭС не полностью разрушены, в их цитоплазме выражены гидропические изменения и подвергается деструкции апикальная область. Это также зона отёка, охватывающая участки слоя ПЭС и НС ФК. В области более сохранных клеток ПЭС последние характеризуются вакуолизацией гладкой эндоплазматической сети (ГЭС), причём выраженной в различной степени в разных клетках ПЭС. Помимо этого следует особо отметить реакцию митохондрий в этих клетках, которая выражается резкой вакуолизацией и разрушением наружной мембраны органелл. Характерно также уменьшение содержания пигментных

гранул в апикальной области ПЭС. Микровиллы в этой области хорошо выражены, здесь определяются крупные фагосомы. На участках разрушенных клеток ПЭС наблюдается дезорганизация НС ФК, сопровождаемая отёчными изменениями. На участках более сохранных структур ПЭС – ФК следует отметить отрыв НС ФК от внутреннего сегмента (ВС) ФК, причём наружная мембрана и заключённые в ней диски остаются целыми. Можно думать, что в данном случае это связано с «поломкой» реснички, которая соединяет оба сегмента ФК и с последующим восстановлением (за время после контузии) мембранных структур ФК (рис. 2)

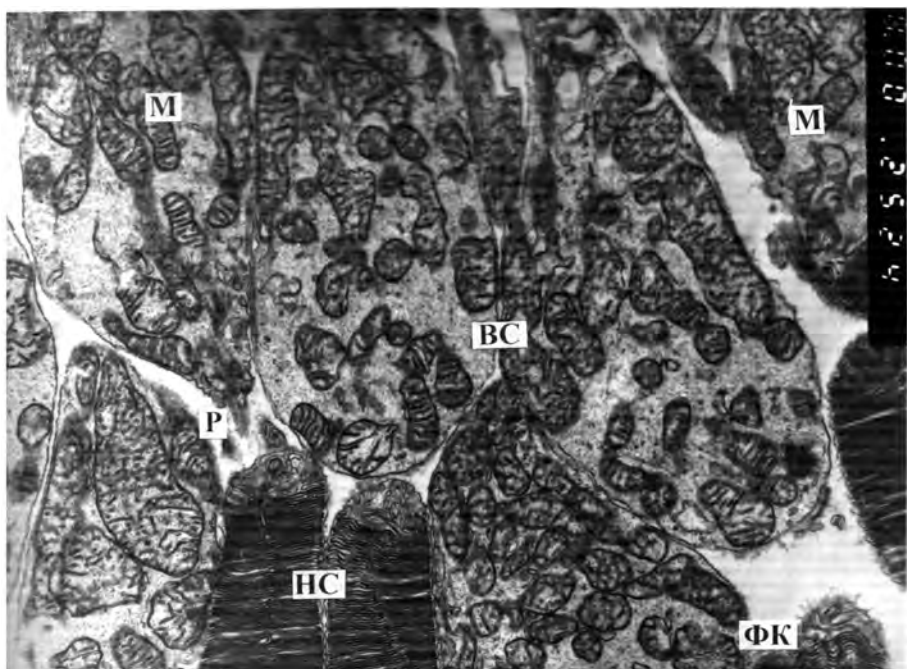


Рис. 2. Ультраструктура сетчатки кролика через 1 неделю после моделирования контузии сетчатки. Элементы деструкции мембранных структур НС ФР. «Поломка» реснички, которая соединяет НС и ВС. Электронная микрофотография. X 8 000.
Условные обозначения: ФК – фоторецепторные клетки, НС – наружные сегменты, ВС – внутренние сегменты, М – митохондрии, Р – ресничка.

В области ядер ФК выражен местами отёк отростков мюллеровских клеток (МЮК). В слое биполярных клеток, где находится ядерная часть МЮК, в цитоплазме последних выражена мелкая вакуолизация. Такая же вакуолизация цитоплазмы наблюдается и в отростках МЮК в слое ганглиозных клеток (ГК) и у внутренней пограничной мембраны. Часть ГК имеет в цитоплазме гидропические изменения в виде крупных электронно-прозрачных полостей, являющихся расширением элементов зернистой эндоплазматической сети (ЗЭС) с дегрануляцией последних.

Через 1 месяц после контузии глазного яблока в сосудистой оболочке ХК отличаются расширением просвета и очень узкими отростками эндотелиальных клеток, составляющих стенку ХК. В просвете ХК встречаются форменные элементы крови. Ме-

стами в просвете ХК образуются электронно-прозрачные полости, возможно из-за разрушения части эндотелиальной выстилки (рис. 3).

В клетках ПЭС базальная складчатость практически гомогенизирована. Большое количество мелких вакуолизированных митохондрий и мелкофрагментированные мембраны гладкой эндоплазматической сети (ГЭС) заполняют центральную часть клетки. Ядра сохранили свою ультраструктуру. Во многих клетках ПЭС апикальная область сохранилась, в то же время у части клеток она разрушена. В этих областях наблюдается отслойка фоторецепторного слоя сетчатки и деструкция НС ФК. Во ВС ФК уменьшено содержание митохондрий, при этом большая часть сохранившихся митохондрий имела различные степени деструкции своих ультраструктур (рис. 4)

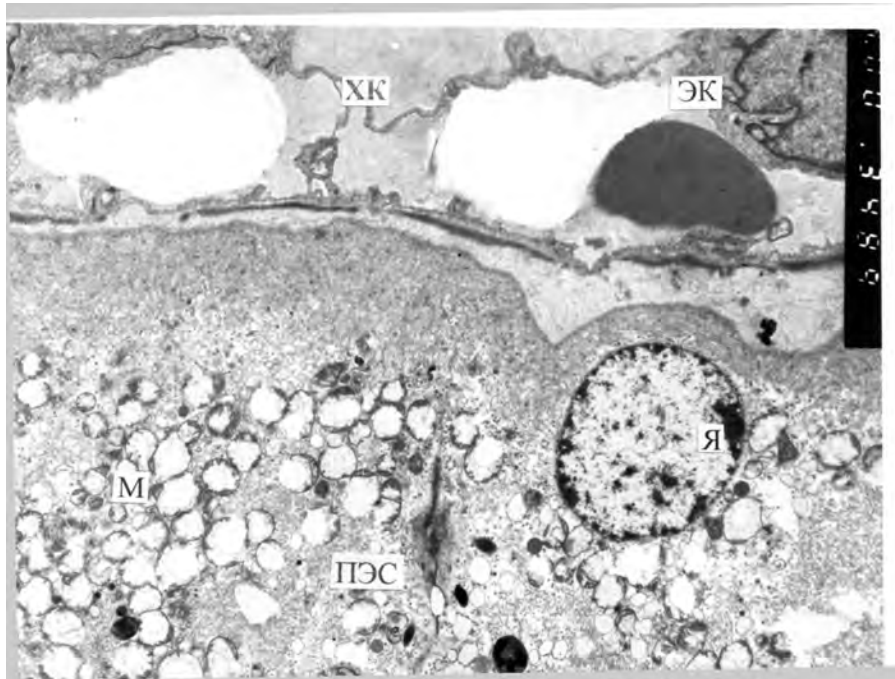


Рис. 3. Ультраструктура хориокапилляров сосудистой оболочки и пигментного эпителия сетчатки кролика через 1 месяц после моделирования контузии.

Истончение эндотелиальной стенки хориокапилляров с расширением их просвета и образованием электронно-прозрачных полостей. Вакуолизация митохондрий пигментного эпителия сетчатки. Электронная микрофотография. X 3 000.

Условные обозначения: ХК – хориокапилляры, М – митохондрии, ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, ЭК – эндотелиальная клетка, Я – ядро.

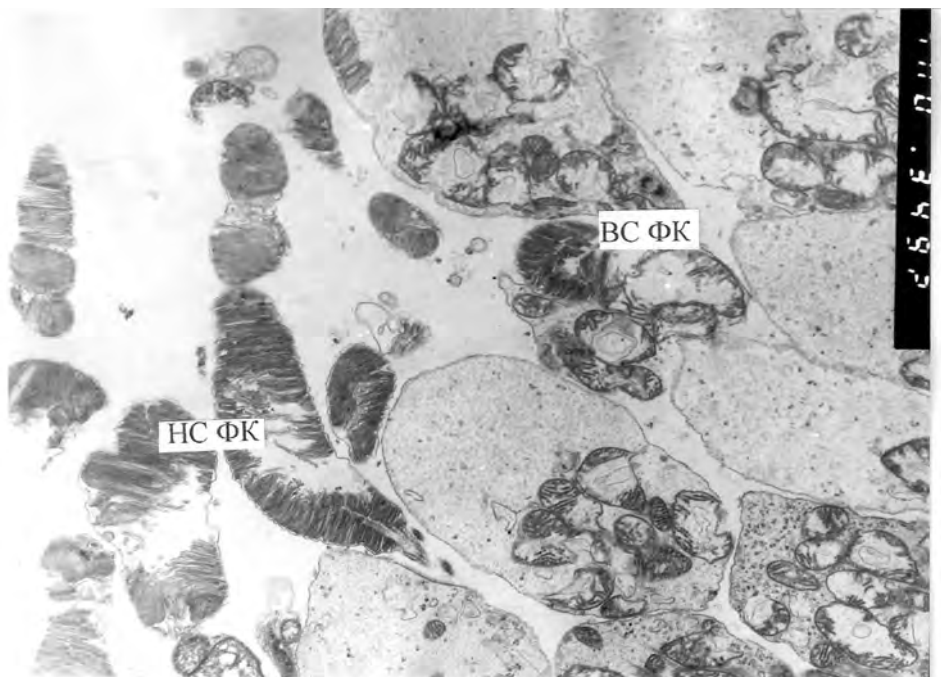


Рис. 4. Ультраструктура слоя фоторецепторных клеток сетчатки кролика через 1 месяц после моделирования контузии. Альтерация наружных и внутренних сегментов фоторецепторных клеток. Электронная микрофотография. X 3 000.

Условные обозначения: НС ФК – наружные сегменты фоторецепторных клеток, ВС ФК – внутренние сегменты фоторецепторных клеток.

В цитоплазме ФК также наблюдаются различные повреждения, вплоть до её опустошения. В таких участках часть ядер ФК также имеет признаки повреждения. Нейроны внутренних слоёв сетчатки остаются интактными.

Через 2 месяца после контузии глазного яблока в хориоидея стенка ХК очень тонкая, местами она разрушена, пространство заполнено форменными элементами крови и остатками внутрисосудистого хлопьевидного материала. В такой области клетки ПЭС подвергаются деструкции в различной степени с образованием клеточного детрита. На соседних участках клетки ПЭС более сохранены, но также имеют альтеративные изменения аналогичные описанным выше.

На участках больших повреждений ПЭС заметно уменьшение числа ФК. МЮК подвергаются гиперплазии, особенно в области ядерного слоя ФК. Рядом также расположены более сохранённые ФК. Часть биполярных клеток имеют признаки отёка. Остальные нейроны сетчатки не имеют видимых изменений. Следует подчеркнуть, что повреждение описываемых структур сетчатки отличаются заметной очаговостью.

ВЫВОДЫ

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что через неделю после моделирования у кроликов контузии лёгкой степени наблюдается ультраструктурная патология, в основном, в клетках ПЭС, НС, ФК, цитоплазме МЮК и ГК. В частности, в ПЭС наблюдаются выраженные гидропические изменения изучаемых структур, включая ГЭС и митохондрии, а также очаговые деструктивные изменения в части клеток. Следует также обратить внимание на отрыв реснички, связывающей НС и ВС ФК, что в дальнейшем ведёт к дегенеративно-деструктивным изменениям в НС. Элементы гидропических изменений наблюдаются в остальных изучаемых образованиях.

Через 1 месяц изменения структур заднего отдела глаза наблюдаются в ХК и, особенно, ПЭС. Изменения клеток ПЭС неоднородные, существенно различаются по степени выраженности патологии ультраструктур. Так, в клетках исчезает базальная складчатость, так как она функционально тесно связана с состоянием ХК. Митохондрии содержатся в большом количестве, но все подвергаются вакуолизации с деструкцией внутриклеточных крист. Канальцы ГЭС фрагментируются. Апикальная область сохраняет небольшое количество микровилл, но фагосомы практически отсутствуют. Часть клеток теряет плазмолемму и апикальная область превращается в клеточный детрит. Другая часть клеток ПЭС имеют меньшие или слабые изменения. Повреждения ФК также более существенные в очагах выраженных изменений ХК-ПЭС.

Через 2 месяца после контузии формируются очаги повреждения, как клеток ПЭС, так и ФК. Появляются признаки гиперплазии глиальных структур.

Суммируя полученные результаты, можно отметить, что данные, представленные в небольшом количестве литературных источников, посвящённых изучению контузии глаза других видов животных, демонстрируют некоторую ультраструктурную патологию, касающуюся ПЭС и ФК. Следует подчеркнуть выявленные нами ранние (1 неделя) гидропические и деструктивные изменения изучаемых образований; через 1 месяц описанные изменения сохраняют свою направленность, хотя и уменьшаются в интенсивности. Выделяется реакция митохондрий, которые отвечают за энергетический обмен в клетке. Через 2 месяца после контузии патологические изменения изучаемых образований на ультраструктурном уровне не исчезают, а формируют очаги, которые несомненно могут быть пусковыми моментами для развития патологии сетчатки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Максимов И.Б. Биорегулирующая терапия – новое направление в современной клинической офтальмологии / И.Б.Максимов, Л.К. Мошетьева, В.В. Нероев // Российские медицинские вести. – 2003. – №2. – С.17–21
2. Alon T. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity / T. Alon // *Nat Med.* – 1995. – Vol. 1. – P. 1024–1028.
3. Hayashi A. Surgically induced degeneration and regeneration of the choriocapillaris in rabbit / Hayashi A. // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1999. – Vol. 237. – P. 668–677.
4. Henkind P. The relationship between retinal pigment epithelium and the choriocapillaris / P. Henkind, S. Gartner // *Trans Ophthalmol Soc U K.* – 1983. – Vol. 103. – P. 444–447.
5. Ivert L. Changes in the choroidal circulation of rabbit following RPE removal / L. Ivert, J. Kong, P. Gouras // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 2003. – Vol. 241. – P.656–666.
6. Liu X. Extracellular matrix of retinal pigment epithelium regulates choriocapillaris endothelial survival in vitro / Liu X., Ye X., Yanoff M et al. // *Exp Eye Res.* – 1997. – Vol. 65. – P. 117–126.
7. Roberts W. Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor / W.Roberts, G. J. Palade // *Cell Sci.* – 1995. –Vol. 108. – P. 2369–2379.
8. Shichiri M., Kato H., Marumo F. Endothelin-1 as an autocrine/paracrine apoptosis survival factor for endothelial cells / M. Shichiri, H.Kato, F. Marumo // *Hypertension.* – 1997. –Vol. 30. – P.1198–1120.