

© Коллектив авторов, 2011  
УДК 617.7

*Н.В. Корсакова, В.Н. Григорьев и В.Е. Сергеева*

## МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДЕСИМПАТИЗАЦИИ ГЛАЗА КАК НОВОГО СПОСОБА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ КАТАРАКТЫ

Кафедра медицинской биологии (зав. — проф. С.П. Сапожников), Чувашский государственный университет, г. Чебоксары, e-mail: korsnv@rambler.ru

Целью работы было морфологическое обоснование десимпатизации глаза как метода моделирования катаракты *in vivo*. Исследование проведено на 20 беспородных кроликах, которым с обеих сторон удаляли верхний шейный узел симпатического ствола, что вызывало изменение тонуса симпатического отдела нервной системы организма. Через 5–7 мес у 16 из 20 кроликов при биомикроскопии переднего отдела обоих глаз были видны начальные признаки помутнения коры хрусталиков. Через 12–14 мес их площадь значительно увеличилась, формируя клиновидные помутнения с основанием, обращенным к периферии хрусталика, наблюдались диссоциация волокон хрусталика, внеклеточное накопление жидкости. Гистологические и фенотипические изменения хрусталика аналогичны изменениям при возрастной корковой катаракте, выявленными у человека. При возрастной и моделированной предложенным способом катаракте обнаружена отчетливо выраженная иммунопозитивная реакция на нейронспецифическую энолазу, виментин и белок S-100 в коре хрусталика. Описанный способ моделирования корковой катаракты *in vivo* может быть использован при изучении патогенеза катаракты и разработке мер ее профилактики и терапии.

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

По данным Всемирной организации здравоохранения, среди причин слепоты на долю катаракты приходится 43%. Заболеваемость среди людей старше 80 лет составляет более 97% [3, 7]. Однако различия в распространенности катаракты среди населения разных регионов, по срокам появления 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 [8].

Исследование трофической функции нервной системы — важнейшая и актуальная биологическая проблема при разработке способов поддержания стабильности тканевой дифференцировки и тканевого метаболизма живых организмов. Современная литература, посвященная изучению изменений автономной нервной системы в онтогенезе, обширна и раскрывает важные механизмы формирования многих возрастных заболеваний [1, 2, 10]. Неоднократно описана связь между частотой развития определенного вида возрастной катаракты и характером общей соматической патологии пациента [9, 18].

Доказано, что между видом формирующейся возрастной катаракты и характером вегетативного статуса пациента существует закономерность, определяющая локализацию и вид формирующегося помутнения хрусталика [6], что позволяет рассматривать возрастную катаракту как местное

проявление возрастного нейродистрофического процесса [4, 5]. 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 данного исследования — морфологически обосновать десимпатизацию глаза как экспериментальную модель коркового вида катаракты *in vivo*.

**Материал и методы.** Исследование проведено на 20 беспородных лабораторных кроликах массой 1800–2200 г в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Экспериментальное моделирование коркового типа катаракты *in vivo* проводили под общим наркозом (внутримышечно рометар по 0,35 мл дважды с интервалом 10 мин, спустя 10 мин дополнительно 0,1 мл золетил-100) путем двустороннего удаления верхнего шейного узла симпатического ствола, что влекло изменение тонуса симпатического отдела автономной нервной системы организма. Объектом исследования служил хрусталик глазного яблока, энуклеацию которого производили под общим наркозом через 12–14 мес от начала эксперимента.

С целью идентификации характера помутнения хрусталика применен метод биомикроскопии переднего отдела глаза при помощи щелевой лампы. Материал для морфологического исследования катарально измененных хрусталиков человека получен в Чебоксарском филиале МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологии в ходе планового хирургического лечения возрастной корковой катаракты у пациентов мужского и женского пола в возрасте 60–70 лет (42 хрусталика). Интактные хрусталики

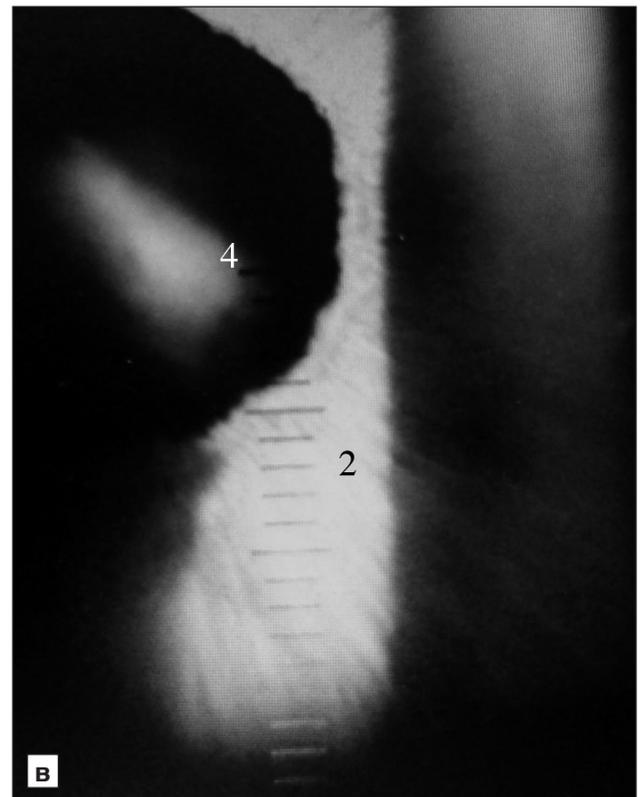
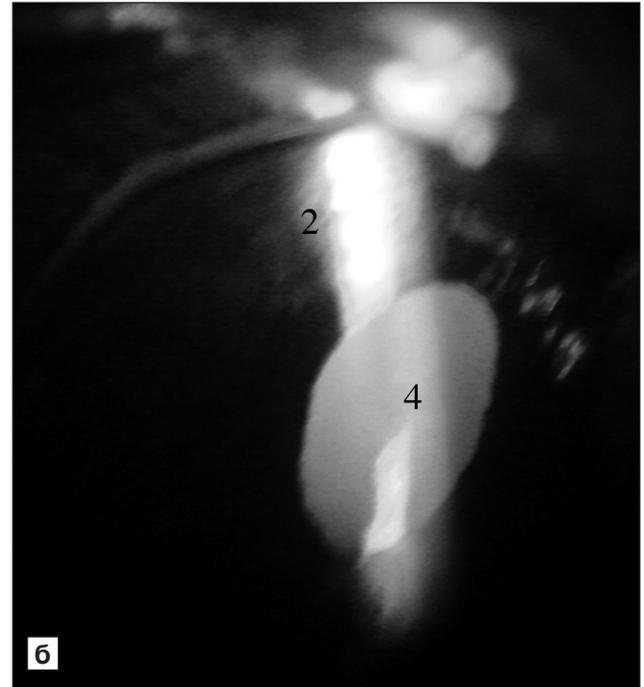
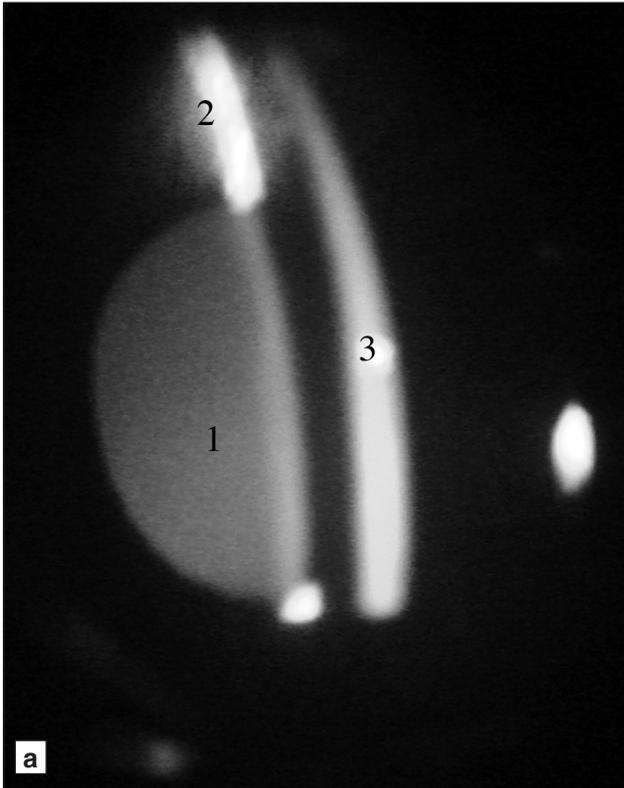


Рис. 1. Хрусталик глаза кролика интактного (а) с экспериментальной корковой катарактой (б) и человека с возрастной корковой катарактой (в).

1 — отсутствие помутнений в области коры хрусталика; 2 — радужка; 3 — роговица; 4 — обширное клиновидное серовато-белое помутнение в области коры хрусталика. Метод биомикроскопии переднего отдела глазного яблока. Щелевая лампа ЩГ-ЗГ-06.

человека получены при энуклеации глазных яблок у трупов молодых мужчин 20–30 лет в течение 12 ч с момента гибели в результате несчастного случая (17 хрусталиков). Энуклеация проведена с целью плановой пересадки донорской роговицы. По общепринятой методике готовили парафиновые сагитальные срезы хрусталика толщиной 15 мкм и окрашивали гематоксилином–эозином, а также ставили иммуногистохимические реакции с моноклональными антителами к нейронспецифической энолазе (NSE), белку S-100 (S-100), виментину (Vim), панцитокератину (EMA) и  $\alpha$ -гладкомышечному актину ( $\alpha$ -SMA). Указанные моноклональные антитела использовали в разведениях согласно прилагаемым к ним рекомендациям фирмы-производителя (Novocastra, Великобритания) — NSE (1:50), S-100 (1:50), Vim (1:100),  $\alpha$ -SMA (1:50), EMA (1:200). Для изучения полученных препаратов хрусталика использовали микроскоп Биолам-70 (ЛЮМО, Россия).

**Результаты исследования.** В результате проведенной двусторонней десимпатизации экспериментального животного у 16 из 20 кроликов через 5–7 мес при биомикроскопии переднего отдела обоих глаз были видны начальные признаки помутнения коры хрусталиков, преимущественно в нижненосовом квадранте: интенсивно отражающие свет, спицеобразные помутнения

серовато-белого цвета, обращенные основанием к периферии хрусталика и расположенные в области его коры.

Через 12–14 мес с момента постановки эксперимента площадь описанных ранее при биомикроскопии переднего отдела глаза серовато-белых помутнений коры хрусталиков обоих глаз у 16 кроликов значительно увеличилась, формируя клиновидные помутнения с основанием, обращенным к периферии хрусталика (рис. 1, а, б). Кроме

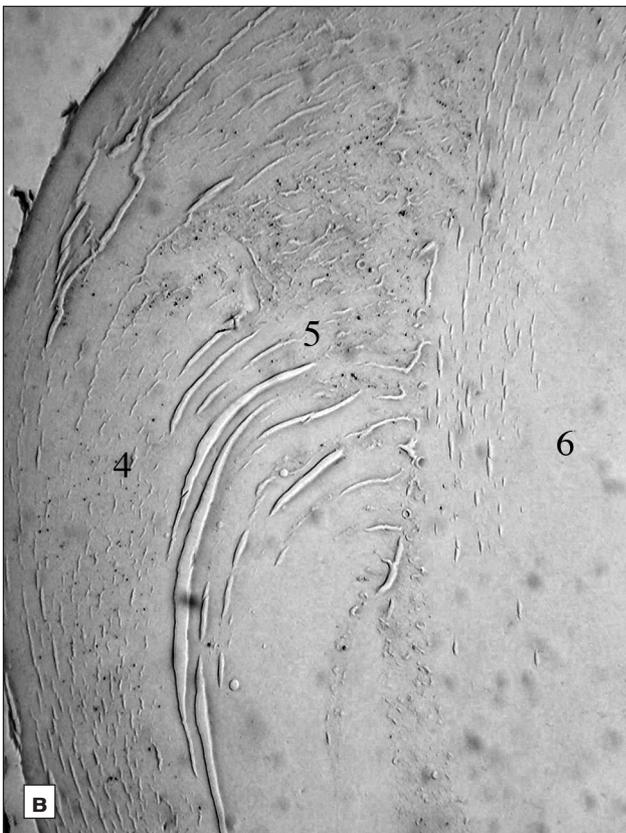
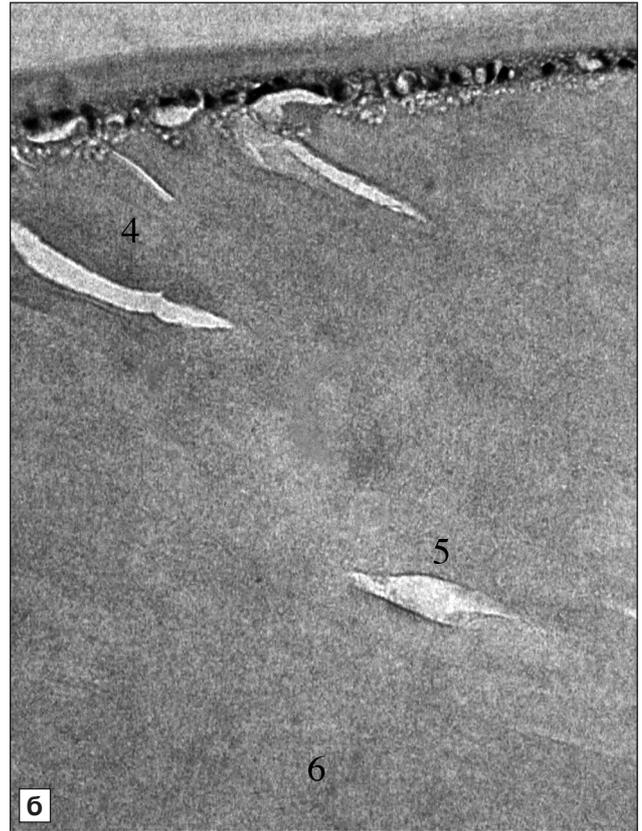
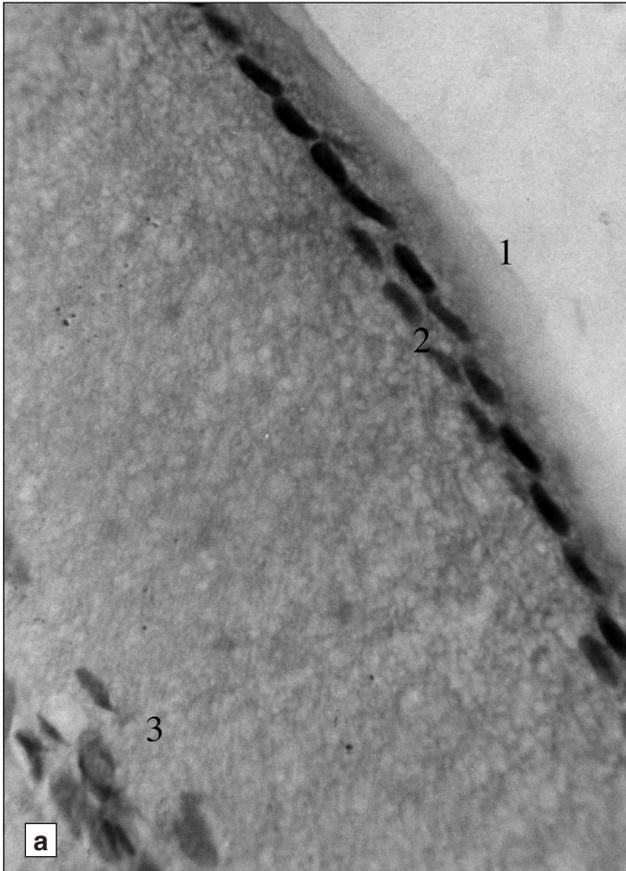


Рис. 2. Сагиттальные срезы хрусталика глаза кролика интактного (а), с экспериментальной корковой катарактой (б) и человека с возрастной корковой катарактой (в).

1 — капсула хрусталика; 2 — ядра эпителиальных клеток хрусталика; 3 — ядра экваториальных волокон; 4 — кора хрусталика с признаками гидратации (диссоциация волокон); 5 — клиновидные пространства, заполненные детритом и вакуолями; 6 — ядро хрусталика, сдавленное оводненными корковыми массами. Окраска гематоксилином–эозином. Об. 40, ок. 15.

жидкости. Монокулярные изменения хрусталика появились еще у двух кроликов.

Описанные макроскопические изменения хрусталиков экспериментальных животных полностью соответствуют клинической картине созревающей возрастной катаракты коркового типа у человека, выявляемой при биомикроскопии переднего отдела глаза в ходе стандартного офтальмологического обследования (см. рис. 1, в).

Еще одним важным доказательством высокой специфичности предлагаемой модели является полная идентичность гистологических и иммуногистохимических изменений клеток хрусталика при формировании моделированной предложенным способом корковой катаракты экспериментального животного и возрастной корковой катаракты человека.

Сравнительный гистологический анализ срезов хрусталиков с возрастной и эксперименталь-

того, отмечается появление признаков гидратации в области коры хрусталика — диссоциация волокон хрусталика, внеклеточное накопление

ной корковой катарактой после их окраски гематоксилином–эозином показал идентичные морфологические изменения: отчетливая гидратация коры хрусталика, диссоциация хрусталиковых волокон, клиновидные пространства, заполненные детритом и вакуолями. Ядро хрусталика сдавлено оводненными корковыми массами, но не имеет структурных отклонений от нормы (рис. 2, а–в).

Имуногистохимические реакции с моноклональными антителами к NSE, S-100, Vim,  $\alpha$ -SMA и EMA во всех отделах интактного хрусталика человека и экспериментального животного не выявили 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 моделированной предлагаемым способом корковой катаракты обнаружена отчетливо выраженная иммунопозитивная реакция с определенными моноклональными антителами — к NSE, Vim и белку S-100. Область ее проявления ограничена корой хрусталика. Возможность патогенетически обоснованного экспериментального моделирования корковой катаракты *in vivo*, воссоздающего фенотипические изменения клеток хрусталика при возрастной корковой катаракте у человека, подтверждается полным совпадением иммуногистохимических характеристик.

**Обсуждение полученных данных.** В последнее десятилетие появился интерес к изучению морфологических, биохимических и иммуногистохимических механизмов развития катаракты [13, 14].

Известно, что в условиях формирования различных видов катаракты у человека выявлена позитивная реакция клеток хрусталика на виментин, в связи с чем авторами выдвинуто предположение о трансформации эпителиальных клеток хрусталика в мезенхимальные в ходе катарактогенеза [17]. По этой причине ряд авторов склонны называть такие измененные клетки миофибробластами, или мезенхимальными клетками. По мнению H.L. Nielsen и соавт. [15], в результате описанной пластичности фенотипа данных клеток, позволяющей осуществлять процесс эпителиально-мезенхимального перехода, указанные клетки приобретают различные функциональные дефекты.

Известна экспериментальная модель образования катаракты, основанная на влиянии трансформирующего фактора роста- $\beta$ , индуцирующего эпителиально-мезенхимальный переход в клетках хрусталика [12].

Приведенные выше данные свидетельствуют о важности изучения и демонстрируют возможность изменения клетками организма своих фенотипических характеристик в различных условиях [11, 16, 19], в том числе и в условиях катарактогенеза [12–15, 17].

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

Таким образом, предложен доступный, нетрудоемкий и высокоспецифичный способ экспериментального моделирования корковой катаракты *in vivo*, способный воспроизвести 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.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ажипа Я.И. Трофическая функция нервной системы. М., Наука, 1990.
2. Аршавский И.А. Очерки по возрастной физиологии. М., Медицина, 1967.
3. Веселовская З.Ф. Катаракта. Киев, Книга плюс, 2002.
4. Волкова О.В. Нейродистрофический процесс (морфологические аспекты). М., Медицина, 1978.
5. Лепехина Л.М. Адаптационно-трофическое влияние шейных симпатических ганглиев в онтогенезе. Л., Наука, 1984.
6. Корсакова Н.В. Роль вегетативной нервной системы в формировании возрастной катаракты у человека. В кн.: Материалы научно-практической конференции, посвященной 75-летию профессора В.Н. Саперова. Чебоксары, Изд-во Чувашск. ун-та, 2006, с. 35–37.
7. Либман Е.С. и Шахова Е.В. Состояние и динамика слепоты и инвалидности вследствие патологии органа зрения в России. В кн.: Тезисы докладов 7-го съезда офтальмол. России. М., Офтальмология, 2000, ч. 2, с. 209–214.
8. Мальцев Э.В. и Павлюченко К.П. Биологические особенности и заболевания хрусталика. Одесса, Астропринт, 2002.
9. Паштаев Н.П., Корсакова Н.В., Поздеева Н.А. и Сергеева В.Е. Частота и характер общих соматических заболеваний, сопутствующих формированию разных видов возрастной катаракты у человека. Офтальмохирургия, 2011, № 1, с. 45–49.
10. Швалев В.Н., Гуски Г., Сосунов А.А. и Тарский Н.А. Преобразование симпатико-адреналовой системы в пожилом и старческом возрасте как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний. Казанск. мед. журн., 2003, т. 84, № 6, с. 401–408.
11. Bariety J., Hill G.S., Mandet C. et al. Glomerular epithelial-mesenchymal transdifferentiation in pauci-immune crescentic glomerulonephritis. Nephrol. Dial. Transplant., 2003, v. 18, № 9, p. 1777–1784.

12. De longh 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, v. 179, № 1–2, p. 43–55.
13. Gilliland K.O., Freel C.D., Johnsen S. et al. Distribution, spherical structure and predicted Mie scattering of multilamellar bodies in human age-related nuclear cataracts. *Exp. Eye Res.*, 2004, v. 79, № 4, p. 563–576.
14. Gilliland K.O., Freel C.D., Lane C.W. et al. Multilamellar bodies as potential scattering particles in human age-related nuclear cataracts. *Mol. Vis.*, 2001, v. 22, № 7, p. 120–130.
15. Nielsen H.L., Gudjonsson T., Villadsen R. et al. Collagen gel contraction serves to rapidly distinguish epithelial- and mesenchymal-derived cells irrespective of  $\alpha$ -smooth muscle actin expression. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, 2003, v. 39, № 7, p. 297–303.
16. Smallhorn M., Murray M.J. and Saint R. The epithelial-mesenchymal transition of the *Drosophila* mesoderm requires the Rho GTP exchange factor Pebble. *Development*, 2004, v. 131, № 1, p. 2641–2651.
17. 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, v. 104, № 5–6, p. 369–373.
18. Takamura Y., Sugimoto Y., Kubo E. et al. Immuno-histochemical study of apoptosis of lens epithelial cells in human and diabetic rat cataracts. *Nippon. Ganka. Gakkai. Zasshi.*, 2000, v. 104, № 4, p. 221–225.
19. Thiery J.P. Epithelial-mesenchymal transitions in development and pathologies. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 2003, v. 15, № 6, p. 740–746.

Поступила в редакцию 07.03.2011  
Получена после доработки 06.07.2011

## MORPHOLOGICAL BASIS OF OCULAR DESYMPATHETIZATION AS A NEW METHOD FOR EXPERIMENTAL CATARACT MODELING

*N.V. Korsakova, V.N. Grigor'yev and V.Ye. Sergeeva*

The aim of this study was to obtain the morphological basis for ocular desympathetization as a method for cataract modeling in vivo. The study was conducted on 20 outbred rabbits, in which the bilateral removal of superior cervical ganglia of sympathetic trunk resulted in the change of tone of the sympathetic division of the nervous system. 5–7 months after this operation, biomicroscopy of the anterior portion of both eyes was performed that has demonstrated in 16 out of 20 rabbits the initial manifestations of lenticular opacity. 12–14 months after the operation, their area was significantly increased, and the formation of wedge-shaped opacity with its basis facing the lens periphery, was documented. This was associated with the dissociation of lens fibers, as well as the extracellular liquid accumulation. Histological and phenotypic changes of the lens were similar to those in age-related cortical cataract, detected in man. In both age-related cataract, and that one received by a proposed modeling method, the immunopositive reaction was found demonstrating neuron-specific enolase, vimentin and S-100 protein in lenticular cortex. The proposed method of cataract modeling in vivo may be used for the study of cataract pathogenesis and for the development of measures of its prophylaxis and therapy.

**Key words:** *lens, senile cataract, cortical cataract, experimental modeling*

Department of Medical Biology, Chuvash State University, Cheboksary