

**ВЛИЯНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА В УВЕАЛЬНОМ ТРАКТЕ НА РАЗВИТИЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СЕТЧАТКЕ КРОЛИКОВ ПРИ СВЕТОВОМ ВОЗДЕЙСТВИИ****В. В. Савко**, д.м.н., **Вашах Зияд Махмуд Ахмед**, аспирант

Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова АМН Украины

*При моделюванні дегенеративного процесу в сітківці шляхом світлового опромінення в різних умовах експерименту встановлено негативний вплив запалення в судинній оболонці ока на розвиток патологічного процесу. При цьому виявлено, що у тварин з алергічним увеїтом реєструється більш значне зниження стабільності мембран сітківки, ніж у тварин без запалення в увеальному тракті.*

**Ключевые слова:** сетчатка, дегенерация, увеит, лизосомы**Ключові слова:** сітківка, дегенерація, увеїт, лізосоми

**Введение.** Катаракта и возрастная макулярная дегенерация сетчатки являются ведущими причинами снижения зрения, отмечаемого у пожилых людей. Эта проблема приобретает особую значимость в связи с глобальным увеличением возрастной категории людей, особенно в индустриальных странах. В настоящее время практически отсутствуют доступные методы медикаментозного лечения или профилактики этих заболеваний. Особенно критической эта проблема представляется в отношении возрастной макулярной дегенерации (МД) [2, 4, 6, 11, 12, 15, 18, 19].

В ряде исследований получены неоднозначные данные о том, что в патогенезе МД важнейшим звеном является дисбаланс процессов свободно-радикального окисления (белков, липидов и др. компонентов) и антирадикальной системы («гашение» радикалов) экзогенного и эндогенного характера. В результате этого дисбаланса в организме резко повышается концентрация пероксидов и снижается уровень функциональных групп белков (карбокислых, тиоловых и др.). Получены данные о снижении концентрации эндогенных антиоксидантов или отсутствии их изменений в организме больных с МД. В то же время доказано, у таких пациентов отмечается индукция ферментов антирадикальной защиты [8, 9, 13, 20].

Поскольку возраст является самым важным фактором риска этого заболевания, можно предположить, что возрастное снижение активности антиоксидантной системы и недостаток основных питательных веществ могут приводить к развитию дегенеративных изменений в тканях глаза. Если это так, то снижение активности защитной антиоксидантной системы и нарушения метаболизма в пожилом возрасте приводят к тому, что свободные радикалы, которые при «нормальном» обмене веществ немедленно нейтрализуются как промежуточный продукт, в данных условиях вызывают повреждение и гибель клеток [1, 3, 7, 9, 10].

В последние годы в ряде исследований показано, что при воспалительных заболеваниях глазного яблока отмечается повышенная генерация свободно-радикальных соединений кислорода, оксида азота и других соединений. В этой связи, учитывая роль свободно-радикальных соединений в патогенезе возрастной дегенерации сетчатки, представляется актуальным как в научном так и в практическом отношении, изучить особенности развития дегенеративного процесса, протекающего на фоне воспалительного поражения увеального тракта [14, 16, 17].

Высокая частота увеитов среди заболеваний глаз, хроническое рецидивирующее их течение, недостаточно эффективное лечение обуславливают тяжелые последствия воспалительных заболеваний сосудистого тракта глаза и высокую частоту слепоты и инвалидности по зрению вследствие увеитов [2, 10, 12].

Пристальное внимание офтальмологов к вопросам диагностики и лечения увеитов и их осложнений определяется еще и тем, что в последние годы наблюдается увеличение их количества.

Таким образом, представляется весьма актуальной задачей проведение клинико-экспериментальных исследований, на основе которых могут быть разработаны новые подходы, позволяющие повысить эффективность лечения возрастной макулодегенерации у больных с хроническим воспалительным процессом в увеальном тракте.

**Цель работы:** изучить влияние воспалительного процесса в увеальном тракте на развитие патологических изменений в сетчатке кроликов при световом воздействии.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Экспериментальные исследования проводились на 24 кроликах (массой 2,1–2,8 кг), которые были разделены на 3 группы: I (контрольная) — 7 животных, II (с воздействием света) — 8 животных, III (с воздействием света и аллергическим увеитом) — 9 животных.

Способ моделирования увеальной хориоретинальной дегенерации предусматривает общее облучение экспериментальных животных светом высокой интенсивности, по спектральному диапазону максимально приближенным к солнечному, отличающийся тем, что для достижения возможности получения модели увеальной хориоретинальной дегенерации у животного предварительно моделируют аллергический увеит.

Предлагаемый нами способ осуществляется следующим образом. Животному, фиксированному в специальном станке, проводили общую сенсibilизацию организма пятикратным подкожным введением в область верхней части бедра 50 мг бычьего сывороточного альбумина, растворенного в 1 мл<sup>3</sup> стерильного фосфатного буфера. Интервал между инъекциями составлял 7 дней. Через 7 дней после окончания общей сенсibilизации животному промывали конъюнктивальную полость правого глаза физиологическим раствором, закапывали 30 % альбуцид, после чего проводили эпибульбарную (Sol. dicaini 0,5 %) и ретробульбарную (Sol. novokaini 2 %) анестезии. Левый глаз был контрольным. Глазное яблоко фиксировали лапчатым пинцетом, конъюнктивальную полость тщательно осушивали ватным тампоном. Разрешающую дозу — 5 мг бычьего сывороточного альбумина, растворенного в 1 мл стерильного фосфатного буфера, — вводили в переднюю камеру правого глаза на 12 часах в 1–2 мм от плоскости лимба. Иглу инсулинового шприца вводили косо в слои стромы роговицы. Конъюнктивальная полость промывалась 30 % раствором альбуцида, место пункции роговицы тушировалось 1 % раствором бриллиантовой зелени. На следующий день после введения разрешающей дозы антигена в переднюю камеру глаза у животного развивался увеит и в этот же день ему начинали производить ежедневное общее облучение светом высокой интенсивности, максимально приближенным к солнечному спектральному диапазону (350–1150 нм), в квадратной комнате площадью 10 м<sup>2</sup>. Облучение проводили ежедневно в режиме светового дня с 9 до 19 часов двумя дуговыми ртутно-вольфрамовыми лампами типа ДРД — 1000 (плотность потока световой энергии 30 мВт/см<sup>2</sup>, напряжение 220 V, мощность 1000 Вт, фитопоток 20000 МФТ), расположенными на стенках на равном расстоянии от пола до потолка. Животные находились в клетках с решетчатыми боковыми и внутренними стенами, внутренняя стенка обклеена алюминиевой фольгой. Аллергический увеит длился в среднем 9 недель.

При проведении эксперимента соблюдались все рекомендации относительно исследований на животных.

Все животные исследовались посредством биомикроскопии на щелевой лампе до начала и в ходе эксперимента.

Патологические изменения в хориоретинальном слое сетчатки кроликов оценивались с помощью непрямого бинокулярного офтальмоскопа НБО-2 и подразделялись на 4 степени:

- отсутствие патологических изменений в хориоретинальном слое сетчатки;
- наличие единичных хориоретинальных очагов;
- наличие множественных хориоретинальных очагов;
- выраженные дистрофические изменения сетчатки.

В тканях изолированной сетчатки и зрительного нерва определяли активность фермента кислой фосфатазы.

Принцип метода определения активности кислой фосфатазы основан на определении концентрации свободного органического компонента субстрата — паранитрофенилфосфата, образующегося в результате действия фермента.

Для определения активности кислой фосфатазы в пробирках последовательно смешивали 0,1 мл исследуемой жидкости или экстракта ткани и 1,0 мл субстратно-буферного раствора (0,127 % раствор паранитрофенилфосфата в ацетатном буфере, рН 5,0). Пробирки с реакционным раствором инкубировали строго в течение 30 мин при (37,0±0,5) С. Реакцию останавливали добавлением 1,0 мл охлажденного до 0 °С 1 N раствора гидроксида натрия.

Измерения оптической плотности исследуемых растворов проводили на спектрофотометре «Specol — 210» (Карл Цейс, Германия) в 1- см кювете и длине волны 410 нм.

Активность кислой фосфатазы рассчитывали с использованием молярного коэффициента экстинкции, найденного путем экстраполяции по предварительно построенному калибровочному графику и выражали в нкат/мл исследуемой жидкости или нкат/г ткани. Коэффициент вариации — 7,8 %.

Данные обрабатывались с помощью соответствующих методов статистического анализа.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** Данные, полученные при исследовании влияния увеита на устойчивость сетчатки кроликов к повреждающему световому воздействию, представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Патологические изменения в сетчатке кроликов при увеите

Сроки наблюдения	Степень патолог. изменений	Условия эксперимента			Значимость различий, p
		Контроль 1	Свет 2	Свет+увеит 4	
		Кол-во глаз	Кол-во глаз	Кол-во глаз	
До начала эксперимента	0	14	16	18	p=1,000
	1	—	—	—	
	2	—	—	—	
	3	—	—	—	
	Всего	14	16	18	
16 недель	0	14	10	8	p=0,004
	1	—	6	10	
	2	—	—	—	
	3	—	—	—	
	Всего	14	16	18	
20 недель	0	14	6	4	p=0,000
	1	—	8	4	
	2	—	2	10	
	3	—	—	—	
	Всего	14	16	18	
28 недель	0	13	4	—	p=0,000
	1	1	7	6	
	2	—	4	8	
	3	—	1	2	
	Всего	14	16	16	

Примечание: p — достоверность различий между группами по ранговому критерию Крускала-Уоллиса.

В 61 % (10 сетчаток) в группе «свет» и в 42 % (8 сетчаток) в группе «свет+увеит» в первые 16 недель какие-либо патологические изменения сетчатки кроликов отсутствовали, лишь в 6 сетчатках (38 %) в группе «свет» и в 10 сетчатках (55 %) в группе «свет+увеит» были обнаружены единичные хориоретинальные изменения.

На 20 неделе эксперимента 22 % (4 сетчатки) имели единичные, а 57 % (10 сетчаток) — множественные хориоретинальные изменения, при этом в группе «свет» единичные хориоретинальные изменения встречались в 8 сетчатках (50 %), а множественные — в двух сетчатках (11 %).

На 28 неделе эксперимента, под воздействием света у 43 % (4 сетчатки) какие либо хориоретинальные изменения отсутствовали, в 26 % (7 сетчаток) и в 50 % (6 сетчаток) в группе «свет+увеит» были обнаружены единичные хориоретинальные изменения, множественные в 8 % (4 сетчатки) — в группе «свет» и в 12 % (8 сетчаток), а выраженные дистрофические изменения в 1 сетчатке в группе «свет» и в 2 сетчатках в группе «свет+увеит».

Таблица 2

Ранговая оценка развития патологических изменений в сетчатке кроликов при воздействии светового облучения в сочетании с увеитом при сравнении с группой «Свет»

Сроки наблюдения	Статистические показатели	Условия эксперимента	
		Свет	Свет + увеит
Начало эксперимента	n	16	18
	Средний ранг	17,50	17,50
	Сумма рангов	280,00	315,00
	U	144,00	
	W	315,00	
	P	1,000	
16 недель	n	16	18
	Средний ранг	15,88	18,94
	Сумма рангов	254,00	341,00
	U	118,00	
	W	254,00	
	P	0,300	
20 недель	n	16	18
	Средний ранг	13,88	20,72
	Сумма рангов	222,00	373,00
	U	86,00	
	W	222,00	
	P	0,034	
28 недель	n	16	16
	Средний ранг	13,25	19,75
	Сумма рангов	212,00	316,00
	U	76,00	
	W	212,00	
	P	0,037	

Примечание: p — достоверность различий при попарном сравнении по ранговому критерию Манна-Уитни.

Ранговая оценка развития патологических изменений в сетчатке кроликов (табл. 2) показала, что к 16 неделе от начала эксперимента различия в развитии хориоретинальных изменений были статистически незначительными ( $p=0,3$ ), в то время как к 20-й неделе и к окончанию эксперимента (28 неделя) наиболее существенные изменения в сетчатке происходили в группе «свет+увеит» по сравнению с группой «свет» (соответственно  $p=0,034$ ;  $p=0,037$ ).

Данные относительно состояния стабильности лизосомальных мембран ПЭС у кроликов при световом воздействии и увеите представлены в таблице 3.

Таблица 3

Состояние стабильности лизосомальных мембран ПЭС у кроликов при световом воздействии и увеите

Исследуемый показатель	Статистич. показатель	Условия эксперимента		
		Контроль	Свет	Свет + увеит
Неседиментируемая активность кислой фосфатазы (нкат/г ткани)	n	7	8	8
	M	112,1	151,9	183,4
	m	7,5	8,4	6,6
	$p_1$	—	<0,01	<0,00001
	$\%_1$	100,0	135,5	163,6
	$p_2$	—	—	<0,01
Седиментируемая активность кислой фосфатазы (нкат/г ткани)	n	7	8	8
	M	84,4	49,1	21,9
	m	7,1	2,1	1,8
	$p_1$	—	<0,001	<0,00001
	$\%_1$	100,0	58,2	25,9
	$p_2$	—	—	<0,00001
Общая активность кислой фосфатазы (нкат/г ткани)	n	7	8	8
	M	196,6	201,0	205,3
	m	12,4	9,5	6,9
	$p_1$	—	>0,05	>0,05
	$\%_1$	100,0	102,2	104,4
	$p_2$	—	—	>0,05
	$\%_2$	—	100,0	102,1

Примечание:  $p_1$  — уровень значимости различий данных по отношению к норме, рассчитанный с помощью t — теста для независимых выборок;  $p_2$  — уровень значимости различий данных при сравнении группы «Свет + увеит» по отношению к группе «Свет», рассчитанный с помощью t — теста для независимых выборок.

При действии света высокой интенсивности отмечалось достоверное повышение активности свободной формы кислой фосфатазы во II и III экспериментальной группах —  $151,9 \pm 8,4$  и  $183,4 \pm 6,6$ , что соответственно составило 135,5 % и 163,6 % по отношению к контрольным данным ( $112,1 \pm 7,5$ ).

Как видно из представленных данных, показатели активности связанной формы кислой фосфатазы значительно снижены относительно контрольных значений. Так в группе «свет» показатели активности фермента составляют  $49,1 \pm 2,1$  (58,2 %), в группе «свет+увеит» —  $21,9 \pm 1,8$  (25,9 %).

Согласно полученным экспериментальным данным, показатели активности общей формы кислой фосфатазы в группах «свет» и «свет + увеит» были выше контроля ( $196,6 \pm 12,4$ ) и составили  $201,0 \pm 9,5$  (102,2 %) и  $205,3 \pm 6,9$  (104,4 %) соответственно.

Таким образом, результаты исследований показали, что влияние света высокой интенсивности на сетчатку животных в значительной степени при-

водит к дестабилизации мембран лизосом пигментного эпителия.

Общий анализ полученных нами результатов проведенных экспериментальных исследований позволяет заключить, что воспалительный процесс в увеальном тракте существенно усиливает патогенное действие света на сетчатку. Об этом свидетельствуют как более выраженные патологические изменения, определяемые при биомикроскопическом исследовании, так и значительно повышенная лабилизация лизосом сетчатки, о чем свидетельствуют достоверные изменения активности свободной и связанной форм маркерного фермента — кислой фосфатазы.

Выявленные особенности развития экспериментальной световой дегенерации сетчатой оболочки в условиях увеального воспаления позволяют полагать, что в условиях клиники у больных с ВМД воспалительный процесс в увеальном тракте может оказывать негативное влияние на развитие дегенеративных нарушений, что необходимо учитывать в системе медикаментозного лечения больных с ВМД и воспалительными процессами в сосудистом тракте.

### ВЫВОДЫ

1. При моделировании дегенеративного процесса в сетчатке посредством светового воздействия в различных условиях эксперимента выявлено негативное влияние воспаления в сосудистой сети на развитие патологического процесса в сетчатке. Уже с 16 недели эксперимента степень патологических изменений в сетчатке у животных с увеитом значительно превышала таковую у животных, подвергнутых только световому воздействию.

2. Воздействие световой энергии вызывает у животных с аллергическим увеитом более резкое понижение стабильности лизосомальных мембран сетчатки. В этих условиях активность кислой фосфатазы, заключенной в лизосомах, была на 44,6 % ниже по сравнению с облученными животными без увеита.

### ЛИТЕРАТУРА

1. **Бездетно П. А., Шкиль Е. А., Соболев И. А.** Значение нарушений гемодинамики в бассейне задних длинных цилиарных артерий у больных с периферическими дистрофиями сетчатки // *Офтальмол. журн.* — 1991. — № 2. — С.85–89.
2. **Золотаревский А. В.** Макулодистрофия — проблема общепатологическая // *Новое в офтальмологии.* — 1997. — № 4. — С.43–44.
3. **Леус Н. Ф., Савко В. В., Юревич О. Ю.** Световое повреждение сетчатой оболочки при снижении уров-

ня глутатиона в организме // *Офтальмол. журн.* — 2004. — № 5. — С.67–70.

4. **Мирошникова Л. М., Смилович Л. Е.** К патогенезу склеротических макулодистрофий // *Офтальмол. журн.* — 1978. — № 3. — С.167–170.
5. **Наследов А.** SPSS компьютерный анализ данных в психологии и социальных науках. // *Спб.: Питер,* 2005. — 416 с.
6. **Algevre P. V., Marshall, Segerard S.** Age-related maculopathy and the impact of blue light hazard // *Acta Ophthalmol. Scand.* — 2006. — Vol.64. — P. 4–15.
7. **Ayyala R. S., Cruz M. D., Margo M. D.** Cystoid macular edema associated with latanoprost in aphakic and pseudophakic eyes // *Am. J. Ophthalmol.* — 1998. — Vol. 126. — № 4. — P. 602–604.
8. **Christen W. G., Glynn R. G., Hennekens C. H.** Antioxidants and age-related eye disease. Current and future perspectives // *Ann. Epidemiol.* — 1996. — Vol. 6. — NL. — P.60–66.
9. **Delcourt C, Cristol J.-P., Leder C L. et. al.** Associations of Antioxidant Enzymes with cataract and age-related macular degeneration // *Ophthalmol.* — 1999. — 106. — P.215–222.
10. **Fridman Z., Neumann E., Hyams S.** Vitreous and peripheral retina in aphakia // *Brit. J Ophthalmol.* — 1973. — Vol. 57. — P. 52–57.
11. **Ham W. T., Muller H. A., Ruffolo J. J.** Action spectrum for the retinal injury from near-ultraviolet radiation in the aphakic monkey // *Am. J Ophthalmol.* — 1982. — Vol. 93. — № 3. — P. 299–306.
12. **Kanski J. J.** Degeneration and dystrophies of the fundus // *Clin. Ophthalmol.* — 1997. — P.384–424.
13. **La Pas M. A., Zhang J., Fridovich I.** Antioxidant enzymes of the human retina: effect of age on enzyme activity of macula and periphery // *Curr Eye Res.* — 1996. — Vol.15. — № 3. — P.273–278.
14. **Leeuwen, Klaver, Vingerling et al.** The risk and Natural Course of age-related maculopathy // *Arch. Ophthalmol.* — 2004. — Vol. 121. — P. 519–524.
15. **Sarks J. P., Sarks S. H., Killingsworth M. C** Evolution of soft drusen in age-related macular degeneration // *Eye.* — 1994. — Vol. 8. — Pt.3. — P. 269–283.
16. **Smith B. T.** Light energy, cataract surgery, and progression of age-related macular degeneration // *Curr Opin Ophthalmol.* — 2005. — Vol. 16. — № 3. — P.166–169.
17. **Terasaki H., Miyake K., Miyake Y.** Reduced oscillatory potentials of the full-field electroretinogram of eyes with aphakic or pseudophakic cystoid macular edema // *Am. J Ophthalmol.* — 2003. — Vol.135. — № 4. — P.477–482.
18. **Vingerling J. R., Dielemans I., Bots M. L.** Age-related macular degeneration is associated with atherosclerosis. The Rotterdam Study // *Am. J. Epidemiol.* — 1995. — Vol. 142. — № 4. — P. 404–409.
19. **Wenzel A.** Molecular mechanisms of light-induced photoreceptor apoptosis and neuroprotection for retinal degeneration // *Prog. Retin. Eye Res.* — 2005. — Vol.24. — № 2. — P. 275–306.
20. **Winkler B. S., Boulton M. E., Gottsch J. D., Sternberg P.** Oxidative damage and age-related macular degeneration // *Mol. Vis.* — 1999. — № 5. — P. 32.

Поступила 13.12.2010

Рецензент д-р мед.наук Н. Ф. Леус

INFLUENCE OF THE INFLAMMATORY PROCESS IN THE UVEAL TRACT ON DEVELOPMENT OF THE PATHOLOGIC CHANGES IN THE RABBIT RETINA ON EXPOSURE TO LIGHT

Savko V. V., Vashah Ziyad Mahmud Ahmed

Odessa, Ukraine

On modeling the degenerative process in the retina by exposure to light under different conditions of the experiment there was revealed a negative influence of inflammation in the eye vascular membrane on development of the pathologic process. It was established that animals with allergic uveitis had sharper reduction of the retinal membrane stability than in animals without the inflammatory process.



УДК 617.7–007.681:615.831–07+577.11

ВЛИЯНИЕ СВЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА СОСТОЯНИЕ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ ГЛАЗА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПЕРВИЧНОЙ ГЛАУКОМЫ

В. Н. Сердюк, к.мед.н., В. В. Семенко

Областная клиническая офтальмологическая больница г. Днепропетровск, Украина

*Вивчали вплив світлової енергії високої інтенсивності, яка викликає оксидативний стрес в сітківці та інших тканинах ока, на динаміку експериментальної глаукоми у 24 кроликів. Встановлено, що дія світла високої інтенсивності при моделюванні глаукомного процесу суттєво підвищує рівень малонового діальдегіду та дієнових кон'югатів у камерній волозі, що є додатковим патогенним фактором у пошкодженні структурних компонентів у системі відтоку в передній камері. При світловому опроміненні в сітківці та зоровому нерві значно зростає концентрація продуктів перекисного окислення ліпідів, що можна розглядати як елемент механізму нейродегенеративних процесів при розвитку первинної відкритокутової глаукоми в умовах світлового навантаження.*

**Ключевые слова:** первичная глаукома, моделирование, световое облучение, перекисное окисление липидов, ткани глаза.

**Ключові слова:** первинна глаукома, моделювання, світлове опромінення, перекисне окислення ліпідів, тканини ока.

**Введение.** Глаукома является одной из актуальных проблем офтальмологии. Это обусловлено ее широкой распространенностью и социальной значимостью, поскольку она представляет собой одну из основных причин инвалидности по зрению как у нас в стране, так и во всем мире [1, 3, 4, 7].

Несмотря на то, что современная офтальмология имеет в своем арсенале большой выбор лекарственных препаратов, методик консервативного и хирургического лечения, не всегда эти лечебные мероприятия оказываются эффективными. Это объясняется сложностью патогенетических механизмов развития заболевания и как правило — симптоматическим, а не патогенетическим подходом к его лечению и профилактике [2, 5, 8, 14, 17].

Результаты многочисленных исследований привели к значительному прогрессу в развитии наших представлений о причинах развития первичной глаукомы, однако многие звенья этиологии и патогенеза этого заболевания и сегодня еще изучены недостаточно, в особенности это относится к выяснению механизмов глаукоматозной нейропатии [9, 10, 14, 19, 20].

В последнее время появились доказательства роли свободно-радикальных процессов и, в частности, перекисного окисления липидов при развитии глаукомы. Однако эти данные касаются главным образом механизмов нарушения путей оттока камерной влаги и, в частности, повреждения структуры и функции трабекулярного аппарата [11, 12, 15].

В настоящее время также показано значение свободно-радикальных процессов и, в частности, активных форм кислорода в патогенезе нейродегенеративных заболеваний [18, 20].

Согласно существующей на сегодня метаболической концепции патогенеза глаукоматозной оптической нейропатии, особую роль при глаукоме играют окислительный стресс и эксайтотоксическое повреждение третьего нейрона сетчатки. Важная роль также отводится патологическим процессам при участии активированной нейроглии, которая в условиях гипоксии продуцирует избыточное количество токсических метаболитов, оказывающих