

УДК 617.7–007.681:616–092.4(048.8)

МОДЕЛИ ГЛАУКОМЫ, ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ. АДРЕНАЛИН-ИНДУЦИРОВАННАЯ ГЛАУКОМА КАК АДЕКВАТНАЯ МОДЕЛЬ ГЛАУКОМНОГО ПРОЦЕССА ЧЕЛОВЕКА**И. Н. Михейцева**, ст.науч.сотр.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины», Одесса

Экспериментальные модели заболеваний, вызываемые у животных, давно и широко используются в различных исследовательских целях. Решение многих научных и практических задач медицины было бы невозможно без изучения вопроса на модели заболевания. Поэтому создание, разработка и обоснование адекватной модели заболевания является крайне важной и очень непростой задачей. Именно модели заболевания на животных в сравнении с другими экспериментальными методами, такими как клеточные и тканевые культуры или посмертные модели, позволяют изучать различные патологические факторы и терапевтические подходы в условиях *in vivo*.

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) — хроническое, длительно и скрыто развивающееся глазное заболевание, этиопатогенез которого до конца все еще не ясен. Длительное время любое достоверное повышение внутриглазного давления (ВГД) считали глаукомой. По мере накопления знаний и развития методов исследования изменялись и представления о патогенезе этой болезни. В настоящее время понятие глаукома включает в себя, прежде всего, прогрессирующую потерю ганглиозных клеток сетчатки с характерными изменениями диска зрительного нерва и прогрессирующими дефектами поля зрения [22]. Однако, окончательное определение этого заболевания осуществимо лишь при четком знании механизмов его возникновения и развития, что возможно лишь при наличии в арсенале исследователей адекватной модели.

Глаукома как нозологическая единица известна уже более 150 лет и за эти годы было предпринято множество попыток создания модели заболевания. Следует отметить, что усилия в этих работах, главным образом, были направлены на получение единственного признака глаукомы — повышенного ВГД.

Говоря об истории вопроса, считаем необходимым упомянуть ряд работ. В 50-е годы XX столетия серией работ А. Е. Шевалева [16–18] были разработаны модели различных глазных гипертензий, включая интоксикационные модели. Ряд авторов, считая возможной патогенетическую связь глаукомы с недостаточностью той или иной эндокринной железы, пытались создавать модели патологии на этой базе. Так, была предпринята попытка создания модели глаукомной гипертензии с помощью корти-

костероидов [2]. При изучении роли вегетативной нервной системы для глаукомного процесса в работах М. Я. Фрадкина и соавт. использовали метод экспериментального повышения ВГД с помощью удара по глазу, инъекций гипертонического раствора хлорида натрия под конъюнктиву [15]. Однако эти модели нельзя считать моделями первичной глаукомы.

В некоторых более современных работах учитывались изменившиеся представления о патогенезе глаукомы и предпринимались попытки при создании моделей получить изменения в нейрооптическом аппарате глаза, путем поднятия ВГД или вызывая ишемию в тканях глаза, хотя подавляющее число моделей глаукомы и до настоящего времени базируется на повышении офтальмотонуса.

Для моделирования глаукомы использовались различные виды животных. Это обезьяны, кролики, кошки, крысы, мыши и др. Применение каждого из этих видов имеет плюсы и минусы. Важно отметить в целом, что для выбора модели и успешной работы с ней следует оценить следующие аспекты: подобность зрительной системы модели человеческой; приближение временного интервала, требующегося для индукции патологических изменений у модели и в человеческих глазах; размер глаза животного; необходимое оборудование для моделирования; возможности и трудности анализа ожидаемых нарушений у животных; доступность животных и их стоимость.

Среди различных современных животных моделей глаукомы модели на обезьянах по многим параметрам были бы наилучшими вследствие анатомического сходства глаз обезьян и человека, а также филогенетической близости этих видов. В то же время, обезьяны как объект экспериментальных исследований слишком дороги и работа с ними требует особых навыков исследователя. У обезьян обычно вызывают подъем ВГД лазерной фотокоагуляцией трабекулярных путей оттока [21, 31]. При этом требуется более одного сеанса лазерной коагуляции. Другие методы повышения офтальмотонуса в глазах обезьян включают внутрикамерные инъекции различных веществ, в частности, латексных микросфер [37], полиамидных гелей [23], ферментов [36]. Применялись также местно стероиды для поднятия ВГД у приматов [20].

© И. Н. Михейцева, 2011

Распространенным объектом для воспроизведения моделей глаукомы являются грызуны. Мелкие грызуны, такие как крысы и мыши становятся объектом выбора, когда требуется большое количество животных, при исследовании механизмов нейродегенерации и нейропротекции. Ряд моделей повышенного ВГД с повреждением зрительного нерва у крыс были разработаны в последнее десятилетие: инъекциями концентрированного солевого раствора в эписклеральные вены [30], лазерной коагуляцией трабекулы [35,25], катетеризацией эписклеральных вен [34]. Крысы как объект исследования довольно удобны — они легко управляемы, их глаза имеют достаточный размер, позволяющий измерять ВГД имеющимся оборудованием в бодрствующем состоянии. Это важно, поскольку общая анестезия ведет к резкому падению офтальмотонуса. Несмотря на определенные отличия в структуре человеческих и крысиных глаз, все глазные структуры, которые поражаются при глаукоме человека, присутствуют в глазах крыс.

Говоря о моделях глаукомы на мышах, которых также используют исследователи, следует подчеркнуть, что глаза мышей имеют определенные принципиальные отличия от человеческих глаз, включая артериальное кровоснабжение диска зрительного нерва и отсутствие решетчатой пластины [27], которая играет решающую роль в повреждении/протекции зрительного нерва у человека. Также проблемой является маленький размер глаз мышей, что требует разработки специальных методов измерения ВГД. Используют преимущественно модели повышения ВГД, полученные из линий трансгенных мышей [32,33,26]. Преимущества этих моделей в том, что животные с мутантными генами обеспечивают большую унификацию повышения ВГД. Кроме того, большое количество пораженных животных может быть получено из однажды мутировавшей линии.

Несмотря на то, что при многих современных моделях глаукомы развивается ряд изменений в глазу, характерных для глаукомы человека, таких как изменения диска зрительного нерва, гибель ганглиозных клеток сетчатки (ГКС), слоя нервных волокон, все эти модели обладают существенным недостатком — они не воспроизводят хронический патологический процесс, растянутый во времени, а являются, по сути, следствием острого процесса. Во всех моделях глаукомы, вызываемых механическим, химическим, энергетическим (лазерным) воздействием, резко блокируется отток жидкости из глаза и вызывается острое повышение ВГД, тогда как глаукома — это хроническое, длительно развивающееся заболевание. Кроме того, воздействия эти чаще всего нефизиологичны и далеки от процессов, имеющих место в живом организме.

Эти недостатки существенно минимизированы в модели адреналин-индуцируемой глаукомы (АИГ) у кроликов, которую разрабатывали и изучали на протяжении длительного времени в Институте глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова [1, 6, 8, 9, 28]. Эта модель использовалась также другими авторами [13,14] для различных исследовательских целей. В данной работе мы предприняли попытку обосновать адекватность модели АИГ глаукомным изменениям и патогенетическим механизмам, которые характерны для глаукомы человека.

Е. М. Липовецкой еще в 60-е годы прошлого столетия были проведены эксперименты по моделированию повышенного ВГД у кроликов путем длительного введения раствора адреналина гидрорлорида [8]. Кроликам-альбиносам в течение полугодия через каждые 1–2 дня внутривенно вводили по 0,5мл 0,1 % раствора адреналина. При такой дозе и длительности медикаментозного воздействия наблюдался значительный (около 50 %) падеж экспериментальных животных. У оставшихся в живых кроликов наблюдалось стойкое повышение ВГД, которое сохранялось и после прекращения введения адреналина. Дальнейшая разработка модели привела к снижению дозы вводимого адреналина и длительности его введения. В настоящее время нами разработана [28] и используется усовершенствованная схема моделирования АИГ у кроликов с унифицированной дозой адреналина в расчете 25–30 мкг/кг массы животного и точного количества внутривенных инъекций адреналина (40 инъекций). Это позволило существенно снизить смертность животных до 10–15 % с сохранением эффективности моделирования.

На модели АИГ были изучены и показаны в динамике процесса от начальных стадий моделирования до развившегося экспериментального глаукомного процесса особенности нарушения гидродинамики и кровоснабжения глаза, гистоморфологические, метаболические, регуляторно-мессенджерные изменения.

Изменения гидродинамики в глазу экспериментальных животных носили постепенный характер. В начальный период моделирования они характеризовались повышением продукции и оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ), которое затем сменялось постепенным снижением оттока и продукции ВГЖ, формированием в отдаленные сроки развития модели существенной ретенции ВГЖ. Гемодинамические нарушения в глазу также формировались во времени. Постепенное снижение кровотока в хорио-цилиарных сосудах в отдаленных сроках моделирования вело к ишемии тканей глаза [3,10].

Клиническая картина модели, подобная хроническому глаукомному процессу у людей, сопро-

вождалась характерными изменениями структуры заинтересованных глазных тканей. Гистоморфологические исследования, проведенные в динамике экспериментального глаукомного процесса, выявили нарушения состояния в таких глазных структурах как дренажная система [1], сосуды, сетчатка, зрительный нерв [9]. Показано, что у животных с моделью адреналиновой глаукомы постепенно развиваются дистрофические изменения стенки сосудов, происходит перерождение ганглиозного слоя сетчатки и ткани зрительного нерва с глубокой экскавацией диска. В работе И. А. Самусенко и соавт. (2003) на глазах кроликов с АИГ показано снижение количества нейронов в ганглиозном слое сетчатки, а также уменьшение толщины слоя аксонов [13]. Таким образом, морфологические изменения в глазах животных с моделью АИГ также схожи с основными характерными изменениями у больных ПОУГ.

Изучение регуляторно-мессенджерных механизмов глаукомы на модели АИГ начиналось с работ, посвященных роли адренорецепции и кальциевой регуляции, выполненных под руководством акад. Г. Н. Крыжановского. Была доказана ведущая роль возбуждения β -адренорецепторных структур глаза в экспериментальном глаукомном процессе и обоснована концепция патогенетического значения активации β -рецепторов при глаукоме [4–6]. Подтверждением этого положения является применение β -блокаторов в лечении больных глаукомой. Эти препараты оставались препаратами первого выбора более 30 лет и широко применяются до настоящего времени в клинике глаукомы.

Дальнейшим продолжением разработки модели и использования ее как инструмента для изучения патогенетических механизмов глаукомы, явилось выявление мессенджерной роли ионов кальция и его избыточного накопления при АИГ, а также роли дисбаланса циклических нуклеотидов цАМФ и цГМФ в тканях глаза [7, 10, 3]. На модели АИГ было показано, активация β -адренорецепторов (β -АР) приводит к стимуляции синтеза цАМФ в тканях глаз, где сосредоточены β -АР. Накопление этого вторичного проводника запускает сложный комплекс внутриклеточных процессов, ведущий к усиленному вхождению ионов кальция через активированные кальциевые каналы внутрь клетки. Чрезмерный уровень Ca^{2+} , как было показано нашими исследованиями [10, 29], способствовал дистрофическим изменениям в тканях глаз, вызванных ишемией. Применение блокатора кальциевых каналов верапамила при моделировании АИГ в значительной степени снижало агрессивное влияние адреналина. Экспериментальная терапия была наиболее эффективна на начальных стадиях глаукомного процесса.

Подтверждением этого вывода наших экспериментальных исследований является использование антагонистов кальциевых каналов при лечении больных глаукомой [19, 24].

Среди прочих патохимических регуляторных механизмов, которые были изучены на модели АИГ и для которых показана их патогенетическая роль, полагаем необходимым отметить свободно-радикальные процессы [12] и эндотелиальную дисфункцию [11]. Эти механизмы являются универсальными механизмами клеточного повреждения, прежде всего, при сердечно-сосудистых заболеваниях. Выявленный нами факт присутствия этих повреждающих механизмов у животных с моделью АИГ подчеркивает сосудистый генез экспериментального глаукомного процесса, что роднит его с глаукомным процессом у людей.

Таким образом, проведенный анализ существующих моделей глаукомы у животных и особенностей модели АИГ у кроликов позволяет сделать вывод, что именно эта модель глаукомы на сегодняшний день наиболее адекватно отражает изменения, которые наблюдаются в организме больных глаукомой, а также те патогенетические механизмы, которые ведут к этим изменениям. Эта модель позволяет воспроизвести хронический сосудисто-генерализованный нейродегенеративный процесс в глазу. Поэтому модель АИГ является важным инструментом для дальнейшего изучения механизмов глаукомной патологии как на организменном, так и на клеточно-молекулярном уровне, а также для исследования эффективности различных медикаментозных методов лечения. Результаты исследований на модели адреналин-индуцируемой глаукомы у кроликов, с известной долей допущения, могут быть экстраполированы на первичную открытоугольную глаукому человека.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Думброва Н. Е., Липовецкая Е. М. Ультраструктура трабекулярной ткани глаза кролика при экспериментальной адреналиновой глаукоме // Офтальмол. журн. — 1972. — № 4. — С. 294–297.
2. Касавина Б. С., Пантиелева В. М. Влияние кортикостероидов на мукополисахариды водянистой влаги и состояние регуляции офтальмотонуса // Вестн. офтальмол. — 1969. — № 2. — С. 7–11.
3. Кашинцева Л. Т., Михайцева И. Н., Копп О. П. Мембрано-рецепторные, клеточные и кальциевые механизмы развития первичной открытоугольной глаукомы (экспериментальные исследования) // Матер. Всерос. научно-практ. конф. «Глаукома на рубеже тысячелетия. Итоги и перспективы». — 1999. — М., — С. 21–23.
4. Крыжановский Г. Н., Кашинцева Л. Т., Липовецкая Е. М. и др. Адренергические механизмы глаукомы // Офтальмол. журн. — 1983. — № 8. — С. 494–496.

5. Крыжановский Г. Н., Кашинцева Л. Т., Липовецкая Е. М. и др. О роли адренорецепции в развитии первичной глаукомы // Офтальмол.журн. — 1981. — № 5. — С.292–296.
6. Крыжановский Г. Н., Кашинцева Л. Т., Липовецкая Е. М. и др. Экспериментальное обоснование патогенетически направленной терапии глаукомы // Офтальмол.журн. — 1980. — № 8. — С.493–497.
7. Крыжановский Г. Н., Кашинцева Л. Т., Михейцева И. Н. и др. Циклические нуклеотиды при экспериментальной глаукоме // Бюл.эксп.биол. и мед. — 1988. — № 10. — С.419–421.
8. Липовецкая Е. М. Экспериментальная глаукома при адреналиновом атеросклерозе у кроликов // Офтальмол.журн. — 1965. — № 2. — С.151–152.
9. Липовецкая Е. М., Степанок Е. Г. Гистоморфологические исследования при экспериментальной глаукоме // Офтальмол.журн. — 1967. — № 1. — С.52–56.
10. Михейцева И. М. Фармакологічна корекція експериментальної відкритокутової глаукоми/Автореф... канд.біол.наук. — Одеса,1998. — 16с.
11. Михейцева И. Н. Патогенетическое значение эндотелиальной дисфункции при первичной глаукоме // Досягн. біолог. та медицини — 2009. — № 2. — С.17–20.
12. Михейцева И. Н. Перекисное окисление липидов при экспериментальной адреналиновой глаукоме // Офтальмол.журн. — 1989. — № 7. — С.427–428.
13. Самусенко И. А., Алексеев В. Н., Абузайед В. Н. Морфологические проявления лечебного патоморфоза глаукомной оптической нейропатии при экспериментальной глаукоме // Глаукома. — 2003. — № 4. — С. 3–9.
14. Устинова Е. И., Дашкова Е. В., Беляева И. В. Влияние некоторых нейрососудистых и эндокринных воздействий на регуляцию офтальмотонуса в эксперименте // Офтальмол.журн. — 1973. — № 7. — С. 520–523.
15. Фрадкин М. Я., Левина Л. С., Штейн Ф. Г. и др. Глаукома и вегетативная нервная система// Вестн. офтальмол. — 1936. — № 1. — С.3–8.
16. Шевалев А. Е. Гипотеза этиологии первичных глауком// Офтальмол. журн. — 1964. — № 8. — С. 592–597.
17. Шевалев А. Е. Экспериментальная гипертония глаза типа первичной глаукомы. Внутриглазное давление при длительном кормлении животных холестерином // Офтальмол. журн. — 1957. — № 2. — С.103–105.
18. Шевалев А. Е. Экспериментальная транзиторная сульфамидная глаукома// Офтальмол. журн. — 1959. — № 3. — С.144–148.
19. Якубова Л. В., Ефимова М. Н. Вазоспазм при глаукоме: клиника, диагностика, лечение) // Матер.Всерос. научно-практ. конф. «Глаукома на рубеже тысячелетия. Итоги и перспективы». — 1999. — М., — С. 67–71.
20. Amfraly M. F. Aqueous outflow facility in monkeys and the effect of topical corticoids// Invest Ophthalmol — 1964. — № 3. — P.534–538.
21. Gaasterland D., Kupfer C. Experimental glaucoma in the rhesus Monkey// Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1974. — v.13. — P.455–457.
22. Gugler A., Apoptose und Glaukom // Z. prakt. Augenheilkd. — 2000. — № 21. — P.257–263.
23. Kaufman P. L., Lutjen-Drecoll E., Hubbard W. C., Erickson K. A. Obstruction of aqueous humor outflow by cross-linked polyacrylamide microgels in bovine, monkey and human eyes // Ophthalmology. — 1994. — v.101. — P. 1672–1679.
24. Kitazawa Y., Shirai H., Go F. Y. The effect of Ca²⁺ antagonist on visual field in low-tension glaucoma // Gr.Arch. Clin.Exp.Ophthalmol. — 1989. — v.227. — P.408–412.
25. Levkovitch-Verbin H., Quigley H. A., Martin K. R. et al. Translimbal laser photocoagulation to the trabecular meshwork as a model of glaucoma in rats // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 2002. — v.43. — P. 402–410.
26. Mabuchi F., Lindsey J. D., Aihara M. et al. Optic nerve damage in mice with a targeted type I collagen mutation // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 2004. — v.45. — P. 1841–1845.
27. May C. A., Lutjen-Drecoll E. Morphology of the murine optic nerve//Invest Ophthalmol Vis Sci. — 2002. — v.43. — P.2206–2212.
28. Mikheytseva I., Lipovetskaya E., Kopp O. et al. Adrenalin-induced chronic ocular hypertension in adult rabbits // Clin.monatsbl. Augen. — 2009. — v.226, № 4. — P. 332–336.
29. Mikheytseva I., Kashintseva L., Krizanovsky G. et al. The influence of the calcium channels blocker verapamil on experimental glaucoma // Intern Ophthalmol. — 2004. — v.25. — P. 75–79.
30. Morrison J. C., Moore C. G., Deppmeier L. M. et al. A rat model of chronic pressure-induced optic nerve damage// Exp Eye Res. — 1997. — v.64. — P. 85–96.
31. Quigley H. A., Hohman R. M. Laser energy levels for trabecular meshwork damage in the primate eye // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1983. — v.24. — P. 1305–1307.
32. Savinova O. V., Sugiyama F., Martin J. E. et al. Intraocular pressure in genetically distinct mice: An update and strain survey // BMC Genet. — 2001. — № 2. — P.12.
33. Senatorov V. V., Maljukova I., Fariss R. et al. Expression of mutated mouse myocilin induces open-angle glaucoma in transgenic mice // J Neurosci. — 2006. — № 26(46). — P. 11903–11914.
34. Shareef S. R., Garcia-Valenzuela E., Salierno A. et al. Chronic ocular hypertension following episcleral venous occlusion in rats // Exp Eye Res. — 1995. — v.61. — P. 379–382.
35. Ueda J., Sawaguchi S., Hanyu T. et al. Experimental glaucoma model in the rat induced by laser trabecular photocoagulation after an intracameral injection of India ink // Jpn J Ophthalmol. — 1998. — v.42. — P.337–344.
36. Zimmerman L. E., De Venecia G., Hamasaki D. I. Pathology of the optic nerve in experimental acute glaucoma // Invest Ophthalmol. — 1967. — v.6. — P.109–125. .
37. Weber AJ, Zelenak D. Experimental glaucoma in the primate induced by latex microspheres // J Neurosci Methods. — 2001. — v.111. — P.39–48.

