

УДК 617.713–001.31+615.457–092.19

Вплив екзогенного фосфокреатину на перебіг експериментальної контузійної травми рогівки

Е. Ф. Барінов, д. мед. н. проф., К. Е. Голубов, к. мед. н. доц., О. М. Сулаєва, д. мед. н. доц.

Донецький національний
медичний університет
ім. М. Горького
Кафедра гістології, цитології
та ембріології, кафедра
офтальмології ФІПО
e-mail: glbv1@rambler.ru

Ключевые слова: контузия глаза,
морфология роговицы, экзогенный
фосфокреатин

Ключові слова: контузія ока,
морфологія рогівки, екзогенний
фосфокреатин

Експериментальне дослідження проведено на 25 кроликах (50 глаз), у котрих моделювали стандартну монокулярну пряму контузіонну травму очного яблука. Результати морфологічного дослідження роговиці ока дозволили конкретизувати патоморфологічні зміни структур роговиці в течение 14 суток після травми. Продемонстровано, що введення екзогенного фосфокреатину (Неотон) в ранні терміни після контузіонної травми забезпечує зниження пошкодження епітелію та ендотелію роговиці та обмежує набряток та дистрофічні процеси в стромі роговиці, ймовірно, внаслідок відновлення енергобалансу в клітинах структур ока.

The effect of exogenous phosphocreatine on the course of experimental contusion injury of the cornea

E. Barinov, K. Golubov, O. Sulaeva

Donetsk National Medical University
named after M. Gorky, Donetsk,
Ukraine
e-mail: glbv1@rambler.ru

Key words: eye contusion, experi-
mental trauma, neoton

An experimental study was conducted on 25 rabbits (50 eyes) who modeled the standard monocular direct contusion of the eyeball. The results of the morphological study of the cornea allowed to specify the pathologic changes in the structures of the cornea within 14 days after the injury. Demonstrated that administration of exogenous phosphocreatine (neoton) early after contusion reduces damage to the epithelium and endothelium of the cornea, and limits the swelling and degenerative processes in the corneal stroma, probably due to the reduction of the energy balance in the cells of the eye structure.

Вступ. Контузійне пошкодження очного яблука вважається одним із поширених видів травм зорового аналізатора, яке супроводжується зниженням гостроти зору у 24–35 % випадків [3,4,6,7]. Наведена статистика обумовлює необхідність вивчення структур діоптричного апарату, патогенетичних механізмів їх дисфункції та стимулює до пошуку оптимальних методів лікування пацієнтів із контузією ока.

Маловивченим але вкрай важливим питанням є відновлення структурного гомеостазу травмованої рогівки, для чого необхідно визначити мішені для адекватної фармакологічної корекції. Максимальної уваги заслуговує ендотелій рогівки, який забезпечує енергозалежне підтримання циркуляції тканинної рідини стромі. Зниження енергозабезпечення Na^+ - K^+ -АТФази (іонної помпи) ендотелію

після травми може спричинити порушення транспорту іонів й води, що зумовлює дистрофічні зміни та набряк рогівки, а у відстрочений термін — зміни її рефракційних властивостей. У цьому контексті визначення метаболічних препаратів, що спроможні ефективно відновити енергопостачання клітин рогівки, є актуальною задачею офтальмоанімації, а призначення відповідних препаратів може забезпечити першу лінію захисту рогівки. Перспективним уявляється застосування в гострому періоді травми ока екзогенного фосфокреатину (препарату Неотон), який є не тільки донором макроергічних сполук, але й одночасно активатором ферментів лактатдегідрогенази та сукцинат-дегідрогенази, що

© Е. Ф. Барінов, К. Е. Голубов, О. М. Сулаєва, 2013

беруть участь у процесах енергозабезпечення клітин організму [2]. В літературі відсутні дані щодо можливості використання екзогенного фосфокреатину в терапії контузійної травми ока.

Метою дослідження є визначення в експерименті впливу екзогенного фосфокреатину на перебіг гострого періоду контузійної травми ока.

Матеріал і методи

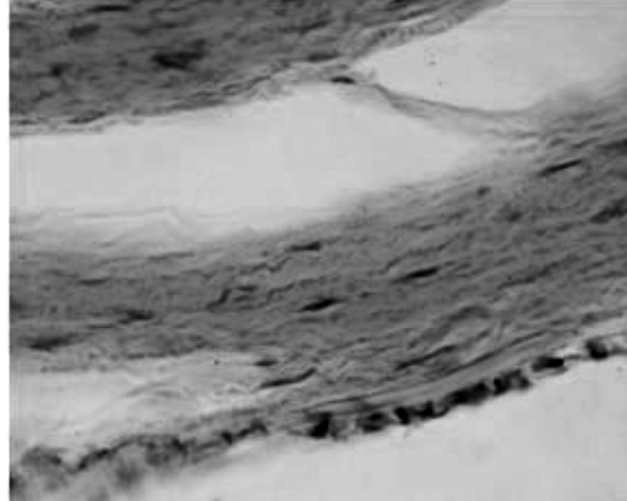
Експериментальне дослідження проведено на 25 статевозрілих кроликах (50 очей) породи шиншила масою 2,5–3,0 кг. У тварин моделювали стандартну монокулярну пряму контузійну травму очного яблука з використанням «Пристрою для моделювання контузії очного яблука» (декларційний патент України 72384А). Моделювання патологічного процесу проводилося в умовах прямого удару травмуючим предметом в зону, близьку до центру рогівки при центральній позиції ока.

Морфологічне дослідження очного яблука було проведено через 1, 3, 7 та 14 діб після контузійної травми. Матеріал фіксували в 10 % розчині формаліну на 0,1 % фосфатному буфері (рН 7,4). Серійні зрізи очного яблука товщиною (5±1) мкм фарбували гематоксилином-еозином та толуїдиновим синім [5]. При морфометричному дослідженні оцінювали товщину рогівки, її передній епітелій і ендотелій, та питому щільність пошкоджених клітин [1].

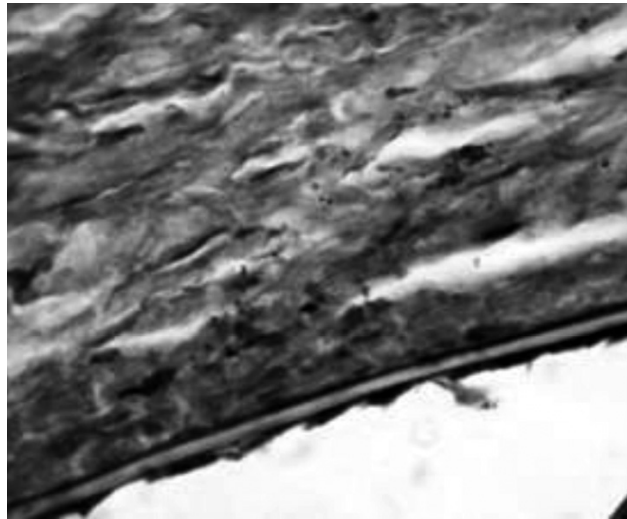
В процесі дослідження у 15 кроликів вивчався вплив екзогенного фосфокреатину (Неотону) на перебіг структурно-гомеостазу рогівки ока. Неотон є синтетичним аналогом внутрішньоклітинного з'єднання фосфокреатина, який виконує роль переносника енергії і використовується для синтезу АТФ й, таким чином, забезпечує підтримання енергозалежних процесів в клітинах. Неотон (0,1 мл / кг ваги) вводився в крайову вушну вену через 6 годин після травми, один раз на добу протягом трьох днів. Контрольну групу склали 10 тварин, які після контузійної травми не отримували Неотон.

Результати та їх обговорення

Під час морфологічних досліджень встановлено, що за першу добу після контузійної травми порушення кровоплину та зміни мікроциркуляції були характерні для структур ока, що є похідними судинної оболонки. Значна варіабельність кровонаповнення судин зареєстрована у райдужці та циліарних відростках. Моделювання контузійної травми супроводжувалося комплексом морфологічних змін у рогівці, який характеризувався альтерацією та десквамацією клітин переднього епітелію, внаслідок чого відбувалося зменшення його товщини до 2–3 шарів. У епітеліоцитах визначалися явища пікнозу ядер, перинуклеарного набряку та мало місце відшарування клітин поверхневого шару. У матриксу строми рогівки максимально виразні зміни структури та хімічного складу міжклітинної речовини сполучної тканини виявлені у зоні поруч з ендотелієм. Саме тут мали місце виражений набряк, розпушення колагенових волокон у пластинах строми та деструктивні зміни фіброblastів (мал. 1). Ці прояви були асоційовані зі змінами ендотелію (заднього епітелію рогівки), у якому спостерігалися явища



А



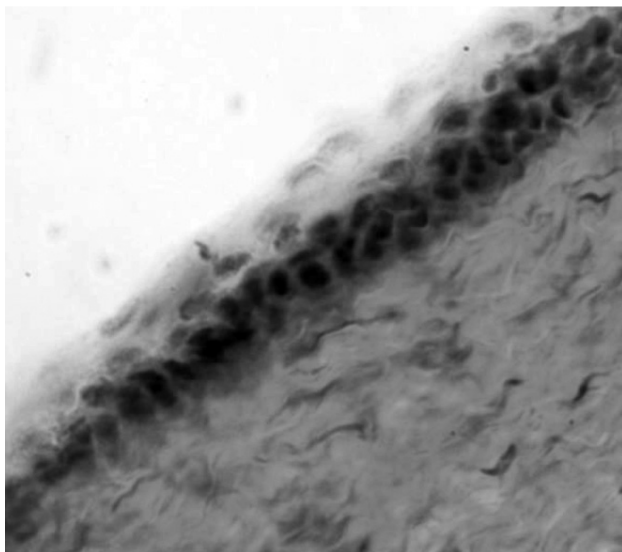
Б

Мал. 1. Набряк заднього відділу рогівки за першу добу після контузійної травми ока. Забарвлення гематоксилином-еозином (А) і толуїдиновим синім (Б). х400

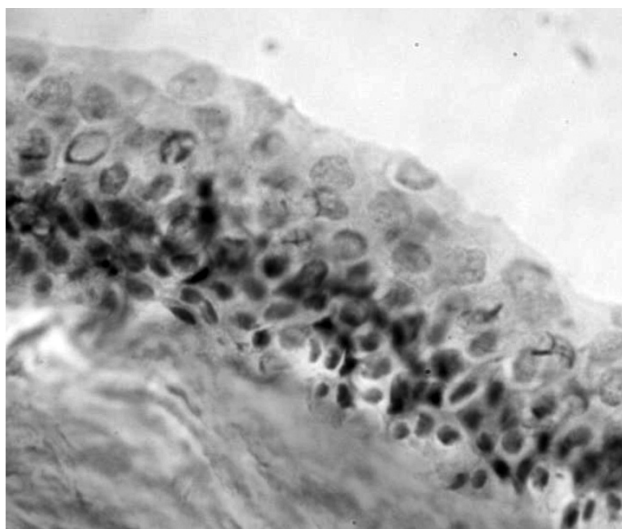
набряку, пікнозу ядер, а місцями — десквамації клітин. Причому більш виразними ці зміни були у центральному регіоні рогівки.

Виявлені зміни у рогівці можуть бути обумовлені як механічним ушкодженням, так і розвитком вторинної тканинної ішемії при порушенні мікроциркуляції в циліарних відростках та склері. Подальше формування енергодефіциту в клітинах рогівки, зокрема в ендотелії, обумовлює як альтерацію клітин, так і зниження функціонування іонних насосів, зокрема $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -АТФази, що спричиняє порушення водно-електролітного балансу у строми рогівки.

Дослідження структур очного яблука через три доби після контузійної травми визначило посилення ступеня альтерації досліджених структур ока. У передньому епітелії центральної зони рогівки зберігалися ознаки альтерації, тоді як у поверхневому шарі визначалися епітеліоцити з набряком та пікнозом



А



Б

Мал. 2. Передній епітелій рогівки через три доби після контузійної травми ока у центральному (А) та периферійному (Б) відділах. Забарвлення гематоксиліном-еозином. x400

ядер (мал. 2). На периферії рогівки, ближче до лімбального регіону, визначалася тенденція до відновлення епітелію. У стромі рогівки мало місце збереження, а в деяких випадках — й прогресування набряку сполучної тканини — особливо у центральному регіоні. Це супроводжувалося зниженням питомої щільності фіброцитів у власній речовині рогівки, можливо, за рахунок інтерстиційного набряку та руйнування самих клітин. Даний феномен напряму був пов'язаний із ступенем альтерації ендотелію рогівки, яка досягала максимуму у цей термін спостереження. Значні зони альтерації ендотелію визначалися переважно у центральному регіоні рогівки.

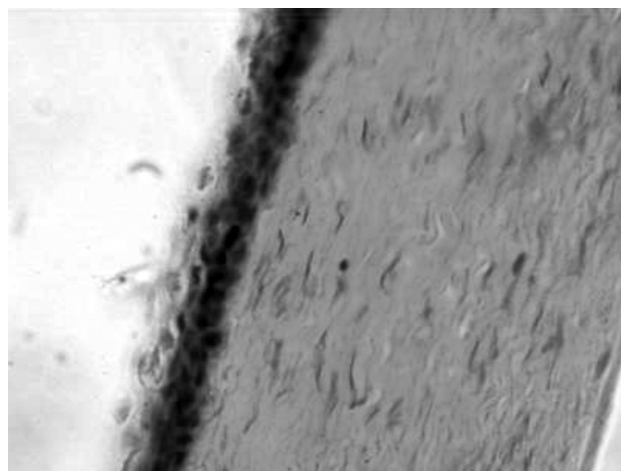
Через сім діб після травми у судинній оболонці та її похідних зберігалися порушення кровонапов-

нення судин та явища ішемії. У всіх структурах ока відзначено прояви репарації і, в першу чергу, треба відзначити наявність таких змін у рогівці ока. Окрім тенденції до зниження набряку стромы, особливо у периферійному відділі, мало місце відновлення структури переднього епітелію. Останнє проявлялося зростанням щільності клітин у базальному шарі та кількості картин мітозів, збільшенням чисельності шарів епітеліоцитів. Хоча на поверхні переднього епітелію, як і раніше, визначалися клітини з набряком й каріорексисом, та ознаки десквамації (мал. 3).

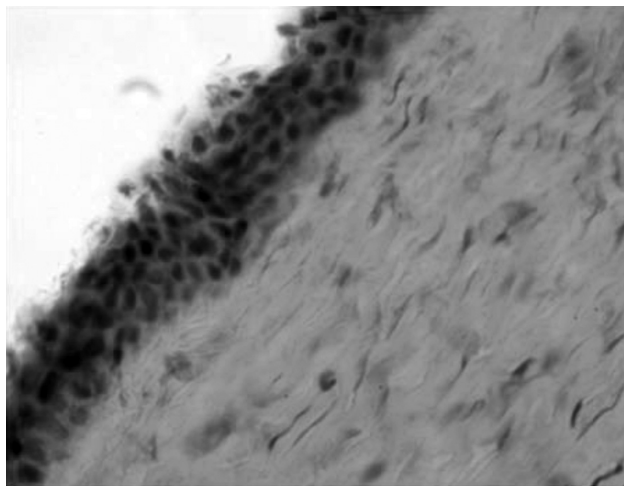
Закономірно, що через 14 діб після травми репаративні зміни прогресували, зокрема відзначено відновлення товщини переднього епітелію рогівки. Проте морфологічний аналіз дозволив визначити суттєві відхилення від нормальної будови, зокрема мало місце зростання кількості проліферуючих клітин та визначалося зрушення процесів диференціювання епітеліоцитів. Останнє проявлялося зміною форми і локалізації ядер клітин у поверхневих шарах переднього епітелію рогівки, та збільшенням ядерно-цитоплазматичного відношення (мал. 4). З одного боку, така реакція може бути результатом прискорення кінетики клітин переднього епітелію, проте з іншого — це може відбиватися на якості захисної функції рогівки, внаслідок зниження диференціювання клітин.

Таким чином, контузійна травма ока супроводжується комплексом патоморфологічних змін у його структурах. Провідним механізмом альтерації структур ока, окрім механічного ушкодження, є ішемія внаслідок гострого порушення мікроциркуляції.

Враховуючи ішемічний генез каскаду ураження структур ока, доцільною уявлялась розробка тактики запобігання (профілактики) вторинної альтерації аваскулярних структур та сітківки ока.



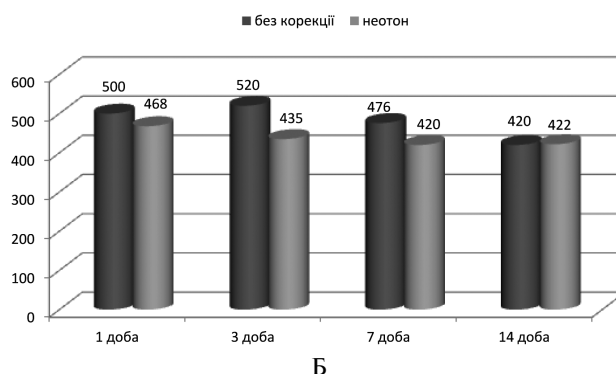
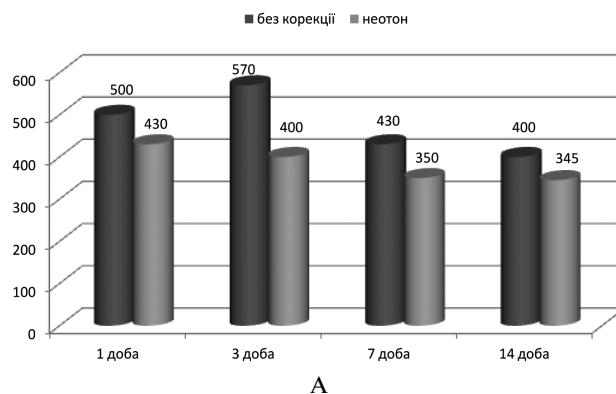
Мал. 3. Відновлювальні процеси у передньому епітелії периферійної відділі рогівки через сім діб після контузійної травми. Забарвлення гематоксиліном-еозином. x200



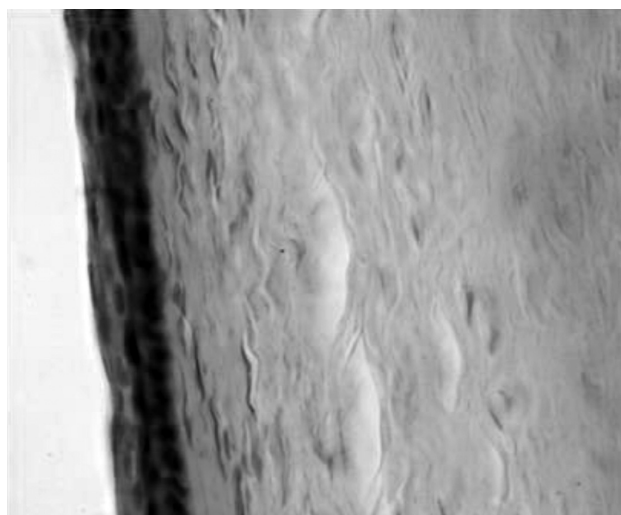
Мал. 4. Посилення проліферації та прискорення міграції клітин переднього епітелію рогівки через 14 днів після травми ока. Забарвлення гематоксилином-еозином. $\times 400$

З цією метою ми запропонували використовувати Неотон (екзогенний фосфокреатин) — препарат з вираженим метаболічним ефектом. Системне введення Неотону визначило комплекс протекторних ефектів, що проявлявся як у гострий період (через першу добу після травми), так і в динаміці спостереження. Проведене морфометричне дослідження гістологічних препаратів структур ока дозволило не тільки констатувати наявність лікувального морфогенезу, а й конкретизувати найбільш чутливі мішені дії препарату. Саме цим мабуть можна пояснити обмежену альтерацію рогівки. Морфометричне дослідження товщини цієї структури ока у динаміці контузійної травми на фоні лікування Неотоном дозволило встановити зменшення ступеня набряку, особливо у центральній зоні (мал. 5). Провідним механізмом зареєстрованого феномену можна вважати обмеження альтерації клітин переднього епітелію та ендотелію рогівки. Не дивлячись на наявність ознак вакуолізації та набряку ендотеліоцитів, переважно у центральній зоні, кількість деструктивно змінених клітин була статистично значуще нижчою за таку у тварин без лікування ($p < 0,01$ і $p < 0,001$ за першу і третю доби відповідно). Збереження структурно-функціонального стану ендотелію на фоні призначення екзогенного фосфокреатину можна вважати провідним фактором підтримання трофіки та обмеження виразності набряку рогівки.

Подальше спостереження морфологічних змін структур ока через 7–14 днів після травми ока визначило прискорення темпів відновлення рогівки, що відбивалося як на показнику товщини рогівки, так і — на морфології її переднього епітелію (мал. 6). При цьому у центральній зоні до сьомої доби зберігався помірний набряк серединної та задньої ділянок строми рогівки, що, мабуть, можна пояснити пролонгуванням внутрішньоклітинного відновлення ендотелію після травми.



Мал. 5. Динаміка товщини рогівки у центральній (А) та периферійній (Б) зонах після контузійної травми. Примітка. По осі абсцис — терміни дослідження, по осі ординат — товщина рогівки у мкм



Мал. 6. Відновлення переднього епітелію рогівки через 7 днів після травми на фоні призначення екзогенного фосфокреатину. Забарвлення гематоксилином-еозином. $\times 400$

Таким чином, гістологічне дослідження структур ока довело, що раннє введення екзогенного фосфокреатину після контузійної травми забезпечує цитопротекторну дію та підтримання структурного гомеостазу ока, зокрема рогівки, мабуть, за рахунок обмеження ішемічної альтерації ендотелію рогів-

ки. Так, зниження вакуолізації і альтерації клітин переднього та заднього епітелію та набряку стромі рогівки на фоні введення екзогенного фосфокреатину підтверджує можливість відновлення балансу внутрішньоклітинної та позаклітинної рідини, що може бути обумовлено підтриманням функціонування роботи енергозалежних насосів, зокрема $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ ази.

Висновки

1. Моделювання контузійної травми в експерименті дозволяє верифікувати спектр та динаміку морфологічних змін у структурах ока. Зокрема у рогівці зареєстровані зміни проявлялися деструкцією переднього епітелію й ендотелію та набряком стромі внаслідок механічного ушкодження і розвитку

вторинної тканинної ішемії. Подальше формування енергодефіциту в клітинах рогівки, зокрема в ендотелії, обумовлює як їх альтерацію, так і порушення водно-електролітного балансу в стромі рогівки.

2. Введення екзогенного фосфокреатину в ранній термін після контузійної травми забезпечує зниження альтерації переднього епітелію й ендотелію рогівки та обмежує набряк й дистрофічні процеси в її стромі, можливо, внаслідок відновлення енергобалансу в клітинах структур ока.

3. Результати морфологічного дослідження рогівки ока в експерименті після моделювання контузійної травми обґрунтовують доцільність використання метаболічних препаратів, зокрема екзогенного фосфокреатину, з метою підтримання енергобалансу в клітинах після травми ока.

Література

1. **Автандилов Г. Г.** Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. — М., 1990. — 384 с.
2. **Бизенкова М. Н.** Принципы коррекции метаболических расстройств при ишемическом повреждении миокарда / М. Н. Бизенкова, Н. П. Чеснокова, М. Г. Романцов // Успехи современ. естествознания. — 2005. — № 5. — С. 22–25.
3. **Голубов К. Э.** Тупая травма органа зрения / К. Э. Голубов., Л. А. Сухина // Пробл. еколог. та медичної генетики і клінічної імунології. Зб. науков. праць. — 2003. — Вип. 4 (50). — С. 311–315.
4. **Гундорова Р. А.** Травмы глаза / Р. А. Гундорова, В. В. Нероев, В. В. Кашников — М., ГЭОТАР — Медиа, 2009—560 с.
5. **Микроскопическая техника.** Руководство для врачей и лаборантов / Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. М. Перова. — М., 1996. — 578 с.
6. **Сомов Е. Е.** Тупые травмы органа зрения / Е. Е. Сомов, А. Ю. Кутуков. — М.: Медпресс-информ. — 2009. — 104 с.
7. **Сухина Л. А.** Контуживная травма органа зрения (особенности клиники, исходы) в промышленном районе Донецкой области / Л. А. Сухина, К. Э. Голубов // Офтальмол. журн. — 2005. — № 4. — С. 36–40.

Поступила 17.06.2003

References

1. **Avtandilov GG.** Medical morphometry. M.: 1990. 384 p.
2. **Bizenkova MN, Chesnokova NP, Romantsov MG.** Principles of correction of metabolic disorders in ischemic myocardial injury. Advances in current natural sciences. 2005; 5: 22–5. Russian.
3. **Golubov KE, Sukhina LA.** Голубов К. Э. Blunt traumas to the eye. Probl. ecolog. ta medychnoi genetiki i klinichnoi imunologii. Collection of scientific papers. 2003; 50(4): 311–5. Russian.
4. **Gundorova RA, Neroyev VV, Kashnikov VV.** Trauma of the eye. M.: GEOTAR — Media; 2009. 560 p.
5. **Sarkisov DS, Perov YuM.** Microscopic equipment. Manual for doctors and laboratory technician. 1996. 578 p.
6. **Somov EE, Kutukov AYU.** Blunt traumas to the eye. M.: Medpress-inform; 2009. 104 p.
7. **Sukhina LA.** Contusion of the eye (peculiarities, outcomes) in the industrial district of Donetsk region. Ophthalmol Zh. 2005; 5: 36–40

Received 17.06.2003