

УДК 617.731–007.23:615.91–003.93–092.9

Влияние уровня ацетальдегида ретробульбарной клетчатки на морфофункциональное состояние сетчатки, хориоидеи и зрительного нерва при экспериментальной хронической алкогольной интоксикации

О. В. Недзвецкая¹, д. мед. наук, профессор; Д. А. Петрушенко², врач

¹ Харьковская медицинская академия последипломного образования, кафедра офтальмологии, г. Харьков;

² КУ Сумская областная клиническая больница, отделение микрохирургии глаза, г. Сумы

E-mail: daria_petrushenko@ukr.net

Ключевые слова: зрительный нерв, хориоидея, сетчатка, ретробульбарная клетчатка, ацетальдегид, хроническая алкогольная интоксикация

Ключові слова: зоровий нерв, хоріоїдея, сітківка, ретробульбарна клітковина, ацетальдегід, хронічна алкогольна інтоксикація.

Вступ. Ацетальдегід (АА) — основний медіатор нейротоксичності серед метаболітів етанолу (Е).

Мета: вивчити в експерименті кореляційний зв'язок між рівнем АА й Е в ретробульбарній клітковині (РБК), скловидному тілі, цільній крові й параметрами морфометрії й цитофотометрії зорового нерва, хоріоїдеї та гангліозного шару клітин сітківки.

Матеріал і методи. Експеримент проведений на 24 кроликах самців породи шиншилла, з яких 6 склали контрольну групу.

Результати. Встановлено зворотній кореляційний зв'язок ($p < 0,05$) між рівнем АА в РБК і товщиною хоріоїдеї (коефіцієнт Спірмена $\rho = -0,84$), товщиною шару гангліозних клітин сітківки ($\rho = -0,80$) і середнім діаметром їх ядер ($\rho = -0,64$), з діаметром нервових волокон зорового нерва (в інтрабульбарній частині $\rho = -0,70$, в ретробульбарній частині $\rho = -0,76$, в інтраканалікулярній частині $\rho = -0,85$, в інтракраніальній частині $\rho = -0,85$), а також прямий зв'язок з середньою оптичною густиною РНК цитоплазми ендотеліоцитів хоріокапілярів ($\rho = 0,57$).

Висновки: Комбіноване введення поліоксидонію методом ендоназального електрофорезу й внутрішньовенної крапельної інфузії за запропонованою методикою було ефективним щодо елімінації ацетальдегіду з ретробульбарної клітковини, що призвело до поліпшення морфофункційного стану зорового нерва, хоріоїдеї та сітківки.

Influence of retrobulbar tissue acetaldehyde on changes in morphofunctional state of retina, choroid and optic nerve in experimental chronic alcohol intoxication

О. В. Недзвецкая², Д. О. Петрушенко¹

¹ Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkov

² Sumy Regional Hospital, Sumy

Key words: optic nerve, choroid, retina, retrobulbar tissue, acetaldehyde, chronic alcohol intoxication.

Introduction: Acetaldehyde (AA) is a main mediator of neurotoxicity among metabolites of ethanol (E).

Purpose. To study the correlation between concentration of E and AA in retrobulbar tissue (RBT), vitreous humor, blood and morphometric and cytophotometric data of optic nerve, choroid and retina ganglion cells layer in experimental chronic alcohol intoxication.

Material and methods. Experimental investigation was performed in 24 male Chinchilla rabbits including 6 rabbits of the control group.

Results. Negative correlation ($p < 0,05$) was established between acetaldehyde (AA) in retrobulbar tissue (RBT) and choroid thickness (Spearman coefficient $\rho = -0,84$), thickness of ganglion cells layer of retina ($\rho = -0,80$) and diameter of its nuclei ($\rho = -0,64$), diameter of optic nerve fibres (in intrabulbar part $\rho = -0,70$, in retrobulbar part $\rho = -0,76$, in intracanalicular part $\rho = -0,85$, in intracranial part $\rho = -0,78$). Positive correlation ($p < 0,05$) was observed between AA in RBT and optic density of cytoplasm RNA of choriocapillaries endotheliocytes ($\rho = 0,57$).

Conclusions. Treatment with polyoxidonium intravenously and by endonasal electrophoresis after alcohol deprivation contributes to elimination of AA from RBT, which results in improvement of morphofunctional state of optic nerve, choroid and retina.

О. В. Недзвецкая, Д. А. Петрушенко, 2014

Введение. При хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) наблюдается атрофия нервных волокон папилло-макулярного пучка с частичным распадом миелиновых оболочек, истончение слоя ганглиозных клеток сетчатки, склероз стенки кровеносных сосудов, десквамация и пролиферация их эндотелия [1,2,8]. Ацетальдегид (АА) — основной медиатор нейротоксичности из метаболитов этанола [7]. Взаимодействие АА с белковыми компонентами эндотелия сосудов обуславливает нарушение гемодинамики и микроциркуляции [5]. Накопление АА в жировой ткани является маркером ХАИ, что используется в судебно-медицинской экспертизе. При определении АА в субэпикардиальной жировой ткани в количестве более 5 мг/кг факт ХАИ считается доказанным [3]. Поскольку жировая ткань является составляющей ретробульбарной клетчатки (РБК), есть основания предположить, что депонирование АА при ХАИ происходит и в РБК, что может пролонгировать токсическое влияние АА на ЗН даже после отказа от употребления алкоголя. Исследование АА в РБК ранее не проводилось.

Цель. Изучить в эксперименте зависимость между уровнем Э и АА в РБК, стекловидном теле (СТ), цельной крови (ЦК) и параметрами морфометрии и цитофотометрии хориоидеи, слоя ганглиозных клеток сетчатки и зрительного нерва.

Материал и методы

Эксперимент проведен на 24 кроликах самцах породы шиншилла, 6 кроликов составили контрольную группу (группа 0). Остальные 18 кроликов находились в условиях ХАИ 8 недель [6]. После этого 6 кроликов (группа 1) были выведены из эксперимента, а 12 оставшихся были разделены на группы 2 и 3, по 6 кроликов в каждой. Группа 2 не получала алкоголь в течение 4 недель. Группа 3 на фоне алкогольной депривации получала пятикратно полиоксидоний методом эндоназального электрофореза в виде 0,15 % раствора и внутривенно капельно в суммарной дозе 0,3 мг/кг через день. Группы 2 и 3 были выведены из эксперимента через 12 недель от его начала. Животных выводили из экс-

перимента методом воздушной эмболии в состоянии глубокого наркоза (для наркоза использовали тиопентал натрия 10 % в дозе 1 мл/кг), после чего производился забор глазных яблок и интракраниальной части зрительного нерва до хиазмы. Уровень Э и АА в ЦК определяли до начала эксперимента, через 8 недель и через 12 недель от его начала методом капиллярной газовой хроматографии (хроматограф «Кристалл 2000М»). Уровень Э и АА в СТ и гомогенате РБК определяли после выведения животных из эксперимента. Забор ЦК, СТ и РБК проводили при температуре +4°C в герметизированные и предварительно охлажденные пробирки. Использовали следующие гистологические и гистохимические методы окрашивания: гематоксилином и эозином, по Ван Гизон, по Фельгену-Россенбеку и по Браше. Измерение оптической плотности ДНК и РНК проводилось методом цитофотометрии. Статистическая обработка — с помощью программы SPSS 15.0 for Windows.

Результаты и их обсуждение

В ЦК кроликов (табл. 1) уровень Э в процессе эксперимента достоверно не изменялся. Одномерный дисперсионный анализ показал, что степень значимости разности между уровнем Э в СТ и РБК, а также АА во всех исследованных средах в группах достоверна ($p < 0,01$), что позволило анализировать их методом попарного сравнения. Через 8 недель ХАИ (группа 1) уровень Э в СТ и РБК, а также АА СТ, РБК и ЦК достоверно возрастал (табл.1). Наиболее выраженным было увеличение уровня Э в СТ — до $2945,0 \times 10^{-3}$ г/л (против $1,402 \pm 0,0295 \times 10^{-3}$ г/л в группе 0), так как Э в СТ сохраняется дольше, чем в крови, будучи связанным с максимальной концентрацией Э в крови в результате последнего приема алкоголя [4]. Но через 4 недели алкогольной депривации (группа 2) наблюдалось снижение повышенных уровней Э и АА до значений, достоверно не отличавшихся от значений в группе 0, за исключением уровня АА в РБК, который достоверно не уменьшился по сравнению с группой 1 (табл.1). Таким образом, наблюдалось депонирование АА в РБК и полная естественная метаболизация Э из СТ и РБК, а также АА из СТ и ЦК через 4 недели после

Таблица 1. Динамика уровней этанола (Э) и ацетальдегида (АА) в цельной крови (ЦК), стекловидном теле (СТ) и ретробульбарной клетчатке (РБК), $\times 10^{-3}$ г/л у кроликов (в каждой группе n=6)

		Контрольная группа	После интоксикации	4 недели алкогольной депривации	4 недели алкогольной депривации + полиоксидоний
Группа		0	1	2	3
Количество недель от начала эксперимента		12	8	12	12
ЦК	Э	1,00±0,13	1,300±0,1183	1,100±0,1390	1,20±0,02
	АА	0	1,11±0,03*	0^	0^
СТ	Э	1,4±0,03	2945,0±72,80*	1,50±0,07^	1,60±0,09^
	АА	0,10±0,003	0,20±0,007*	0,10±0,003^	0,11±0,004^
РБК	Э	12,01±0,43	15,80±0,57*	12,70±0,42^	11,60±0,42^
	АА	0,6±0,23	6,70±0,10*	6,41±0,16*	1,07±0,12^

* — Достоверность разности с контрольной группой $p < 0,05$

^ — Достоверность разности с уровнем после интоксикации $p < 0,05$

отмены алкоголя. В группе 3 наблюдалось достоверное снижение уровня АА в РБК по сравнению с группой 1 до величины, достоверно не отличавшейся от контрольной группы.

После 8 недель ХАИ (группа 1) выявлено достоверное истончение хориоидеи ($35,12 \pm 1,56 \times 10^{-6}$ м против $54,66 \pm 2,17$ в группе 0, $p < 0,05$) (табл. 2). Наблюдался кариопикноз и очаговая десквамация эндотелиоцитов в просвет хориокапилляров. Также наблюдалось достоверное истончение слоя ганглиозных клеток сетчатки ($17,57 \pm 0,70 \times 10^{-6}$ м против $25,87 \pm 0,99$ в группе 0, $p < 0,05$) (табл. 2). Отмечалось достоверное истончение нервных волокон всех частей ЗН вследствие процессов атрофии.

Через 4 недели после отмены алкоголя как в группе 2, так и в группе 3 толщина хориоидеи достоверно увеличивалась по сравнению с группой 1 за счет активации процессов регенерации, причем разница между группами 2 и 3 была не достоверной. Но в эндотелиоцитах хориокапилляров в группе 2 по сравнению с группой 0 наблюдалось достоверное снижение оптической плотности ДНК ядер на 10,71 % и более выраженное повышение оптической плотности РНК цитоплазмы на 22,98 %, то есть репаративная регенерация эндотелия проходила в основном за счет процессов гипертрофии (увеличения объема эндотелиоцитов), а не гиперплазии (восстановления количества утраченных клеток), что приводило к сужению просвета сосудов и усиливало ишемию. В группе 3 оптическая плотность РНК цитоплазмы эндотелиоцитов хориокапилляров была достоверно ниже, чем в группе 2, и достоверно не отличалась от группы 0, просвет сосудов был шире, было больше функционирующих капилляров, то есть процесс регенерации их эндотелия проходил более эффективно.

Толщина слоя ганглиозных клеток сетчатки в группах 2 и 3 достоверно увеличивалась по сравнению с группой 1, при этом разница между группами 2 и 3 была не достоверной. Диаметр нервных волокон ЗН (Dn) в группе 2 имел тенденцию к увеличению по сравнению с группой 1, но разница с контрольной группой оставалась достоверной во всех частях, кроме ретробульбарной. В группе 3 Dn увеличивался до значений, достоверно не отличавшихся от таковых в контрольной группе, во всех четырех частях ЗН.

Проведен анализ связи между уровнем Э и АА в СТ, РБК, ЦК и показателями морфометрии и цитофотометрии (табл. 3). Установлено, что уровень АА во всех исследованных средах имеет обратную корреляционную связь ($p < 0,05$) с толщиной слоя ганглиозных клеток, средней толщиной хориоидеи, Dn в интрабульбарной, интраканаликулярной и интракраниальной части ЗН (табл. 3), что подтверждает токсическое воздействие АА на сетчатку, хориоидею и ЗН. Диаметр ядер ганглиозных клеток имел обратную корреляционную связь ($p < 0,05$) с АА в РБК и СТ, но не коррелировал с АА в ЦК. А показатели оптической плотности РНК цитоплазмы эндотелиоцитов и Dn ретробульбарной части ЗН коррелировали с уровнем АА только в РБК. Оптическая плотность ДНК ядер эндотелиоцитов не коррелировала с АА ни в одной из исследованных сред. Достоверные абсолютные значения коэффициента Спирмена для связи исследованных показателей морфометрии и цитофотометрии с АА РБК превышали таковые для связи этих показателей с уровнем АА в СТ и ЦК, следовательно, уровень АА именно в этом материале оказывает значительное токсическое влияние на морфофункциональное состояние органа зрения.

Таблица 2. Морфометрические и цитофотометрические параметры

Морфометрический или цитофотометрический параметр	Исследуемые группы			
	0 (n=6)	1 (n=6)	2 (n=6)	3(n=6)
Толщина хориоидеи (Th) в м $\times 10^{-6}$	54,66±2,17	35,12±1,56*	43,74±0,75**	46,30±1,8*
Оптическая плотность ДНК ядер эндотелиоцитов хориокапилляров, усл.ед.	1,68±0,05	1,61±0,05	1,49±0,03*	1,58±0,04
Оптическая плотность РНК цитоплазмы эндотелиоцитов хориокапилляров, усл.ед.	1,61±0,07	1,78±0,07	1,98±0,08*	1,68±0,06^
Толщина слоя ганглиозных клеток сетчатки, м $\times 10^{-6}$	25,87±0,99	17,57±0,70*	21,91±0,77**	22,39±0,64*
Диаметр ядер ганглиозных клеток сетчатки, м $\times 10^{-6}$	7,77±0,32	6,54±0,35	6,95±0,31	7,32±0,21
Средний диаметр нервных волокон интрабульбарной части ЗН, м $\times 10^{-6}$	4,33±0,19	3,33±0,11*	3,68±0,17*	4,27±0,14
Средний диаметр нервных волокон ретробульбарной части ЗН, м $\times 10^{-6}$	4,77±0,13	4,18±0,12*	4,32±0,14	4,66±0,17
Средний диаметр нервных волокон интраканаликулярной части ЗН, м $\times 10^{-6}$	4,73±0,19	3,52±0,11*	3,92±0,11*	4,47±0,11
Средний диаметр нервных волокон интракраниальной части ЗН, м $\times 10^{-6}$	4,82±0,18	3,89±0,14*	4,09±0,12*	4,54±0,17

* — разность между средними достоверна с контрольной группой, $p < 0,05$.

^ — разность между средними достоверна с опытной группой, предшествующей по номеру, $p < 0,05$.

Таблица 3. Корреляционные связи между уровнями Э и АА в СТ, РБК, ЦК и показателями морфометрии и цитофотометрии. Коэффициент корреляции Спирмена

Показатели морфометрии или цитофотометрии	АА ЦК	АА РБК	АА СТ
Толщина слоя ганглиозных клеток сетчатки	-0,70**	-0,80**	-0,85**
Средний диаметр ядер ганглиозных клеток сетчатки	-0,33	-0,64**	-0,63**
Средняя оптическая плотность ДНК ядер эндотелиоцитов хориокапилляров	-0,22	-0,34	-0,13
Средняя оптическая плотность РНК цитоплазмы эндотелиоцитов хориокапилляров	0,06	0,57**	0,17
Толщина хориоидеи	-0,73**	-0,84**	-0,82**
Средний диаметр нервных волокон интрабульбарной части ЗН	-0,65**	-0,70**	-0,45**
Средний диаметр нервных волокон ретробульбарной части ЗН	-0,40	-0,76**	-0,38
Средний диаметр нервных волокон интраканаликулярной части ЗН	-0,62**	-0,85**	-0,68**
Средний диаметр нервных волокон интракраниальной части ЗН	-0,51*	-0,78**	-0,56**

* — корреляция достоверна на уровне значимости $p < 0,05$

** — корреляция достоверна на уровне значимости $p < 0,01$

Выводы

1. В ретробульбарной клетчатке при хронической алкогольной интоксикации депонируется ацетальдегид, высокотоксичный метаболит этанола, который не метаболизируется оттуда естественным путем через 4 недели после прекращения приема алкоголя, что пролонгирует его токсическое влияние на окружающие ткани.

2. Через 8 недель в хориоидее, сетчатке и зрительном нерве наблюдались явления альтерации: достоверное истончение хориоидеи, слоя ганглиозных клеток сетчатки и нервных волокон зрительного нерва. Через 4 недели после прекращения приема алкоголя в вышеуказанных структурах наблюдались признаки процессов репарации: увеличение толщины хориоидеи, слоя ганглиозных клеток сетчатки и нервных волокон ЗН.

3. В группе 3, получавшей полиоксидоний, репарация эндотелия хориокапилляров проходила более эффективно — оптическая плотность РНК цитоплазмы эндотелиоцитов, а значит, их белково-синтетическая активность была достоверно меньше, чем в группе 2, которая не получала полиоксидоний. Поэтому если в группе 2 наблюдался стеноз

просвета хориокапилляров за счет увеличения объема пролиферирующих эндотелиоцитов, что усиливало ишемию, то в группе 3 просвет сосудов был шире. В группе 3, в отличие от группы 2, диаметр нервных волокон зрительного нерва увеличивался до значений, достоверно не отличавшихся от таковых в контрольной группе во всех его частях.

4. Уровень ацетальдегида в ретробульбарной клетчатке оказывает значительное токсическое влияние на морфофункциональное состояние органа зрения. Установлена корреляционная связь ($p < 0,05$) между его уровнем и толщиной хориоидеи, средней оптической плотностью РНК цитоплазмы эндотелиоцитов хориокапилляров, толщиной слоя ганглиозных клеток сетчатки и средним диаметром их ядер, а также с диаметром нервных волокон во всех четырех частях зрительного нерва.

5. Комбинированное введение полиоксидония методом эндоназального электрофореза и внутривенной капельной инфузии по предложенной методике эффективно в отношении элиминации ацетальдегида из ретробульбарной клетчатки, что приводит к улучшению морфофункционального состояния хориоидеи, слоя ганглиозных клеток сетчатки и зрительного нерва.

Литература

1. Гусова М. К. Токсическое поражение зрительного нерва при интоксикации алкоголем. — дис.... к.м.н. / М. К. Гусова. — Москва. — 2008.
2. Егоров Е. А. Офтальмологические проявления общих заболеваний. / Е. А. Егоров, Т. В. Ставицкая, Е. С. Тутаева. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. — 592 с.
3. Ивашкин В. Т. Алкогольная кардиомиопатия. / В. Т. Ивашкин, О. М. Драпкина, Я. И. Ашихмин // Медицинская помощь. — 2006. — № 3. — С.11–15.
4. Коротун В. Н. Судебно-медицинская диагностика алкогольной интоксикации исследованием синовиальной жидкости в постмортальном периоде : дис.... к.м.н. / В. Н. Коротун. — Москва, 2008. — 173 с.
5. Руженков В. А. Обоснование применения ультрафиолетового облучения крови при лечении хронического алкоголизма. / В. А. Руженков, Т. Г. Дронова // Эффективная терапия. — 2002. — Т.8. — № 1. — С. 32–35
6. Ярош А. А. Влияние хронической алкогольной интоксикации на течение процессов дегенерации и регенерации в нервных стволах. / А. А. Ярош, Т. И. Ильяш // Врачебное дело. — 1977. — № 2. — С.115–117
7. Koike H. Alcoholic neuropathy. / H. Koike, G. Sobue // Current Opinion in Neurology. — 2006. — Vol. 19 № 5. — P. 481–486
8. Taneda Y. [Ethanol optic neuropathy in rats]. / Y. Taneda, K. Okuwaki, T. et al. // Nippon Ganka Gakkai Zasshi. — 1988. — № 92(7). — P. 1154–1160.

Поступила 26.12.2013

References

1. **Gusova MK.** Toxic damage of the optic nerve with alcohol intoxication. Thesis for Candidate of Medical Sciences. Moscow. 2008.
2. **Egorov EA, Stavitskaya TV, Tutayeva ES.** Ophthalmic manifestations of common diseases. M.: GEOTAR-Media; 2006. 592 p.
3. **Ivashkin VT, Drapkina OM, Ashikhmin YaI.** Alcoholic cardiomyopathy. Meditsinskaya pomoshch. 2006;3:11–5. Russian.
4. **Korotun VN.** Forensic medical diagnosis of alcohol intoxication with synovial fluid test in the postmortem period: thesis for Candidate of Medical Sciences. Moscow; 2008. 173 p.
5. **Ruzhenkov VA, Dronova TG.** Rationale for the ultraviolet irradiation of the blood in the treatment of chronic alcoholism. Efferentnaya terapiia. 2002;8(1): 32–5. Russian.
6. **Yarosh AA, Iliash TI.** Effect of chronic alcohol intoxication for a process of degeneration and regeneration in nerve trunks. Vrachebnoye delo. 1977;2:115–7. Russian.
7. **Koike H, Sobue G.** Alcoholic neuropathy. Current Opinion in Neurology. 2006;19 (5):481–6.
8. **Taneda Y, Okuwaki K, T et al.** Ethanol optic neuropathy in rats. Nippon Ganka Gakkai Zasshi. 1988; 92(7):1154–60.

Received 26.12.2013