

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЮВАННЯ КРОВОТОКУ В СУДИНАХ ОКА КРОЛЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ОФТАЛЬМОГІПЕРТЕНЗІ

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕГУЛЮВАННЯ КРОВОТОКУ В СУДИНАХ ОКА КРОЛЯ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ОФТАЛЬМОГІПЕРТЕНЗІ – В експерименті на кролях з моделюванням адреналініндукованої глаукоми за допомогою методу електронно-мікроскопічного встановлено значення ендотелію, перичитів і гладком'язових клітин у регулюванні мікроциркуляторного кровотоку ока. Виявлено особливості функціонування регуляторних механізмів залежно від терміну спостереження.

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛИРОВАНИЯ КРОВОТОКА В СОСУДАХ ГЛАЗА КРОЛЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОФТАЛЬМОГИПЕРТЕНЗИИ – В эксперименте на кролях с моделированием адреналининдуцированной глаукомы при помощи метода электронной микроскопии установлено значение эндотелия, перичитов и гладкомышечных клеток в регулировании микроциркуляторного кровотока глаза. Выявлено особенности функционирования регуляторных механизмов в зависимости от длительности наблюдения.

ULTRASTRUCTURAL PECULIARITIES IN THE BLOOD FLOW REGULATION IN THE RABBIT'S EYE VESSELS AT EXPERIMENTAL OPHTALMOHYPERTENSION – In the experiment on rabbits with modeling of adrenalin induced glaucoma with the help of the electronic microscopy method the meaning of endothelium, pericytes and smooth muscles cells in regulation of eye blood microcirculation was established. The peculiarities of regulation mechanism functioning depending to the observation period was detected.

Ключові слова: капіляр, серицит, ендотелій, офтальмогіпертензія.

Ключевые слова: капилляр, перичит, эндотелий, офтальмогіпертензия.

Key words: capillary, sericite, endotheliocyte, ophthalmohypertension.

ВСТУП Роль судинного чинника в патогенезі й перебігу глаукоми з врахуванням досягнень останніх років проаналізовано в ряді робіт [6, 9]. Проте і надалі залишається ціла низка дискусійних і до кінця не з'ясованих питань. Зокрема це стосується глаукоми без підвищення внутрішньоочного тиску, структурно-функціональних механізмів регулювання кровотоку в тканинах органа зору, а також відсутності чітких даних про особливості ремоделювання судин ока в динаміці розвитку офтальмогіпертензії.

Разом з тим, функціональну морфологію структурних елементів судинних стінок, а також складових частин судинної оболонки і війчастого тіла ока зокрема, доцільно вивчати на ультраструктурному рівні за допомогою методу електронно-мікроскопічного, що може надати можливість пов'язати особливості функції війчастого тіла в плані продукції ним вологих камер із ступенем і тривалістю офтальмогіпертензії та характером структурних змін у судинах ока. Адже якраз саме метод електронно-мікроскопічного дозволяє оцінювати взаємозв'язок між ультраструктурною організацією і функціональною активністю органів та тканин з якісно нових позицій [4, 10].

Метою дослідження стало вивчення особливостей будови структур, що регулюють кровотік ока та встановити їх вплив на формування офтальмогіпертензії.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження виконано на 12 кролях віком 2 роки з масою тіла 2,5–3,0 кг. Дев'ятьом з них моделювали експериментальну адреналініндуковану глаукому з розвитком відповідного симптомокомплексу шляхом введення через день у вушну вену по 0,1 мл 0,1 % розчину адреналіну гідрохлориду [1]. Групу контролю склали 3 інтактних тварини. Кожних 5 днів експериментальним тваринам реєстрували внутрішньоочний тиск тонометром Маклакова з використанням грузика масою в 7,5 г. Етаназію проводили швидким внутрішньовенним введенням великих доз концентрованого розчину тіопенталу натрію (через 1, 2 і 3 місяці від початку експерименту).

Збір матеріалу для електронно-мікроскопічного вивчення компонентів судин очного яблука проводили згідно з загальноприйнятими правилами [7]. Для досліджень вибирали маленькі шматочки із екваторіальної частини склери, а також війчастого тіла біля лімба рогівки. Матеріал фіксували у 2,5 % розчині глутаральдегіду з активною реакцією середовища рН 7,3–7,4, призначеному на фосфатному буфері Міллоніга. Фіксований матеріал через 50 – 60 хв переносили у буферний розчин і промивали протягом 20 – 30 хв. Постфіксацію здійснювали 1 % розчином чотириокису осмію на буфері Міллоніга протягом 60 хв, після чого проводили його дегідратацію в спиртах і ацетоні та заливали в суміш епоксидних смол і аралдиту.

Ультратонкі зрізи, виготовлені на ультрамікроскопах УМПТ-7, забарвлювали 1 % водним розчином уранілацетату, контрастували цитратом свинцю відповідно до методу Рейнольдса [4] та вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-125К.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Застосування методу електронно-мікроскопічного дозволило виявити ряд специфічних морфофункціональних механізмів регулювання кровотоку в очному яблуці на рівні судин гемомікроциркуляторного русла в нормі та встановити особливості їх функціонування і можливий вплив на підвищення внутрішньоочного тиску в процесі розвитку експериментально адреналініндукованої глаукоми.

Щодо механізмів регулювання кровотоку, то тут можна виділити два основних компоненти. Перший – функціональний стан ендотелію, який здатний до інтенсивного набухання із збільшенням розмірів клітинних ядер. Це призводить до того чи іншого ступеня звуження просвіту мікросудин. Другим компонентом слід вважати наявність довкола капілярів

та х складових частин між волокнами базально мембрани порівняно значно кількості перицитів, які досить часто повним кільцем охоплювали стінку капіляра. Нерідко перицити локалізувалися при впаданні капілярів у венули, утворюючи своєрідні "муфти".

Регулярне внутрішньовенне введення адреналіну з метою експериментального моделювання глаукоми із синдромом офтальмогіпертензії викликає у кровоносному руслі ока відповідні вазомоторні реакції, включаючи в тому числі і функціональну відповідь елементів гемомікроциркуляторного русла. Причому ці реакції залежно від тривалості спостереження мали різну вираженість та локалізацію у кожному з досліджуваних елементів мікросудинного кровоносного модуля. Регулюючи ступінь судинного опору і швидкість кровотоку через капіляри, вони могли створювати певний градієнт тиску крові з відповідною інтенсивністю продукції і всмокування тканинами війчастого тіла вологи камери ока, що в свою чергу може безпосередньо впливати на рівень офтальмогіпертензії.

Так, через 1 місяць від початку експерименту більшу функціональну активність проявляли венозні частини капілярів і дрібні венули. При ультраструктурному дослідженні х просвіт виглядав помітно звуженим порівняно із аналогічним у контрольних тварин. Такий стан вказаних мікросудин виникав в результаті поєданого набухання клітин ендотелію із збільшенням розмірів х ядер та додатковим стискуванням просвіту капілярів і венул по усьому периметру набряклими перицитами. Ядра останніх також були збільшеними у розмірах, в цитоплазмі виявлялося наростання кількості органел, посилювався мікропіноцитоз (рис. 1).

Просвіт венозного відділу капілярів при цьому звужувався настільки, що формені елементи крові, зокрема лімфоцити, могли проходити через нього лише завдяки здатності до значно деформації. При

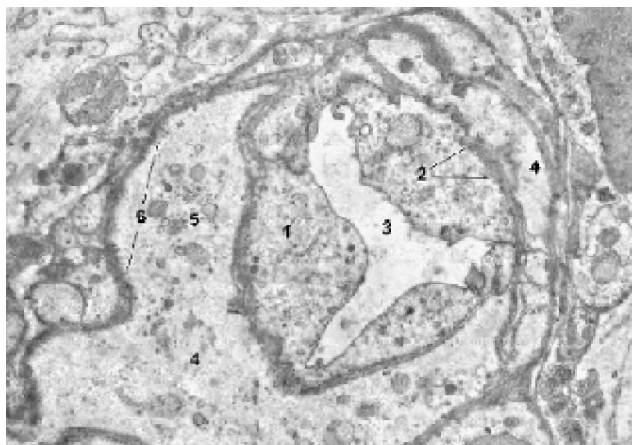


Рис. 1. Венозний відділ капіляра ока кроля через один місяць після експериментального моделювання глаукоми. Набухлі ендотеліоцити – 1, збільшення кількості мікропіноцитозних везикул на базальній поверхні ендотелію – 2, звужений просвіт капіляра – 3, цитоплазма перицита – 4, збільшення кількості органел перицита – 5, збільшення кількості мікропіноцитозних міхурців біля плазмолемі перицита – 6. Фото з електроннограми, х 14000.

цьому х протоплазма випинала плазмолему у вигляді псевдоподій (рис. 2).

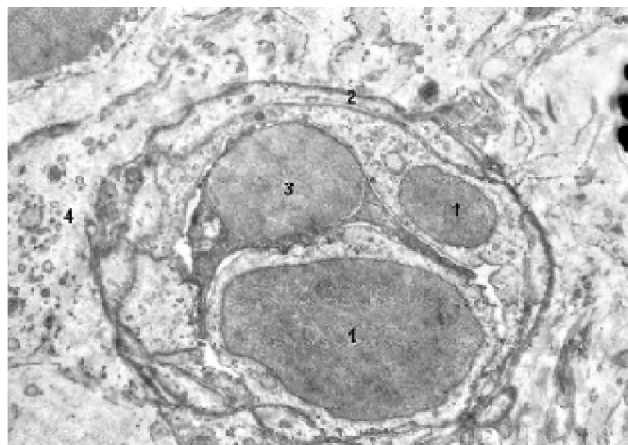


Рис. 2. Лімфоцит в просвіті звуженого капіляра ока кроля через один місяць після експериментального моделювання глаукоми. Ядра набряклих ендотеліоцитів – 1, набрякла базальна мембрана – 2, ядро деформованого просвітом капіляра лейкоцита – 3, перицит – 4. Фото з електроннограми, х 18000.

Артеріальна частина капілярів була також дещо тонізованою, однак просвіт судин продовжував залишатися достатньо широким і співрозмірним до формених елементів крові. Ендотелій при цьому був лише помірно набряклим і відносно сплюсненим, його ядра формували інвагінації, в цитоплазмі візуалізувалася звичайна кількість органел.

У двомісячний термін спостереження функціональна активність регуляторних структур зберігалася, однак акцент локалізації зміщувався з венулярного відділу капілярів на артеріальний, а також на артеріоли. При цьому просвіт венул і впадаючих у них відділів капілярів в результаті спадання набряку ендотеліоцитів збільшувалася, наближаючись до вигляду, який спостерігався у інтактних тварин. Базальні мембрани ущільнювалися. Однак як ендотелій, так і навколишні його перицити продовжували перебувати у досить активному стані, про що свідчила наявність достатньої кількості внутрішньоклітинних органел, а також досить виражений мікропіноцитоз. Якщо просвіт венул і спорідненого з ними кінця капілярного русла дещо розширювався і відновлювався, то просвіт артеріол і артеріолярного відділу капілярів був, навпаки, значно звуженим, що могло суттєво обмежувати інтенсивність кровотоку. В результаті вираженого набухання ендотеліоцитів і збільшення розмірів х ядер, просвіт капілярів набував форми зірчасто щілини. Перицити і відростки ГМК щільно охоплювали стінки капілярів із-зовні. Про підвищення функціональної активності ендотеліоцитів свідчила правильна округла форма х ядра з гладким вирівнюванням каріолеми, а також активний мікропіноцитоз, гіпертрофія мітохондрій. Контакти між клітинами ущільнювалися і набували вигляду "замка". Довкола судин відмічалася збільшення кількості пігменту (рис. 3).

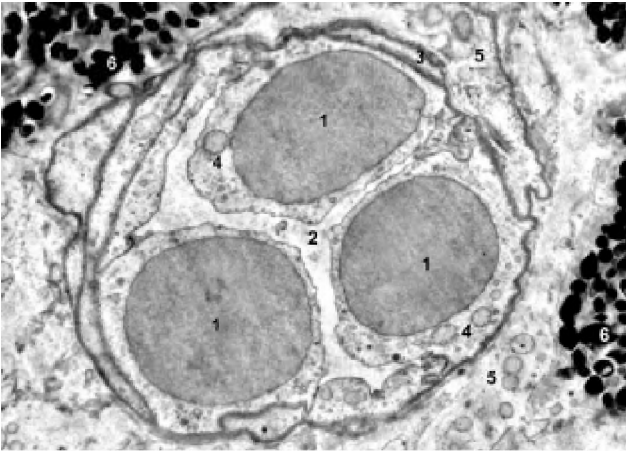


Рис. 3. Набряк ендотелію прекапіляра ока кроля через два місяці після експериментального моделювання глаукоми. Набухлі ядра ендотеліоцитів – 1, просвіт судини – 2, розщеплення базально мембрани – 3, збільшення кількості органел і гіпертрофія мітохондрій – 4, гіпертрофія мітохондрій у відростках ГМК – 5, збільшення кількості паравазального пігменту – 6. Фото з електроннограми, $\times 14000$.

Щодо артеріол і артеріальних відділів капілярів, то \times просвіт звужувався як за рахунок тиску набухлих перицитів, що локалізувалися в товщі базально мембрани між волокнами, так і за рахунок підвищення тону розміщених назовні від базально мембрани ГМК. Всі вказані клітини, як і клітини ендотелію відзначалися наявністю значно кількості рибосом, великих розмірів мітохондрій, а ГМК мали ущільнену цитоплазму і зменшені розміри (рис. 4).

Третій місяць експериментального спостереження характеризувався ультраструктурними змінами в клітинних елементах мікросудинного русла війчастого тіла ока, які могли бути наслідком тривалого порушення кровопостачання тканин. В першу чергу це стосується змін склеротичного ха-

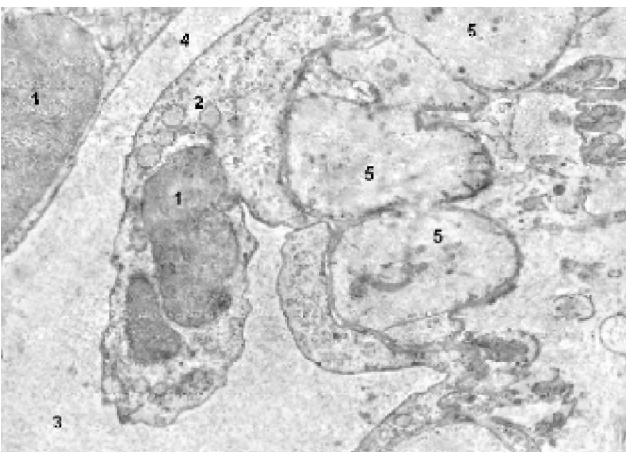


Рис. 4. Устя артеріальної частини капіляра ока кроля через два місяці після експериментального моделювання глаукоми. Ядро ендотеліоцита – 1, цитоплазма ендотеліоцита із збільшенням кількості мітохондрій і рибосом – 2, просвіт артеріоли – 3, просвіт капіляра – 4, гладком'язові клітини – 5. Фото з електроннограми, $\times 12000$.

рактеру, які проявлялися прогресуючим розростанням сполучно тканини у вигляді виражених пучків колагенових волокон між судинними і гладком'язовими елементами. Іноді, в результаті значного потовщення базально мембрани капіляри виглядали “замурованими” в пласти сполучно тканини. В результаті цього \times просвіт був значно редукованим, а ендотеліоцити внутрішньо вистілки деформованими з утворенням різноманітних виростів і випинань (рис. 5).

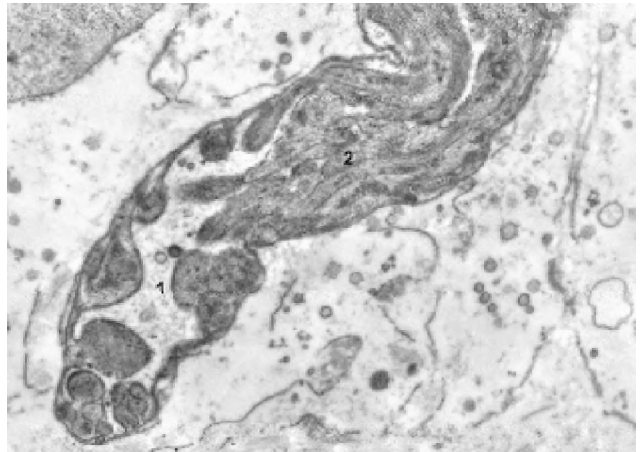


Рис. 5. Звуження і деформація просвіту капіляра (1) ока кроля внаслідок розростання сполучно тканини і потовщення базально мембрани (2) ока кроля через три місяці після експериментального моделювання глаукоми. Фото з електроннограми, $\times 16000$.

Таким чином, проведені ультраструктурні дослідження дозволили виявити певні структурні механізми регулювання кровотоку в очному яблуці на рівні гемомікроциркуляторного русла у нормі і особливості \times функціонування при моделюванні адреналініндуковано глаукоми на кролях в експерименті. До таких структур належать: ендотелій капілярів, який здатний до інтенсивного набухання і перекриття просвіту мікросудин, порівняно значна кількість перицитів, які нерідко кільцем охоплювали капіляри і від ступеня набухання яких визначалася сила тиску на базальні мембрани, а також гладком'язові клітини. Як гладком'язові клітини, так і перицити нерідко утворювали “муфти” в устях капілярів. Але якщо гладком'язові “муфти” частіше зустрічалися в артеріальних відділах капілярного русла, то аналогічні морфофункціональні структури, утворені перицитами, як правило, локалізувалися у його венозних відділах.

При моделюванні адреналініндуковано глаукоми і основного прояву офтальмогіпертензії особливість реакції вказаних морфофункціональних механізмів полягала в тому, що першими реагували венозні відділи гемомікроциркуляторного русла. Ці реакції проявлялися зменшенням \times пропускну здатності внаслідок набухання ендотелію і стискання базальних мембран по периметру перицитами. Такий стан вказаних клітинних структур і мікросудин міг сприяти застійним явищам і як наслідок – посиленню фільтрації війчастим тілом во-

логи камер з відповідним підвищенням внутрішньоочного тиску, що й спостерігалось протягом першого місяця експерименту. На другому місяці експериментального спостереження констрикторні реакції з венозного відділу гемомікроциркуляторного русла зміщувалися в сторону його артеріальної частини з одночасним підвищенням тону стінок артеріол. Таким збалансованим співвідношенням функціонального стану елементів гемомікроциркуляторного русла може бути пояснене сповільнення наростання офтальмогіпертензії, яке в цей період спостерігалось у експериментальних тварин. В клініці це цілком може відповідати стану перебігу глаукоми з невисоким, а то й нормальним внутрішньоочним тиском. Тобто такий стан може бути скоріше лише певним етапом у розвитку захворювання. На третьому місяці експерименту на перший план виходили зміни склеротичного характеру, які проявлялися розростанням пучків колагенових волокон в периваскулярних просторах і значним потовщенням базальних мембран, і які можуть бути наслідком зниження кровопостачання на фоні порушення пропускну здатності судин з розвитком гіпоксії, яка, як відомо, є пусковим фактором для проліферації сполучно тканини. Виявлені склеротичні зміни можуть бути причиною порушення резорбції вологи камер ока з повторним наростанням рівня внутрішньоочного тиску, що й спостерігалось у експериментальних тварин на третьому місяці експерименту. Подібні дифузно-дегенеративні зміни сполучно тканини ока при первинній ювенільній глаукомі були відмічені і описані в науковій літературі раніше при дослідженні клінічного матеріалу [5].

Наведені нами гіпотези цілком співпадають і суттєво доповнюють новими аспектами і трактуваннями уже висловлені раніше [8] і підтверджені у наш час погляди [3]. І якщо в дослідженнях П. П. Бакшинського (2006) було виявлено, що у хворих з первинною відкритокутовою глаукомою як з підвищенням, так і нормальним рівнем офтальмотону існує два типи змін мікроциркуляції судин хоріоїде і сітківки: гіперемічний (збільшення артеріолярного припливу і зниження веноулярного відтоку) і спастичний (із зниженням припливу крові в мікроциркуляторне русло внутрішніх оболонок ока), то на наш погляд ці два стани є швидше етапами одного і того ж процесу, що знайшло своє відображення у проведених нами ультраструктурних дослідженнях. Стадійність перебігу глауком відмічена і у роботі О. Н. Кулешово і співав. (2008), однак дане дослідження стосується переважно лише дренажно системи ока і в ньому описано дегенеративно-деструктивні процеси ендотелію і базально мембрани лише в шлемовому каналі.

ВИСНОВКИ 1. Значну роль у перерозподілі кровотоку в органі зору відіграють регуляторні морфофункціональні механізми мікроциркуляторного русла.

2. До структур, що регулюють інтенсивність кровотоку в судинній оболонці ока можна віднести: ендотелій капілярів, який здатний до інтенсивного набухання і перекриття просвіту мікросудин, порівняно значна кількість періцитів, які нерідко кільцем охоплюють капіляри і від ступеня набухання яких визначається сила тиску на базальні мембрани, а також гладком'язові клітини.

3. У перебігу експериментально адреналіндуковано глаукоми можна виділити декілька стадій:

– гіперемічну, із збільшенням артеріолярного припливу і зниженням веноулярного відтоку та прогресивним наростанням офтальмогіпертензії протягом першого місяця моделювання патології;

– спастичну, із зниженням припливу крові в мікроциркуляторне русло внутрішніх оболонок ока за рахунок зниження пропускну здатності артеріолярного компонента і частковою стабілізацією рівня внутрішньо очного тиску;

– ішемічно-склеротичну, з прогресивним розростанням сполучно тканини і погіршенням дренажно функції ока та повторним прогресуванням офтальмогіпертензії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеев В. Н. Клинико-морфологические изменения в переднем отрезке глаза при экспериментальной глаукоме / В. Н. Алексеев, И. А. Самусенко // Глаукома. – 2004. – № 4. – С. 3–7.
2. Бакшинский П. П. Особенности глазной микроциркуляции у больных первичной открытоугольной глаукомой до операции и в раннем послеоперационном периоде / П. П. Бакшинский // Глаукома. – 2006. – № 2. – С. 9.
3. Деев Л. А. Морфология сосудистой оболочки при первичной открытоугольной глаукоме / Л. А. Деев, В. В. Молчанов, А. И. Малахова, О. В. Андреева // Глаукома. – 2010. – № 3. – С. 5–9.
4. Ультраструктурные основы системной организации органов и тканей / К. А. Зуфаров, М. Дворжак, П. Петков и др. // Ташкент: Медицина, 1983. – 472 с.
5. Ультраструктура эндотелия дренажной системы глаза / О. Н. Кулешова, Г. И. Непомнящих, С. В. Айдагулова, Е. В. Шведова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2008. – Т. 145, № 5. – С. 574–577.
6. Науменко В. И. Вазоспастический синдром в генезе глаукомы с низким внутриглазным давлением / В. И. Науменко, Т. А. Бирич // Здоровоохранение: Орган МЗ Респ. Беларусь. – 1996. – № 7. – С. 29–30.
7. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перова – М.: Медицина, 1996. – 362 с.
8. Федоров С. Н. Вопросы патогенеза и лечения глаукомы / С. Н. Федоров, А. И. Ивашина, Г. Д. Михайлова. – М., 1981. – С. 59–63.
9. Якубова Л. В. Вазоспазм при глаукоме: клиника, диагностика, лечение / Л. В. Якубова, М. Н. Ефимова // Глаукома на рубеже тысячелетий: итоги и перспективы: Всерос. научно-практ. конф.: материалы. – М., 1999. – С. 67–71.
10. Яровая И. М. Гемодинамическая перестройка венозных стенок при снижении двигательной активности / И. М. Яровая, С. Д. Михальченко, Ю. Д. Оборотов // Ультраструктурные основы патологии сердца и сосудов: материалы III конф., 11 – 13 мая. – Тбилиси: Мецниереба, 1985. – С. 254–255.

Отримано 23.03.11