

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ТРАВМАТИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ РОГОВИЦЫ

На глазах экспериментальных животных (кроликов) смоделированы эрозия роговицы по методу С. Hanna, J.E. O'Brien, щелочной ожог роговицы по методу Обенбергера, кислотный ожог роговицы по аналогии со щелочным ожогом. Состояние животных оценивалось в динамике: клинически и морфологически. Исследование показало, что данные модели отражают суть репаративных процессов, а данные, полученные при проведении эксперимента, могут быть экстраполированы в клинику.

Ключевые слова: эрозия роговицы, щелочной ожог роговицы, кислотный ожог роговицы, экспериментальная модель.

Актуальность

Современные исследования трудно представить без эксперимента [1]. В биомедицинских исследованиях планирование экспериментального раздела имеет особенно большое значение по причине широкой вариабельности свойств, характерной для биологических объектов. Эта особенность является основной причиной трудностей, связанных с интерпретацией результатов, которые могут значительно различаться от опыта к опыту [2].

Кроме того при проведении любых исследований для достоверной экстраполяции данных, полученных в эксперименте важно учитывать репрезентативность выборки. Поэтому цель планирования эксперимента заключается в создании схемы, которая необходима для получения как можно большей информации при наименьших затратах для выполнения исследования. Более точно планирование эксперимента можно определить как процедуру выбора числа и условий проведения опытов, необходимых и достаточных для решения поставленной задачи с требуемой точностью [2].

Таким образом, каждый раз при планировании исследования перед ученым возникает вопрос о том, как *in vivo* смоделировать ту или иную патологию.

В ходе проведения экспериментальных исследований удалось ответить на важные вопросы офтальмологии: этиология и патогенез витреоретинальной патологии, прогрессирующей близорукости, глаукомы, тромбоза центральной вены сетчатки и многих других заболеваний, а также установить возможности их предупреждения и лечения. Однако вопрос по-

лучения травматических поражений глаза в эксперименте, особенно их патоморфологическая картина остаются малоизученными, кроме того в доступной литературе описание методики формирования кислотного ожога в эксперименте отсутствовало.

Цель исследования

Представить наиболее достоверные модели эрозии и химического ожога роговицы экспериментальных животных (кроликов).

Материал и методы

Для создания модели травматической эрозии, химического ожога (щелочного и кислотного) экспериментальные исследования были проведены на 120-ти глазах 60-и кроликов в 3-х сериях: в первой – смоделирована эрозия роговицы (20 кроликов, 40 глаз), во второй – щелочной ожог (20 кроликов, 40 глаз) и в третьей – кислотный ожог (20 кроликов, 40 глаз). Состояние животных оценивалось динамически ежедневно в течение семи дней, последующие наблюдения проводились 2 раза в неделю в сроки до 90 суток с фоторегистрацией.

Анализ данных литературы показал, что при формировании эрозии в эксперименте исследователи применяют метод С. Hanna, J.E. O'Brien (1960) [3], согласно которому под местной анестезией (0,4% инокаином) легким прижатием трепана с поршнем диаметром 8 мм на роговицу наносят метку, окрашенную 0,1% раствором флюоресцеина натрия (рис. 1, цветная вкладка). В пределах метки лезвием соскабливают эпителий роговицы. Дефект эпителия снова окрашивают раствором флюоресцеина для того, чтобы

отчетливее были видны форма и размер эрозии роговицы (рис. 2, цветная вкладка).

В качестве экспериментальной модели щелочного ожога роговицы у кроликов применяют метод Обенбергера [4]. Методика формирования щелочного ожога в эксперименте заключается в следующем: щелочной ожог вызывают аппликацией диска фильтровальной бумаги (в виде круга диаметром 8 мм), смоченной 2,5% раствором гидроксида натрия с экспозицией 5 секунд на роговицу под местной анестезией (0,4% инокаином) (рис. 3, 4, цветная вкладка).

Кислотный ожог в эксперименте формировали по собственному методу по аналогии со щелочным ожогом. Под местной анестезией (0,4% инокаином) аппликацией фильтровальной бумаги (в виде круга диаметром 8 мм), смоченной 3% раствором уксусной кислоты с экспозицией 5 секунд на роговицу (рис. 5, 6, цветная вкладка).

Результаты

Учитывая, что регенераторная активность клеток роговичного эпителия в центре и на периферии различна, а именно в периферической части роговицы она выше, эрозию роговицы формировали в оптической зоне роговицы. Диаметр выполняемой эрозии был выбран нами не более 8 мм.

Клиническое состояние глаз кроликов сразу после нанесения механической травмы характеризовалось признаками роговичного синдрома: светобоязнь, блефароспазм, слезотечением. У экспериментальных животных объективно при проведении биомикроскопии отмечали: конъюнктивальную инъекцию, поверхностный дефект роговицы.

Оценивая гистологические структуры глаз кроликов при формировании эрозии, определяли большую активность фибропластических процессов, вызванных эрозией, включающих дистрофические и деструктивные изменения.

В центральной зоне в крае дефекта эпителия клетки переднего эпителия были частично некротизированы, оставшаяся жизнеспособная часть эпителиоцитов была дисконфлексирована (в ней отсутствовали фигуры митотического деления). Цитоплазма большинства клеток становилась более плотной, распадалась на мелкие глыбки, превращаясь в детритные массы. Коллагеновые фибриллы собственного ве-

щества роговицы подвергались дисконфлексации и гомогенизировались.

На периферии клетки эпителия были дифференцированные, располагались в 4 ряда, ближе к центральной зоне в 2 ряда. В строме роговицы отмечали воспалительную реакцию, которая проявлялась миграцией в слои роговицы макрофагов и лимфоцитов, более выраженная на периферии, клеточная реакция с участием фибробластов продолжалась вплоть до 7 суток.

Модель щелочного ожога по Обенбергеру широко используют в нашей стране и за рубежом как для исследования репаративных процессов в глазу при его повреждении, так и для разработки методов лечения, поскольку процессы, развивающиеся после щелочного ожога роговицы у кроликов, соответствуют течению ожогового процесса глаз у человека [4]. Для создания условий приближенных к клинической практике после формирования как щелочного, так и кислотного ожога сразу же проводилось промывание конъюнктивальной полости глаза большим количеством 0,9% раствора хлорида натрия в течение 15 минут. После чего на роговицу помещали полоску индикаторной лакмусовой бумаги на две-три секунды, затем ее сравнивали с прилагаемой цветовой шкалой и вычисляли значение рН. Убедившись в достижении физиологического значения рН роговицы (от 6,8 до 7,5) промывание прекращали, в конъюнктивальную полость инстиллировали 0,4% раствор инокаина и 0,3% раствор Ципромеда.

При этом формировался ожог роговицы средней степени тяжести по классификации Б.П. Поляка (1957), характеризующийся следующим симптомокомплексом: светобоязнь; умеренная гиперемия и отек конъюнктивы (хемоз); незначительное помутнение роговицы, через которое удавалось просмотреть фрагменты радужной оболочки.

Сразу после воздействия щелочи в области контакта с детергентом определяли дефект эпителия роговицы, который прокрашивался флуоресцеином в виде круга диаметром 7 мм. Воздействие 3% раствора уксусной кислоты на роговицу вызывало поверхностное помутнение. При инстилляции 0,1% раствора флуоресцеина натрия прокрашивание роговицы не отмечали. Но наряду с этим наблюдали признаки роговичного синдрома, а при биомикроскопии – инъекцию конъюнктивы, помутнение роговицы в об-

ласти контакта с детергентом за счет отека эпителия. Влага передней камеры была прозрачной, радужная оболочка с четким рисунком, зрачок диаметром 7 мм, реакция на свет вялая, рефлекс с глазного дна розовый.

Патогенное воздействие химических веществ на роговицу неодинаково. Оно зависит от ионного состава детергента, то есть от принадлежности его к классу кислот либо щелочей [5]. Известно, что щелочи быстро проникают в роговицу, действуя эмульгирующе, вызывая повреждение переднего эпителия (колликвационный некроз). Так, например, натриевая щелочь уже по истечении 5 мин. проникает в переднюю камеру глаза, тогда как 30% кислота через тот же промежуток времени не обнаруживается во влаге передней камеры. При этом мукоидные субстраты роговицы подвергаются денатурированию или отсоединяются от коллагена, который является одним из главных компонентов в роговице [5].

Кислоты обычно немедленно свертывают белок роговичного эпителия и вызывают его помутнение (коагуляционный некроз). Поверхностные слои стромы роговицы могут быть повреждены таким же образом, хотя в меньшей степени. Повреждение эндотелия менее выражено, за исключением самых тяжелых случаев, что подтвердило морфологическое исследование. Может развиться легкий отек стромы обычно в месте, прилегающем к участку, поврежденному кислотой. Поврежденный эпителий быстро слущивается и заменяется новыми клетками нормальной прозрачности. В случаях ожогов кислотами вначале может наступить небольшое помутнение роговицы, которое в дальнейшем рассасывается. Впоследствии прозрачность роговицы восстанавливается.

Передний поверхностный эпителий является одной из важнейших структур, обеспечивающих гомеостаз роговицы и глаза в целом, при его повреждении закономерно изменяется местный обмен веществ; кроме того развивается интоксикация продуктами распада повреж-

денных клеток, которая особенно выражена в глазу в виду его анатомических особенностей, строения и кровоснабжения. Ведь отсутствие сосудов в роговице является одной из причин замедленного обмена веществ во внутренних слоях, что имеет отрицательное значение при патологических процессах. Клинически это проявлялось резким увеличением отека и инъекции конъюнктивы, отеком роговицы, блефароспазмом, светобоязнью, слезотечением, помутнением роговицы в первые 7–10 суток, что соответствовало острой фазе ожога. Повреждались не только те ткани, которые подверглись прямому воздействию, но щелочь вызывала повреждение глубже лежащих структур, как показали морфологические исследования.

При кислотном ожоге с помощью световой микроскопии были определены особенности, обуславливающие соответствующую клиническую картину: повреждения эпителия представляли собой коагуляционный некроз поверхностных слоев с формированием плотного струпа на роговице, что обусловило роговичный синдром, но не дало возможности прокрашивания стромы флуоресцеином и привело к ложно-отрицательному результату пробы. Кроме деструктивных изменений эпителиоцитов, отмечались нарушения в строме, которые строго соответствовали участку ожога и захватывали не менее 1/3 толщины стромы. Морфологически определяли признаки токсического действия продуктов распада поврежденных клеток.

Таким образом, при кислотном ожоге в отличие от щелочного ожога, возникал коагуляционный (сухой) некроз – кислотная денатурация белков, благодаря которой кислота не проникала в подлежащие слои ткани.

Заключение

Описанные модели отражают суть репаративных процессов с точки зрения доказательной медицины, а данные, полученные при проведении эксперимента, могут быть экстраполированы в клинику.

3.10.2014

Список литературы:

1. Уайтхед, А.Н. Избранные работы по философии / А.Н. Уайтхед. – М.: Прогресс, 1990. – 716 с.
2. Большаков, О.П. Дидактические и этические аспекты проведения исследований на биомоделях и на лабораторных животных / О.П. Большаков, Н.Г. Незнанов, Р.В. Бабаханян // Качественная клиническая практика. – 2002 г. – №1. – С. 58–61.
3. Hanna, C. Cellturnover in the adult human eye / C. Hanna, D.S. Bicknell, J.E. O'Brien // Arch Ophthalmol. – 1961. – Vol. 65. – P. 695–703.

4. Obenberger, J. Paper strips and rings as simple tools for standartization of experimental eye injuries / J. Obenberger // Ophthalmol. Res. – 1975. – Vol. 7. – P. 363–366.
5. Wagoner, M.D. Chemikal injuries of the eye: Current concepts in pathophysiology and therapy / M.D. Wagoner // Surv. Ophthalmol. – 1997. – Vol. 41. – P. 275–312.

Сведения об авторах:

Канюков Владимир Николаевич, директор Оренбургского филиала
МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н.Федорова Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор

Трубина Ольга Михайловна, врач-офтальмолог высшей категории, заместитель директора
по научной работе Оренбургского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика
С.Н.Федорова, доцент, кандидат медицинских наук

Яхина Ольга Михайловна, врач-офтальмолог Оренбургского филиала
МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н.Федорова, кандидат медицинских наук

460047, г. Оренбург, ул. Салмышская, 17, e-mail: nauka@ofmntk.ru

Стадников Александр Абрамович, Заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой
гистологии, цитологии и эмбриологии Оренбургской государственной медицинской академии,
доктор биологических наук, профессор

460000 г. Оренбург, ул. Максима Горького 45, e-mail: alexander.stadnikov@yandex.ru