

МОДЕЛЮВАННЯ ВТОРИННОЇ НЕОВАСКУЛЯРНОЇ ГЛАУКОМИ У ЩУРІВ НА ФОНІ СТРЕПТОЗОТОЦИНОВОГО ДІАБЕТУ

П.А. Бездітко , І.М. Безкоровайна

Харківський національний медичний університет, кафедра офтальмології,

зав.кафедрою проф.П.А. Бездітко

м. Харків

УДК 617.7-007.681-092.9

Резюме

Моделирование вторичной неоваскулярной глаукомы у крыс на фоне стрептозотоцинового диабета
П.А. Бездетко, И.Н. Безкоровайная

В статье представлена морфологическая картина поэтапных изменений глаза у экспериментальных животных при моделировании неоваскулярной глаукомы у крыс со стрептозотоциновым сахарным диабетом. Для создания модели животным вводили 65мг/кг стрептозотоцина (SIGMA, США) внутривентрально, однократно. Неоваскулярные изменения начинались со 130 дня от введения препарата и согласовывались с описанными ранее в литературе стадиями развития неоваскулярной глаукомы.

Simulation of secondary neovascular glaucoma in rats on a background of streptozotocin diabetes.

P. Bezdetko, I. Bezkorovayna

The paper presents the morphological picture of stepwise changes in the eyes of experimental animals in modeling neovascular glaucoma in rats with streptozotocin diabetes.

To create the model animals were injected with 65mg/kg streptozotocin (SIGMA, USA) intraperitoneally, once. Neovascular changes began with 130 days of drug administration and are consistent with those described previously in the literature stages of development of neovascular glaucoma.

Ключові слова: неоваскулярна глаукома, стрептозотоксин, цукровий діабет.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, в світі налічується близько 45 млн сліпих людей і близько 135 млн слабобачачих [12]. Причини, що ведуть до сліпоти, постійно змінюються. Частота сліпоти від глаукоми в світі залишається на рівні 14 – 15 % від числа всіх захворілих . В Україні нараховується близько 170 тис. хворих на глаукому. До того ж щорічно виявляють 25 тис. нових випадків [5].

Вторинна неоваскулярна глаукома є найбільш тяжкою формою глаукомного процесу, що відповідає третій ступені рефрактерності [2]. За даними літератури [3, 4, 11], провідними причинами неоваскулярної глаукоми являються проліферативна діабетична ретинопатія (30-40% випадків) та ішемічна форма тромбоза центральної вени сітківки (до 40% випадків). Процес її розвитку веде до сліпоти, виснажливого болювого синдрому та

послідуючої загибелі ока, різко погіршуючи якість життя пацієнтів. Причому цілим рядом робіт, проведених в Західній Європі, США, Японії, Австралії, дослідниками було показано, що близько 50% захворювань залишаються недіагностованими, а в одному з п'яти випадків діагностуються в пізніх стадіях захворювання [9, 10]. Існуючі методи лікування направлені в більшості на зняття больового синдрому та високого внутрішньо очного тиску, в більшості випадків є малоефективними і симптоматично направлені. Такий стан питання напряму пов'язаний з недостатнім вивченням патогенезу даного захворювання. Підвищити ефективність своєчасної діагностики і лікування неоваскулярної глаукоми може тільки системне вивчення основ патогенезу та патоморфології цього виду глаукоми.

З метою вивчення патогенезу та клініко-морфологічних змін ока при неоваскулярній глаукомі, для розробки патогенетичного впливу на глаукомний процес, нами було проведено експериментальне дослідження розвитку неоваскуляризації ока щурів на моделі стрептозотоцинового цукрового діабету.

Матеріал та методи дослідження

Робота виконана в осінньо-зимовий період на 80 щурах самцях та самках породи Wistar, віком 90 днів. В контрольну групу входило 20 інтактних щурів, котрих витримували в ідентичних умовах віварію з експериментальними тваринами. До початку експерименту щури витримувалися на протязі двотижневого карантинного терміну в умовах віварію з урахуванням традиційних вимог до утримання експериментальних тварин, на звичайному віварійному раціоні. Тварини мали приблизно однакову вагу 127 ± 10 г. Зважування проводилося щоденно. Всі маніпуляції проводилися з 9 до 12 год, щоб виключити вплив добових коливань метаболізму та відомих варіацій зорових структур. Тварин утримували в стандартних умовах віварію при світловому режимі 12 годин день та 12 годин ніч із штучним денним освітленням низької інтенсивності 20 лк. Цукровий діабет викликали одноразовим введенням стрептозоточину (SIGMA, США) в дозі 65 мг на 1 кг ваги тіла. Введення стрептозоточину дозволяє моделювати в експерименті цукровий діабет, в тому числі окремі його стадії патологічного процесу, що підтверджується результатами морфологічних і біохімічних досліджень [4, 6] Контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин в біоеквівалентному об'ємі.

Критерієм тяжкості захворювання служили рівень гіперглікемії, втрата маси тіла та рівень поліурії. Вміст цукру крові визначали глюкозооксидазним методом 1 раз на тиждень. Результати дослідження показали прояви перших симптомів цукрового діабету

через 5 діб після введення стрептозотоцину. Відмічалось зниження ваги тварин, збільшення прийому води при постійному збільшенні діурезу.

Щурі виводилися з експерименту починаючи з 120 дня від введення стрептозотоцину, що передбачає розвиток неоваскуляризації очного яблука [1]. Щурів виводили з експерименту декапітацією під ефірним наркозом, після чого в мінімальний термін, проводили енуклеацію очей. Забій експериментальних та контрольних тварин планувався одночасно. Для виконання мікроскопії очні яблука, після фіксації в рідині Карнуа заливали в парафін. Зрізи фарбували гематоксилін-еозином.

Всі експерименти проводили з дотриманням етичних норм, передбачених міжнародними принципами Європейської конвенції “Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та в інших наукових цілях” (Страсбург, 1985) та норм біомедичної етики, відповідного Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження” (Київ, 2006).

Результати та обговорення

Вже через 5 діб від початку експерименту рівень глюкози крові щурів експериментальної групи склав $19,1 \pm 1,5$ ммоль/л (в контролі $5,2 \pm 1,0$ ммоль/л), на 10 добу – $18,1 \pm 1,7$ ммоль/л (в контрольній групі $5,0 \pm 1,1$ ммоль/л). У всіх тварин контрольної групи кришталики прозорі, очне дно добре офтальмоскопується в стані мідріазу. З 120 доби спостерігалась застійна ін’єкція судин кон’юнктиви і склери, прояви рубеозу райдужки, кришталики поступово мутніють.

За даними патоморфологічних досліджень було виявлено, що патологічний процес формування проліферативно-неоваскулярних змін в оці дослідних тварин носить постадійний характер.

При мікроскопічному дослідженні очних яблук експериментальних щурів в терміні 100 – 130 днів від введення стрептозотоцину, виявлене розширення та нерівномірність судин сітківки, розширення та повнокрів’я судин хоріокапілярного шару з місцями тромбоутворень в просвіті судин. Спостерігалось виражене повнокрів’я венозної сітки хоріоїдеї з діapedезом еритроцитів на рівні проміжного та внутрішньоклітинного набряку нейроглії сітківки, зі стазом еритроцитів і зберігався набряк сітківки. В сітківці виявлялись вогнища дистрофічних змін. В хоріоїдеї було відмічено розвиток слабо вираженого периваскулярного склероза. Проглядалися зони пошкодження зовнішніх шарів сітківки та ділянки повної відсутності її пігментного епітелію. Вказані зміни відповідають прерубеотичній стадії неоваскулярної глаукоми [8].

В терміні після 130 до 145 - 148 днів з’являються прояви новоутворення судин. Новоутворені судини з’являються в сітківці і преламінарній частині зорового нерва,

проростають на внутрішню поверхню і в прилеглу зону скловидного тіла у вигляді бруньок. Поодинокі новоутворені судини виявляються і в райдужці та в куті передньої камери. Дані морфологічної картини збігаються зі стадією рубеозу райдужки вторинної неоваскулярної глаукоми [8].

В терміні після 150 до 170 днів на поверхні сітківки формується судинна мембрана, в якій наряду з геморагічними процесами, спостерігаються фракційні зміщення, що призводять до формування складок та відшарування сітківки. Збільшується кількість новоутворених судин райдужки. Вони більш щільно розташовуються. В куті передньої камери утворюється фіброваскулярна мембрана, що покриває райдужку та кут передньої камери, але кут залишається відкритим. Морфологічний аналіз мембрани показує провідну роль в її формуванні врослих новоутворених судин. Наступають зміни відповідні відкритокутової стадії неоваскулярної глаукоми [8].

В терміні більше 170 днів, у більшість тварин спостерігається повне змужніння кришталіків, зміщення райдужки наперед за рахунок скорочення фіброваскулярної мембрани, що веде до закриття кута передньої камери. Наступає закритокутова стадія вторинної неоваскулярної глаукоми [8].

Висновки

Таким чином, отримані результати мікроскопічних досліджень експериментального моделювання неоваскулярної глаукоми на фоні стрептозотоцинового діабету у щурів, підтверджують раніше описані в літературі дані клініко-морфологічних змін постадійного перебігу неоваскулярної глаукоми. Отримання динаміки розвитку процесів неоваскуляризації дає можливість подальшого дослідження патогенетичних факторів неоваскулярної глаукоми та розробки нових комбінованих методик лікування цього тяжкого захворювання.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Белый Ю.А., Терещенко А.В., Онищенко Н.А. с соавт. Развитие терминальной неоваскулярной глаукомы у крыс породы вистар с экспериментальным сахарным диабетом.- Глаукома: теории, тенденции, технологии.-В кн.: Сборник научных статей VII международной конференции.-2009.-с.-109-112.
2. Еричев В.П., Бессмертный А.М., Червяков А.Ю. Полностью фистулизирующая операция, как способ повышения эффективности хирургического лечения рефрактерной глаукомы // Клинич. офтальмология.- 2002.-№ 2. С. 59-60.
3. Нестеров А.П. Глаукома. М.: «Медицина», 1995: 148-154.
4. Робустова О.В., Бессмертный А.М. Современные представления об этиологии и патогенезе неоваскулярной глаукомы//Глаукома 4'2003.

5. Пасечнікова Н.В.Офтальмологічна допомога населенню України в 2006 році/ Н.В. Пасечнікова, С.А. Риков, Г.І. Степанюк // Офтальмол. журн.-2007.-№4.-с.64-69.
6. Cardinal J.W., Allan D.J., Cameron D.P. Differential metabolite accumulation may be the cause of strain differences in sensitivity to streptozotocin-Induced β cell death in inbred mice // Europ. J. Medical Res. 1999. V. 7. № 3. P. 65.
8. Shields M.B. Glaucoma in diabetic patients // Ocular problems in diabetes mellitus / Blackwell Scientific Publ. – Boston, 1992. – P. 307–319.
9. Tuck MW, Crick RP. Screening for glaucoma. Why is the disease underdetected? Drugs Aging, 1997 January;10(1):1-9.
10. Wensor MD, McCarty CA, Stanislavsky YL, Livingston PM, Taylor HR. The prevalence of glaucoma in the Melbourne. Visual Impairment Project. Ophthalmology, 1998 April;105(4):733-9.
11. Wong E. Diode Laser contact transscleral cyclophotocoagulation for refractory glaucoma in Asian patients. Am. J.Ophthalmol. 1997; 124 (6): 794-804.
12. World Health Organization. Global initiative for prevention of avoidable blindness. WHO/PBL/97.61. Geneva: WHO, 1997.