

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ГЛАУКОМЕ**

---

### **3.1. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОВОДЯЩИХ ПУТЕЙ ЗРИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ**

Буквально до последнего времени ПОУГ рассматривали как чисто глазное заболевание, основным проявлением которого является нарушение гидродинамики, приводящее к нарушениям микроциркуляции, ишемии с развитием глаукомной нейрооптикопатии (Elschnig A., 1928; Пригожина А.Л., 1966). Однако со временем выяснилось, что даже после терапевтического или хирургического снижения ВГД распад зрительных функций все равно наступает, правда, существенно позже.

Дегенеративные изменения, происходящие в головном мозге, детально изучаются исследователями таких заболеваний, как болезни Альцгеймера и Паркинсона. Однако морфологические особенности клеток зрительного пути изучены не в полной мере. В связи с этим становится актуальным экспериментальное изучение состояния зрительного пути при глаукоме на различных уровнях.

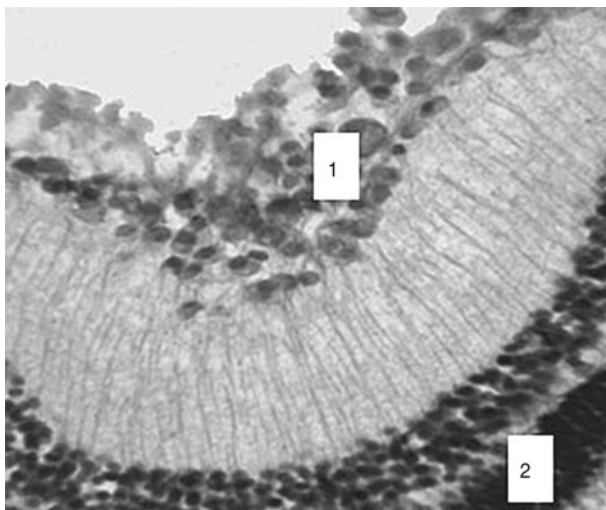
Для экспериментального воспроизведения глаукомного процесса была выбрана модель АИГ, разработанная в НИИ глазных болезней и тканевой терапии им. акад. В.П. Филатова (Липовецкая Е.М., 1966). Подопытным животным (20 кроликов породы серая шиншилла) через день в ушную вену вводили 0,1 мл 0,1% раствора эпинефрина (Адреналина гидрохлорид-Виал<sup>▲</sup>) в течение 3 мес. Контрольной группе животных (10 кроликов) в том же режиме вводили физиологический раствор.

ВГД измеряли тонометром Маклакова весом 10 г. Исходный уровень ВГД у кроликов в эксперименте на правом глазу составил  $14,3 \pm 0,26$  мм рт.ст., на левом —  $13,6 \pm 0,27$  мм рт.ст. В период 3-месячного введения эпинефрина (Адреналина<sup>▲</sup>) наблюдалось отчетливое повышение тонометрических показателей на протяжении каждого месяца. ВГД к концу эксперимента достоверно увеличилось ( $p < 0,001$ ): в группе кроликов с АИГ — на правом глазу с  $14,3 \pm 0,26$  мм рт.ст. до

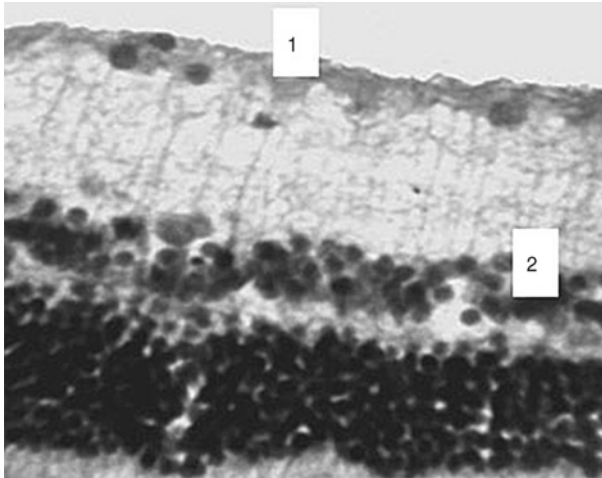
24,3±0,17 мм рт.ст. (на 72%); на левом глазу — с 13,6±0,27 мм рт.ст. до 23,5±0,22 мм рт.ст. (на 73%).

После окончания клинической фазы кролики были выведены из эксперимента воздушной эмболией путем введения в ушную вену 10 мл воздуха. Изучение структур зрительного пути проводилось путем электронной микроскопии. Проводили морфометрические анализы срезов — подсчет количества клеток гистологического препарата в условной координате.

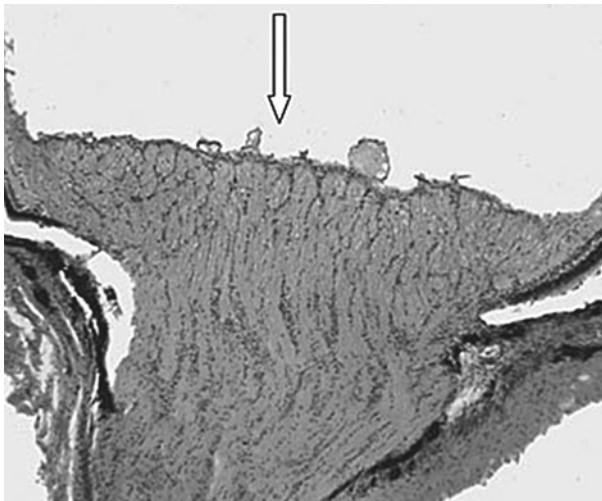
В первую очередь морфометрическому анализу были подвергнуты сетчатка и зрительный нерв (рис. 3.1–3.4). При этом исследована назальная часть сетчатки кролика от цилиарного тела до решетчатой пластинки как наиболее информативная. Выявлено, что крупных клеток больше при приближении к периферии глазного яблока (цилиарному телу), а мелких — при приближении к ДЗН. Полученные данные согласуются с результатами работы проф. Н.Г. Фельдман (1951), выявившей в сетчатке кролика в ганглиозном слое три типа клеток: мелкие клетки — диаметр ядра 3 мкм, средние клетки — диаметр ядра 6 мкм, крупные клетки — диаметр ядра более 9 мкм. В опытах с ретроградным повреждением ганглиозных клеток (перерезка зрительного нерва) она установила временные закономерности повреждаемости ганглиозных клеток: вначале страдали мелкие клетки, затем средние и только потом



**Рис. 3.1.** Слои сетчатки интактного кролика. Обычное содержание клеток в сетчатке: 1 — ганглиозный слой; 2 — слой биполярных клеток

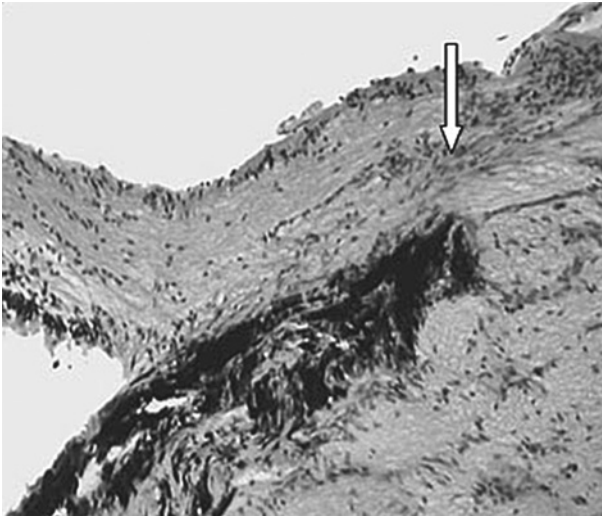


**Рис. 3.2.** Слои сетчатки у кролика с адреналининдуцированной глаукомой. Резкое снижение содержания в сетчатке кролика ганглиозных клеток (1), слой биполярных клеток (2) не изменен



**Рис. 3.3.** Диск зрительного нерва интактного кролика (указан стрелкой)

крупные. Аналогичные закономерности гибели клеток прослеживались и в нашем эксперименте: в ганглиозном слое клеток сетчатки при АИГ первоначально уменьшается количество мелких и средних клеток.



**Рис. 3.4.** Диск зрительного нерва у кролика с адреналининдуцированной глаукомой. Выраженная атрофия слоя аксонов ганглиозных клеток (указана стрелкой) сетчатки у диска зрительного нерва

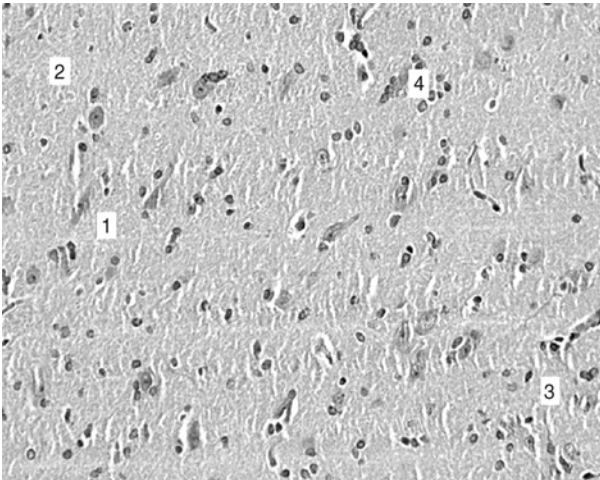
Более того, в ходе описываемого эксперимента, как и в ряде исследований других авторов, было выявлено, что в сетчатке страдают лишь третьи нейроны — ганглиозные клетки. Поражение других нейронов, в частности фоторецепторов, как и в исследовании J. Jonas и соавт. (1992), не отмечено.

При подсчете клеток ганглиозного слоя в группе АИГ установлено достоверное снижение их количества на 45,5% (с  $509,67 \pm 12,35$  до  $279,00 \pm 5,18$ ). Эти цифры объективизируют визуальную картину разреженного ганглиозного слоя. Уменьшение количества ганглиоцитов здесь происходит в большей мере за счет мелких клеток — снижение на 49% (с  $184,00 \pm 5,55$  до  $93,50 \pm 2,74$ ). Количество средних снижается на 46% (с  $229,17 \pm 12,41$  до  $123,83 \pm 1,82$ ), крупных — на 36% (с  $96,50 \pm 3,58$  до  $61,67 \pm 3,91$ ). Выявляется нарушение соотношения мелких, средних и крупных клеток: в контрольной группе это соотношение составило ряд 36–45–19%, а при АИГ — 33–44–23%. Уменьшается толщина слоя аксонов ганглиозных клеток на 39% (с  $129,15 \pm 1,86$  до  $78,85 \pm 1,86$  мкм), что формирует довольно выраженную экскавацию ДЗН. В преламинарной части зрительного нерва наблюдается неравномерная толщина осевых цилиндров с очагами вакуолизации. Позади решетчатой пластинки миелиновые оболочки характеризуются набуханием и очаговой

деструкцией, местами они подверглись растворению с образованием ситообразных пространств.

Такая морфологическая картина служит проявлением так называемой кавернозной дистрофии зрительного нерва. Характерен прекапиллярный склероз и исчезновение гликозаминогликанов, что отмечает при глаукоме А.Н. Neufeld и соавт. (1997). Типичные для глаукомы изменения в зрительном нерве подтверждаются электронно-микроскопическим исследованием.

Выраженные изменения были выявлены и выше по зрительному пути головного мозга. При макроскопическом исследовании установлено, что зрительные центры (латеральные коленчатые тела и четверохолмие) имели меньшие размеры, чем у интактных кроликов. Края больших полушарий были спаяны с продолговатым мозгом, отделялись с трудом. При микроскопическом исследовании выявлены выраженные атрофические изменения нервной ткани. Сосуды микроциркуляторного русла в этой области спавшиеся, просвет их неравномерно сужен или зияет в пределах одного сегмента. Стенки сосудов несколько утолщены и гомогенизированы. В ткани определяются явления выраженной атрофии. Видны крупные участки группового расположения пикнотических сморщенных нейронов, тигроид не определяется, ядро пикнотично, что указывает на неизбежную гибель этих клеток (рис. 3.5). В зонах распро-



**Рис. 3.5.** Зрительные центры головного мозга кролика при экспериментальной глаукоме: 1 — пикнотические сморщенные нейроны с истонченными отростками; 2 — участки разрезания глии; 3 — участки очаговой пролиферации глии; 4 — нейронофагия

странения таких клеток выявляются разные этапы атрофии нейронов, которые сочетаются с участками разрежения и очаговой пролиферации глии, что указывает на хронический, длительно протекающий процесс.

Атрофия имеет распространенный характер, отмечаются крупные зоны атрофии нервных клеток, находящихся на разных этапах пикноза и сморщивания, с изменением формы клеток, превращением их в пирамидальные, где пикнотическое ядро сливается с гомогенной цитоплазмой. Иными словами, все отделы центрального участка зрительного пути вплоть до коркового отдела имеют выраженные дегенеративные изменения, характер которых четко указывает на единообразие дистрофических изменений от сетчатой оболочки до корковых центров.

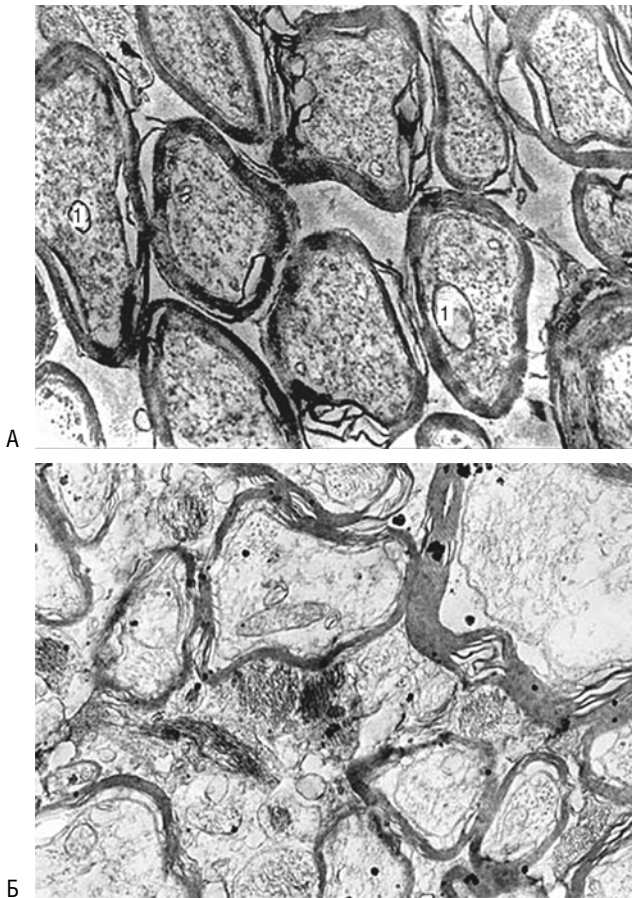
### **3.2. УЛЬТРАСТРУКТУРА МИТОХОНДРИЙ КЛЕТОК ПРОВОДЯЩИХ ПУТЕЙ ЗРИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ**

Существуют убедительные доказательства того, что важную роль в развитии нейродегенерации и гибели клетки по пути апоптоза играют митохондрии. И именно митохондрии являются мишенью воздействия нейропротекторных препаратов. В экспериментальных и клинических исследованиях при глаукоме показано снижение функциональной активности митохондрий. Однако изучение морфологических особенностей митохондрий клеток зрительного пути от ганглионарных волокон сетчатки до коры головного мозга находится только в начале пути. А ведь проводящие пути зрительного анализатора являются центральной частью органа зрения и могут также подвергаться трансинаптической дегенерации, как и при других нейродегенеративных заболеваниях. В связи с этим становится актуальным изучение состояния митохондрий зрительного нерва, хиазмы и ЛКТ при экспериментальной глаукоме.

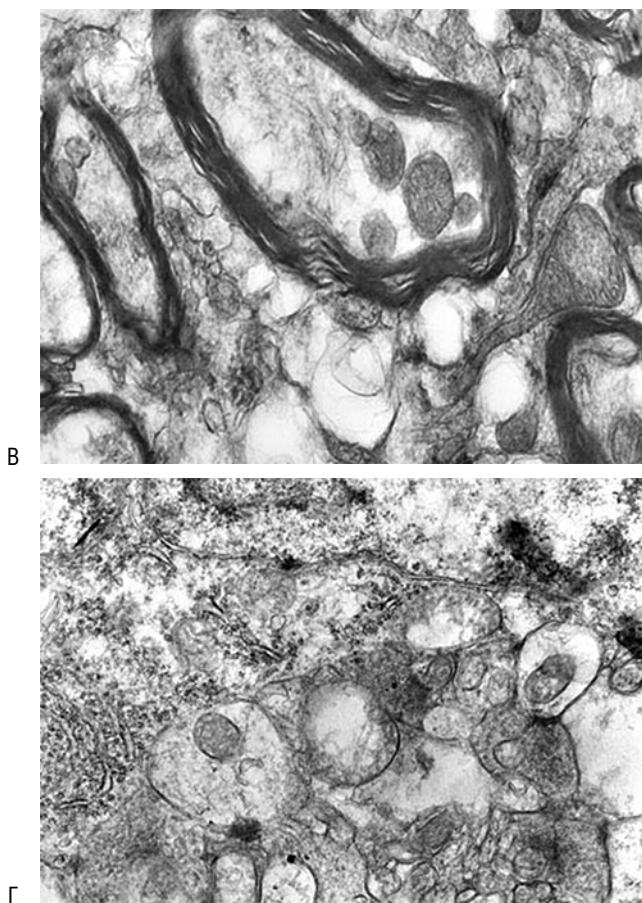
Существует множество рутинных клинических методов для исследования митохондриальной патологии (биохимические, молекулярные, цитохимические, иммунологические). Однако самые объективные результаты наличия изменений в состоянии митохондрий дает электронная микроскопия, поскольку нарушение их структуры приводит к выраженному угнетению их функций. В связи с этим были проведены электронно-микроскопические исследования срезов головного мозга на уровне проводящих путей у кроликов с АИГ, которую воспроизводили по схеме, описанной в предыдущей главе.

При электронной микроскопии срезов контрольной группы животных установлено, что митохондрии клеток зрительного пути имели удлиненную форму, электронно-плотный матрикс и относительно редкие пластинчатые кристы (рис. 3.6).

Иная картина была зарегистрирована при электронной микроскопии волокон зрительного нерва у кроликов с экспериментальной глаукомой. В отличие от срезов контрольной группы, у животных с АИГ наблюдались отчетливые явления нарушения ультраструктуры митохондрий (рис. 3.7).



**Рис. 3.6.** Электронная микроскопия. Митохондрии в поперечных срезах зрительного нерва (А), хиазмы (Б), зрительного тракта (В) и латерального коленчатого тела (Г) в норме у интактных кроликов



**Рис. 3.6. Окончание**

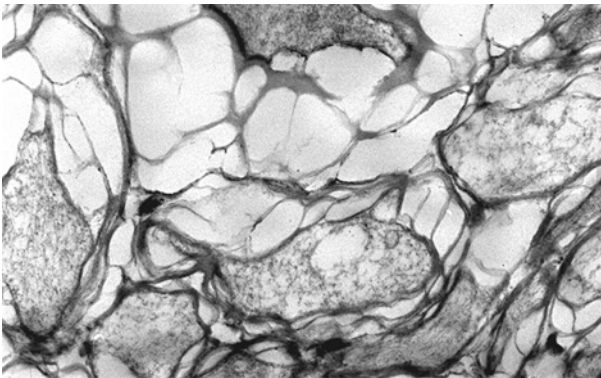
Прежде всего, это выявлялось в увеличении количества митохондрий, разнообразия их величины, формы и внутренней структуры. Некоторые изменения структуры были настолько далеко зашедшими, что такие образования можно с трудом идентифицировать как митохондрии.

При электронной микроскопии клеток хиазмы выявлено, что митохондрии были с явлениями дегенерации и деструкции (рис. 3.8). В клетках зрительного пути наблюдалось резкое просветление матрикса митохондрий (рис. 3.9). Кристы были укорочены, редуцированы, дезинтегрированы, отмечалось уменьшение размеров крист, располо-





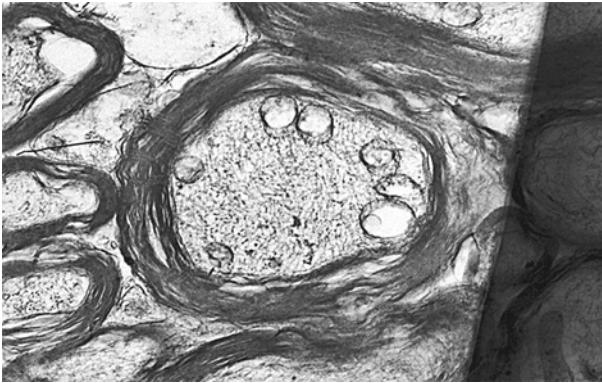
**Рис. 3.7.** Электронная микроскопия. Поперечные срезы аксонов зрительного нерва кроликов при адреналининдуцированной глаукоме: измененная митохондрия с просветленным матриксом, вакуолями и редуцированными кристами, расположенными вблизи мембраны; отслоившаяся миелиновая оболочка



**Рис. 3.8.** Электронная микроскопия. Хиазма кроликов при адреналининдуцированной глаукоме: измененная митохондрия с просветленным матриксом, вакуолями и редуцированными кристами, расположенными вблизи мембраны; отслоившаяся миелиновая оболочка

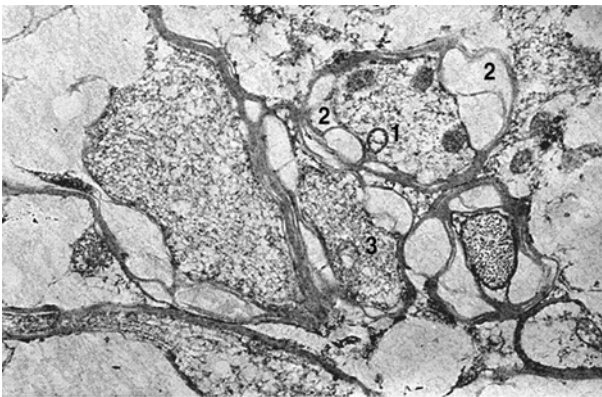
жены они вблизи мембраны. В миелиновой оболочке визуализировалось отслоение разной степени выраженности, местами расслоения. Большинство митохондрий были резко увеличены и просветлены. Выявлялись набухшие органеллы. В них визуализировались вакуоли. Единичные митохондрии были изменены в форме.

При исследовании митохондрий клеток ЛКТ у кроликов с АИГ были выявлены наиболее характерные изменения, обусловленные особен-



**Рис. 3.9.** Электронная микроскопия. Зрительный тракт кроликов при адреналин-индуцированной глаукоме: измененная митохондрия с просветленным матриксом, вакуолями и редуцированными кристами, расположенными вблизи мембраны; расслоившаяся миелиновая оболочка

ностями крист (рис. 3.10). В некоторых случаях отмечалось удлинение самих митохондрий, они становились лентовидными, в других случаях — спиральное закручивание и укорочение крист. Измененной выглядела и структура внутренней мембраны митохондрий — кристы становились из пластинчатых трубчатыми. Все это можно рассматривать как попытку скомпенсировать недостаточную эффективность функции



**Рис. 3.10.** Электронная микроскопия. Структуры латерального коленчатого тела кролика при адреналин-индуцированной глаукоме: 1 — измененная митохондрия с просветленным матриксом, вакуолями и редуцированными кристами, расположенными вблизи мембраны; 2 — расслоившаяся миелиновая оболочка; 3 — деформированное нервное волокно

дыхательной цепочки в митохондриях. Другой распространенной особенностью дефектных структур было наличие в них вакуолей.

Таким образом, при проведении морфологических, в том числе электронно-микроскопических, исследований митохондрий клеток головного мозга при АИГ выявлены выраженные изменения структуры изучаемых органелл, которые могут привести к выраженному угнетению их функций. Митохондриальная дисфункция является одним из основных звеньев патогенеза нейродегенеративных заболеваний. Можно предположить, что нарушение функций митохондрий играет определенную роль в развитии глаукомы посредством прямого участия в ряде окислительных клеточных процессов. Определение роли митохондрий в патогенезе глаукомы может дать новые возможности для ранней диагностики, патогенетического лечения глаукомы, предупреждения развития и прекращения прогрессирования оптической нейропатии при ПОУГ.