

Г.В. Порядин¹, С.А. Обрубов¹, О.А. Богинская², М.И. Пыков³, Г.В. Ставицкая⁴

Морфологические особенности сосудов иридоцилиарной системы после применения биопунктуры антигомотоксическим препаратом

¹ Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

² Федеральное государственное бюджетное учреждение Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева Министерства здравоохранения Российской Федерации, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

³ Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последипломного образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 123836, Москва ул. Баррикадная, 2/1

⁴ Центр охраны зрения «Доктор Оптикус», 119618, Москва, ул. Главмосстроая, 10

Цель: изучить ультраструктурные особенности сосудов иридоцилиарной системы после применения биопунктуры антигомотоксическим препаратом. *Методика:* Экспериментальная работа проводилась на 15 кроликах-самцах «шиншилла» с исходной массой 2,0–2,5 кг возрасте 2 мес. Контрольную группу составили 5 кроликов. Опытная группа состояла из 10 кроликов, которым с целью моделирования близорукости под общим наркозом в левую внутреннюю сонную артерию устанавливался катетер Vasofix Certo 24G. В последующем осуществлялось ежедневное введение 0,5 мл транс-ретиноевой кислоты в течение 6 мес. При проведении дальнейшего экспериментального исследования 10 животных опытной группы были разделены на 2 подгруппы. В первой подгруппе ежедневно проводили внутрикожные инъекции в 3 точках орбитальной области верхних век правого глаза без введения лекарственных средств; во второй подгруппе внутрикожные инъекции в орбитальной области верхних век левого глаза сочетались с введением препарата церебрум-комполитум Н. Проводилась морфологическая оценка структур иридоцилиарной системы. *Результаты и обсуждение:* биопунктура в условиях экспериментальной близорукости повышает уровень метаболических реакций иридоцилиарной системы, в условиях растяжения склеры восполняет адаптационные резервы, как за счет улучшения гемодинамических параметров сосудов ресничной мышцы, так и вероятно за счет восстановления баланса вегетативной иннервации.

Ключевые слова: биопунктура, экспериментальная модель близорукости, гистологический и морфометрический анализ, вегетативная нервная система

G.V. Poradin¹, S.A. Obrubov¹, O.A. Boginskaya², M.I. Pykov³, G.V. Stavitskaya⁴

Ultrastructural features of vascular iridociliary system after biopuncture by antihomotoxic medicine

¹ Russian National Research Medical University, 1, Ostrovitanova str., Moscow, 117997, Russia

² Russian Federal Research Center of Pediatric Oncology, Haematology and Immunology, 1 Samory Mashela str., Moscow, 117997, Russia

³ Russian medical academy of postdegree education, 2/1, Barrikadnaya str., Moscow, 123836, Russia

⁴ Center of vision care «Dr.Opticus», 10, Glavmosstroya str., Moscow, 119618, Russia

Objective: to reveal ultrastructural features of iridociliary vessels after biopuncture with antihomotoxic medicine. *Methods:* Myopia model was created on 10 rabbits by injecting all trans-retinoic acid in catheter Vasofix Certo 24G in left internal carotid artery until we got low myopia. After six months of daily injections all rabbits had myopia from –2,0 to 3,0 D. Animals were separated into two groups: 5 rabbits with daily intradermal injection in three points of upper eye lid without medicine during 10 days and 5 rabbits with daily intradermal injection in three points of upper eye lid with Cerebrum Compositum N during 10 days. Morphology of iridociliary system was explored. *Results:* biopuncture in myopia model increases level of metabolic reactions in iridociliary system, supplies adaptive reserves by the hemodynamic enrichment of ciliary body vessels and balance of autonomic nervous system impulsion.

Key words: biopuncture, myopia model, histologic and morphometric analysis, autonomic nervous system

Одним из возможных путей повышения эффективности лечения прогрессирующей близорукости является использование достижений эмпирической офтальмологии. Необходимость применения оригинальных экспериментальных моделей в настоящее время очевидна. Моделирование близорукости нацелено на воспроизведение клинично-анатомического комплекса симптомов, характеризующих данную болезнь, и преследует несколько задач: возможность раскрытия её этиологии и патогенеза, а также уточнение некоторых сторон лечебного воздействия [9, 14].

Между тем, экспериментальное подтверждение разрабатываемых как хирургических, так и нехирургических методов лечения прогрессирующей близорукости за немногими исключениями проводится на здоровых экспериментальных животных, без моделирования патологического состояния, что весьма затрудняет выявление истинного лечебного эффекта и их объективную сравнительную оценку. Поэтому разработка патогенетически ориентированных нехирургических методов лечения, которые бы сочетали в себе преимущества ранее

известных вмешательств с получением еще большего эффекта в улучшении состояния оболочек и функций миопического глаза, нуждается в сопровождении экспериментальных исследований.

В настоящее время описан ряд подходов к нехирургическому лечению близорукости [7, 8, 10—13]. Одним из направлений интегративного подхода в лечении прогрессирующей близорукости является применение биопунктуры (фармакопунктуры), объединяющей медикаментозное воздействие и иглорефлексотерапию [1, 5]. В ней выделяется по крайней мере несколько ведущих механизмов. С одной стороны, рефлекторная составляющая позволяет рассматривать фармакопунктуру как способ локальной пролонгированной стимуляции точек рефлексотерапии, вследствие чего создается искусственная доминанта, перекрывающая патологическую импульсацию на себя, способствующая разрушению компонентов патологической реакции и созданию условий для нормализации функционирования нервной системы. С другой стороны, необходимо учитывать и терапевтическое действие лекарственных препаратов, введенных в точки акупунктуры. Сила и длительность действия препаратов при таком способе их введения возрастают в несколько раз.

В последние годы опубликован ряд исследований, подтверждающих терапевтический эффект биопунктуры [3, 4]. Необходимым этапом при оценке эффективности данного метода воздействия на ткани глазного яблока при экспериментальной миопии является получение сведений о реакции сосудов иридоцилиарной системы.

Цель исследования — изучение ультраструктурных особенностей сосудов иридоцилиарной системы после применения биопунктуры антигомотоксическим препаратом.

Методика

Экспериментальные исследования проведены на базе Научно-исследовательского института фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований при Российском национальном исследовательском медицинском университете им. Н.И. Пирогова Минздрава России.

Работа проведена на 15 кроликах-самцах «шиншилла» с исходной массой 2,0—2,5 кг, возраст 2 мес. Исследования проведены в соответствии с основными положениями международной резолюции ARVO (Ассоциации по офтальмологии и исследованию зрения). Контрольная группа состояла из 5 кроликов. В опытную группу вошли 10 кроликов, которым с целью моделирования близорукости в левую внутреннюю сонную артерию устанавливался катетер Vasofix Certo 24G (B.Braun, Belgium, Luxemburg) (рис. 1). Операция осуществлялась под общим наркозом: для премедикации вводили 2% раствор ксилосина гидрохлорида (рометар). Через 10—15 мин. внутривенно в краевую вену уха вводили золетил — 50 в



Рис. 1. Катетеризация левой внутренней сонной артерии кролика



Рис. 2. Рентгенограмма кролика, полученная при введении рентгенконтрастного вещества. Контрастируется левая внутренняя сонная артерия

дозе 6,6 мг/кг массы тела. Правильное положение катетера контролировалось проведением рентгенограммы черепа в боковой проекции после введения 0,5 мл рентгенконтрастного вещества Омнипак (Amersham Health, Cork, Ireland) в концентрации 300 мг/мл (рис. 2). В последующем в течение 6 мес. ежедневно вводили 0,5 мл транс-ретиноевой кислоты в концентрации 0,06 мг/мл (Sigma-Aldrich, USA).

Доминирующей клинической рефракцией в контрольных глазах экспериментальных животных на всем сроке наблюдения являлась гиперметропия от +2,5 до +3,5 дптр. Клиническая рефракция опытных глаз животных изменилась от гиперметропии +3,5±0,05 дптр в начале эксперимента до близорукости -2,5±0,26 дптр в конце срока наблюдения.

Животные опытной группы в дальнейшем были разделены на 2 подгруппы. Животным 1-й подгруппы (5 кроликов) ежедневно в течение 10 сут проводили внутрикожные инъекции в 3 точках орбитальной области верхних век левого глаза без введения лекарственных средств; во 2-й группе (5 кроликов) внутрикожные инъекции в орбитальной области верхних век левого глаза сочетались с введением препарата церебрум-композиум Н в количестве 0,1 мл в каждую точку через день в течение 10 сут.

Препарат церебрум-композиум Н (Биологише Хайльмиттель Хеель ГмбХ, Германия) содержит суис-органные компоненты Cerebrum, Embryosuis, Nepar, Placenta, а также составляющие растительного происхождения и минералы. Препарат оказывает иммуностимулирующее, сосудорасширяющее, антиспастическое, гемостатическое, метаболическое действие.

Кроликов выводили из эксперимента под общим наркозом, воздушной эмболией.

Для оценки морфологических изменений со стороны цилиарного тела, его отростков, радужки и склеры глазные яблоки после энуклеации погружали в охлажденный 2,5% раствор глутаральдегида на фосфатном буфере рН 7,2—7,4. Затем кусочки ткани, взятые из области воздействия, фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида на 0,2 М какодилатном буфере, промывали в дистиллированной воде, обезжировали в растворах ацетона восходящей концентрации и высушивали методом перехода через критическую точку. Полутонкие срезы, полученные на ползковом микротоме Richert, толщиной 6—7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятой методике [6]. Гистологические препараты исследовали на световом микроскопе «Фотомикроскоп 3» («Opton», Германия). Фоторегистрацию осуществляли на цифровую камеру в комплекте аппаратно-программного комплекса автоматической морфоденситометрии «Диаморфобъектив» (компания «ДиаМорф»).

Для исследования методом трансмиссионной электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5%

растворе глутаральдегида в течение 4 ч с последующей постфиксацией четырехокисью осмия в течение 1 ч. После этого образцы промывали в дистиллированной воде (2 смены по 30 мин), обезжировали в спиртах и окиси пропилену и заливали в эпон по общепринятой методике. Ультратонкие срезы готовили на специальном приборе ЛКВ, окрашивали уранилацетатом и цитратом свинца по общепринятой схеме и изучали на трансмиссионном электронном микроскопе JEM-100.

Препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, использовали для выявления общих особенностей гистоархитектоники тканей глаза и проведения морфометрических исследований.

Результаты и обсуждение

В результате проведенного гистологического и морфометрического анализа препаратов тканей глаза у животных 1-й группы не выявлено существенных различий по сравнению с контролем, хотя отмечена тенденция к расширению сосудов малого калибра ресничного тела.

Напротив, после внутрикожного введения церебрум-композиум Н у 2-й группы животных морфологические изменения сосудов иридоцилиарной системы были очевидны и проявлялись в выраженном расширении всех сосудов. Состояние экстрацеллюлярного матрикса, особенно в области сосудов, характеризуется как разреженное.

Отмечена реакция на проводимое воздействие и со стороны железистого слоя эпителия цилиарного тела, который менялся от кубического до призматического, выявлено увеличение числа свободных рибосом в цитоплазме клеток, расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети, локальное расширение перинуклеарного пространства, увеличение количества пиноцитозных пузырьков. Полученные в результате световой и электронной микроскопии морфологические данные характеризуют повышение функциональной активности эпителиоцитов железистого эпителия ресничного тела.

Выявленные изменения указывают на усиление кровоснабжения иридоцилиарной системы при воздействии лекарственными средствами и, как следствие, интенсификации белкового синтеза эпителиальными клетками.

Особое значение при анализе ультраструктурных особенностей иридоцилиарной системы после применения локальной биопунктуры век имеет получение сведений о состоянии гематоофтальмического барьера, призванного в нормальных физиологических условиях защищать внутренние ткани глаза от вредных влияний веществ, циркулирующих в крови, и осуществлять обмен тканей глаза с кровью [2].

В результате проведенных морфологических и морфометрических исследований выявлены изменения, которые свидетельствуют о вероятном увеличении фенестрированной поверхности капилляров ресничного тела и его отростков, радужки глаз, что указывает на усиление процес-

сов трансэндотелиального обмена. Полученные данные о состоянии эпителиоцитов в виду отведенной им роли в гематоофтальмическом барьере, указывают на усиление тканевого метаболизма. Однако повышение активности эпителиоцитов и изменения со стороны эндотелиоцитов не сопровождалось признаками функционального перенапряжения, что указывает на вероятное отсутствие возможностей развития патологических изменений при повторном применении биопунктуры век.

Морфофункциональные изменения со стороны эпителиоцитов ресничного тела несомненно оказывают влияние как на степень фильтрации жидкости через трабекулу, так и на состав водянистой влаги. Так, расширение отростков ресничного тела может указывать на увеличение продукции водянистой влаги. Данное предположение подтверждается ультрамикроскопическими изменениями в клетках в виде обнаружения крупных размеров митохондрий, сложной интердигитации складок цитоплазматических мембран клеток, интенсивного развития цистерн зернистой эндоплазматической сети, что характерно для усиления секреторной деятельности ресничного тела.

Таким образом, фармакопунктура с использованием препаратов церебрум-композитум Н усиливает процессы трансэндотелиального обмена в капиллярах ресничного тела, его отростков и радужки глаз. Наиболее выраженная сосудистая реакция в исследованных оболочках глаза регистрируется при введении церебрум-композитум Н и практически отсутствует при внутривековой инъекции без введения каких-либо лекарственных средств.

Полагаем, что биопунктура гомотоксикологическим препаратом в условиях экспериментальной близорукости повышает уровень метаболических реакций иридоцилиарной системы, в условиях растяжения склеры восполняет адаптационные резервы, как за счет улучшения гемодинамических параметров сосудов ресничной мышцы, так и, вероятно, за счет восстановления баланса вегетативной иннервации.

Список литературы

1. *Агасаров Л.Г.* Фармакопунктура (фармакопунктурная рефлексотерапия). — М.: Арнебия, 2002. — С. 207.
2. *Акмаев И.Г.* и др. Руководство по гистологии. — СПб.: СпецЛит, 2001. — С. 495.

3. *Апрелев А.Е.* Клинико-экспериментальное обоснование и разработка метода фармакопунктуры в системе комплексной коррекции близорукости: Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.м.н. — М., 2011. — С. 48.

4. *Галияхметов Р.Ф.* Динамика постожоговой регенерации роговицы при локальном и рефлексогенном воздействии аллогенным диспергированным биоматериалом: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — Екатеринбург, 2010. — С. 22.

5. *Де Беллис Массимо.* Руководство по биологической мезотерапии (гомеомезотерапии). — М.: Арнебия, 2004. — С. 1600.

6. *Лили Р.* Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Пер. с англ. В.В. Португалова. — М.: Мир, 1969. — С. 645.

7. *Обрубов С.А., Чарыева И.Г., Ильенко Л.И.* и др. Фармакопунктура: экспериментальное обоснование применения в офтальмологии // Российская педиатрическая офтальмология. — 2008. — №2. — С. 45—48.

8. *Обрубов С.А., Иванова А.О., Демидова М.Ю.* и др. Импульсное низкочастотное электромагнитное поле с позиций информационно-волновой технологии: от теории к практике в офтальмологии // Российская педиатрическая офтальмология. — 2010. — №1. — С. 52—56.

9. *Обрубов С.А., Ставицкая Г.В., Медведев И.Б., Древалев А.А.* и др. Экспериментальная офтальмология: морфологические основы новых технологий лечения. — М.: Бино, 2011. — С. 160.

10. *Обрубов С.А., Румянцев С.А., Юрова М.Ю.* и др. Влияние импульсного низкочастотного электромагнитного поля на аккомодационный ответ у детей при близорукости на фоне недифференцированной дисплазии соединительной ткани // Российская детская офтальмология. — 2012. — №1—2. — С. 43—48.

11. *Панкова Е.В.* Анализ, моделирование и алгоритмизация лечения детей с миопией методами физиотерапии: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — Воронеж, 2008. — С. 23.

12. *Avetisov E.S., Tarutta E.P., Iomdina E.N., Vinetskaya M.I., Andreyeva L.D.* Nonsurgical and surgical methods of sclera reinforcement in progressive myopia // Acta Ophthalmol. Scand. — 1997. — Vol. 75, №6. — P. 618—623.

13. *Ganesan P., Wildsoet C.* Pharmaceutical intervention for myopia control // Expert Rev. Ophthalmol. — 2010. — Vol. 5, №6. — P. 759—787.

14. *Meyer C., Mueller M.F., Duncker G.I., Meyer H.J.* Experimental animal myopia models are applicable to human juvenile-onset myopia // Surv. Ophthalmol. — 1999. — Vol. 44, №1. — P. 93—102.

Поступила 26.04.13

Сведения об авторах:

Порядин Геннадий Васильевич, д-р мед. наук, проф., член-корр. РАМН, зав. каф. патологической физиологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Обрубов Сергей Анатольевич, д-р мед. наук, проф. каф. офтальмологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Пыков Михаил Иванович, д-р мед. наук, проф., зав. каф. лучевой диагностики детского возраста ГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России

Ставицкая Галина Васильевна, канд. биол. наук, Центр охраны зрения «Доктор Оптикус»