

Морфофункциональная характеристика меланоцитов сосудистой оболочки глаза и их роль в патогенезе глаукомы

С.А. МУСЛИМОВ, Е.А. ВОЛГАРЕВА

«Всероссийский центр глазной и пластической хирургии Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации»

Уфа, Россия

РЕФЕРАТ. Впервые дана подробная морфологическая характеристика меланоцитов сосудистой оболочки глаза и ее производных, на основе которой указанные клетки могут рассматриваться как популяция резидентных макрофагов. Определено, что деструкция меланоцитов сосудистой оболочки глаза является одним из основных факторов в патогенезе глаукомы и влечет за собой развитие дистрофических процессов в тканях глаза. Введение диспергированного аллогенного биоматериала индуцирует восстановление популяции и функциональной активности меланоцитов сосудистой оболочки глаза, что приводит к нивелированию патоморфологических изменений в тканях глаза при экспериментальной глаукоме.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: меланоциты сосудистой оболочки глаза, экспериментальная глаукома.

ВВЕДЕНИЕ

Глаукома как нозологическая форма занимает лидирующее место среди причин слепоты и слабо-видения (Blomdahl S., 1997; Нестеров А.П., 2000; Plange N. et al. 2001). По данным Н. Quigly (1996, 2006) число больных глаукомой в мире составляет около 66 млн. человек. Результаты многоцентровых эпидемиологических исследований, проведенных в последнее десятилетие в разных странах, свидетельствуют о значительном росте заболеваемости глаукомой (Goldberg J., 2000; Resnikoff S., 2004; Либман Е.С. и соавт., 2007). Трудности в лечении

больных и профилактике глаукомы возникают из-за того, что до сих пор остаются неясными многие аспекты патогенеза глаукомы (Золотарева М. М., 1961, Шамшинова А.М. и соавт., 1999; Матвеева Н.Ю. и соавт., 2001; Стоянова Г.С. и соавт., 2002; Комаровских Е.Н., 2003). Несмотря на многочисленные исследования общепризнанным является мультифакториальность заболевания: в настоящее время наиболее изучены механические, сосудистые и метаболические факторы (Нестеров А.П., 1995; Quigley H.A., 1995, Broadway D.C. et al., 1998; Spry PGD et al., 1999; Osborne N.N. et al., 2001; Егоров Е.А., 2002; Нестеров А.П., 2004).

Одной из обсуждаемых причин развития глаукомы является активация процессов свободно-радикального окисления (СРО), в результате которых выделяются и накапливаются активные формы кислорода, оказывающие токсическое действие на клеточные мембраны внутриглазных структур, вызывая в них дистрофические изменения (Филина А.А., 1999; Зиангирова Г.Г. и соавт., 2003). По наблюдениям U. Schlotzer-Scbrebadt (2003) активация процессов СРО при глаукоме способствует повышению активности трансформирующего фактора роста TGF- β и ингибиторов металлопротеиназ, что приводит к чрезмерному синтезу внеклеточного матрикса. Это, как полагает автор, лежит в основе снижения оттока внутриглазной жидкости. Предположения U. Schlotzer-Scbrebadt согласуются с данными Затулиной Н.И. и соавт. (2000), которые указывают на то, что начальным звеном в развитии глаукомы является нарастающая дезорганизация, деструкция соединительной ткани, как переднего, так и заднего отрезков глаза.

О вероятности аутоиммунного характера этих изменений свидетельствуют результаты многочисленных исследований, выявивших в сыворотке крови и в жидкостях глаза больных глаукомой высокий уровень аутоантител к гликозаминогликанам, к структурам угла передней камеры, к денатурированной форме ДНК (Добрица Т.А., 1988; Захарова И.А., Стукалов С.Е., 1991; Краморенко Ю.С., 1992; Wax M., 1994; Dreyer E. et al., 1996; Винецкая М.И., Еричев В.П., 1998, Tezel G., 1999; Курышева Н.И., 2002; Grus F.H. et al., 2004; Joachim S.C. et al., 2005). По данным P. Mc Menamin et al. (1999) в осуществлении иммунного надзора и поддержании гомеостаза в передней камере глаза могут принимать участие стромальные меланоциты хориоидеи, радужки и цилиарного тела.

Кроме того, рядом исследователей отмечено, что при глаукоме обнаруживаются изменения в меланоцитах радужки и цилиарного тела (Краснов М.М. и соавт., 2000). Например, для всех стадий глаукомы была характерна депигментация и атрофия стромы радужки, наблюдалось накопление свободных гранул меланина в дренажной зоне угла передней камеры (Федоров С.Н. и соавт., 1984; Краснов М.М. и соавт., 2000). С другой стороны, установлено, что эффективное лечение глаукомы аналогами простагландина сопровождается гиперпигментацией радужной оболочки (Chung H. et al., 1999; McKibbin M. et al., 1999; Tsai J.C. et al., 2001; Pfeiffer N. et al., 2003; Albert D. M. et al., 2004; Smith-Thomas L. et al., 2004).

Цель работы

Установить роль меланоцитов сосудистой оболочки глаза в патогенезе глаукомы.

Задачи исследования

1. Изучить морфологические особенности меланоцитов сосудистой оболочки глаза человека и кролика в норме.
2. Изучить патоморфологические изменения в сосудистой оболочке глаза человека на разных стадиях глаукомного процесса.
3. Изучить патоморфологические изменения в меланоцитах сосудистой оболочки и ее производных при экспериментальной глаукоме.
4. Изучить динамику морфологических изменений в тканях глазного яблока после введения аллогенного диспергированного биоматериала у животных с экспериментальной глаукомой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для морфологического изучения меланоцитов сосудистой оболочки глаза человека в норме материалом явилось 24 донорских глазных яблок, энуклеированных для забора роговицы от людей в возрасте от 18 до 45 лет.

Для исследования патоморфологических изменений в сосудистой оболочке глаза при глаукоме материалом явились целлоидиновые срезы 50 глазных яблок, энуклеированных от людей умерших по разной причине и при жизни страдавших глаукомой: начальной стадией глаукомы – 20 глаз, развитой стадией – 13, далеко зашедшей стадией – 17. Указанный материал получен из гистологического архива Московского НИИ глазных болезней им. Гельмгольца.

Экспериментальные исследования были проведены на 72 половозрелых серых кроликах обоего пола, массой тела 2,5-3 кг, с соблюдением общепринятых принципов, международных нормативных документов и инструкций МЗ РФ и РАМН по работе с лабораторными животными. Кролики содержались в одинаковых условиях со стандартным рационом питания.

Кортикостероидную глаукому моделировали 54 кроликам. В течение месяца, путем 4-6 кратных еженедельных инъекций в парабутьбарную область раствора дексаметазона в разовой дозе

0,5 мл (Bonomi L. et al., 1978). Достижение вызываемой патологии определяли по стабилизирувавшемуся на высоких значениях офтальмотонусу и выявлению нарушения в продукции и скорости оттока водянистой влаги. Предварительно кроликам в течение недели определяли исходный уровень внутриглазного давления (ВГД) ежедневной электротонографией на тонометре-тонографе ТНЦ-100-С после 3-кратной эпибульбарной анестезии 0,5% раствором дикаина. Затем ВГД измеряли непосредственно перед инъекцией дексаметазона. Спустя 4 недели ВГД у кроликов, в среднем, составляло 28 мм рт. ст.

В опытной группе 30 кроликам под кетаминным наркозом в стерильных условиях в субтеноново пространство вводили 1мл суспензии, содержащей 5 мг аллогенного диспергированного биоматериала на физиологическом растворе. Диспергированный биоматериал (ДБА) представляет собой мелкодисперсный порошок, полученный из аллогенной соединительной ткани, обработанной по технологии Аллоплант®. В верхне-наружном секторе глазного яблока в 10 мм от лимба производился разрез конъюнктивы и теноновой капсулы длиной 1-2 мм. В сформированное отверстие к заднему полюсу глаза вводилась изогнутая по кривизне глазного яблока тупоконечная игла-канюля, через которую с помощью одноразового шприца подавалась суспензия. После чего игла извлекалась из раны, разрез конъюнктивы ушивался одним узловым швом. В контрольной группе (24 кролика) после моделирования патологии 14 кроликам не проводили никаких манипуляций, 10 животным в субтеноново пространство вводили 1 мл физиологического раствора. Кроликов выводили из опыта в сроки 7, 14, 21, 30 и 60 сутки после операции.

Функциональную морфологию стромальных меланоцитов глаза кролика в норме исследовали у 12 животных. Эксперименты по выявлению фагоцитарной способности меланоцитов радужки проводили на 6 интактных кроликах. В стерильных условиях в переднюю камеру глаза после 3-кратной местной анестезии дикаином вводился полистироновый латекс, который используется для определения фагоцитарной способности клеток (Mano T. и Puro D., 1990). С этой целью, инсулиновым шприцем предварительно отбиралось 0,3 мл камерной влаги, затем делалась инъекция 0,3 мл суспензии частиц латекса (диаметр частиц 2,16µ; Sigma, США), разведенной физиологическим раствором до концентрации $9 \cdot 10^6$, стабилизированной

0,2% бычьим сывороточным альбумином. Через 1 час после введения латекса животных выводили из эксперимента.

Для гистологического исследования энуклеированные глаза фиксировали в 10% забуференном формалине по Лилли и после обезжизивания в серии спиртов возрастающей концентрации заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия) и окрашивали гематоксилином и эозином, по методам Ван Гизона и Маллори.

Стандартные цитохимические реакции были выполнены на замороженных срезах радужки, цилиарного тела и собственно сосудистой оболочки (фиксация по Лилли) с последующей частичной депигментацией. Активность кислой фосфатазы определялась методом азосочетания, неспецифических эстераз – чувствительностью к α-нафтилбутиратэстеразе (Sigma, США). Полуколичественная оценка уровня лизосомальных ферментов была выполнена с помощью аппаратно-программного комплекса анализа изображений Axio Imager/Axio Vision (Carl Zeiss, Германия).

Для электронной микроскопии кусочки тканей фиксировали в 2% растворе глутарового альдегида на какодилатном буфере (pH 7,2-7,4), постфиксировали в 1%-ном р-ре четырехокси осмия на том же буфере. Заливали в эпон-812. Предварительно делали полутонкие срезы толщиной 1 мкм, окрашивали их 1% толуидиновым синим на 2,5% растворе безводной соды. Ультратонкие срезы были получены на ультрамикротоме LKB-III 8800 (Швеция), контрастировали 2% водным раствором уранилацетата и цитратом свинца по Рейнольдсу (Уикли Б., 1975), изучали с помощью электронного микроскопа «JEM-100 CX II» (JEOL, Япония) при увеличении от 4000 до 25000.

Исследование рельефа клеточной поверхности проводилось с помощью сканирующей электронной микроскопии. С этой целью, радужку, пленочные препараты собственно сосудистой оболочки, после фиксации забуференным формалином по Лилли и отмывкой водопроводной водой обрабатывали HCL. Затем, препараты отмывали водой и доводили до абсолютного спирта. Склеру с отпечатками клеток сосудистой оболочки готовили аналогичным образом, минуя обработку HCL. После напыления платиной образцы изучали под микроскопом JSM-840 (JEOL, Япония).

Математико-статистическую обработку полученных данных производили при помощи стандартно-

го пакета статистических программ (Реброва О.Ю., 2002; Боровиков В.П., 2003). Были применены описательные статистики (среднее значение, стандартное отклонение, количество случаев), t-критерий оценки различий средних двух независимых выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов проведенного исследования позволяет предположить зависимость между морфофункциональными изменениями в стромальных меланоцитах и патологическими изменениями в сосудистой оболочке глаза при глаукоме. Известно, что при глаукоме наблюдаются дегенеративно-дистрофические изменения во внутриглазных структурах (Пригожина Л.А., 1966; Rohen J.W., Witmer R, 1972; Намазова И.К. и соавт. 1993; Акбеорова С.И., 1994; Nicolela M.T. et al., 1996; Yamazaki S. et al., 1996; Краснов М.М. и соавт., 2000). Однако отсутствуют сведения об участии увеальных меланоцитов в развитии глаукомных поражений. Результаты наших исследований показывают, что деструкция стромальных меланоцитов является одним из основных факторов, обуславливающих дистрофические изменения в сосудистой оболочке глаза и ее производных, а также в зрительном нерве.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что стромальные меланоциты сосудистой оболочки глаза обладают морфо-функциональными свойствами резидентных макрофагов, что согласуется с результатами исследований Р. Мс Menamin et al. (1999). Электронно-микроскопические исследования показали, что на клеточной поверхности стромальных меланоцитов определяются микроворсинки, микропузыри, раффлы и гребневидные выросты, в цитоплазме имеется значительное количество различных везикулярных структур, пиноцитозных везикул, цитоплазматических выростов (рис.1). Выявленные особенности схожи с ультраструктурой макрофагов, описанной многими авторами (Vernon-Roberts B., 1972; Furth van R., Fedorko M.E., 1976; Albrecht R.M. et al., 1978; Юрина Н.А., Радостина А.И., 1978; Meer van der J.W., 1979; Nabarra B. et al., 1979; Pugh-Humphrey R.G.P., Tompson A.W., 1979; Burkhardt., 1980; Lewis D.J. et al., 1980; Шелленс Дж. П. М., 1980; Серов В.В., Шехтер А.Б., 1981).

В эксперименте с введением частиц латекса в переднюю камеру глаза мы обнаружили, что стромальные меланоциты мигрируют к передней поверхности радужной оболочки и активно фагоцитируют введенные частицы. Форма тела меланоцитов, длина отростков и микрорельеф клеточной поверхности при этом несколько видоизменялись. Фагоцитированные частицы латекса обнаруживались при электронной микроскопии (рис.2) и на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином.

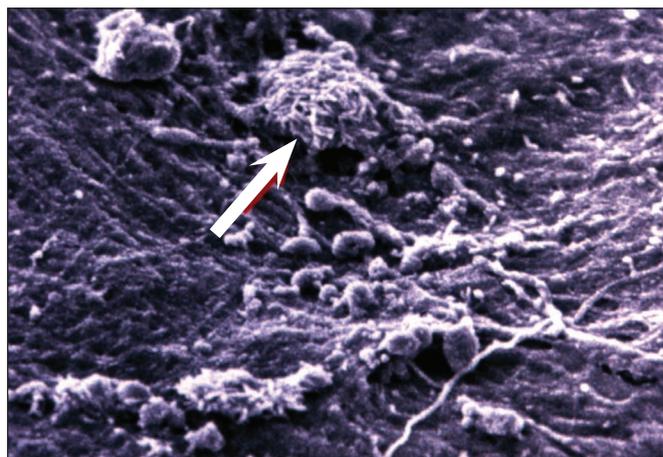


Рис.1. Структура клеточной поверхности меланоцитов собственно сосудистой оболочки глаза кролика. † - меланоцит. Сканирующая электронная микроскопия. Увел. x10000.

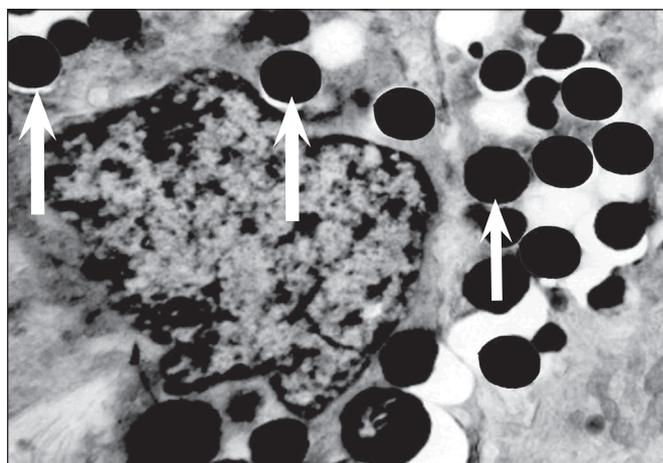


Рис.2. Фагоцитоз частиц латекса (†) меланоцитами. Электронная микроскопия. Увел. x10000.

Цитохимические исследования показали наличие в стромальных меланоцитах кислой фосфатазы и неспецифических эстераз, которые считаются маркерными ферментами макрофагов (Vernon-Roberts B., 1972; Wing E.J., Remington J.S., 1977; Albrecht R.M. et al., 1978; Gorenberg D.J., Daniele R.P., 1978; Leprini A., Cadoni A., 1978; Conolly K.N., Elgert D.K., 1979;

Dannenberг A.M., Suga Jr. M., 1981; McGuire R.L., Babiuk L.A., 1982; Takachashi K. et al., 1983; Ulvestad E. et al., 1994).

Известно, что в глазном яблоке существуют две основные барьерные системы (Chaîne G., 1986; Bacin F., 1988; Кацнельсон Л.А. и соавт., 1990; Вит В.В., 2003). Первый барьер, между кровью и сетчаткой - гемато-ретиальный, к которому относят хориокапилляры сосудистой оболочки, мембрану Бруха и пигментный эпителий сетчатки. Вторым барьером, между кровью и внутриглазной жидкостью, создающийся базальной мембраной пигментного эпителия и межклеточными контактами клеток пигментного эпителия цилиарного тела. В то же время не исключается возможность наличия барьера на уровне хориокапиллярного слоя сосудистой оболочки глаза, сосудов радужки (В.В. Вит, 2003). Обнаруженная нами концентрация меланоцитов вокруг сосудов хориоидеи, радужки и цилиарного тела, а также их миграционная способность позволяет выдвинуть гипотезу об участии меланоцитов в барьерной функции в системе «кровь – камерная влага», а также в регулировании клеточно-стромальных взаимоотношений в сосудистой оболочке и ее производных.

Таким образом, обладая морфо-функциональными свойствами фагоцитов и занимая положение в местах возможного контакта с различными гуморальными факторами и антигенами, стромальные меланоциты, по всей видимости, играют роль резидентных макрофагов глаза, реагируют на любые изменения в составе камерной влаги и интерстициального пространства. Обнаруженное при глаукоме уменьшение количества стромальных меланоцитов в сосудистой оболочке и нарушение их функций как резидентных макрофагов может быть причиной развития дистрофических процессов.

При исследовании сосудистой оболочки глаз кроликов, длительно получавших инъекции дексаметазона, было выявлено резкое уменьшение количества стромальных меланоцитов: они были представлены одиночными клетками или скоплением разрушающихся клеток, утративших взаимосвязь. Вокруг сосудов в радужке меланоциты отсутствовали. В сохранившихся клетках определялись признаки функционального истощения в виде редукции в цитоплазме почти всех органелл и разрушения меланосом. В отдельных клетках выявлялся экзоцитоз зрелых меланосом и гранул меланина. Кислая фосфатаза и неспецифические эстеразы

в цитоплазме меланоцитов цитохимически не выявлялись, либо присутствовали в очень малых количествах. Коллагеновые волокна в отечной строме сосудистой оболочки набухали и гомогенизировались, между ними выявлялись глыбки свободно лежащего пигмента. Строма сосудистой оболочки глаза постепенно замещалась грубоволокнистой соединительной тканью.

Патоморфологические изменения были выявлены во всех оболочках глазного яблока. В расширенных сосудах эписклеры определялся стаз элементов крови. Определялось серозное пропитывание роговицы и внутреннего слоя склеры с некоторой дезорганизацией собственного вещества и пучков коллагеновых волокон, что выражалось в пикринофилии тканей.

Кровеносные сосуды конъюнктивы, склеры, радужки, цилиарного тела, хориоидеи, сетчатки и зрительного нерва были сильно расширены и полнокровны. В зрительном нерве наблюдался отек, диффузный распад нервных волокон и утолщение соединительнотканых прослоек. Отмечались очаговые разрушения пигментного эпителия сетчатки. В ряде случаев встречалась серозная отслойка сетчатки.

Электронномикроскопически в сосудистой оболочке глаз были выявлены признаки нарушения проницаемости сосудов. У части сосудов клеточная поверхность эндотелиоцитов была с многочисленными выростами и инвагинациями, свидетельствующими об усилении компенсаторных реакций. В эндотелии других сосудов отмечалось резкое уменьшение количества пиноцитозных пузырьков, редуцировались органоиды, цитоплазма становилась оптически плотной. В отдельных сосудах базальная мембрана лизировалась, местами исчезала совсем. У других - набухала и сильно утолщалась, к периферии от мембраны выявлялись грубоволокнистые элементы, что свидетельствовало о периваскулярном склерозе.

Развитие дистрофических процессов при глаукоме может происходить именно вследствие уменьшения популяции и функциональной активности стромальных меланоцитов (резидентных макрофагов), нарушения их регуляторного влияния на дифференциацию и функциональную активность других клеточных популяций, нарушению фагоцитоза крупнодисперсных белков, выходящих из сосудистого русла в строму сосудистой оболочки и в жидкость передней камеры глаза.

По данным Н.И. Курышевой и соавт. (1998), уже в начальных стадиях глаукомы гематоофтальмический барьер нарушается и во влаге передней камеры находится больше белка, чем при катаракте. Н.А. Пучковская и соавт. (1983) отмечают, что в норме под влиянием физиологических факторов белки, включая иммуноглобулины, в незначительном количестве проникают сквозь гематоофтальмический барьер. Исследования, проведенные Bill A. (1968), показали, что интерстициальная жидкость, заполняющая пространство между хориокапиллярами, характеризуется относительно высоким содержанием белка (Bill A., 1968). Вероятно, функционально полноценные стромальные меланоциты способны контролировать белковый состав влаги передней камеры и стромы сосудистой оболочки. Деструкция же стромальных меланоцитов приводит к нарушению фагоцитоза крупнодисперсных белков. Фагоцитоз представляет собой особый процесс поглощения клеткой крупных макромолекулярных комплексов или корпускулярных структур, сущность которого составляет полное биохимическое расщепление до мелких метаболитов содержимого фагосомы (Хаитов Р.М., 2000). При электронномикроскопическом исследовании нами выявлено перенасыщение меланоцитов при глаукоме продуктами фагоцитоза; обнаруживались также функционально истощенные меланоциты, которые посредством экзоцитоза выделяли частично переработанный материал в строму, где он и накапливался.

Таким образом, выявленные нами при моделировании глаукомы гибель и функциональная несостоятельность стромальных меланоцитов, позволяют предположить, что в данном случае страдает первичное звено иммунитета – резидентные макрофаги сосудистой оболочки, выполняющие в данном случае роль антигенпрезентирующих клеток.

С другой стороны, весомым аргументом в пользу предположения о макрофагальной активности стромальных меланоцитов в тканях глаза является сама модель кортикостероидной глаукомы (Bonomi L. et al., 1978). Известно, что глюкокортикоиды относятся к наиболее сильным естественным модуляторам иммунного ответа, которые оказывают выраженное влияние на большинство его стадий и компонентов (Ройт А. и соавт., 2000). Помимо прямого гормонального действия на миграцию и функции иммунных клеток, стероиды существенно влияют на синтез цитокинов. Как показали исследования, проведенные *in vitro*, стероиды в физиологических и фарма-

кологических концентрациях ингибируют синтез цитокинов ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 и ИЛ-10, ФНО α и ИФ γ . Это может быть обусловлено различными механизмами, основными следствиями которых являются угнетение активации Т-клеток, а также подавление активности клеток моноцитарно-макрофагальной системы (Ройт А. и соавт., 2000). Установлено, что глюкокортикоиды ингибируют процесс дифференцировки моноцитов в макрофаги, подавляют хемотаксис, угнетают секрецию лизосомальных ферментов, а также блокируют часть мембранных рецепторов (Алмазов В.А. и соавт., 1979, Л. Иегер, 1986). По всей видимости, эти механизмы являются причиной снижения функциональной активности и деструкции меланоцитов сосудистой оболочки при экспериментальной кортикостероидной глаукоме.

Установлено, что глюкокортикоиды оказывают влияние на уровень ВГД и гидродинамику глаза (Нестеров А.П., 2000). Особенно показательны результаты кортикостероидного теста, который заключается в инстилляциях сильных синтетических кортикостероидов (дексаметазон, бетаметазон) в течение 4-6 нед. У больных ПОУГ реакции ВГД на кортикостероидный тест часто бывает повышенной. Механизм действия глюкокортикоидов на ВГД заключается в прогрессирующем ухудшении оттока водянистой влаги из передней камеры глаза. Причины такого ухудшения не установлены.

При анализе энуклеированных глаз людей, при жизни страдавших глаукомой и глаз животных с кортикостероидной глаукомой нами обнаружены склеротические изменения во всех отделах сосудистой оболочки, утолщение соединительнотканного прослоек в зрительном нерве. Данные литературы свидетельствуют о том, что при глаукоме выражены расстройства, связанные с нарушением баланса между синтезом новых коллагеновых волокон, составляющих решетчатую мембрану склеры, и потерей старых, иными словами – основного фактора в формировании глаукомной экскавации диска зрительного нерва (Курышева Н.И., 2000). Полагают, что главной причиной этого явления, получившего название “патологического ремоделирования в решетчатой мембране склеры”, является избыточный синтез матричных металлопротеиназ (Pena J., 2001).

Существенную роль в патологических изменениях соединительной ткани оболочек глаза при глаукоме играет трансформирующий фактор роста TGF β -1 (Stokely M., 2002, Prassanna G., 2005). Как

известно, TGF β -1 способствует локальной иммунодепрессии в ткани (Nathan C., 1991; Okulov V.B., Voytenkov B.O., Ushmorov A.G., 1992; Bogdan C., Nathan C., 1993) и является стимулятором пролиферации фибробластов, синтеза коллагена и развития фиброза (Rodemann H.P. et al., 1996; Bissel D.M., 1998; Fuchshofer R. et al., 2005).

По данным многочисленных исследований, прогрессирование глаукомной оптической нейропатии характеризуется нарастанием в слезной жидкости концентрации патогенных факторов при снижении уровня защитных механизмов (M. Carwright, 1992, Tripathy R., 1994, 1999, Алексеев В.Н. с соавт. 2000). А.Ю. Аникиной (2006) выявлено двукратное увеличение концентрации в слезе TGF- β 1 по мере перехода заболевания в продвинутые стадии. Выявлено участие TGF- β 1 в избыточном рубцевании тканей глаза после антиглаукомных операций (Образцова Е.Н., 1996; Ловпаче Д.Н., 1999; Курышева Н.И., 2000, 2005).

Известно, что поддержание баланса взаимоотношений в системе «клетки – строма» осуществляется тканевыми макрофагами. Для реализации этой функции зрелый макрофаг обладает набором мембранных рецепторов, фагоцитарной способностью и может секретировать большой спектр ферментов и цитокинов (Маянский Д.Н., 1981; Ройт А. и соавт., 2000). При патологии именно функциональная активность макрофагов во многом определяет течение процесса и его исход: дефицит мононуклеарных фагоцитов и их ферментативная несостоятельность способствуют хронизации воспаления с развитием склеротических изменений (Муслимов С.А., 2000; Лебедева А.И., 2004; Мусина Л.А., 2007).

Вероятно меланоциты организма в целом, независимо от конкретной локализации, выполняют одну и ту же универсальную защитную функцию: регулируя стромально-клеточные взаимоотношения обеспечивают гомеостаз.

Установлено, что эффективным способом восстановления функциональной активности резидентных макрофагов и коррекции дегенеративно-дистрофических изменений является введение аллогенных биоматериалов (Muldashev E.R. et al., 1999, Муслимов С.А., 2000). Доказано, что восстановление популяции и функциональной активности резидентных макрофагов осуществляется за счет концентрации моноцитов в очаге введения и их полноценной дифференцировки (Муслимов С.А., 2000; Muldashev E.R. et al., 2005, Мусина Л.А., 2007).

Результаты наших исследований продемонстрировали стимулирующее действие ДБА и на меланоциты сосудистой оболочки, которое мы обнаруживаем в виде миграции меланоцитов к передней поверхности радужки, изменению микрорельефа клеточной поверхности, усилению ферментативной активности.

После ретросклерального введения ДБА кроликам с глаукомой на 7 сутки в строму радужки глаза со стороны цилиарного тела интенсивно мигрировали меланоциты. Электронно-микроскопически наряду со зрелыми меланоцитами обнаруживалось значительное количество юных меланоцитов, в цитоплазме которых выявлялось большое количество меланосом различной степени зрелости. Меланоциты выстраивались на передней поверхности радужки сплошным слоем, их отростки свободно выступали в пространство передней камеры глаза (рис.3).



Рис.3. Концентрация меланоцитов (?!) на передней поверхности радужки на 7 сутки после ретросклерального введения ДБА. С - сосуд. Окраска гематоксилином и эозином. Увел.х600.

Таким образом, обе поверхности радужки (передняя и задняя) оказывались покрытыми слоем пигментных клеток: со стороны задней камеры – пигментным эпителием, а со стороны передней камеры – стромальными меланоцитами.

Цитохимически в цитоплазме меланоцитов значительно повышалась активность кислой фосфатазы (рис 4).

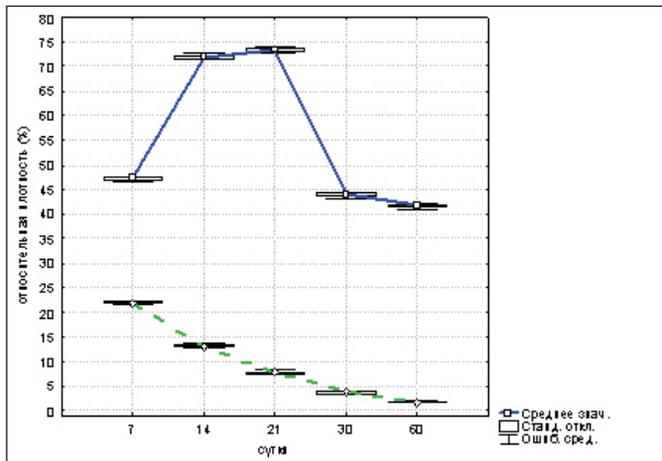


Рис. 4. Динамика активности кислой фосфатазы в цитоплазме меланоцитов радужки при глаукоме (---) и после введения ДБА (—).

Как видно из диаграммы, динамические изменения происходили в обеих группах, при этом активность кислой фосфатазы в цитоплазме меланоцитов радужки при введении ДБА значительно и достоверно больше.

Активированные стромальные меланоциты приобретали характерный микрорельеф клеточной поверхности. Клетки становились более округлыми, их отростки укорачивались.

На 14 сутки после введения ДБА меланоциты вновь начали концентрироваться вокруг кровеносных сосудов хориоидеи, радужки и цилиарного тела. Цитохимически кислая фосфатаза выявлялась на довольно высоком уровне активности. Электронномикроскопически стромальные меланоциты обнаруживались в виде очень крупных многоотростчатых клеток с крупными овальными темными ядрами, с большим количеством различных органелл в цитоплазме: удлинённые темные митохондрии разных размеров, короткие цепочки ГЭР пластинчатый комплекс Гольджи, отдельные рибосомы и полисомы, тонкие микрофиламенты в отростках клеток. Увеличение количества зрелых меланосом в их цитоплазме свидетельствовало о повышении их функциональной активности.

К 21 суткам стромальные меланоциты радужки имели признаки структурно полноценных, функционально активных клеток. В их цитоплазме выявлялись многочисленные меланосомы разной степени зрелости, хорошо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум, митохондрии, мелкие лизосомы. Активность лизосомальных ферментов в цитоплазме меланоцитов, по-прежнему, была на высоком уровне. На полутонких срезах радужки хорошо заметно, что стромальные меланоциты

часто располагаются в непосредственной близости с фибробластами. С помощью электронной микроскопии между меланоцитами и зрелыми фибробластами выявлялись щелевидные клеточные контакты – нексусы. По цитоплазме фибробластов, содержащей большое количество удлинённых каналов ГЭР, можно было свидетельствовать об их выраженной функциональной деятельности.

На 30 сутки структура стромальных меланоцитов радужки глаза кроликов приближалась к таковой интактных животных. Цитоплазма меланоцитов характеризовалась увеличением количества органелл, выполняющих функции транспорта веществ: микротрубочек и микровезикул, они обнаруживались и в псевдоподиях, и в перинуклеарной зоне. Уровень активности ферментов продолжал нормализоваться. Гистологическое и ультраструктурное состояния стромальных меланоцитов приближались к таковому интактных животных.

На 60 сутки происходило восстановление популяции и функциональной активности стромальных меланоцитов в сосудистой оболочке и ее производных. Ферментативная активность стромальных меланоцитов постепенно снижалась и возвращалась к норме.

Через 7 суток после ретросклерального введения ДБА выявлялась слабая отечность внутриглазных оболочек. Определялось некоторое расширение сосудов микроциркуляторного русла, их полнокровие, стаз форменных элементов крови в просветах сосудов в области введения пломбы.

В цитоплазме эндотелиоцитов выявлялись ультраструктурные изменения, характеризующиеся увеличением количества органелл, выполняющих функции транспорта веществ - количество микропиноцитозных пузырьков и микроцитоплазматических выростов в просвет сосуда. В цитоплазме эндотелиоцитов увеличивалось количество канальцев гранулярного эндоплазматического ретикулума. В наибольшей степени вышеуказанные изменения проявлялись в эндотелии хориокапилляров.

На 14 сутки признаки отека оболочек глаза уменьшались, хотя застойные явления в микроциркуляторном русле еще наблюдались. Признаков дезорганизации собственного вещества роговицы и склеры более не выявлялось. По-видимому, это может указывать на усиление оттока внутриглазной жидкости через склеру и роговицу. Отек волокон зрительного нерва, в сравнении с глазами кроликов с нелеченной глаукомой, значительно снижался.

Слабо выраженные застойные явления в микроциркуляторном русле еще наблюдались, но агрегации эритроцитов не обнаруживалось. В эндотелиоцитах сосудов электронномикроскопически обнаруживались признаки функциональной активности. Различные цитоплазматические выросты и инвагинации, многочисленные пузырьки и везикулы демонстрировали усиление трансэндотелиального транспорта.

К 21 суткам послеоперационного периода отмечалось восстановление целостности лакун УПК за счет возникновения новых перегородок. Глыбки свободного пигмента в УПК не выявлялись. Кровеносные сосуды с активно функционирующими эндотелиоцитами имели нормальное строение. Хорошо просматривалась структура стромальных коллагеновых волокон: тонкие, четко очерченные с хорошо выраженной поперечной исчерченностью.

В дальнейшем (60-90 сутки) структура всех оболочек глаз экспериментальных кроликов были без особых изменений.

Морфологическое восстановление внутриглазных структур у животных с экспериментальной кортикостероидной глаукомой в результате ее коррекции субсклеральным введением ДБА сопровождалось стабилизацией ВГД (рис. 5).

На ультраструктурном уровне мы также наблюдали признаки активации фагоцитарной деятельности – увеличение количества зрелых меланосом и других мембранных структур.

При введении частиц латекса непосредственно в среду передней камеры глаза стромальные меланоциты также мигрировали к передней поверхности радужной оболочки и активно фагоцитировали

введенные частицы, обнаруживаемые впоследствии с помощью электронной микроскопии. В зависимости от природы фактора, вызывающего миграцию, морфология меланоцитов была различна.

Изменения формы клеточного тела и микрорельефа клеточной поверхности меланоцитов, подтверждали точку зрения, что в случае большого расходования плазмолеммы при очень активном эндоцитозе, клетка принимает округлую форму, как наиболее экономичную с точки зрения площади поверхности (Маянский Д.Н., 1981). Затем клетка вновь нарабатывает поверхность и ее рецепторы, приобретает неправильную форму и становится вновь способной к движению и фагоцитозу (Werb Z., Cohn Z. A., 1972; Munthe-Kaas A. C., Kaplan G., 1972; Маянский А.Н., Маянский Д.Н., 1983). А при поглощении макрофагами инертного материала теряется подвижность, ослабляется как фагоцитоз, так и секреторная функция (Маянский Д.Н., 1981; Davies P. et al, 1982).

Ретросклеральное введение ДБА, как уже описано выше, приводило к восстановлению функциональной активности стромальных меланоцитов и их популяции в целом. В результате их деятельности склеротические изменения в строме сосудистой оболочки претерпевали обратное развитие, улучшалась микровакуляризация за счет новообразованных сосудов.

Таким образом, нарушение регулирующих функций стромальных меланоцитов (резидентных макрофагов) в поддержании гомеостаза тканей глаза и деструкция меланоцитов, может являться одним из ключевых звеньев в патогенезе глаукомы, приводящим к развитию дистрофических процессов. Аллогенный биоматериал индуцирует восстановление популяции и функциональной активности стромальных меланоцитов, что приводит к нивелированию патоморфологических изменений при экспериментальной глаукоме.

ВЫВОДЫ

Стромальные меланоциты сосудистой оболочки глаза и ее производных обладают морфофункциональными свойствами резидентных макрофагов.

Нарушение регулирующих функций стромальных меланоцитов вследствие их деструкции приводит к развитию дистрофических процессов в тканях глаза и способствует развитию глаукомы.

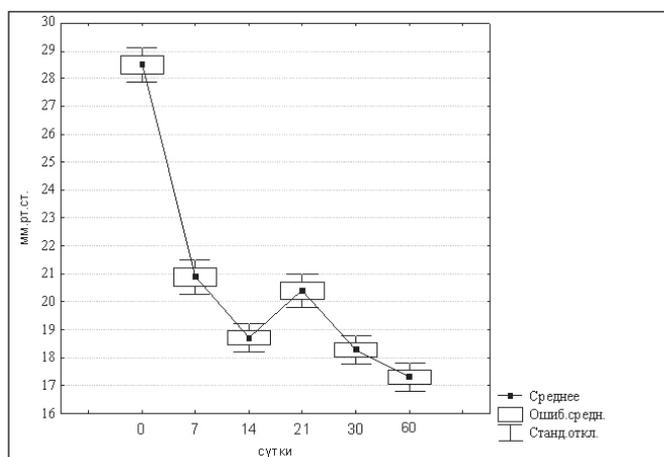


Рис. 5. Динамические изменения внутриглазного давления у животных с моделированной глаукомой после введения ДБА.

При экспериментальной кортикостероидной глаукоме происходит функциональная блокада и разрушение меланоцитов сосудистой оболочки и ее производных.

Ретросклеральное введение аллогенного диспергированного биоматериала стимулирует функциональную активность и восстановление популяции меланоцитов сосудистой оболочки глаза.

Восстановление активности меланоцитов сосудистой оболочки глаза приводит к нормализации структуры соединительнотканной стромы сосудистой оболочки, радужки и цилиарного тела.

Ретросклеральное введение диспергированного биоматериала Аллоплант может быть использовано как метод лечения начальных форм первичной открытоугольной глаукомы.

При патоморфологическом исследовании энуклеированных глазных яблок следует обращать внимание на дистрофические изменения в сосудистой оболочке глаза и её производных, а также состояние популяции меланоцитов как дополнительных критериев оценки тяжести офтальмопатологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Влияние аллогенного биоматериала на меланоциты радужки при глаукоме / Волгарева Е.А., Муслимов С.А., Корнилаева Г.Г., Князева Г.Н. // Морфология. - 2006. -Т.129. - № 4. – С.34
2. Ультраструктура макрофагов, выявляемых при имплантации аллогенного биоматериала Аллоплант / Мусина Л. А., Муслимов С. А., Лебедева А. И., Волгарева Е. А. // Морфология. – Т. 129. - №1. – 2006. – С.53-56.
3. Функциональная морфология меланоцитов сосудистой оболочки глаза при экспериментальной глаукоме и ее коррекции аллогенным биоматериалом / Волгарева Е.А., Муслимов С.А., Мусина Л.А., Лебедева А.И., Корнилаева Г.Г. // Морфологические ведомости. – 2007. - № 3-4. – С.91-93.
4. Роль меланоцитов сосудистой оболочки глаза в патогенезе глаукомы / Волгарева Е.А., Муслимов С.А., Мусина Л.А., Корнилаева Г.Г. // Вестник Оренбургского государственного университета. - №78 – декабрь 2007. – с. 55-57.
5. Морфофункциональные изменения в оболочках глазного яблока при кортикостероидной глаукоме / Г.Г. Корнилаева, Э.В. Галимова, Е.А. Волгарева, М.П. Корнилаева, Е.Ю. Полякова // Матер. IV Росс.науч.конф. «Роль природных факторов и туризма в формировании здоровья населения», Уфа, 10-13 июля 2006.- С.21-22.
6. Экспериментально-морфологическое обоснование применения диспергированного биоматериала Аллоплант при глаукоме / Волгарева Е.А., Муслимов С.А., Мусина Л.А., Галимова В.У, Корнилаева Г.Г., Корнилаева М.П.//Материалы науч.-практич.конф. «Новые технологии в офтальмологии». – Казань, 2008. – С.15-16.