

УДК 617.741-004.1-053.9

Особенности биоаминного профиля хрусталика в условиях формирования разных видов возрастной катаракты у человека

Н. В. Корсакова, В. Е. Сергеева¹*Чебоксарский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза»**им. акад. С. Н. Федорова Росмедтехнологии», кафедра госпитальной хирургии**ФГОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова», Чебоксары;**¹Кафедра медицинской биологии ФГОУ ВПО «Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова», Чебоксары*

▼ РЕФЕРАТ

Цель

Изучение и проведение сравнительного анализа биоаминного профиля хрусталика в норме и при различных видах возрастной катаракты у человека.

Материалы и методы

Исследование проведено на 20 хрусталиках лиц мужского пола в период с декабря 2004 г. по август 2006 г. Методами люминесцентной микроскопии и спектрофлуориметрии криостатных срезов человеческих хрусталиков, полученных в ходе планового хирургического лечения (экстракапсулярная экстракция) возрастной катаракты пациентов в возрасте 60-70 лет, проведен сравнительный анализ биоаминного профиля хрусталика в норме и при различных видах возрастной катаракты. Контролем служили хрусталики молодых мужчин, погибших в результате несчастного случая и являвшихся донорами роговицы.

Результаты

При проведении сравнительного анализа биоаминного профиля хрусталика обнаружена важная закономерность. Формирование корковой и ядерной катаракты, что свидетельствует о необходимости выработки дифференцированного подхода к изучению патоген-

трации гистамина и серотонина в области коры и ядра хрусталика. Уровень выявляемых катехоламинов повышен умеренно. При рассмотрении биоаминного профиля возрастной ядерной катаракты выявлено значительное увеличение уровня серотонина и умеренное повышение концентрации катехоламинов преимущественно в области ядра хрусталика. При этом уровень гистамина практически неотличим от показателей нормы.

Выводы

Данное исследование впервые продемонстрировало значительную пластичность характеристик биоаминного профиля хрусталика при формировании различных видов его возрастного помутнения. Обнаруженные закономерности позволяют предположить, что воздействие на хрусталик человека такого причинного фактора, как возраст, может быть реализовано через совершенно разные патогенетические механизмы, приводящие в дальнейшем к формированию того или иного вида возрастной катаракты. Таким образом, выявлены принципиальные отличия в биоаминной обеспеченности процессов формирования возрастной корковой и ядерной катаракты, что свидетельствует о необходимости выработки дифференцированного подхода к изучению патоген-

нетических механизмов, мер профилактики и терапии возрастной катаракты человека в зависимости от ее конкретного вида. ■

Гуморальная система оказывает существенное влияние на регуляцию функционирования клеток хрусталика. В частности, показано, что как избыток, так и недостаток некоторых гормонов, например, глюкокортикоидов сопровождается помутнением хрусталика — болезнью Иценко–Кушинга, болезнью Симмондса [1]. Важное значение гуморальной системы в регуляции различных характеристик клеток хрусталика подтверждается еще и тем, что эти клетки экспрессируют большое количество рецепторов, например, к глюкокортикоидам [7], гистамину [4].

Одним из наименее изученных аспектов гуморальной регуляции функционирования хрусталика является обеспеченность его биогенными аминами. Изучение их возможной роли особенно актуально, если учесть уже описанную роль гистамина в регуляции транспорта ионов кальция через клеточные мембраны, избыток которого в клетках хрусталика, как известно, способен инициировать развитие одной из форм катаракты [8].

Биогенные амины, являясь универсальными гормонами-медиаторами нервной, эндокринной и иммунной

систем, участвуют в огромном количестве регуляторных процессов в организме, при этом их участие в регуляции различных структурно-функциональных характеристик хрусталика практически не исследовано. Несмотря на значительное количество работ, посвященных изучению патогенеза и терапии катаракты, морфологические аспекты ее возникновения, и возможная роль гуморальных нарушений в развитии этого заболевания остаются малоизученными.

Цель исследования — изучить и провести сравнительный анализ биоаминного профиля хрусталика в норме и при различных видах возрастной катаракты у человека.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Наблюдения проведены на 20 пациентах мужского пола в период с декабря 2004 г. по август 2006 г. Материал для исследования катарактально измененных хрусталиков получен в ходе планового хирургического лечения (экстракапсулярная экстракция) возрастной катаракты пациентов в возрасте 60–70 лет. Контролем послужили 5 хрусталиков трупов молодых мужчин 20–30 лет, полученных при энуклеации глазных яблок в течение 12 ч с момента гибели в результате несчастного случая. Энуклеация проведена с целью плановой пересадки донорской роговицы. Исследуемый материал распределен на три группы: 1-я группа (группа контроля) — 5 интактных хрусталиков; 2-я группа — 10 хрусталиков, пораженных возрастной корковой катарактой; 3-я группа — 10 хрусталиков, пораженных возрастной ядерной катарактой.

Криостатные и парафиновые сагиттальные срезы хрусталика толщиной 15 мкм обработаны следующими методами: 1) общегистологическая окраска гематоксилин-эозином; 2) для избирательного выявления катехоламинов и серотонина применен люминесцентно-гистохимический метод Фалька–Хилларпа [6]; 3) люминесцентно-гистохимический метод выявления гистамина по Кроссу [5]; 4) методом спектрофлуориметрии [2] в корковом и ядерном отделах хрусталика определен уровень биоаминов на микроскопе «ЛЮМАМ-4» с помощью

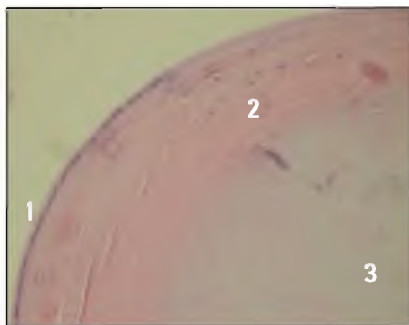


Рис. 1. Микроскопическое строение интактного хрусталика. Окраска гематоксилин-эозином. Ув.: об. 20, ок. 15. Биолом 70. Гомаль 1,7. 1 — эпителий капсулы хрусталика; 2 — кора хрусталика; 3 — ядро хрусталика

спектрофлуориметрической насадки ФМЭЛ-1А в 10 полях зрения с помощью объектива 40, окуляра 15; 5) статистическая обработка материала проведена с помощью персональной ЭВМ Pentium-200 MMX с использованием стандартного пакета программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Интактный хрусталик гистологически состоит из капсулы, ее эпителия и волокон [3]. Внутреннюю поверхность передней капсулы хрусталика покрывают эпителиальные клетки, так называемый эпителий хрусталика (рис. 1). В области экватора покрытие хрусталика эпителиальными клетками заканчивается. У экватора эпителиальные клетки хрусталика подвергаются митотическому делению (герминативная зона) и приобретают вытянутую форму, превращаясь в молодые хрусталиковые клетки-волокна, которые формируют кору хрусталика. Клетки-волокна также как клетки эпителия хрусталика обладают ядром и большей частью обычных цитоплазматических органелл. При трансформации клеток-волокон в волокна хрусталика их ядерный хроматин и ядрышки исчезают. В ходе дальнейшей дифференциации происходит постепенная утрата цитомембран, в результате чего формируется компактное, плотное ядро хрусталика, не имеющее клеточного строения.

Световая микроскопия и общегистологическая окраска гематоксилин-эозином криостатных срезов катарактально измененных хрусталиков об-

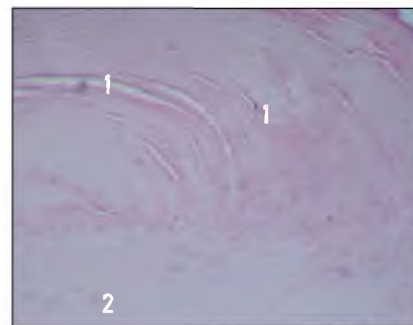


Рис. 2. Возрастная корковая катаракта. Окраска гематоксилин-эозином. Ув.: об. 40, ок. 15. Биолом 70. Гомаль 1,7. 1 — кора хрусталика с признаками гидратации (диссоциация клеток-волокон, клиновидные пространства, заполненные детритом и вакуолями); 2 — ядро хрусталика, сдавленное оводненными корковыми массами

наруживает достаточно четкие морфологические отличия разных видов возрастной катаракты. При корковом варианте возрастной катаракты видны: отчетливая гидратация коркового отдела хрусталика, диссоциация хрусталиковых клеток-волокон, клиновидные пространства, заполненные детритом и вакуолями, кроме того, на границе коркового и ядерного отделов сформирована зона интенсивной вакуолизации (рис. 2). Ядро хрусталика сдавлено оводненными корковыми массами. При формировании ядерной возрастной катаракты общегистологическая окраска срезов гематоксилин-эозином выявляет в области ядра хрусталика скопление однородного, гомогенного материала, что приводит к увеличению его в объеме и сдавливанию неизмененного коркового слоя (рис. 3).



Рис. 3. Возрастная ядерная катаракта. Окраска гематоксилин-эозином. Ув.: об. 40, ок. 15. Биолом 70. Гомаль 1,7. 1 — кора хрусталика; 2 — увеличенное в объеме однородное ядро хрусталика

При люминесцентной микроскопии срезов интактных хрусталиков, обработанных парами ортофталевого альдегида по методу Кросса [5], хорошо визуализируется ядро хрусталика, люминесценция его выражена интенсивно, имеет изумрудно-зеленый цвет и длительное время не угасает. Свечение ядра интактного хрусталика определено по фоновому свечению его центральных отделов, значение которого по данным спектрофлуориметрии в среднем составляет $0,0665 \pm 0,0029$ mv (рис. 4). Свечение в данной области можно охарактеризовать как самое интенсивное и яркое на срезе. В области коры интактного хрусталика люминесценция менее выражена, также имеет изумрудно-зеленый цвет, но угасает значительно быстрее. Люминесценция коры интактного хрусталика определена по фоновому свечению цитоплазмы волокон хрусталика, формирующих его кору, и составляет в среднем $0,0511 \pm 0,0024$ mv. Клеточные мембраны волокон хрусталика не выявляются.

При возрастной корковой катаракте уровень гистамина подвержен значительным изменениям. По данным спектрофлуориметрии, концентрация гистамина в области коры хрусталика возрастает на 67%,

что составляет в среднем $0,0853 \pm 0,0029$ mv. Интенсивность люминесценции коркового и ядерного отделов значительно усиливается, приобретает желто-зеленый оттенок, и длительное время не угасает. Цитомембраны также не выявляются. Свечение в области ядра хрусталика, по-прежнему, остается самым интенсивным, ярким на срезе ($0,0919 \pm 0,0028$ mv) и на 38% превышает уровень гистамина в ядре интактного хрусталика.

Иная тенденция просматривается в условиях формирования возрастной ядерной катаракты. Люминесценция срезов хрусталика выражена умеренно, имеет изумрудно-зеленый цвет, визуальную интенсивность свечения коркового и ядерного отделов хрусталика практически одинакова. Так, в области коры хрусталика концентрация гистамина практически неотличима от показателей нормы $0,0512 \pm 0,0042$ mv, уровень гистамина увеличился лишь на 0,2%. В области ядра хрусталика обнаружено некоторое (на 3%) уменьшение уровня гистамина, который составил $0,0646 \pm 0,0034$ mv.

Люминесценция интактного хрусталика, окрашенного по методу Фалька-Хилларпа [6] с целью избирательного изучения в нем уровней ка-

техоламинов и серотонина, выражена умеренно, имеет изумрудно-зеленый цвет. Визуально интенсивность люминесценции ядра хрусталика в некоторой степени преобладает над свечением в области его коры. По данным спектрофлуориметрии (рис. 4), уровень катехоламинов в корковом и ядерном отделах интактного хрусталика практически одинаков ($0,0094 \pm 0,0005$ mv и $0,0096 \pm 0,0004$ mv соответственно). Выявлено, что концентрация серотонина в области ядра хрусталика ($0,0215 \pm 0,0019$ mv) преобладает над его уровнем в области коры ($0,0163 \pm 0,0006$ mv).

При формировании возрастной корковой катаракты обнаружено существенное повышение уровня серотонина как в корковом отделе хрусталика (в 2,2 раза), так и в ядерном (в 2,4 раза), а также незначительный прирост концентрации катехоламинов в области коры хрусталика на 6%, в области ядра хрусталика — на 24%.

Развитие ядерного варианта возрастной катаракты сопровождается резким (в 3,6 раза) повышением концентрации серотонина в области ядра хрусталика, уровень серотонина в корковом отделе также значительно повышается (в 3,3 раза). Изменение уровня катехоламинов более выражено. Показано, что концентрация катехоламинов в области ядра хрусталика повышается в большей степени (на 48%), чем в области его коры (на 23%).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Кальциевые каналы клеточных мембран хрусталика имеют большое значение для поддержания его нормального метаболизма. Доказано, что эпителий и волокна интактного хрусталика имеют очень низкую кальциевую проницаемость, однако даже незначительное превышение нормального уровня кальция в клетках хрусталика инициирует повышение содержания в них кальциймобилизующих агонистов (гистамин, АТФ, карбахол, сера), которые поддерживают работу кальциевых каналов [9]. По мнению М. R. Williams с соавт. (2001), внутриклеточно в хрусталике хранятся агонисты (гистамин,

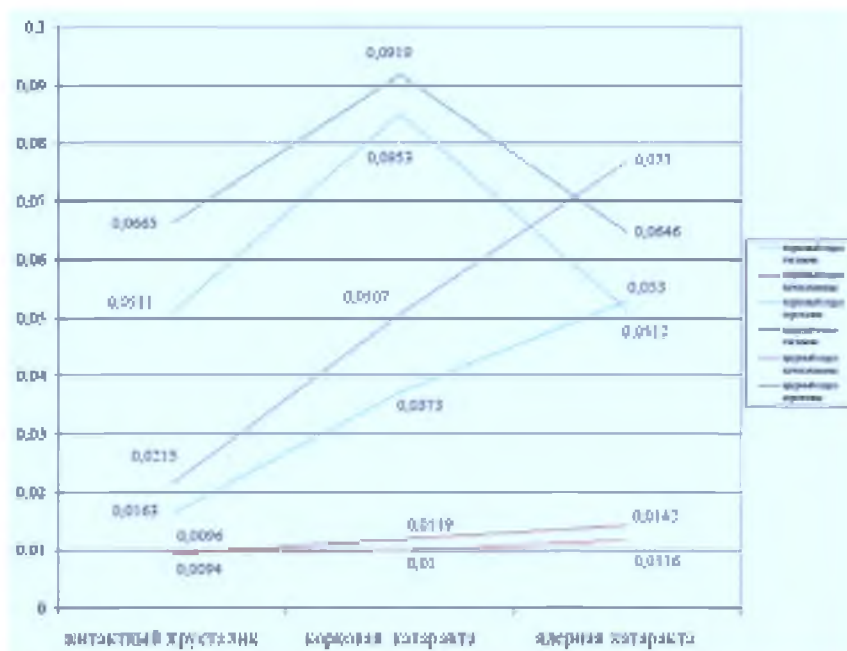


Рис. 4. Изменение концентрации биоаминов (гистамина, серотонина, катехоламинов) в интактном хрусталике и при разных видах возрастной катаракты у человека

АТФ, карбахол, сера) и антагонисты кальциевого входа. Их система обеспечивает сигнальный механизм для предупреждения кальциевой перегрузки хрусталика. Обнаруженный в ходе настоящего исследования факт значительного повышения уровня гистамина при формировании возрастной корковой катаракты позволяет предположить, что сбой в работе указанного сигнального механизма имеет первостепенное значение для формирования именно коркового вида катаракты. Это предположение подтверждается предложенной экспериментальной моделью корковой катаракты путем инкубации интактного хрусталика в кальцийнасыщенной среде [8].

При проведении сравнительного анализа биоаминного профиля хрусталика обнаруживается интересная закономерность (рис. 4). При формировании коркового варианта возрастной катаракты происходит синхронное, значительное повышение концентрации гистамина и серотонина в области коры и ядра хрусталика. Уровень выявляемых катехоламинов от показателей нормы существенно не отличим. При рассмотрении биоаминного профиля возрастной ядерной катаракты выявлено значительное увеличение уровня серотонина и умеренное повышение концентрации катехоламинов преимущественно в области ядра. При этом значения гистамина совпадают с показателями интактного хрусталика.

ВЫВОДЫ

По нашему мнению, представленные результаты исследования впервые продемонстрировали значительную пластичность и принципиальные отличия характеристик биоаминного профиля хрусталика при формировании различных вариантов его возрастного помутнения. Обнаруженные закономерности позволяют предположить, что воздействие на хрусталик человека такого причинного фактора, как возраст, может быть реализовано через совершенно разные патогенетические механизмы, приводящие в дальнейшем к формированию того или иного вида возрастной катаракты. Таким образом, проведенным исследованием выявлены принципиальные отличия в биоаминной обеспеченности процессов формирования возрастной корковой и ядерной катаракты, что свидетельствует о необходимости выработки дифференцированного подхода к изучению патогенетических механизмов, мер профилактики и терапии возрастной катаракты человека в зависимости от ее конкретного вида.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калинин А. П., Можеренков В. П., Прокофьева Г. Л. Глаза — визитная карточка эндокринных заболеваний. —

ДРУГИЕ РАЗДЕЛЫ ОФТАЛЬМОЛОГИИ

М.: Изд-во «Медицинская газета», 1995. — 61 с.

2. Карнауков В. Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. — М.: Наука, 1978. — 208 с.

3. Хэм А., Кормак Д. Гистология: Фундаментальная монография в пяти томах / Пер. с англ. — М.: Мир, 1983. — Т. 5. — 294 с.

4. Collison D. J., Duncan G. Regional differences in functional receptor distribution and calcium mobilization in the intact human lens // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2001. — Vol. 42. — No. 10. — P. 2355-2363.

5. Cross S. A., Even S. W., Rost F. W. A study of methods available for cyto-chemical localization of histamine by fluorescence induced with opthaldehyde or acetaldehyde // Histochem. J. — 1971. — Vol. 3. — No. 6. — P. 471-476.

6. Falk B. Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method // Acta Physiol. Scand. — 1962. — Vol. 56. — P. 197-201.

7. Gupta V., Wagner B. J. Expression of the functional glucocorticoid receptor in mouse and human lens epithelial cells // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2003. — Vol. 44. — No. 5. — P. 2041-2046.

8. Lorand L., Conrad S. M., Velasco P. T. Formation of a 55 000-weight cross-linked beta crystallin dimer in the Ca²⁺-treated lens. A model for cataract // Biochemistry. — 1985. — Vol. 24. — No. 6. — P. 1525-1531.

9. Williams M. R., Riach R. A., Collison D. J., Duncan G. Role of the endoplasmic reticulum in shaping calcium dynamics in human lens cells // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2001. — Vol. 42. — No. 5. — P. 1009-1017.

Поступила 12.12.06