

УДК 611.841.3

Ульянова Н.А.<sup>1</sup>, Думброва Н.Е.<sup>2</sup>, Молчанюк Н.И.<sup>2</sup>  
Одеський національний медичинський університет<sup>1</sup>, ННІ глазних захворювань і лазерної терапії ім. В.П. Філатова<sup>2</sup>, г. Одеса

## ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДЕПРИВАЦИОННОЙ МИОПИИ

В работе исследовано влияние хронического стресса на изменения морфофункциональных свойств оболочек глазного яблока при моделировании депривационной миопии у крыс. Хронический стресс изменяет течение экспериментальной депривационной миопии. В условиях хронического стресса увеличение передне-заднего размера глаза статистически достоверно выше, чем при моделировании миопии без стресса, более выражены морфофункциональные нарушения в сетчатке и склере. На фоне хронического стресса при моделировании миопии повреждаются не только нейроны и их отростки, но и глиальные клетки сетчатки, более выражена дезорганизация коллагеновых волокон склеры и дисрегуляторные нарушения фибробластов, чем в случае воспроизведения миопии без хронического стресса.

**Ключевые слова:** миопия, хронический стресс, склера, сетчатка.

*Робота являється фрагментом НІР «Вдосконалення технологій хірургічного та медикаментозного лікування найбільш поширених захворювань ока, що призводять до стійкого зниження зору (катаракта, кератит, дистрофія сітківки, травми органу зору)» (номер державної реєстрації 0108U010380).*

Миопия является серьезной медико-социальной проблемой, которая значительно ухудшает качество жизни больных, снижает работоспособность, влияет на личность и психоэмоциональное состояние пациентов [7, 8]. Особое значение данная аномалия рефракции приобретает в условиях повышенных зрительных нагрузок, в том числе на фоне информационного стресса, характерного для современных условий жизнедеятельности человека [2, 6]. Депривационная модель миопии основана на феномене стимуляции роста глазного яблока при отсутствии фокуса на сетчатке и нарушении передачи нервного импульса от сетчатки к центральным отделам зрительного анализатора [9]. В свою очередь это приводит к нарушению нервно-гуморальной регуляции роста глазного яблока. Хронический стресс, в данной ситуации, патогенетически может усугублять нарушения нейрогуморальной регуляции метаболизма склеры и сетчатки, что будет способствовать замыканию патологического круга и прогрессированию миопии. Однако, данных о влиянии хронического стресса на течение депривационной миопии обнаружено не было.

**Целью** работы было исследовать влияние хронического стресса на изменения морфофункциональных свойств оболочек глазного яблока при моделировании депривационной миопии у крыс.

**Материал и методы исследования.** Экспериментальные исследования проведены на 15 крысах линии Вистар содержащихся в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники Одесского национального медицинского университета. Все экспериментальные исследования проведены с соблюдением принципов биоэтики, изложенных в Хельсинской декларации и Законе Украины «О защите животных от жестокого отношения» (№ 1759-VI от 15.12.2009) и учетом рекомендаций Мишалова В.Д. и соавторов (2007) относительно проведения научных морфологических исследований [5].

У животных, по достижению возраста 14 дней, моделировали депривационную миопию, путем блефарорафии одного из глаз [4]. Через 14 дней после блефарорафии, животных выводили из эксперимента. Возраст животных на момент выведения из эксперимента составил 30 дней. Через сутки после блефарорафии моделировали хронический эмоционально-болевым стресс [4].

Измеряли сагиттальный, горизонтальный и вертикальный размер глазного яблока электромеханическим микрометром с точностью 0,02 мм.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани склеры фиксировались в 2,5 % растворе глутаральдегида на фосфатном буфере при значении pH - 7,4 с последующей дофиксацией 1 % раствором осмиевой кислоты при том же pH буферного раствора. Затем образцы обезвоживались в спиртах восходящей крепости. Пропитывание материала и его заключение производилось в смеси эпон-аралдит. Затем ультратонкие срезы контрастировались по методике Reynolds [10]. Просматривались и фотографировались срезы в электронном микроскопе ПЭМ-100-01. Изучалась ультраструктура склеры у зрительного нерва и в области экватора, ультраструктура сетчатки в области экватора и в перипапиллярной зоне. Ультраструктурные исследования проведены в группе электронной микроскопии лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии НИИ

глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова под руководством профессора Н.Е. Думбровой.

Оценку достоверности отличий исследуемых показателей проводили с использованием дисперсионного анализа. В случае если нулевая гипотеза отвергалась для дальнейшего анализа использовали критерий Ньюмена-Кейлса [3].

**Результаты исследования и их обсуждение.** В результате проведенных исследований выявлено, что при воспроизведении депривационной модели миопии у крыс отмечается увеличение всех определяемых размеров глаза. При этом, в большей степени увеличивается сагиттальный размер. Моделирование миопии на фоне хронического стресса сопровождалось статистически достоверно большим увеличением сагиттального размера глазного яблока (табл. 1).

Таблица 1

**Изменения размеров глазного яблока при экспериментальной миопии ( $M \pm m$ ,  $n=5$ , мм)**

| Группа животных                   | Размер глазного яблока      |                          |                          |
|-----------------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                   | Сагиттальный                | Горизонтальный           | Вертикальный             |
| Интактные                         | 4,84±0,08                   | 4,97±0,04                | 4,94±0,05                |
| Модель миопии                     | 5,18±0,06 * <sup>1</sup>    | 5,30±0,03 * <sup>1</sup> | 5,28±0,05 * <sup>1</sup> |
| Модель миопии, хронический стресс | 5,41±0,07 * <sup>1, 2</sup> | 5,28±0,03 * <sup>1</sup> | 5,26±0,05 * <sup>1</sup> |

Примечания: \*<sup>1</sup> –  $p < 0,05$  по сравнению с интактными 30-дневными животными; \*<sup>2</sup> –  $p < 0,05$  по сравнению моделью миопии без стресса.

В слое пигментного эпителия сетчатки заднего отдела глазного яблока, в том числе перипапиллярной области выявлена разной степени выраженности патология клеток, от деструкции органелл до почти полного разрушения или грубой вакуолизации цитоплазмы. Определяется разрушение базальной складчатости и апикальной области клеток (рис. 1).



Рис. 1. Ультраструктура пигментного эпителия сетчатки 30-дневной крысы. Моделирование депривационной миопии и хронического стресса, 14-е сутки после блефарорафии. Деструкция цитоплазматических структур клетки. Условные обозначения: ПЭС - пигментный эпителий сетчатки, ГЭС - гладкая эндоплазматическая сеть, М - митохондрии, БС - базальные складки, АМ - апикальные микровиллы. Электронограмма.  $\times 4000$ .

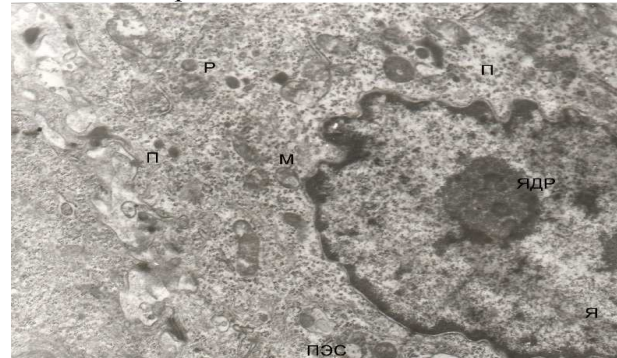


Рис. 2. Ультраструктура пигментного эпителия сетчатки 30-дневной крысы. Моделирование депривационной миопии и хронического стресса, 14-е сутки после блефарорафии. Признаки активации белоксинтезирующей системы в клетках: увеличенное содержание свободных рибосом и полисом в цитоплазме, фистончатость ядерной мембраны, крупное ядрышко. ПЭС - пигментный эпителий сетчатки, Я - ядро, Ядр - ядрышко, М - митохондрии, Р - свободные рибосомы, П - полисомы. Электронограмма.  $\times 8000$ .

В этих клетках также наблюдается деформация ядер, маргинация или уплотнение хроматина; присутствует 1-2 ядрышка. Поскольку клетки пигментного эпителия сетчатки обладают выраженными свойствами к восстановлению, по-видимому, в данном материале идут параллельно деструктивные и компенсаторно-восстановительные процессы. (рис. 2).

В фоторецепторном слое сетчатки наблюдается отрыв наружных от внутренних сегментов у части фоторецепторных клеток, диссоциация центральных отделов дисков наружных сегментов. Во внутренних сегментах уменьшено количество митохондрий (рис. 3).

Отростки глиальных клеток в области ядер фоторецепторного слоя отечны, резко просветлены. В области ядер фоторецепторных клеток экстраклеточный отек. Биполярные клетки с просветленной цитоплазмой. В целом ядра внутреннего ядерного слоя более сохранены, чем наружного ядерного слоя. Часть аксонов нервных клеток отечна, цитоплазма просветлена, в них заметно реже встречаются органеллы. Глия и ганглиозные клетки также по структуре отличаются от нормы. Отростки Мюллеровских клеток у внутренней пограничной мембраны просветлены, содержат вакуолизованные органеллы (рис. 4). В склере заднего отдела глазного яблока встречаются участки с дезорганизацией коллагеновых пучков. Местами наблюдается скопление осмиофильной рыхлой ткани, иногда в виде глыбок, по-видимому, из деградирующих соединительнотканых фибрилл.

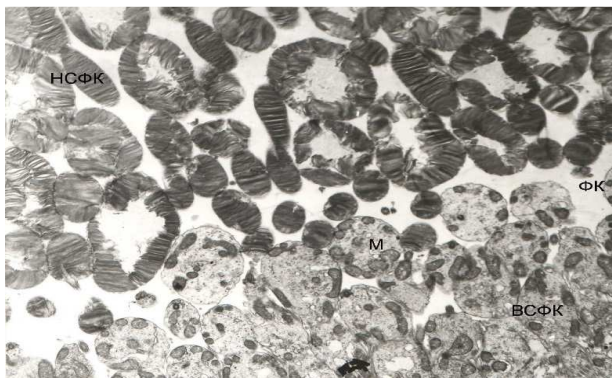


Рис 3. Ультраструктура фоторецепторных клеток сетчатки 30-дневной крысы. Моделирование депривационной миопии и хронического стресса, 14-е сутки. Диссоциация дисков наружных сегментов и уменьшение количества митохондрий во внутренних сегментах. ФК – фоторецепторные клетки, НСФК – наружные сегменты фоторецепторных клеток, ВСФК – внутренние сегменты, М – митохондрии. Электронограмма.  $\times 3000$ .

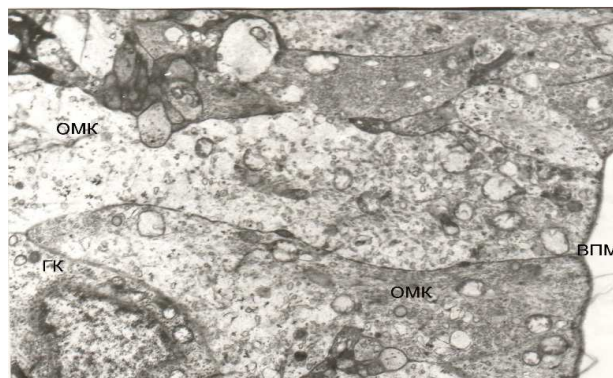


Рис 4. Ультраструктура ганглиозного слоя сетчатки 30-дневной крысы. Моделирование депривационной миопии и хронического стресса, 14-е сутки после блефарорафии. Цитоплазма ганглиозной клетки и отростков мюллеровской клетки с вакуолизацией у внутренней пограничной мембраны. Условные обозначения: ГК – ганглиозная клетка, ОМК – отросток мюллеровской клетки, ВПМ – внутренняя пограничная мембрана. Электронограмма.  $\times 4000$ .

Основная масса ткани более организована, состоит из пучков коллагеновых фибрилл одинакового диаметра. Фибробласты склеры отличаются от интактных увеличением элементов зернистой эндоплазматической сети, свободных рибосом и полисом в цитоплазме, ядра клеток крупные с извилистой наружной мембраной и маргинальным гиперхроматозом. У наружной мембраны фибробластов встречаются тонкие пучки вновь образованных протофибрилл (рис. 5). Такое состояние фибробластов свидетельствует об активной выработке коллагена.

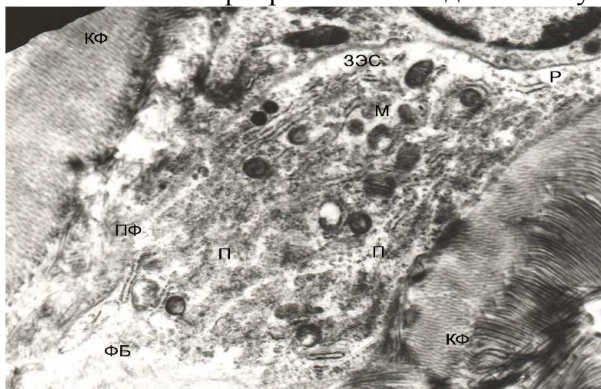


Рис 5. Ультраструктура склеры 30-дневной крысы. Моделирование депривационной миопии и хронического стресса, 14-е сутки после блефарорафии. Признаки активации белоксинтезирующей системы в цитоплазме фибробласта: увеличение элементов зернистой эндоплазматической сети, свободных рибосом, полисом и других органелл. У наружной мембраны клетки небольшое скопление предшественников коллагена – протофибрилл. В окружающих клетку пучках, коллагеновые фибриллы рыхлые, неоднородной осмиофильности. Условные обозначения: ФБ – фибробласт, ЗЭС – зернистая эндоплазматическая сеть, Р – свободные рибосомы, П – полисомы, ПФ – протофибриллы, КФ – коллагеновые фибриллы. Электронограмма.  $\times 8000$ .

При моделировании депривационной миопии без хронического стресса в склере заднего полюса глазного яблока наблюдали нарушения архитектоники и структуры коллагеновых фибрилл, однако при сохраненной их исчерченности; дегенеративные и деструктивные изменения фибробластов, отёк склеры. На 14-е сутки эксперимента лишь единичные клетки содержат в себе элементы активации белоксинтезирующей системы. При моделировании миопии на фоне хронического стресса наблюдали более выраженный отек и деструкцию коллагеновых фибрилл. Однако, при этом, наряду с деструктивно измененными, наблюдали большее количество и функционально активных фибробластов.

Моделируемый у животных эмоционально-болевой стресс может быть рассмотрен, как аналог психологического, в частности информационного стресса у человека. Информационный стресс – одна из форм психогенного стресса, возникающего в условиях неблагоприятного сочетания факторов информационной триады, а именно: определенного объема информации, который необходимо



обработат для прийняття рішення; фактора времени, отведенного для обработки информации и принятия решения; высокого уровня мотивации [6]. Развитие синдрома психологического (информационного) стресса в существенной мере определяется также состоянием процессов внутриклеточной саморегуляции элементов центральной нервной системы. Они в конечном итоге обуславливают обеспечение адекватного поведения организма в стресс-ситуации. В противном случае происходит «прорыв» системы психологической адаптации индивида к информационному стресс-воздействию [1]. Моделирование депривационной формы миопии подразумевает прекращение поступление нервного импульса от рецепторов сетчатки к центральным отделам зрительного анализатора. При этом фактически устраняется самая главная сущность сигнала – его информационное значение [1]. Таким образом, моделирование депривационной миопии в условиях хронического стресса создает дополнительные условия для нарушения нейрогуморальной регуляции метаболизма склеры и прогрессирования заболевания, что мы и наблюдали в эксперименте.

#### Заключення

Хронический стресс изменяет течение экспериментальной депривационной миопии. В условиях хронического стресса увеличение передне-заднего размера глаза статистически достоверно выше, чем при моделировании миопии без стресса, более выражены морфофункциональные нарушения в сетчатке и склере. На фоне хронического стресса при моделировании миопии повреждаются не только нейроны и их отростки, но и глиальные клетки сетчатки, более выражена дезорганизация коллагеновых волокон склеры и дисрегуляторные нарушения фибробластов, чем в случае воспроизведения миопии без хронического стресса.

*Перспективы дальнейших разработок. Исследовать особенности нейрогуморальной регуляции метаболизма склеры при экспериментальной депривационной миопии у крыс, моделируемой на фоне хронического стресса.*

#### Список литературы

1. Бодров В.А. Информационный стресс / В.А. Бодров. – М.: ПЕРСЭ, 2000. – 352 с.
2. Ватченко А.А. Качество жизни старшеклассников с нарушениями зрительных функций / А.А. Ватченко, Н.И. Домашенко // Офтальмологический журнал. – 2008. – № 1. – С. 23–26.
3. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Гланц С. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
4. Доклинические исследования лекарственных средств (методические рекомендации) / Под.ред. О.В. Стефанова. – К.: Авицена, 2001. – 528 с.
5. Мішалов В.Д. Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових досліджень / В.Д. Мішалов, Ю.Б. Чайковський, І.В. Твердохліб // Морфологія. – 2007 – Том 1, № 2. – С. 108–115.
6. Хананашвили М.М. Проблема переходного состояния от нормы к патологии в учении о высшей нервной деятельности / М.М. Хананашвили // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 2. – С. 2-6.
7. Cassagne M. Pathophysiology of myopia: nature versus nurture / M. Cassagne, F. Malecaze, V. Soler // J. Fr. Ophthalmol. – 2014. – Vol. 37, № 5. – P. 407-414.
8. Morgan I.G. Myopia / I.G. Morgan, K. Ohno-Matsui, S.M. Saw // Lancet. – 2012. – Vol. 379, № 9827. – P. 1739–1748.
9. Myopia: animal models to clinical trials / Beuerman R.W., Saw S.M., Tan D.T. – Singapore: World Scientific, 2010. – 390 p.
10. Reynoldes E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy / E.S. Reynoldes // J. Cell Biol. – 1963. – Vol. 17. – P. 208-212.

#### Реферати

##### ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ НА ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ДЕПРИВАЦІЙНОЇ МІОПІЇ

Ульянова Н.А., Думброва Н.С., Молчанюк Н.І.

У роботі досліджено вплив хронічного стресу на зміни морфофункціональних властивостей оболонки очного яблука при моделюванні деприваційної міопії у шурів. Хронічний стрес змінює перебіг експериментальної деприваційної міопії. В умовах хронічного стресу збільшення передньо-заднього розміру ока статистично вірогідно вище, ніж при моделюванні міопії без стресу, більш виражені морфофункціональні порушення в сітківці і склері. На тлі хронічного стресу при моделюванні міопії пошкоджуються не тільки нейрони і їх відростки, а й гліальні клітини, більш виражені дезорганізація колагенових волокон склери і дисрегуляторні порушення фібробластів, ніж у випадку відтворення міопії без хронічного стресу.

**Ключові слова:** міопія, хронічний стрес, склера, сітківка.

##### INFLUENCE OF CHRONIC STRESS ON FORM-DEPRIVATION MYOPIA

Ulyanova N.A., Dumbrova N.E., Molchanyuk N.I.

To investigate changes in the linear dimensions of eyeball, the morphological features of sclera and retina in rats with form-deprivation myopia and rats with form-deprivation myopia and chronic stress. Chronic stress alters the outcomes of experimental form-deprivation myopia. The increasing axial sizes of eye was significantly higher in state of chronic stress than in the myopia model without the stress. Morphological and functional abnormalities in the retina and the sclera were more pronounced also. In experimental myopia in state of chronic stress not only damaged neurons and their processes, but also glial cells of the retina. Collagen fibers disorganization in sclera, fibroblasts function disorders pronounced more than in form-deprivation myopia without stress.

**Key words:** myopia, chronic stress, sclera, retina.

Стаття надійшла 29.05.2014 р.

Рецензент Безкорвайна І.М.