

УДК 617.753.4–092.9:617.713–073+617.7–073.178

Моделирование депривационной миопии в эксперименте

И. Н. Михейцева, д-р биол. наук; Абдулхадид Мохаммад, А. А. Путиенко, д-р мед. наук;
А. Г. Ковальчук, канд. мед. наук; С. Г. Коломийчук, науч. сотр.; Т. И. Сироштаненко, мл. науч. сотр.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им.

В.П. Филатова НАМН Украины»;
Одесса (Украина)

E-mail: filatovbiochem@ukr.net

Актуальность. Миопия, которая ведет к снижению зрительных функций, является одной из самых актуальных проблем патологии органа зрения. В связи с распространенностью этого заболевания и неизученностью ряда вопросов его патогенеза, важна разработка моделей осевой миопии на животных, клиническая картина которых максимально приближена к человеку и позволяет изучать как патогенез близорукости, так и методы ее лечения. Поэтому **цель** работы состояла в исследовании параметров органа зрения при моделировании депривационной миопии у крыс в различных условиях освещения.

Материал и методы. Первая группа – интактные животные (10 животных). У животных второй группы депривационную миопию вызывали путем блефарорафии обоих глаз (15 животных). В третьей группе (15 животных) крысы также подвергались блефарорафии, но в отличие от второй группы, на протяжении 14 дней содержались в условиях сниженного освещения. Животные I и II групп содержались этот же период в условиях природного освещения. По истечении данного срока с век снимали швы. Во всех группах после снятия швов с век были проведены тонометрия с помощью аппланационного тонометра Маклакова (плунжер весом 2 грамма с диаметром площадки 4 мм) и измерение толщины роговицы (пахиметр «Handy Pachymetr SP-100»). Через две недели после снятия швов с век всех животных выводили из эксперимента под наркозом и энуклеировали глазные яблоки. Объективным показателем развития миопии служил переднезадний размер глазных яблок (ПЗР), который измеряли с помощью ультразвукового исследования (in vivo) на приборе «Cinescan» фирмы Quantel Medical, и цифрового (Торех) штангенциркуля с точностью 0,02 мм (post mortem). Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 5.5.

Результаты. Полученные данные об изменении параметров органа зрения при моделировании депривационной миопии у крыс раннего возраста в различных условиях освещения, а именно уровня офтальмотонуса, толщины роговицы, переднезаднего размера оси глазного яблока, свидетельствуют о более быстром прогрессировании заболевания при сниженном освещении. В этой группе животных изменения всех изученных показателей глазного яблока, имеющих причастность к процессу миопизации, были достоверно более выраженными (ВГД выше на 15,0%, ПЗР больше на 5,0 %) в сравнении с животными, у которых депривационную миопию вызывали в условиях природного освещения.

Выводы. Депривационную модель миопии у крыс двухнедельного возраста, которую вызывали путем блефарорафии в период интенсивного роста глазного яблока при сниженном освещении, можно рекомендовать для исследования структурно-функциональных особенностей прогрессирующей миопии и разработки патогенетически ориентированных способов лечения этого заболевания.

Ключевые слова:

депривационная миопия, ультразвуковое исследование, тонометрия, пахиметрия, крысы, эксперимент

Актуальность. Миопия, которая ведет к снижению зрительных функций, является одной из самых актуальных проблем в патологии органа зрения. Социальная значимость близорукости важна тем, что это заболевание может развиваться у детей дошкольного и подросткового возраста и при высокой скорости прогрессирования приводит к ограничению выбора специализации и к инвалидизации [1–3].

В связи с распространенностью этого заболевания и неизученностью ряда вопросов его патогенеза, важна разработка моделей осевой миопии на животных, клиническая картина которых максимально приближена к человеку. Исследование на моделях позволит изучать как патогенез близорукости, так и методы ее

© Михейцева И.Н., Абдулхадид Мохаммад, Путиенко А.А.,
Ковальчук А.Г., Коломийчук С.Г., Сироштаненко Т.И., 2018

лечения. В настоящее время разработаны модели миопии разной степени сложности, воспроизводимые на животных раннего возраста [4–6].

Существует модель прогрессирования миопии у крыс с помощью трансплантации фибробластов в склере [7]. В ряде исследований показана взаимосвязь между нарушениями аккомодации и процессами гемодинамики со структурно-оптическими изменениями глаза при прогрессировании миопии [8–10].

Известна модель прогрессирующей миопии с помощью снижения уровня регионарной гемодинамики и кратковременного повышения внутриглазного давления путем введения никотиновой кислоты в период роста кроликов [11, 12]. Существует также способ моделирования миопии у кроликов с помощью введения раствора папаина под конъюнктиву в зону экватора в четырех сегментах [13]. Интересна патогенетически обоснованная, депривационная модель повышенной миопизации с помощью очков (–20 D) у цыплят, существенным недостатком которой является двуслойная склеральная структура глаза птиц [14]. Наиболее чувствительный период для развития экспериментальной депривационной близорукости у цыплят – первые дни жизни. У крыс этот период начинается с 15-го дня, когда открываются веки [15].

Известно, что прием ретиновой кислоты внутрь у цыплят также вызывает удлинение глазного яблока [16]. При депривационной миопии у морских свинок и приматов содержание ретиновой кислоты в сетчатке и хориоиде коррелировало с удлинением глаза [17].

Экспериментальными исследованиями подтверждено, что в развитии депривационной близорукости важную роль играет периферическая часть сетчатки. Последующими исследованиями установлено, что дефокусировка глаза делает его близоруким, ее развитие не зависит от аккомодации и находится под местным контролем с последующими локальными изменениями в сосудистой оболочке и склере [18, 19]. В настоящее время полагают, что развитие депривационной экспериментальной близорукости стимулируется нейротрансмиттерами сетчатки. По данным некоторых авторов [20], сетчатка (точнее мюллеровские клетки) – индуктор роста глазного яблока.

Однако большинство описанных моделей труднодоступны. Поэтому в качестве основы мы использовали депривационную модель миопии, индуцируемую путем блефарорафии правого глаза в период интенсивного роста глазного яблока [5]. Для этой модели описаны характерные структурно-функциональные нарушения тканей глазного яблока [21] и структуры коллагеновых фибрилл склеры [22, 23] – утончение склеры и дегенеративные изменения в сетчатке [19, 23, 24]. При этом нами также в эксперименте было изучено влияниеотягощающих условий моделирования, а именно содержание животных в условиях пониженного освещения, поскольку имеются сведения, что

развитие глазного яблока при снижении освещенности может способствовать удлинению его оси [25–27].

Цель работы состояла в исследовании некоторых параметров органа зрения при моделировании депривационной миопии у крыс в различных условиях освещения.

Материал и методы

Исследования проводились на крысах линии Вистар двухнедельного возраста с соблюдением «Общих этических принципов экспериментов на животных» (3-й Национальный конгресс, Киев, 2007) и «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1986).

Первая группа – интактные животные (10 животных). У животных второй группы депривационную миопию вызывали по Beuerman R.W. et al. (2010) путем блефарорафии обоих глаз (15 животных) [5]. В третьей группе (15 животных) крысы также подвергались блефарорафии, но в отличие от второй группы, содержались на протяжении 14 дней в условиях сниженного освещения. Животные I и II групп содержались этот же период в условиях природного освещения. По истечении этого срока снимали швы с век.

У всех животных после снятия швов были проведены ультразвуковые исследования, тонометрия (ВГД) и измерение толщины роговицы (пахиметрия).

Ультразвуковое исследование глаз крыс осуществлялось на приборе «Cinescan» фирмы Quantel Medical с применением секторного механического короткофокусного (фокусное расстояние 11–13 мм) В-зонда для переднего отдела глаза частотой 20 МГц. Веки глаз крыс разводили пальцами, закапывали местный анестетик. На открытый глаз накладывался столбик ультразвукового геля высотой до 10 мм. За счёт применения геля фокус зонда удавалось поместить в центр глаза крысы внутри большого хрусталика. На аксиальной В-сканограмме чётко контурировались роговица (передний и задний контур), передняя камера, передняя и задняя капсулы хрусталика и витреоретинальная граница. Позиционирование калипер-меток на «замороженном» изображении проводилось с шагом 0,1 мм со скоростью 1550 м/с. Длина глазного яблока измерялась вдоль переднезадней оси между передним контуром роговицы и витреоретинальной границей.

ВГД измеряли аппланационным тонометром Маклакова с использованием плунжера весом 2 грамма с диаметром площадки 4 мм под местной анестезией.

Исследования толщины роговицы экспериментальных животных проводили с помощью пахиметра «Handy Pachymetr SP-100» (Япония). Данные выражали в мкм.

Через две недели после снятия швов с век всех животных выводили из эксперимента под наркозом и энуклеировали глазные яблоки.

Объективным критерием развития миопии служило удлинение переднезаднего размера глазных яблок (ПЗР), который измеряли с помощью ультразвука (*in vivo*) и цифрового (Торех) штангенциркуля с точностью 0,02 мм (*post mortem*).

Полученные данные обрабатывали с использованием непараметрических методов анализа Краскела-Уоллиса и Манна-Уитни с помощью программы Statistica 5.5.

Результаты

В современной литературе имеются противоречивые сообщения о зависимости между рефракционным статусом и показателями как ВГД, так и толщины роговицы [28–30].

Согласно полученным нами данным (табл. 1), ВГД у крыс при моделировании миопии значительно повышалось по отношению к интактным животным. Так, во II группе крыс (с депривационной миопией) ВГД было повышено на 12,4% ($p < 0,001$), а у животных III группы (с депривационной миопией, находящихся в условиях сниженного освещения) показатель ВГД существенно повышался на 29,2% ($p < 0,001$) относительно контроля. При этом ВГД в III группе животных значительно отличалось от крыс с миопией при обычном освещении, повышаясь на 15,0 % ($p < 0,001$).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о существенной зависимости между процессом миопизации в раннем возрасте и уровнем офтальмотонуса у животных.

Следует отметить, что толщина роговицы у крыс с депривационной миопией при природном освещении практически не отличалась от соответствующего по-

казателя у интактных животных (табл. 2). У животных при моделировании миопии в условиях пониженной освещенности отмечалось уменьшение толщины роговицы, что может быть обусловлено более выраженным растяжением наружной оболочки глаза при изменении линейных размеров глазного яблока [2, 31], значимо отличаясь от данных крыс контрольной группы.

Данные литературы говорят о возможном влиянии длительности светового дня на процессы миопизации. Показано, что развитие глазного яблока при понижении освещенности может способствовать удлинению его оси [25–27].

Полученные нами данные о длине ПЗР глазного яблока при моделировании осевой миопии в условиях пониженной освещенности обнаружили значимое увеличение этого показателя на 21% по отношению к интактным животным и на 5% ($p < 0,001$) при сравнении с группой крыс, у которых моделировали миопию при природном освещении (табл. 3, рис. 1, 2, 3).

Таким образом, полученные нами данные об изменении параметров органа зрения при моделировании в различных условиях освещения депривационной миопии у крыс раннего возраста, а именно уровня офтальмотонуса, толщины роговицы, переднезаднего размера оси глазного яблока, свидетельствуют о более быстром прогрессировании заболевания при сниженном освещении. В этой группе животных изменения всех изученных показателей глазного яблока, причастных к процессу миопизации, были достоверно более выраженными в сравнении с животными, у которых депривационную миопию вызывали в условиях природного освещения.

Статистические показатели	Контрольная группа (n = 20)	Депривационная миопия (n = 30)	Депривационная миопия в условиях затемнения (n = 30)
M±m	18,2 ± 0,30	20,45 ± 0,40	23,52 ± 0,71
%	100,0	112,4	129,2
p	–	< 0,001	< 0,001
% ₁	–	100,0	115
p ₁	–	–	< 0,001

Таблица 1. Уровень ВГД (в мм рт. ст) у крыс при экспериментальной депривационной миопии

Примечания:

n – количество глаз; p – уровень значимости различий данных по отношению к контрольной группе; p₁ – уровень значимости различий данных по отношению к группе животных с депривационной миопией.

Статистические показатели	Контрольная группа (n = 20)	Депривационная миопия (n = 30)	Депривационная миопия в условиях затемнения (n = 30)
M±m	165,10 ± 2,27	162,50 ± 1,53	158,9 ± 1,98
%	100,0	98,4	96,2
p	–	>0,05	<0,05
% ₁	–	100,0	97,8
p ₁	–	–	>0,05

Таблица 2. Показатель толщины роговицы (в мкм) у крыс при экспериментальной депривационной миопии

Примечания:

n – количество глаз; p – уровень значимости различий данных по отношению к контрольной группе; p₁ – уровень значимости различий данных по отношению к группе животных с депривационной миопией.

Статистические показатели	Контрольная группа (n = 20)	Депривационная миопия (n = 30)	Депривационная миопия в условиях затемнения (n = 30)
M±m	4,34 ± 0,06	4,98 ± 0,05	5,23 ± 0,07
%	100,0	114,7	120,5
p	–	<0,001	<0,001
% ₁	–	100,0	105,0
p ₁	–	–	<0,01

Таблица 3. Изменение ПЗР глазного яблока у крыс при экспериментальной депривационной миопии (в мм)

Примечания:

n – количество глаз; p – уровень значимости различий данных по отношению к контрольной группе; p₁ – уровень значимости различий данных по отношению к группе животных с депривационной миопией.

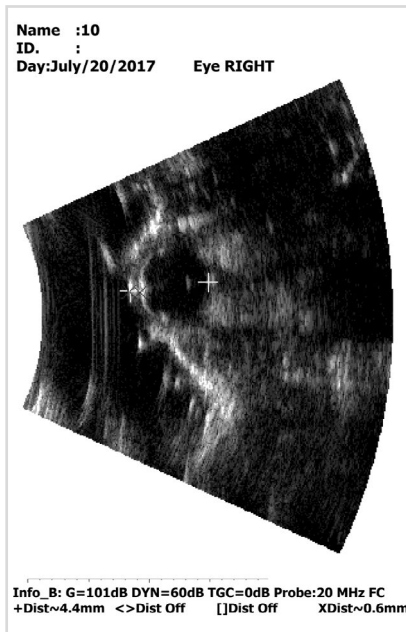


Рис. 1. Сонограмма переднезадней оси глаза крысы до моделирования миопии

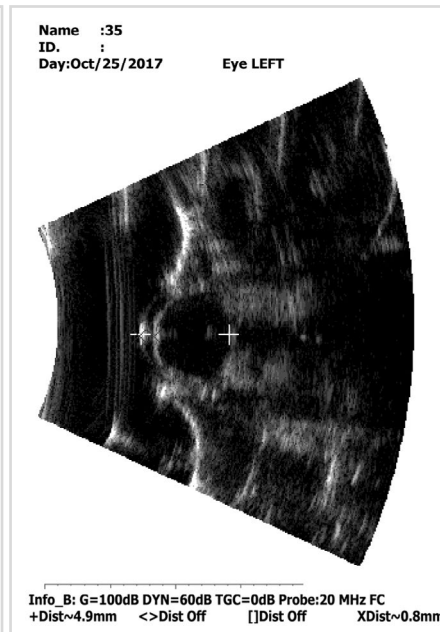


Рис. 2. Сонограмма переднезадней оси глаза крысы с депривационной миопией

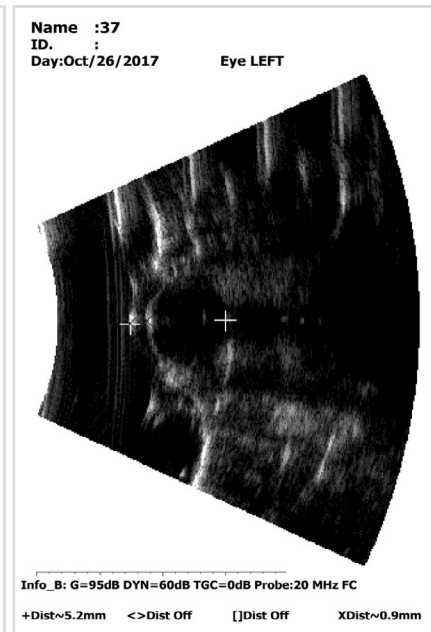


Рис. 3. Сонограмма переднезадней оси глаза крысы с депривационной миопией в условиях сниженного освещения

Выводы

Депривационную модель миопии у крыс двухнедельного возраста, которую вызывали путем блефарографии в период интенсивного роста глазного яблока при сниженном освещении, можно рекомендовать для исследования структурно-функциональных особенностей прогрессирующей миопии и разработки патогенетически ориентированных способов лечения этого заболевания.

Литература

1. Ферфильфайн И. Л. Инвалидность с детства вследствие патологии органа зрения в Украине, ее причины и возможности предупреждения / И. Л. Ферфильфайн, Т. В. Крыжановская, Т. А. Алифанова, Е. В. Топка // Офтальмол. журн. – 1994. – №1. – С. 1-5.
2. Аветисов Э. С. Близорукость / Э. С. Аветисов. – М.: Медицина, 2002. – 288 с.
3. Иванова Н. В. Приобретенная миопия: интеграция факторов риска развития и прогрессирования / Н. В. Иванова, Г. И. Кондратюк // Таврический медико-биол. вестник. – 2013. – Т.16, №3, ч. 2 (63). – С.171-176.
4. Howlett M. H. C. Form-deprivation myopia in the guinea pig (*Cavia porcellus*) / M. H. C. Howlett, S. A. McFadden // Vision Research. – 2006. – V. 46. – P.267-283.
5. Myopia: animal models to clinical trials // R. W. Beuerman, S. S. Maw, D. T. Tan et al. – Singapore World Scientific, 2010. – 390 p.
6. Schaeffel F. Animal models in myopia research / F. Schaeffel, M. Feldkaemper // Clin. Exp. Optom. – 2015. – V. 98, №6. – P. 507-517.
7. Shinohara K. Establishment of novel therapy to reduce progression of myopia in rats with experimental myopia by fibroblast transplantation on sclera / K. Shinohara, T. Yoshida, H. Liu et al. // J. Tissue Eng. Regen. Med. – 2017, №11. doi: 10.1002/term.2275.
8. Бунин А.Я. Гемодинамика глаза / А. Я. Бунин. – Москва: Медицина, 1971. – 196 с.

9. **Левченко, О. Г.** Связь анатомо–оптических и функциональных показателей глаз в процессе развития миопии / О. Г. Левченко, А. Б. Друкман // Вестник офтальмологии. – 1982. – № 5. – С. 36–39.
10. **Сорокина Е. В.** Результаты исследования показателей гемодинамики сосудов глаза и орбиты у больных миопией высокой степени с рефракционной амблиопией / Е. В. Сорокина, В. Н. Красногорская // Дальневосточный мед. журн. – 2012. – №4. – С. 79–81.
11. **Завгородняя Н. Г.** Моделирование прогрессирующей миопии в эксперименте / Н. Г. Завгородняя, Т. Н. Барановская // Офтальмологический журнал. – 1999. – №6. – С. 424–428.
12. **Барковская Т. Н.** Роль нарушений гемо- и гидродинамики глаза в развитии прогрессирующей миопии и разработка метода их коррекции (клинико-экспериментальное исследование): Дис... канд. мед. наук: 14.01.18 / Запорожский гос. ин-т усовершенствования врачей. – Запорожье, 2001. – 151 л.
13. **Панков О. П., Комаров О.С., Лебкова Н. Г.** Способ моделирования миопической болезни глаз: Патент СССР №1573466, МПК: G09B 23/28 // Открытия и изобретения. – 1990. – №23. – С. 220.
14. **Wallman J.** Extreme myopia produced by modest change in early visual experience / J. Wallman, J. Turkel, J. Trachtman // Science. – 1978. – V. 201, №29. – P.1249–1251.
15. **Napper G. A.** The duration of normal visual exposure necessary to prevent form deprivation myopia in chicks / G. A. Napper, N. A. Brennan, M. Barrington et al. // Vis. Res. – 1995. – Vol. 35. – P.1337–1344.
16. **McFadden S. A.** Acute effects of dietary retinoic acid on ocular components in the growing chick / S. A. McFadden, M. H. Howlett, J. R. Mertz et al. // Exp. Eye Res. – 2006. – V. 83, №4. – P.949–961.
17. **Chen Z.Q.** Coexistent choroidal neovascular membrane and macular hole in pathologic myopia: a long follow-up clinical outcome and literature review / Z. Q. Chen, J. J. Lin, P. P. Ye et al. // Internat. J. Ophthalmology. – 2013. – V.6, №6. – P.884–887.
18. **Shih Y.-F.** Reduction in choroidal blood flow occurs in chicks wearing goggles that induce eye growth toward myopia / Y.-F. Shih, M. E. C. Fitzgerald, T. T. Norton et al. // Curr. Eye Res. – 1993. – V. 12. – P. 219–227.
19. **Ульянова Н.А., Венгер Л.В., Думброва Н.Е., Молчанюк Н.И.** Ультраструктурные изменения сетчатки при моделировании депривационной миопии. // Вісник морфології. – 2014. – Т.20, № 2. – С.293–295.
20. **Wildsoet O., Wallman J.** Choroidal and scleral mechanisms of compensation for spectacle lenses in chicks. // Vision Res. – 1995. – V. 35, №9. – P. 1175–1194.
21. **Ульянова Н. А.** Висока осьова міопія: патогенез, діагностика, профілактика та лікування (клініко-експериментальне дослідження): автореф. дис. докт. мед. наук: спец. 14.01.18 «Офтальмологія» / Н. А. Ульянова. – Одеса, 2015. – 32 с.
22. **Fang F.** The role of cGMP in ocular growth and the development of form-deprivation myopia in guinea pigs / F. Fang, M. Pan, T. Yan et al. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2013. – V.54, №13. – P. 7887–7902.
23. **Ульянова Н.А.** Морфологические изменения склеры при моделировании миопии / Н. А. Ульянова, Н. Е. Думброва, Н. И. Молчанюк // Морфологія. – 2014. – Т.8, №2. – С. 72–76.
24. **Lin Z.** Effects of direct intravitreal dopamine injection on sclera and retina in form-deprived myopic rabbits / Z. Lin, X. Chen, J. Ge et al. // J. Ocul. Pharmacol. Ther. – 2008. – V.24. – P.543–550.
25. **McMahon G.** Season of birth, daylight hours at birth, and high myopia / G. McMahon, T. Zayats, Y. P. Chen et al. // Ophthalmology. – 2009. – V.116. – P. 468–473.
26. **Wang Y.** Exposure to Sunlight Reduces the Risk of Myopia in Rhesus Monkeys / Y. Wang, H. Ding, W. K. Stell et al. // PLoS ONE. – 2015. – V. 10, №6. – e0127863. doi:10.1371/journal.pone.0127863.
27. **Scott A.** Light Exposure and Eye Growth in Childhood / A. Scott, M. J. Collins, S. J. Vincent // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2015. – V.56. – P.6779–6787.
28. **Хоманг Х. А.** Чувствительность и толщина роговицы при прогрессировании миопии / Х. А. Ахмеди, А. М. Солдатова // Офтальмол. журн. – 2001. – №6. – С.42–44.
29. **Elsheikh A.** Correction Factors for Goldmann Tonometry / A. Elsheikh, P. Gunvant, S. W. Jones, D. Pye, D. Garway-Heath // J. Glaucoma. – 2013. – V.22, №2. – P.156–163.
30. **Jesus D. A.** Influence of eye biometrics and corneal micro-structure on noncontact tonometry / D. A. Jesus, M. Majewska, P. Krzyżanowska-Berkowska, D. R. Iskander // PLoS ONE. – V.12, №5: e0177180. doi.org/10.1371/journal.pone.0177180.
31. **Биомеханика глаза: теоретические аспекты и клинические приложения** / [Иомдина Е. Н., Бауэр С. М., Котляр К. Е.], под ред. В. В. Нероева. – Москва: Реал Тайм, 2015. – 208 с.

Поступила 25.01. 2018

Дослідження параметрів органа зору при моделюванні деприваційної міопії в різних умовах експерименту

Міхейцева І.М., Абдулхаді Мохаммад, Путієнко О.О., Ковальчук О.Г., Коломійчук С.Г., Сіроштаненко Т.І.

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»; Одеса (Україна)

Актуальність. Міопія, яка веде до зниження зорових функцій, є однією з найактуальніших проблем патології органа зору. У зв'язку з поширеністю цього захворювання і з тим, що ряд питань його патогенезу досі не вивчено, важливою є розробка моделей осьової міопії на тваринах, клінічна картина яких максимально наближена до людини і дозволяє вивчати як патогенез короткозорості, так і методи її лікування. Тому **мета** роботи полягала в дослідженні параметрів органа зору при моделюванні деприваційної міопії у щурів в різних умовах освітлення.

Матеріал і методи. Перша група – інтактні тварини (10 тварин). У тварин другої групи деприваційну міопію викликали шляхом блефарорафії обох очей (15 тварин). У третій групі (15 тварин) щури також піддавалися блефарорафії, але на відміну від тварин другої групи знаходилися протягом 14 днів в умовах зниженого освітлення. Тварини I і II груп знаходилися впродовж того ж періоду в умовах природного освітлення. Після закінчення цього терміну шви з повік знімали. У тварин всіх груп після зняття швів були проведені тонометрія за допомогою апланационного тонометра Маклакова (плунжер вагою 2 грами з діаметром 4 мм) і вимірювання товщини рогівки (пахіметр «Handy Pachymetr SP-100»). Через два тижні після зняття швів з повік всіх тварин виводили з експерименту під

наркозом і енуклеювали очі. Об'єктивним критерієм розвитку міопії служив передньозадній розмір очних яблук (ПЗР), який вимірювали за допомогою ультразвукового дослідження (*in vivo*) на приладі «Cinescan» фірми Quantel Medical, і цифрового (Topex) штангенциркуля з точністю 0,02 мм (*post mortem*). Отримані дані обробляли за допомогою програми Statistica 5.5.

Результати. Отримані нами дані про зміну параметрів органа зору при моделюванні в різних умовах освітлення деприваційної міопії у щурів раннього віку, а саме рівня офтальмотонуса, товщини рогівки, передньозаднього розміру осі очного яблука, свідчать про більш швидке прогресування захворювання при зниженому освітленні. У цій групі тварин зміни всіх вивчених показників очного яблука, що мають причетність до процесу міопізації, були вірогідно більш вираженими (ВОТ вище на 15,0%, ПЗР більше на 5,0 %) в порівнянні з тваринами, у яких деприваційну міопію викликали в умовах природного освітлення.

Висновки. Деприваційну модель міопії у щурів двотижневого віку, яку викликали шляхом блефарорафії в період інтенсивного росту очного яблука при зниженому освітленні, можна рекомендувати для дослідження структурно-функціональних особливостей прогресуючої міопії та розробки патогенетично орієнтованих способів лікування цього захворювання.

Ключові слова: деприваційна міопія, ультразвукове дослідження, тонометрія, пахіметрія, щури, експеримент