

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В РОГОВИЦЕ КРОЛИКОВ ПРИ ЕЕ ОЖОГАХ ЩЕЛОЧЬЮ И КОРРЕКЦИЕЙ ЭНТЕРОСОРБЕНТОМ «ПОЛИСОРБ»

Т.И. РОМАНЮК

ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского МЗ Украины»

«ПОЛИСОРБ» ЭНТЕРОСОРБЕНТИ ЁРДАМИДА ИШҚОР БИЛАН КУЙГАН ҚУЁНЛАР ШОХ ПАРДАСИНИНГ КОРРЕКЦИЯСИДАН СЎНГ УЛЬТРАСТРУКТУРАЛИ ЎЗГАРИШЛАРИНИНГ ХУСУСИЯТЛАРИ

Т.И. РОМАНЮК

Украина ССВ И.Я. Горбачевский номидаги Тернополь Давлат медицина университети

FEATURES OF ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE CORNEA OF RABBITS AT ITS BURNS ALKALI AND CORRECTION BY THE ENTEROSORBENT OF "POLISORB"

T.I. ROMANYUK

HSEI "I.Ya. Gorbachevsky Ternopil State Medical University of Ministry of Public Health of Ukraine"

Тажриба 30та қуёнда бажарилди, улар бир қисмининг шох пардасига ишқор билан куйдирилиб, айримларига эса куйишдан сўнг конъюктива халтаси «Полисорб» сорбенти эритмаси билан ювилди. Шох пардада купол деструктив ўзгаришлар куйдиришни амалга оширгандан сўнг биринчи соатларда рўй берди ва тажриба якунлагунча ривожланиб борди. Куйиш травмасидан 1 соатдан сўнг шох парда олдинги эпителийсининг гомогенлашган тўқимаси фонида унинг марказида чуқур деструктив ўзгариш белгилари бўлган хужайралар аниқланди. Шох парда хусусий моддаси ҳам деструкцияга учраганлиги аниқланди. Коллаген фибрил толаларининг очилиши ва фрагментацияси кузатилди, шунингдек уларнинг параллел ориентацияси йўқолди. «Полисорб» воситаси билан коррекция қилинган хайвонларда коррекция қилинмаган хайвонларга нисбатан деструктив ўзгаришлар камроқ бўлди. Куйиш травмасидан 1 соатдан сўнг шох парда олдинги эпителийсининг марказида чуқур деструктив ўзгаришлар конъюктиванинг «Полисорб» сорбенти билан ишлов берилмаган хайвонлардаги ўзгаришлар билан бир хиллиги аниқланди. Шунинг билан бирга кўпинча структурали элементларини қисман сақлаб қолган хужайралар ҳам аниқланди. Шох парданинг хусусий моддасига келганда эса деструктив ўзгаришлар камлиги маълум бўлди. Коррекция қилинмаган хайвонлар шох пардасининг ҳамма қаватларида деструктив ўзгаришлар ривожланиши давом этиб куйдиришни амалга оширгандан 24 соатдан сўнг максимал авжига етди. Деструкция кузатилгандан 12 соатдан сўнг жароҳатланган шох парда эпителиоцитларидан ташқари чекка зоналарида ҳам чуқур ўзгаришлар кузатилди. Хужайралараро сохалар кенгайиб, вакуолизациялашган. Тўлиқ дезорганизацияга хусусий модда чалинди. Булардан фарқли уларок, куйиш амалга оширилгандан 12 соатдан сўнг «Полисорб» сорбенти эритмаси билан конъюктива ювилган хайвонларда дегидратацион жараён ривожланиши бошланганлиги кузатилди. Стабил морфологик кўринишда куйдириш амалга оширилган соханинг чекка сохаларида сақланиб қолган ва дистрофик ўзгаришлари кам бўлган функционал актив эпителиоцитлар аниқланди. 24 соатдан сўнг куз структураларининг кейинги тикланиш белгилари борлиги кузатилди.

Калит сўзлар: *шох парда, куйиш, ёй, ультраструктура, коррекция.*

30 rabbits took part at the experiment. Cornea of some of them was burned with alkali; conjunctival sac of the others was washed with the "Polisorb" sorbent solution after the combustion. Gross destructive changes in cornea arose already after the combustion and progressed till the end of the experiment. An hour after the combustion in the setting of homogenized tissue of the cornea frontal epithelium we also found cells with signs of gross destructive damages in its central parts. Cornea proper substance was destructed as well. Defibring and fragmentation of collagen fibrillas was also discovered, their parallel orientation was getting lost. Changes in the group of animals, which were treated with "Polisorb", were less significant than in the group of animals without correction. In an hour after the combustion the destructive changes in the frontal epithelium were almost the same as in the group of animals whose conjunctiva was not treated with "Polisorb" sorbent. Though, we discovered cells with partially residual structural elements more often. Destructive changes in the cornea proper substance were moderate. In the group of animals without correction destructive changes in all layers of cornea progressed even later, their maximum development occurred in 24 hours after the combustion. In as little as 12 hours after the investigation start not only epithelial cells of the injured part of the cornea, but also its marginal area incurred obvious destruction. Intercellular spaces were exagger-

ated and vacuolated. The proper substance was completely disorganized. In the contrast, in 12 hours after the combustion dehydration processes began to take off in the cornea of the animals whose conjunctive sac was washed with "Polisorb" sorbent. When morphological pattern at the combustion area was steady, we discovered residual and functionally active epithelial cells with moderately destructive changes in the marginal area. The eye structure was regenerating during 24 hours of the investigation.

Key words: *cornea, combustion, alkali, ultrastructure, correction.*

Введение. Ожоги глаз - сложная и многофакторная проблема. В их патогенезе задействованы различные механизмы: как деструктивные, так и регенераторные [1, 2, 3]. Поэтому при лечении большое значение придается первой неотложной помощи. Ее суть заключается в максимальном и быстром удалении химического вещества с роговицы, конъюнктивального мешка, век с целью уменьшения повреждения тканей глаза [4, 5, 6, 7, 8, 9]. Эффективным при этом может быть использование фосфат-буферных нейтрализаторов, а также сорбции и детоксикации с применением различных материалов с высокой способностью поглощения химических веществ [10]. В то же время бывают ситуации, когда природа ожогового вещества не установлена (кислота или щелочь). Поэтому нужны универсальные средства с нейтрализующими свойствами. Таким средством может стать сорбент «Полисорб».

Цель исследования: по результатами ультраструктурных исследований установить эффективность применения сорбента «Полисорб» в качестве средства для оказания первой помощи при ожогах роговицы щелочью.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 30 кроликах возрастом в 2 года и с массой тела от 2,5 до 3,0 кг. Из них 6 животных составляли интактную контрольную группу. 12 кроликам наносили ожоги роговицы щелочью - 10% NaOH, другим 12 животным через 5 минут после нанесения ожога осуществляли промывание конъюнктивального мешка раствором сорбента «Полисорб». Выведение животных из эксперимента осуществляли путем введения больших доз концентрированного тиопентала натрия (из расчета 25 мг / 1 кг) через 1, 6, 12 и 24 часа после начала эксперимента. Для ультраструктурных исследований забирали кусочки роговицы, которые фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегиду с активной реакцией среды pH 7,3-7,4, приготовленном на фосфатном буфере Миллони. Фиксированный материал через 50-60 минут переносили в буферный раствор и промывали в течение 20-30 минут. Постфиксацию осуществляли 1% раствором четырехокси осмия на буфере Миллони в течение 60 минут, после чего проводили дегидратацию в спиртах и ацетоне, заливали в смесь эпоксидных смол и аралдита. Ультратонкие срезы, изготовленные на

ультрамикротомом УМПТ-7, окрашивали 1% водным раствором уранилацетата, контрастировали цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе ПЭМ-125K.

Все экспериментальные исследования проводились с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Результаты исследования и их обсуждение. Грубые деструктивные изменения в роговице экспериментальных животных возникали уже в первые часы после нанесения ожогов и прогрессировали до завершения эксперимента. Так, через час после нанесения ожоговой травмы на фоне гомогенизированной ткани переднего эпителия роговицы в ее центральных отделах, выявлялись остатки клеток с признаками глубоких деструктивных нарушений. Их овальная форма нарушалась, цитоплазма становилась гомогенизированной с разрушенными органеллами и формированием на их месте многочисленных вакуолей. В пикнотически измененных ядрах наблюдалась конденсация гетерохроматина. Перинуклеарные пространства были неравномерными и заметно расширенными (рис. 1).

Собственное вещество роговицы также подвергалось деструкции. При этом наблюдалось розволокнение и фрагментация коллагеновых фибрилл, терялась их параллельная ориентация. Фибробласты были заметно увеличенными в размерах за счет значительного расширения перинуклеарных пространств. Их ядра апоптотически фрагментировались, а цитоплазма диффузно просветлялась и, практически, не содержала органелл. Все эти явления прогрессивно нарастали и до следующего, шести часового, срока наблюдения (рис. 2).

Значительно менее выраженными по сравнению с некорригированной животными были изменения, наблюдавшиеся у животных, которым проводили промывание конъюнктивы раствором препарата «Полисорб». На 1-й час после нанесения ожога изменения деструктивного плана в переднем эпителии животных данной серии эксперимента были практически идентичными с такими, которые наблюдались у животных без обработки сорбентом «Полисорб», вместе с тем, у них чаще встречались клетки с частично сохранившимися структурными элементами. Что касается собственного вещества рого-

вицы, то деструктивные изменения в нем были умеренными. Розволокнение и фрагментация коллагеновых фибрилл носили зональный характер и не проникали на всю глубину. Сохраненные фибробласты были несколько увеличенными за счет незначительного расширения перинуклеарных пространств. Ядра таких клеток имели неровные контуры кариолемы, в цитоплазме выявлялись как сохраненные, так и вакуолизированные органеллы. Особых изменений у данной группы животных не было обнаружено и в шестичасовой срок. То есть, в результате устранения выраженного повреждающего действия щелочи сравнительно менее выраженными были отечные, дистрофические и деструктивные явления.

У животных без коррекции деструктивные изменения во всех слоях роговицы продолжали прогрессировать и в последующие сроки наблюдения, набирая своего максимального развития к концу первых суток, то есть через 24 часа с момента нанесения ожога. Уже через 12 часов от начала наблюдения выраженным деструктивным изменениям подвергались не только эпителиоциты непосредственно пораженной части роговицы, но и ее краевой зоны, расположенной возле лимба, которая на момент нанесения ожога еще находилась за пределами непосредственного влияния ожогового фактора. Клетки эпителиального покрова роговицы в таких местах прогрессивно уменьшались в размерах, истончался слой их цитоплазмы, которая одновременно становилась просветленной и содержала многочисленные вакуоли на месте разрушенных органелл. Ядра приобретали выраженный пикнотический вид с инвагинациями кариолемы и конденсацией хроматина. Межклеточные промежутки были расширенными и вакуолизированными. Многие клетки находилась в состоянии апоптоза и некроза (рис. 3). Полной дезорганизации подвергалось собственное вещество роговицы. При электронно-микроскопическому исследованию оно представляло собой смесь обрывков коллагеновых волокон, остатков фиброластов и их органелл, которые визуализировались на фоне просветленных полей (рис. 4).

В отличие от этого, 12-часовой срок после ожога роговицы у животных с промыванием конъюнктивального мешка сорбентом «Полисорб», характеризовался началом развития дегидратационных процессов. При стабильности морфологической картины в зоне нанесения ожога, в краевой области вокруг него можно было наблюдать практически сохраненные и функционально активные эпителиоциты с умеренными дистрофическими изменениями органелл. Часть митохондрий сохраняла обычные размеры

с оконтуриванием кристами и электронноплотным матриксом. Канальцы гранулярной эндоплазматической сети местами выглядели несколько расширенными. Ядра таких клеток были правильной овально-округлой формы, содержали 1-2 ядрышки и равномерно распределенный хроматин (рис. 5). Для 24-часового срока наблюдения характерным было дальнейшее восстановление структур глаза. Хотя передний эпителий продолжал еще находиться в состоянии деструкции, в собственном веществе роговицы уже наблюдались и регенераторные процессы. Менее выраженной по сравнению с некорректированной животными была дезорганизация и фрагментация коллагеновых волокон (рис. 6). Фиброциты хотя и были с признаками выраженных дистрофических изменений, однако в большинстве случаев сохраняли свою структурную организацию. В дистрофически измененных клетках ядра имели неровные контуры кариолемы, для них была характерной конденсация хроматина в виде отдельных комочков, в цитоплазме содержались как сохраненные, так и частично разрушенные органеллы. Вместе с тем, можно было наблюдать клетки с повышенной функциональной активностью которая проявлялась выравниванием контуров ядер, увеличением количества электронноплотных митохондрий и канальцев гранулярной эндоплазматической сети (рис. 7).

Таким образом, проведенные ультраструктурные исследования роговицы кролика после нанесения ожога щелочью позволили установить выраженные прогрессирующие деструктивные изменения во всех ее слоях, которые возникали не только в зоне непосредственного поражения, но и распространялись на окружающие ее участки. Применение раствора сорбента «Полисорб» для промывания конъюнктивального мешка при ожогах роговицы щелочами позволяет предотвратить грубые структурные изменения и создать более благоприятные условия для регенераторных процессов.

Выводы.

1. Ожоги роговицы щелочью приводят к ее глубоким прогрессирующим деструктивным изменениям.

2. Применение в качестве первой помощи для промывания конъюнктивы раствора сорбента «Полисорб» позволяет значительно уменьшить ожоговое действие щелочи и тем самым предупредить глубокие структурные изменения роговицы и создать более благоприятные условия для регенераторных процессов.

Перспективы дальнейших исследований. Полученные результаты дают основания для продолжения дальнейших исследований воз-

возможностей использования данного препарата в клинических условиях.

Литература:

1. Чаланова Р.И. Деадаптивний тип індивідуальної адренергическої імунореактивності організму на ожогову травму ока (друге повідомлення) / Р.И. Чаланова // Офтальмол. журн. – 2010. – №4. – С. 37–41.
2. Чаланова Р.И. Практическа значимість клініко–імунологіческої оцінки стресс–реактивності організму для офтальмокомбустіології (третє повідомлення) / Р.И. Чаланова, Т.В. Дегтяренко // Офтальмол. журн. – 2010. – № 6. – С. 31–36.
3. Чаланова Р.И. Уровень Т–адренорецепції і толерантність організму к аутоантигенам роговиці при ожоговій травмі ока / Р.И. Чаланова, Т.В. Дегтяренко // Офтальмол. журн. – 2004. – № 6. – С. 33–36.
4. Черныш В.Ф. Ожоги глаз состояние проблемы и новые подходы / В.Ф. Черныш, Э.В. Бойко. – СПб.: ВМедА, 2008. – 135 с.
5. Шкроміда М. І. Лікування хімічних опіків очей в сучасних умовах / М.І. Шкроміда, М.Д. Вершиніна, О.М. Панько, О.М. Мохур // Наук. конф. офтальмол., присвячена 90–річчю акад. Н.О. Пучківської, 18–19 трав. : тези доп. – Одеса, 1998. – С. 201–203.
6. Якименко С.А. Стан надання спеціалізованої допомоги потерпілим з опіками очей в Україні / С.А. Якименко // Офтальмол. журн. – 2008. – № 6. – С. 79–83.
7. Якименко С.А. Трансплантація консервованої амніотичної оболонки в лікуванні опіків очей важкого ступеня / С.А. Якименко, О.І. Бузник // Офтальмол. журн. – 2007. – № 5. – С. 40–43.
8. Пучковская Н. А. Ожоги глаз / Н.А. Пучковская, С.А. Якименко, В.М. Непомнящая – М. : Медицина, 2001. – 272 с.
9. Sotozono C. Cytokine expression in the alkali-burned cornea. / C. Sotozono, J. He, Y. Matsumoto [et al.] // Current Eye Research. 1997. – V. 16, № 4. – P. 670–676.
10. Чередниченко Л.П. Первая помощь при ожоговой травме роговицы и конъюнктивы / Л.П. Чередниченко, Л.В. Яковлева, Г.В. Кореньяк [и др.] // Ожоги глаз и их последствия: науч.–практ. конф., 23–24 мар.: материалы. – М., 1997. – С. 29.

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАСТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В РОГОВИЦЕ КРОЛИКОВ ПРИ ЕЕ ОЖОГАХ ЩЕЛОЧЬЮ И КОРРЕКЦИЕЙ ЭНТЕРОСОРБЕНТОМ «ПОЛИСОРБ»

Т.И. РОМАНЮК

ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет им. И.Я. Горбачевского МЗ Украины»

Эксперименты выполнены на 30 кроликах, части из которых наносили ожоги роговицы щелочью, а другим после ожога осуществляли промывание конъюнктивного мешка раствором сорбента «Полисорб». Грубые деструктивные изменения в роговице возникали уже в первые часы после нанесения ожогов и прогрессировали до завершения эксперимента. Через 1 час после ожоговой травмы на фоне гомогенизированной ткани переднего эпителия роговицы в ее центральных отделах выявлялись также клетки с признаками глубоких деструктивных нарушений. Собственное вещество роговицы также подвергалось деструкции. Наблюдалось разволокнение и фрагментация коллагеновых фибрилл, терялась их параллельная ориентация. Менее выраженными по сравнению с некорригированными животными были изменения у животных которым проводили коррекцию препаратом «Полисорб». Через час после нанесения ожога изменения деструктивного плана в переднем эпителии были практически идентичны с такими, которые проявлялись у животных без обработки конъюнктивы сорбентом «Полисорб». Вместе с тем, чаще встречались клетки с частично сохранившимися структурными элементами. Что касается собственного вещества роговицы, то деструктивные изменения в нем были умеренными. У животных без коррекции деструктивные изменения во всех слоях роговицы продолжали прогрессировать и в последующие сроки, набирая своего максимального развития через 24 часа с момента нанесения ожога. Уже через 12 часов от начала наблюдения выраженной деструкции подлежали не только эпителиоциты пораженной части роговицы, но и ее краевой зоны. Межклеточные промежутки были расширенными и вакуолизированными. Полной дезорганизации подвергалась собственная ткань. В отличие от этого, 12-часовой срок после ожога роговицы у животных с промыванием конъюнктивного мешка сорбентом «Полисорб» характеризовался началом развития дегидратационных процессов. При стабильности морфологической картины в зоне нанесения ожога, в краевой области можно было наблюдать сохраненные и функционально активные эпителиоциты с умеренными дистрофическими изменениями. Для 24-часового срока наблюдения было характерным дальнейшее восстановление структур глаза.

Ключевые слова: роговица, ожог, луг, ультраструктура, коррекция