

## Экспериментальные исследования

УДК 617.741:612.844.1.014.461:617.726-092.9

### Физиологические особенности водообменных процессов в хрусталиках животных с учётом фазы аккомодации

Л. В. Степанова<sup>1</sup>, канд. биол. наук; Г. М. Сычев<sup>2</sup>, канд. мед. наук;В. А. Кратасюк<sup>1</sup>, профессор, д-р биол. наук, О. В. Светлова<sup>3</sup>, профессор, д-р мед. наук

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет»; Красноярск (Россия)

<sup>2</sup> Хакасский государственный университет им. Н. Ф. Катанова; Абакан (Россия)

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»; Санкт-Петербург (Россия)

E-mail: slyudmila@mail.ru

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 16-06-00439).

**Актуальность.** Традиционные представления о движении водянистой влаги в хрусталике предполагают её перемещение через капсулу хрусталика внутрь-наружу и её поверхностное распределение в хрусталиковой массе. Утверждается, что «свежая» водянистая влага направленно диффундирует из задней камеры внутрь хрусталика к его центру как через его передне-капсульный эпителий, так и через заднюю стенку капсулы. Затем водянистая влага перемещается вдоль слоистых структур хрусталика в направлении экватора, где предположительно имеется наибольшая активность  $Na^+, K^+$ -помпы. Выведение «отработанной» водянистой влаги из сумки хрусталика происходит во всех направлениях: как через переднюю, так и через заднюю части капсулы, а также через её экваториальную область.

Однако эти представления не учитывают физиологическую особенность транспортных свойств передне-капсульного эпителия, который способен за счёт имеющейся в нём ионообменной системы обеспечивать только одностороннее поступление водянистой влаги: снаружи – вовнутрь. Не учтено также возможное изменение уровня внутривнутрихрусталикового давления в разных фазах аккомодации, что может влиять на интенсивность или направленность водного обмена.

**Цель работы** – выявление основных механизмов водообменного процесса в хрусталиках животных с учётом фазы аккомодации.

**Материал и методы.** Исследованы хрусталики кроликов и крупного рогатого скота. Процессы транспорта жидкости в хрусталиках исследовали *in vitro* по изменению их массы при погружении в инкубационные растворы с добавлением ингибитора  $Na^+, K^+$ -АТФазы или без него. В первой части исследований *in vitro* хрусталики частично (одни хрусталики передней поверхностью, другие-задней поверхностью) погружали в растворы, представляющие омывающие снаружи хрусталиков среды. Во второй части исследования *in vitro* хрусталики полностью погружали в раствор, схожий по ионному составу с водянистой влагой, с разными по величине осмотическими давлениями. Направление движения водянистой влаги исследовали *in vivo* по перемещению красителя методами биомикроскопии и «остановленной диффузии».

**Результаты.** Установлено, что эпителий передней поверхности капсулы хрусталика кроликов и крупного рогатого скота поддерживает транспорт водянистой влаги из задней камеры глаза внутрь хрусталика за счёт работы  $Na^+, K^+$ -АТФазы. Эта система активного ионного транспорта способствует направленному перемещению богатой метаболитами «свежей» водянистой влаги через передне-капсульный эпителий от передней поверхности капсулы хрусталика к задней.

Впервые нами обнаружено, что в момент фазы аккомодации полностью «вблизи» максимальное внутривнутрихрусталиковое давление в капсуле хрусталика составляет 6 мм рт. ст.

*Данное состояние является динамическим равновесием для хрусталика, т.е. величина осмотического давления в 6 мм рт. ст. уравновешивает в хрусталике уровень механического давления капсулы. Масса хрусталиков сразу после энуклеации близка к их изначальной массе при величине осмотического давления в 6 мм рт. ст.*

*При взгляде полностью «вдаль» сумка хрусталика растянута ресничным пояском и минимально сжимает внутривнутрихрусталиковые массы (минимальное внутривнутрихрусталиковое давление). Это способствует интенсивному поступлению внутрь хрусталика «свежей» водянистой влаги. Установлено, что передне-капсульный эпителий хрусталика поддерживает транспорт водянистой влаги из задней камеры глаза внутрь хрусталика за счёт работы системы активного ионного транспорта  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы. Важно отметить, что передвижение водянистой влаги внутри хрусталика происходит по осмотическому градиенту и всегда однонаправленно – от его переднего эпителия к задней стенке капсулы. Диффузионное перемещение водянистой влаги внутри хрусталика происходит не через его ядро, а вдоль поверхностей его внутривнутрихрусталиковых концентрических волокон с последующим диффундированием «отработанной» водянистой влаги наружу через заднюю поверхность хрусталика в стекловидную камеру. Данный механизм микроизменений объёма и/или замещения водянистой влаги в хрусталике можно представить как механизм «флуктуации» объёма хрусталика.*

**Заключение.** *Представлена теория «флуктуации объёма хрусталика» в моменты аккомодации «вблизи-вдаль», подтверждённая в экспериментах на животных *in vivo* и *in vitro*. Понимание этого физиологического процесса позволяет направленно выбрать тип рациональной коррекции для более эффективного торможения и профилактики катарактального или пресбиопического процесса.*

**Ключевые слова:**

хрусталик животного, транспорт водянистой влаги, осмос, диффузия, давление в хрусталике, аккомодация, катаракта, профилактика, рациональная коррекция

**Введение.** Метаболизм хрусталика в глазу поддерживают водообменные процессы, обновляющие водянистую влагу (ВВ) с помощью осмотических и диффузионных механизмов [15,17,20,29,30].

Существующая достаточно распространённая теория о циркуляции ВВ в хрусталике предполагает, что передвижение «свежей» ВВ внутрь хрусталика происходит сквозь переднюю и заднюю поверхности его хрусталиковой сумки, а затем «отработанная» ВВ оттекает из центра хрусталика к его периферии [22, 27-29]. Однако известно, что концентрация глутатиона ( $\gamma$ -глутамил-цистеинил-глицин), синтезируемого в кортикальных слоях хрусталика, постепенно снижается в них по мере приближения к его ядру [7,8]. Это опровергает представления о передвижении ВВ сначала в центр хрусталика, а затем из центра к периферии.

Недавние исследования движения жидкости на изолированных хрусталиках утверждают, что хрусталик представляет собой бассейн, в котором диффузия ВВ происходит во всех направлениях [2, 25]. Представленные результаты были получены без учёта транспортных свойств передне-капсульного эпителия хрусталика.

Как известно, передняя поверхность капсулы хрусталика изнутри выстлана однослойным эпителием [5, 15, 17], который содержит систему активного ионного транспорта –  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазу [4, 26]. Эта ионообменная «помпа» создаёт градиент осмотического давления снаружи и внутри капсулы хрусталика за счёт разной

концентрации ионов  $\text{K}^+$  и  $\text{Na}^+$ , что способствует осмотическому движению «свежей» ВВ внутрь хрусталика [21, 23, 24, 26, 27]. В норме «закаченная» внутрь хрусталика ВВ в дальнейшем может однонаправленно диффундировать только от передней поверхности его капсулы к задней.

Морфологическими исследованиями установлена волокнистая структура хрусталика, которая сложена концентрично и в молодом возрасте имеет до 40 слоёв, аналогично кольцам на срезе дерева или слоям луковицы [5]. Слои имеют мембранное «лепестковое» эллипсоидное строение и разделены межклеточным пространством (ширина 0,01 мкм), которые заполнены ВВ [5,15]. Вполне возможно, что диффузионное движение ВВ внутри хрусталика может происходить по этим межклеточным пространствам между и вдоль параллельных слоёв эллипсоидных кортикальных поверхностей.

Направленность диффундирования ВВ в хрусталике может быть либо только наружу (в норме), либо в обе стороны попеременно и при этом по-разному в каждой из анатомических частей капсулы хрусталика. Согласно исследованиям по переносу красителя, между волокнами хрусталика установлено распределение красителя вдоль волокон с убыванием его концентрации от передне-капсульных подэпителиальных волокон к центральным [30].

Задняя капсула хрусталиковой сумки наиболее тонкая и примыкает к ретробульбарному простран-

ству, образованному связкой Вигера и ямкой (*fossa patellaris*) передне-гиалоидной мембраны стекловидной камеры [5]. Задняя поверхность капсулы хрусталика в центральной её части, включая и область задней мини-линзы, тесно связана со стекловидной камерой, заполненной стекловидным телом [3,5,6,12]. Высокомолекулярные белки и органические вещества, входящие в основной состав стекловидного тела, способны создавать в нем высокое онкотическое давление, которое может обеспечивать физиологическую способность насасывать внутрь стекловидной камеры влагу извне [3]. Поэтому «отработанная» ВВ из задней капсулы хрусталика может быть выведена в Клокетов канал стекловидной камеры и в её стекловидное тело с помощью онкотического давления, создаваемого в стекловидной камере.

В исследованиях водного обмена стекловидного тела было показано, что взаимная диффузия ВВ из задней камеры в стекловидное тело через оболочку стекловидной камеры происходит достаточно свободно и в обе стороны [3,5]. Вполне возможно, что выведение «отработанной» ВВ из хрусталика происходит в основном за счёт диффузии через особенно тонкую заднюю мини-линзу хрусталиковой сумки, что представляется наиболее вероятным физиологичным путем. Кроме того, водообменные процессы должны быть взаимосвязаны с работой физиологических механизмов хрусталиковой аккомодации.

В исследованиях И.Н. Кошница и соавторов [11] была высказана гипотеза о существовании в глазу ранее не описанного в литературе механизма хрусталиковой аккомодации, которая связана с быстрыми изменениями преломляющей способности передней и задней мини-линз, расположенных на оптической оси хрусталика и глаза в целом.

Величина «выстояния» (изменяющаяся преломляющая способность) мини-линз в разные фазы аккомодации (при взгляде «вблизи» «выстояние» максимально, а при взгляде «вдаль» – минимально) позволяет собранным в «оптический тоннель» лучам света более точно фокусироваться на макуле при прохождении их через центр роговицы параллельно оптической оси глаза.

Процесс «выстояния» может быть связан с изменением величины внутрихрусталикового давления и влиять на интенсивность осмотического и диффузионного транспорта в хрусталике, несмотря на более быстрый «хрусталиковый механизм» аккомодации по сравнению с постоянно функционирующими в нем биохимическими механизмами водообменного процесса.

Таким образом, имеющиеся в настоящее время представления о водообмене в хрусталике не позволяют объяснить физиологические особенности взаимодействия механизмов хрусталиковой аккомодации и механизмов поддержания прозрачности хрусталиковых масс, выявить пути и условия удаления продуктов метаболизма из сумки хрусталика, а также более глу-

боко понять физиологические особенности развития катарактального процесса или пресбиопии.

Согласно законам природы, внутрихрусталиковые массы несжимаемы и не могут расширяться при постоянной температуре, т.е. их текущий объём всегда постоянен. Если бы сумка хрусталика не обжимала эти массы снаружи, то давление в них было бы равно давлению в задней камере, т.е. практически внутриглазному давлению. Важно понимать, что «механическая» часть внутрихрусталикового давления создаётся только за счёт ригидности (жёсткости) капсулы хрусталика, которая обеспечивает обжатие несжимаемых хрусталиковых масс во всех фазах аккомодации. При этом приток через эпителий хрусталика «свежей» ВВ за счёт осмоса должен, видимо, уравниваться в норме оттоком «отработанной» ВВ за счёт диффузии, интенсивность которой явно связана и с уровнем внутрихрусталикового давления.

В случае усиленного наполнения капсулы хрусталика «свежей» водянистой влагой или недостаточного удаления из неё «отработанной» ВВ, объём хрусталика увеличивается, его капсула растягивается, её ригидность возрастает и, в ответ на это, внутрихрусталиковое давление повышается. Однако, функциональная растяжимость сумки хрусталика обеспечивается морфо-физиологическими особенностями её ткани, архитектоники и является ограниченной.

Таким образом, при повышении объёма водянистой влаги внутри сумки хрусталика, его капсула может растягиваться только до определённого размера, при этом дальнейшее её наполнение «свежей» ВВ становится затруднительным из-за возрастания внутрихрусталикового давления. В этом случае повышенное внутрихрусталиковое давление автоматически уравнивает его осмотическое давление, и диффузионный отток из капсулы «отработанной» ВВ уравнивается с осмотическим притоком «свежей» ВВ. При этом хрусталик может «насосать» с помощью осмоса столько «свежей» ВВ, сколько позволит концентрация  $\text{Na}^+, \text{K}^+$  -АТФазы внутри его. По-видимому, так может происходить в норме при любой степени растяжения сумки хрусталика в разные фазы аккомодации и при соответствующем этой фазе уровне внутрихрусталикового давления.

Также стоит заметить, что диффузионный отток («выдавливание наружу» «отработанной» ВВ) через сумку хрусталика, скорее всего, может происходить не только за счёт воздействия внутрихрусталикового давления, но и за счёт не полностью изученных онкотических механизмов в стекловидной камере, которые способны «отбирать» ВВ из сумки хрусталика за счёт механизма осмоса. Стекловидное тело может обладать осмотической способностью «высасывать» из хрусталика «отработанную» ВВ, обеспечивая поддержание метаболических процессов в нём в норме. Данные гипотезы требуют экспериментального подтверждения.

С возрастом ригидность капсулы хрусталика возрастает, её эластические свойства снижаются и функ-

циональная способность хрусталика к флуктуации объёма падает, т.е. возможности поддержания метаболических процессов в хрусталике постепенно снижаются. При определённых условиях появляются предпосылки к развитию катарактального процесса ещё до достижения пресбиопического периода (45 – 60 лет).

С другой стороны, количество кортикозных слоёв в хрусталике постоянно растёт всю жизнь и по окончании пресбиопического периода масса хрусталика увеличивается в два раза [5, 6], а его капсула становится перерастянутой. При этом ригидность капсулы и ответного внутрихрусталикового давления дополнительно повысятся и уровень диффузионного оттока ВВ возрастёт. Это также создаёт весомые предпосылки для образования катаракты, поскольку наряду с «отработанной» ВВ может частично удаляться и вновь поступившая «свежая» ВВ.

Как известно, оптические свойства прозрачного хрусталика определяет постоянный объём внутрихрусталиковой массы, которая состоит из несжимаемых и неудлиняющихся при постоянной температуре волокон [9, 11, 14] с узкими межклеточными пространствами, заполненными ВВ [8]. При отсутствии аккомодации (взгляд полностью вдаль) сумка хрусталика максимально растянута и внутрихрусталиковое давление минимально, что облегчает процесс насасывания «свежей» ВВ из задней камеры глаза за счёт осмоса. При этом диффузионное движение «отработанной» ВВ наружу из капсулы хрусталика через её заднюю стенку затруднено [9, 14].

При аккомодации «вблизи» сумка хрусталика максимально «обжимает» снаружи несжимаемую внутрихрусталиковую массу, вследствие этого и происходит повышение внутрихрусталикового давления. Ригидность (жесткость) капсулы хрусталика создаёт дополнительное внутрихрусталиковое давление, которое выше, чем внутриглазное во всех фазах аккомодации [9, 11, 13, 15]. При этом приток «свежей» ВВ через передне-капсульный эпителий должен быть уравновешен оттоком «отработанной» ВВ через заднюю капсулу.

Таким образом, имеющиеся представления о физиологических особенностях водного обмена в хрусталике требуют корректировки в части уточнения путей и условий удаления продуктов метаболизма из сумки хрусталика в разные фазы аккомодации. Это позволит более глубоко понять физиологические особенности поддержания прозрачности хрусталиковых масс и условия развития катарактального процесса или пресбиопии.

**Цель исследования:** выявление основных механизмов водообменных процессов в хрусталиках животных с учётом фазы аккомодации.

#### Методы и материалы исследования

Экспериментальные исследования были выполнены на 90 глазах кроликов и 30 глазах крупного рогатого скота. Кролики были породы «Советская Шиншилла», массой 1,5-3,0 кг, возраст 3-7 месяцев, обоих полов, со-

державшиеся в стандартных условиях в виварии ЗАО «Красфарма» (г. Красноярск). Глаза крупного рогатого скота (быки) были отобраны после промышленного забоя и не имели признаков патологии. Эксперименты на кроликах соответствовали основным положениям международной резолюции ARVO (Ассоциация исследователей зрения и офтальмологии) по использованию животных в научных исследованиях. Энуклеацию хрусталика из глаза проводили через 40 мин после биологической смерти животного.

Водообменные процессы в хрусталике исследовали при различных физиологических условиях эксперимента: исследования *in vitro* предполагали состояние фазы аккомодации «взгляд вблизи», что возможно, способствовало водообменным процессам наиболее слабой интенсивности; исследования *in vivo* соответствовали состоянию «взгляд вдаль», что возможно способствовало более интенсивным водообменным процессам.

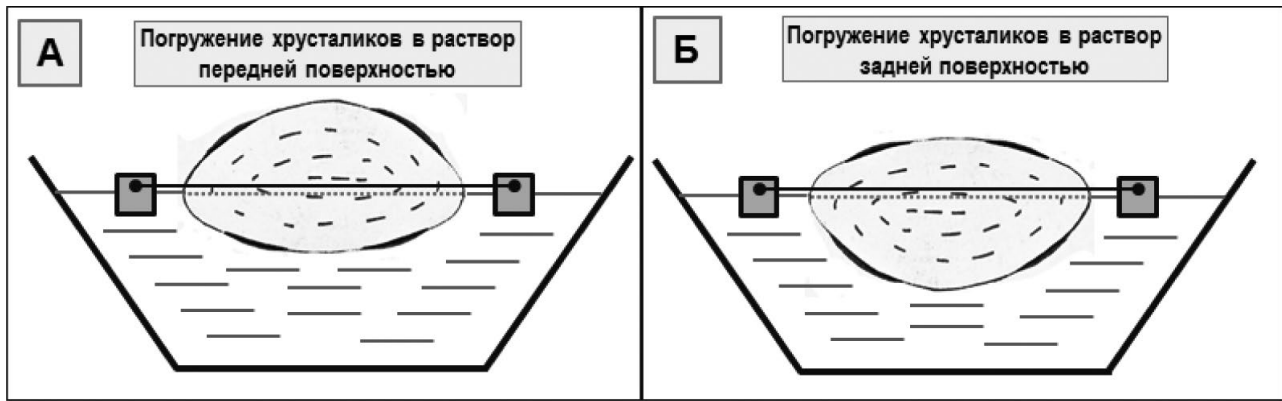
В качестве инкубационных растворов использовали сбалансированный раствор, схожий по ионному составу с ВВ, а также «биологический раствор» – энуклеированное стекловидное тело. Стекловидную камеру выделяли из глаза животного вместе со стекловидным телом. Сбалансированный раствор, схожий по ионному составу с водянистой влагой (pH = 7,4), содержал NaCl – 104,32 мМ; NaHCO<sub>3</sub> – 27,26 мМ; KHCO<sub>3</sub> – 4,08 мМ; MgCl<sub>2</sub> – 0,79 мМ; глюконат кальция – 1,77 мМ; глюкоза – 5,55 мМ; K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 0,59 мМ; аскорбиновая кислота – 0,56 мМ; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O – 0,28 мМ; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,56 мМ.

Активность транспортного процесса в хрусталике приостанавливали при добавлении в инкубационные растворы ингибитора Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФазы – 10<sup>-8</sup> М строфантин К, который проникал в сумку хрусталика вместе с влагой инкубационного раствора. Осмотическое давление в инкубационном растворе (от 22 до 60 мм рт.ст.) повышали за счёт добавления в него высокомолекулярного вещества – поливинилпирролидона (ПВП) (BASF, ФРГ) с молекулярной массой 150 Да.

Осмотическое давление инкубационного раствора измеряли на осмометре ОМКА 1Ц-01 (относительная погрешность измерений ± 1%). Хрусталики взвешивали на прецизионных весах тип ВЛР-1 (относительная погрешность измерений ± 10<sup>-3</sup> г).

В первой части исследований *in vitro* энуклеированные хрусталики кроликов не полностью, а только частично погружали передними (n=30) или задними (n=30) поверхностями в инкубационные растворы с добавлением в них ингибитора Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФазы или без него (рис.1).

Во второй части исследований *in vitro* энуклеированные хрусталики (n=30 для кроликов и n=30 для крупного рогатого скота) полностью погружали в сбалансированный раствор с различными уровнями осмотического давления (от 22 до 60 мм рт.ст.) с добавлением в него ингибитора Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФазы или без него.



**Рис. 1.** Схема частичного погружения знуклеированных хрусталиков животных передней (А) и задней (Б) поверхностями в инкубационный раствор с добавлением ингибитора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы или без него по методике *in vitro* «Способ исследования транспортной функции хрусталика» [18].

Исследования проводили в термостате ( $36^\circ\text{C}$ ) в течение 60 мин. Изменение массы хрусталиков определяли при взвешивании.

Движение жидкости в хрусталике кроликов ( $n=6$ ) исследовали в условиях *in vivo* по перемещению красителя методами биомикроскопии и «остановленной диффузии». В качестве красителя использовали 10% водный раствор флюоресцеина. Для снижения скорости распространения флюоресцеина в хрусталиковых массах от инъекционного канала, оставшегося после ввода иглы, повышали вязкость красителя посредством добавления 30% раствора ПВП. Это позволяло наблюдать медленное распространение и движение флюоресцеина по линиям тока во внутривнутрихрусталиковых массах.

При проведении исследований *in vivo* глаза кроликов обезболивали внутримышечным введением новокаина и закапыванием в глаза дикаина. Затем на глаза животного накладывали векорасширитель. В 2 мм от лимба глаза через экватор в центр хрусталика вводили 0,01 мл вязкого красителя. Прижизненное распределение и продвижение красителя в хрусталике визуально наблюдали при помощи щелевой лампы Orton (Германия) в условии мидриаза (имитация аккомодации «вдаль» мидриацилом) при возбуждении красителя синим цветом с длиной волны 450 нм. В течение часа через каждые 5-30 мин после введения красителя животные выводились из эксперимента, глаза сразу знуклеировали и замораживали в жидком азоте (при температуре  $-186^\circ\text{C}$ ). Замороженные глаза разрезали через место введения на микротоме Slide 2002 Compact (Германия) и регистрировали с помощью цифровой фотосъемки Olympus Camedia C-50 (Китай).

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Распределение исследуемых величин проходило проверку на нормальность Шапиро-Вилка. Обработка данных проводилась с расчетом среднего значения ( $M$ ) и стандартного отклонения ( $s$ ). Для оценки достоверности

различий использовали критерий Стьюдента ( $t$ ). Уровень статистической значимости считали достоверным при  $p < 0,05$ .

#### Результаты и их обсуждение

Рассмотрим экспериментально установленную нами в первой части исследования *in vitro* организацию процессов водного обмена в хрусталиках животных в фазе аккомодации – взгляд полностью «вблизи». Изменения массы хрусталиков кроликов в исследованиях *in vitro* в инкубационных средах, идентичных внутриглазным, отражены на рисунке 2. Случаи А и Б соответствуют взгляду полностью «вблизи» (хрусталик полностью округлен), когда величина обжатия несжимаемых внутривнутрихрусталиковых масс максимальна и доля «давления обжатия» внутри сумки хрусталика также близка к максимуму. Повышенное внутривнутрихрусталиковое давление, по-видимому, должно замедлять скорость «насыщения» внутри хрусталика жидкости из окружающей его водной среды за счёт работы ионообменной транспортной системы.

На рис. 2 показано, что масса хрусталиков значительно увеличена после их частичного погружения передней поверхностью (с эпителием): либо в сбалансированный раствор без ингибитора, сходный по ионному составу с влагой задней камеры, либо во влагу стекловидной камеры – в знуклеированное стекловидное тело без ингибитора.

Хрусталики «насыщали» ВВ внутрь при помощи осмоса из сбалансированного раствора. В результате этого масса хрусталиков была увеличена в среднем на 16-22% без ингибитора и на 11-17% с ингибитором ( $p < 0,01$ ). При «насыщении» ВВ внутрь с помощью осмоса из стекловидного тела масса хрусталиков увеличена в среднем на 16-22% без ингибитора и на 11-17% с ингибитором ( $p < 0,01$ ). При этом капсула хрусталика была дополнительно растянута и внутривнутрихрусталиковое давление повышено. При равенстве осмотического давления внутри хрусталика и повышенного внутривнутрихрусталикового давления, вызванного

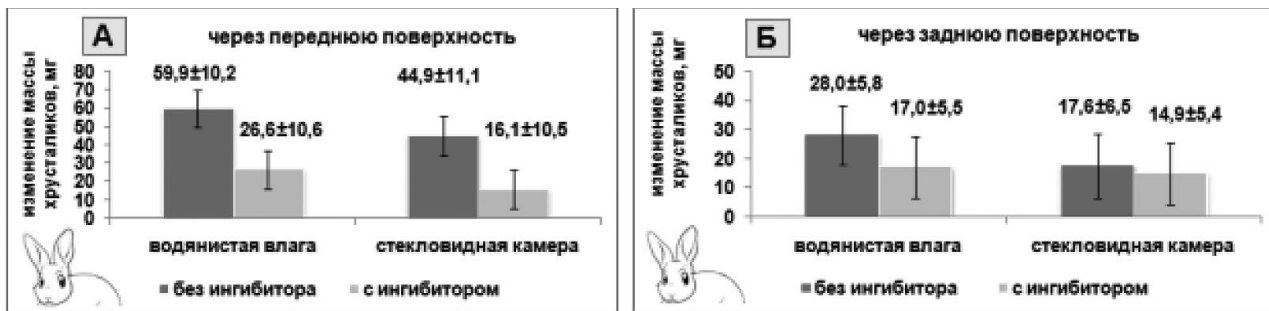


Рис. 2. Изменение массы хрусталиков кроликов при погружении их в инкубационные растворы передней (А) и задней (Б) поверхностями с добавлением ингибитора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы или без него

увеличением ригидности сумки хрусталика, процесс транспорта ВВ был остановлен из-за растяжения капсулы вследствие возросшего объема жидкости.

Погружение хрусталиков кроликов задней поверхностью в те же самые инкубационные растворы в присутствии ингибитора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы или без него вызывало достоверно меньшие различия в изменении их массы ( $p > 0,1$ ). Хрусталики «насыщали» меньшее количество ВВ внутрь из сбалансированного раствора при помощи диффузии и, частично, осмоса. В результате этого масса хрусталиков была увеличена в среднем на 5-12% без ингибитора и на 1-8% с ингибитором ( $p < 0,05$ ). При «насыщании» ВВ внутрь с помощью диффузии и, частично, осмоса из стекловидного тела масса хрусталиков увеличивалась в среднем на 3-7% без ингибитора и на 3,1-6,6% с ингибитором ( $p < 0,05$ ).

Поступление малого количества ВВ через заднюю капсулу внутрь хрусталика происходило без участия активной транспортной системы при помощи диффузии. Таким образом, ингибитор  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы не оказывал существенного влияния на поступление жидкости через заднюю поверхность хрусталика. Это позволяет сделать вывод о том, что транспорт жидкости через заднюю поверхность капсулы хрусталика внутрь или наружу происходит в основном посредством диффузии.

Ингибирующее действие на работу  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы вызывало достоверное снижение количества поступающей ВВ в хрусталиках, которое наблюдалось при погружении их передней поверхностью в инкубационные растворы. Это указывает на ведущее участие осмотического транспорта, обусловленного работой активной транспортной системы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, в переносе жидкости внутрь хрусталика. Передняя поверхность капсулы хрусталика, в отличие от задней, представлена монослоем эпителиальных клеток. Следовательно, эпителий передней поверхности хрусталика участвует в транспорте ВВ внутрь хрусталика и определяет её движение.

Представленные результаты совпадают с полученными ранее выводами Э. В. Мальцева и К. П. Павлюченко об участии эпителия хрусталика в активном транспорте «свежей» ВВ внутрь хрусталика [15]. Таким образом, экспериментально подтвержден перенос

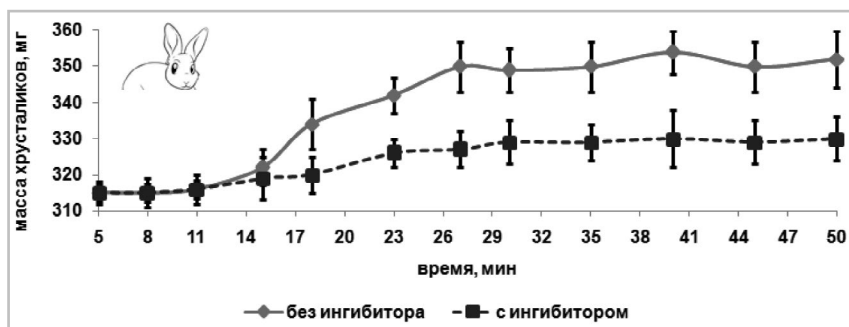
жидкости через передне-капсульный эпителий внутрь хрусталика с участием  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, а также отсутствие активного транспорта ВВ внутрь хрусталика через заднюю поверхность его капсулы.

Увеличение массы хрусталика могло быть обусловлено не только интенсивным осмотическим транспортом при участии  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, расположенной в передне-капсульном эпителии хрусталика, но также влиянием разницы в осмотическом давлении между нативным хрусталиком и инкубационными растворами. В условиях первой части эксперимента *in vitro* ионный состав инкубационного раствора был идентичен с ВВ, которой были заполнены хрусталик и стекловидное тело, поэтому разница в осмотическом давлении между внешним раствором и хрусталиком незначительно влияла на изменение его массы.

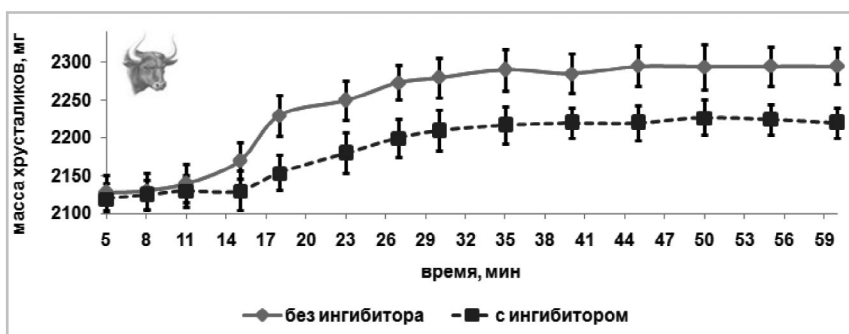
Во второй части исследования *in vitro* определяли величину осмотического давления внутри хрусталика по изменению его массы при полном погружении в растворы, схожие по ионному составу с ВВ, но с разным осмотическим давлением. Вначале исследована динамика изменения массы хрусталиков кроликов и крупного рогатого скота в инкубационном растворе без добавления ингибитора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, а затем – с ингибитором. Зависимость изменения массы хрусталиков кроликов и крупного рогатого скота от времени инкубирования в инкубационном растворе без осмотического давления была идентичной (рис. 3 и 4).

Масса хрусталиков исследуемых животных практически не изменялась в первые 8 - 11 минут исследования. Достоверное увеличение массы хрусталиков наблюдали с 15 по 27 минуты. Через полчаса от начала исследования достигалось насыщение в увеличении их масс. Далее, со временем, существенного увеличения массы хрусталиков не наблюдалось. Осмотический процесс происходил значительно медленнее по сравнению с временными функциональными интервалами процесса аккомодации (доли секунды).

Во второй части исследований увеличение массы хрусталиков в инкубационной среде с добавлением ингибитора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы или без него достоверно отличалось ( $p < 0,001$ ). Меньшая прибавка массы хрусталика в присутствии ингибитора обусловлена снижением активности в нём осмотического процес-



**Рис. 3.** Зависимость изменения массы хрусталиков кроликов от времени нахождения в растворе, схожем по ионному составу с ВВ, но с добавлением ингибитора  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы или без него



**Рис. 4.** Зависимость изменения массы хрусталиков быков от времени нахождения в растворе, схожем по ионному составу с ВВ, но с добавлением ингибитора  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы или без него

са. Отсутствие изменений массы хрусталиков при «насыщении» на участке кривой после 30 минут, по-видимому, объясняется уравновешиванием величины внутрихрусталикового давления и онкотического давления, создаваемого растворимыми белками хрусталика при максимально возможном его насыщении водой.

Аналогичные закономерности получены в инкубационных растворах с разными уровнями осмотического давления при добавлении ингибитора  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы или без него.

Влияние осмотического давления инкубационного раствора на изменение массы полностью погруженных в них хрусталиков отражено на рисунках 5 и 6. Горизонтальные линии на рис. 5 и 6 соответствуют «средней массе» хрусталиков кроликов и крупного рогатого скота до эксперимента и приняты за линию нулевого отсчёта.

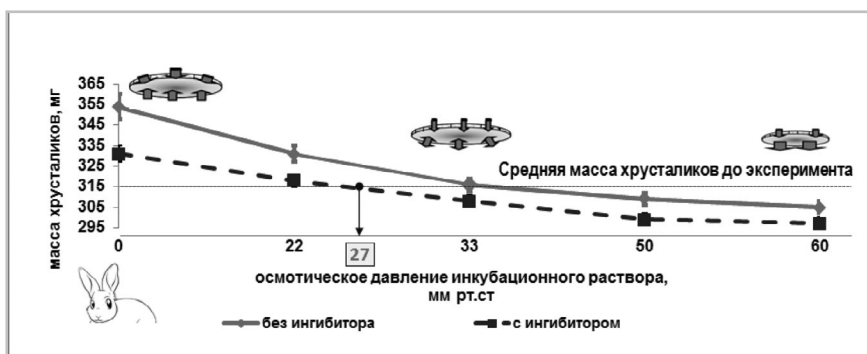
Результаты этих исследований выявили одинаковую зависимость изменения массы хрусталиков кроликов и крупного рогатого скота от величины осмотического давления инкубационного раствора как при добавлении ингибитора  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы, так и без него.

На рисунках 5 и 6 показано, что при увеличении величины осмотического давления в инкубационном растворе без ингибитора (сплошная линия) с 0 до 33 мм рт.ст. происходит уменьшение массы хрусталиков за счёт потери жидкости, обусловленной двумя механизмами: выдавливание капсулой хрусталика жидкости наружу и диффундирование жидкости между инкубационным раствором и внутрихрусталиковым содержимым из-за разного онкотического давления в них. Большой наклон экспериментальных кривых в диапазоне осмотического давления (ОД) 0-33 мм рт.ст.

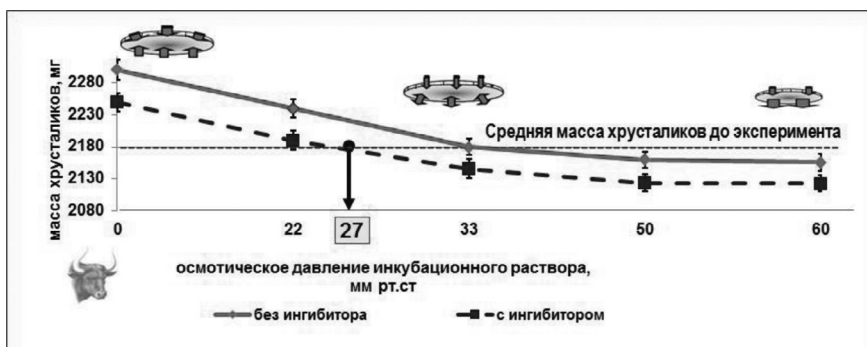
вызван увеличением количества потерянной хрусталиком жидкости. Изменение в массе хрусталиков практически отсутствовало при осмотическом давлении, равном 33 мм рт. ст. и выше как для кроликов, так и для крупного рогатого скота.

При высокой величине осмотического давления  $\geq 33-60$  мм рт.ст. инкубационного раствора массы хрусталиков уменьшались незначительно по отношению к «средней величине». Потеря жидкости в хрусталиках, погруженных в инкубационные растворы с высокими уровнями осмотического давления, была практически одинаковой. Поэтому наклон экспериментальной кривой, проведённой от «точки перегиба» на линии «средней массы», существенно снижен. Можно считать, что масса хрусталиков даже при высоком онкотическом давлении в инкубационном растворе без ингибитора была постоянной (правая часть графика, сплошная линия). Т.е. фактически наблюдалась неизменность объёма хрусталиков из-за «связывания» ВВ в хрусталике за счёт внутреннего онкотического давления в его капсуле. Видимо, было снижено не только воздействие внутрихрусталикового давления на отток ВВ из хрусталика, но и влияние высокого онкотического давления в инкубационном растворе без ингибитора.

При погружении хрусталиков в инкубационный раствор с добавлением ингибитора  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы их масса также возрастала при низком осмотическом давлении  $\leq 27$  мм рт. ст. и уменьшалась при высоком осмотическом давлении  $\geq 27-60$  мм рт. ст., но с достоверно меньшими величинами по сравнению с данными, полученными в инкубационном растворе без ингибитора  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы ( $p < 0,01$ ). Значительная разница в изменении массы хрусталиков в инкубационных растворах в присутствии ингибитора  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы и



**Рис. 5.** Изменение массы хрусталиков кроликов в инкубационном растворе с разным осмотическим давлением при добавлении ингибитора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы или без него. Стрелки указывают приоритетные направления движения жидкости.



**Рис. 6.** Изменение массы хрусталиков быков в инкубационном растворе с разным осмотическим давлением при добавлении ингибитора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы или без него. Стрелки указывают приоритетные направления движения жидкости.

без него указывает на определяющее участие активной транспортной системы в водообменном процессе нативного хрусталика даже при состоянии аккомодации «вблизи».

Увеличенную массу хрусталиков в растворах с осмотическим давлением 0 - 27 мм рт.ст. без добавления ингибитора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, по отношению к «средней массе» хрусталика, можно объяснить интенсивным поступлением ВВ внутрь хрусталика через передне-капсульный эпителий с помощью осмоса. Дополнительно с этим транспортом, поступление ВВ внутрь хрусталика могло происходить и через заднюю капсулу по градиенту онкотического давления, создаваемого растворимыми белками хрусталика. Прибавка в массе хрусталиков происходила, несмотря на существующее и возрастающее внутри хрусталика ответное давление, возникающее из-за повышения механического обжатия несжимаемых хрусталиковых масс сумкой хрусталика даже при полном отсутствии внешнего для него внутриглазного давления.

Уменьшение «средней массы» хрусталиков в инкубационном растворе без ингибитора с величиной осмотического давления  $\geq 33$  - 60 мм рт. ст. свидетельствует о сравнительно малом объеме жидкости, переходящей из хрусталика в инкубационный раствор. Этот диффузионный выход ВВ обусловлен тем, что осмотическое давление внутри хрусталика, по-видимому, было ниже, чем в инкубационном растворе. В этом случае физиологические возможности транспортной системы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, вероятно, были не в полной мере достаточны для восполнения потери ВВ и удержания этих масс внутри сумки хрусталика. Добавление ингибитора выключало активность транспортной системы ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы) и

хрусталик заметно терял свою несвязанную свободную жидкость из-за перепада осмотического давления в хрусталике и в инкубационном растворе (правая часть графика, пунктирная линия).

Постоянство пониженных значений «средней массы» хрусталиков в инкубационных растворах без ингибитора с осмотическим давлением 50 и 60 мм рт.ст. свидетельствует о физиологической способности удерживать необходимое и, возможно, постоянное количество жидкости белками внутри нативного хрусталика. Отсутствие изменения массы хрусталиков в инкубационном растворе со сравнительно большим осмотическим давлением - 33 мм рт.ст. без добавления ингибитора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы указывает на то, что в данных условиях транспорт жидкости внутрь и наружу нативного хрусталика является уравновешенным.

Таким образом, было экспериментально подтверждено, что внутривнутрихрусталиковое давление может играть важную, но не определяющую роль в водообмене и метаболизме хрусталика. Однако для профилактики катарактального процесса рациональная оптическая коррекция должна, по возможности, исключать состояние длительной напряжённой работы глаза вблизи, переводя её в комфортную со средним тонусом ресничной мышцы и, как следствие - с не максимальным внутривнутрихрусталиковым давлением.

При выключении функционирования транспортной системы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, онкотическое давление, создаваемое белками внутри сумки хрусталика, составляло 27 мм рт.ст. (рис. 5, 6). А значение осмотического давления в хрусталике, создаваемого его белками (онкотическая составляющая) и работой транспортной системы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, равно 33 мм рт.ст. Разница между величинами осмотического и онкоти-



ческого давления составляет 6 мм рт.ст. и определяет эффективность работы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы.

Полученные экспериментальные данные позволяют сделать вывод о том, что активная транспортная система ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза), способна увеличивать объём ВВ в капсуле нативного хрусталика, закачивая жидкость внутрь через его эпителий после его энуклеации. Повышение ригидности капсулы из-за её растяжения дополнительно пришедшей жидкостью приводит к ответному росту внутрихрусталикового давления, что способствует направленному диффузионному движению жидкости наружу при постепенном повышении онкотического давления в окружающем хрусталик растворе.

В исследованиях *in vivo* при введении красителя в хрусталик кроликов было выявлено направленное перемещение красителя от переднекапсульной поверхности хрусталика к задней (рис. 7А, Б). На рис. 7А показано, что через 10-15 мин после введения красителя распределение его всегда происходило от места введения в направлении к задней поверхности. В дальнейшем краситель покидал заднюю поверхность хрусталика и выходил в стекловидную камеру (рис.7Б). Через 40 мин после введения красителя в хрусталике его визуально не регистрировали, по-видимому, краситель за это время полностью выводился из глаза.

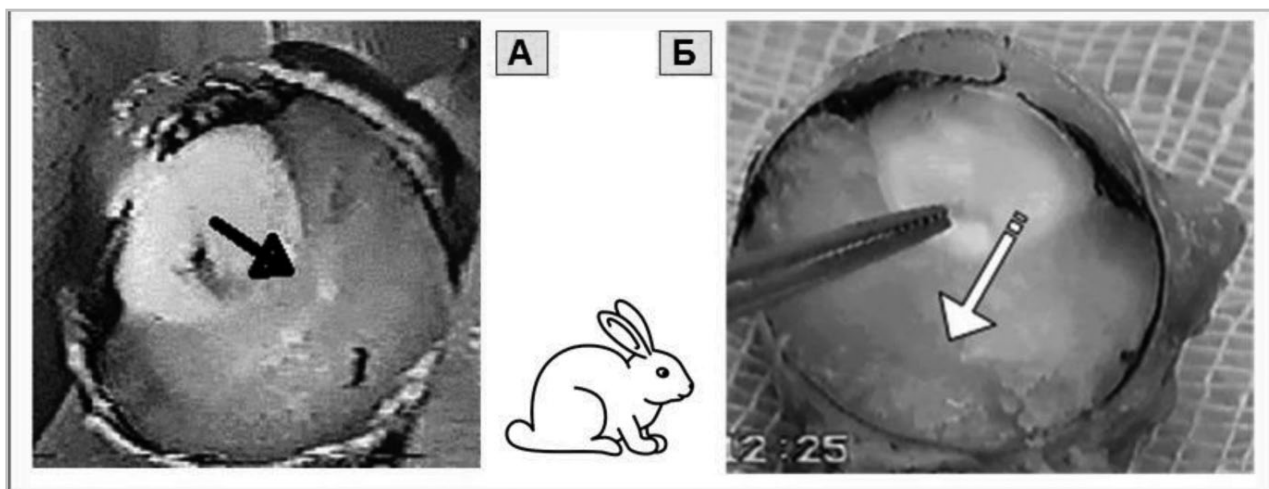
Краситель, прижизненно введенный в хрусталик, не распространялся в направлении к передней поверхности хрусталика, а перемещался только в направлении его задней поверхности. А вот в замороженном энуклеированном глазу распределение красителя происходило как в направлении к передней поверхности хрусталика, так и в стекловидную камеру глаза. Это можно объяснить тем, что в результате заморозки энуклеированных хрусталиков  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза перестает функционировать и краситель распространяется во всех направлениях путем диффузии.

Таким образом, прижизненное распространение красителя в хрусталике не может быть описано простой диффузией и указывает на наличие направленного транспорта жидкости от передней к задней поверхности хрусталика, формируемого с помощью транспортной системы  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, которая локализована в эпителии хрусталика (это определяющий механизм) и внутрихрусталикового давления в разные фазы аккомодации (это дополнительный механизм).

Подводя итог экспериментальной части исследования, можно получить обобщённую схему водообмена в хрусталике (рис. 8), которая согласуется с механизмом хрусталиковой аккомодации [9, 11, 14]. Итак, водообменные процессы в хрусталике только частично связаны с флуктуацией его объёма в моменты аккомодации «вблизи-вдаль». Однако при взгляде «вдаль» давление в уплощённом хрусталике минимально, поэтому «свежей» водянистой влаги легче поступить внутрь хрусталика через его переднюю капсулу.

Система активного ионного транспорта  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза, которая локализована в эпителии передней капсулы хрусталика, является определяющей и способствует осмотическому транспорту «свежей» водянистой влаги и её дальнейшему однонаправленному диффундированию от передней поверхности капсулы хрусталика к задней не через ядро хрусталика, а вдоль пластин его кортикозных слоёв. Поступление водянистой влаги при взгляде полностью «вблизи» дополнительно повышает внутрихрусталиковое давление за счёт осмоса до уровня 6 мм рт.ст. При взгляде «вблизи» хрусталик максимально округлен и его внутрихрусталиковое давление максимально, что способствует диффундированию «отработанной» водянистой влаги через заднюю капсулу в стекловидную камеру.

Ингибитор, добавленный в инкубационные среды, достоверно уменьшал прибавку массы хрусталиков, поскольку снижал в них интенсивность осмотическо-



**Рис. 7.** Прижизненное распространение флюоресцеина в хрусталике кролика. А – распределение флюоресцеина через 10-15 мин после его введения, Б – через 30 мин после введения. Стрелками указаны направления перемещения флюоресцеина в хрусталике.



**Рис. 8.** Схема однонаправленного движения водянистой влаги в хрусталике *in vivo*. Узкими синими стрелками указано направление движения водянистой влаги (ВВ) при её частичной диффузии в заднюю камеру. Основной объём отработанной ВВ выводится из хрусталика с помощью диффузии через центральную часть его задней капсулы сначала в ограниченное мощной связкой Вейгера пространство Бергера, а затем в стекловидную камеру со стекловидным телом.

го транспорта жидкости вследствие его попадания в сумку хрусталиков вместе с наружной ВВ. Следует отметить, что после добавления ингибитора соответственно уменьшалось и осмотическое давление в инкубационных растворах. Инкубационные растворы с ингибитором, возможно, частично уменьшали свою способность не только «высасывать» жидкость из хрусталика, но и сами теряли способность связывать равновесное количество жидкости. Это позволило считать проведённые в этой части исследований эксперименты достаточно корректными, когда осмотические свойства среды внутри хрусталика в основном определяли пути транспорта жидкости при разном внутрихрусталиковом давлении.

Представленные результаты показали, что физиологический механизм осмоса, по-видимому, не так сильно зависит от фазы аккомодации и способен транспортировать внутрь хрусталика такое количество ВВ, которое соответствует в норме его способности связывать влагу до момента достижения максимально возможного физиологического порога уровнянутрихрусталикового давления. В живом глазу капсула хрусталика во всех фазах аккомодации слегка или сильно растянута ресничным пояском, а не жидкостью изнутри, поэтому величина внутрихрусталикового давления не достигает порогового уровня.

При полном погружении хрусталика в инкубационный раствор с нулевым осмотическим давлением происходило максимальное увеличение его объёма в основном за счёт диффузии. Это говорит о том, что в норме в хрусталике, по-видимому, имеется дополнительный физиологический избыток (запас) белков для осуществления такой диффузии жидкости. И наличие такого «физиологического запаса» осмотического давления в хрусталике, на наш взгляд, связано

с необходимостью обеспечить надёжность питания хрусталика даже при повышенном ВГД. Ведь в случае, например, доброкачественной офтальмогипертензии, вызванной возрастным ростом ригидности склеры, ВГД в ответ будет возрастать, что затруднит выведение отработанной ВВ наружу. В этом случае имеющийся внутри хрусталика физиологический запас «осмотического давления» позволит надёжно связывать большее количество «свежей» ВВ и надёжно обеспечивать метаболические процессы в здоровом хрусталике с помощью его эпителия даже при возрастном повышении уровня ВГД.

Недокоррекция миопии, а также её лечение с помощью мидриатиков приводят к длительному расслаблению ресничной мышцы и пониженному внутрихрусталиковому давлению [9,11,13]. Это состояние аккомодационной системы благоприятно для «насыщения» «свежей» ВВ внутрь хрусталика, но не позволяет в полной мере эффективно выводить из него «отработанную» ВВ. Затруднённое выведение из хрусталика «отработанной» ВВ вместе с растворёнными в ней шлаками может приводить к негативным последствиям. Фактически появляется предрасположенность для загрязнения хрусталика шлаками, что может провоцировать развитие катаракты и пресбиопии. Поэтому в офтальмологической практике недокоррекция в борьбе с адаптационной миопией не является в полной мере физиологически адекватным воздействием.

#### Выводы

1. Определяющим механизмом, обеспечивающим в норме питание хрусталика «свежей» ВВ, является активный ионнообменный транспорт с помощью  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы, локализованной в передне-капсульном эпителии хрусталика.

2. Изменение уровня внутрихрусталикового давления в разные фазы аккомодации является только дополнительным механизмом, помогающим удалить из хрусталика «отработанную» ВВ.

3. Онкотическое давление в окружающих хрусталик средах должно быть не ниже 30 мм рт.ст., чтобы наблюдалось постоянство внутрихрусталикового объёма, т.е. равенство объёма ВВ, приходящей внутрь хрусталика за счёт осмоса и выходящей наружу за счёт диффузии. Можно полагать, что поддержание этого порогового уровня онкотического давления в водянистой влаге задней камеры глаза в норме позволит более полно изучить влияние аккомодации на рефрактогенез при различных аметропиях, обосновать необходимость использования этих данных для выбора тактики рациональной оптической коррекции, торможения катарактального и пресбиопического процессов.

4. При длительной напряжённой работе вблизи хрусталик максимально округлен и внутрихрусталиковое давление максимально. Это частично снижает возможности нормального насыщения «свежей» ВВ внутри хрусталика. Возможный путь для более успешной борьбы с начальной катарактой и пресбиопией – обеспечение с помощью рациональной коррекции нормализации метаболических процессов за счёт исключения максимального округления хрусталика при продолжительной комфортной работе вблизи. Поэтому в офтальмологической практике сильная перекоррекция в борьбе с адаптационной миопией не является в полной мере физиологически адекватным воздействием.

5. При расслаблении ресничной мышцы объём продукции ВВ в её отростках уменьшается в три раза. Это приводит к снижению объёмов доставки «свежей» ВВ внутри хрусталика и к ослаблению метаболических процессов в нем. Поэтому нерациональная коррекция может также способствовать ускоренному развитию катаракты, особенно в глаукомных глазах в сочетании с миопией, т.к. уплощенное состояние хрусталика снижает эффективность исполнительных механизмов удаления «отработанной» ВВ. Поэтому в офтальмологической практике недокоррекция в борьбе с адаптационной миопией также не является в полной мере физиологически адекватным воздействием.

6. При расслаблении ресничной мышцы из-за уплощения и осаживания хрусталика кзади, он фактически «вдавливается» в стекловидную камеру, давление в которой повышается. Это приводит к затруднению процесса выведения «отработанной» ВВ из хрусталика в стекловидную камеру из-за повышения в ней давления [12-14].

7. Сформулирована важная гипотеза о том, что уровень внутриглазного давления выше 30 мм рт.ст. может быть физиологическим барьером не только для нормального питания хрусталика (способствовать развитию катаракты), но и, возможно, определённым

барьером для нормального функционирования механизма производства влаги в отростках ресничной мышцы при офтальмогипертензии или глаукоме. Клиническая проверка этой гипотезы может существенно расширить наши представления о физиологически обоснованном верхнем уровне целевого ВГД.

### Литература

1. **Аветисов С. Э.** Миопия как проявление приспособительной реакции организма / С. Э. Аветисов // Матер. XIX междунар. офтальмол. конгресса «Белые ночи». СПб, 2013. – С. 132-139.
2. **Ахманова М. А.** Компьютерная модель потоков жидкости внутри глаза человека / М. А. Ахманова, С. П. Домогатский, В. Ю. Евграфов // Биофизика. – 2011. – Т. 56, № 1. – С.129-135.
3. **Амханицкая Л. И.** Изменение стекловидного тела при различных патологических состояниях глазного яблока / Л. И. Амханицкая // Российская детская офтальмология. – 2014. – Т.2. – С. 41-50.
4. **Бессонов Б. И.** Физико-химические основы трансэпителиального транспорта ионов Na / Б. И. Бессонов, С. Буцук // М.: Наука. – 1991. – С.130.
5. **Вит В. В.** Строение зрительной системы человека / В. В. Вит // Одесса: Астропринт. – 2003. — С 664.
6. **Каган И. И.** Клиническая анатомия органа зрения / И. И. Каган, В.Н. Канюков // СПб.: Эскулап. —1999. — С. 192.
7. **Калинина Е. В.** Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. / Е. В. Калинина, Н. Н. Чернов, М. Д. Новичкова // Успехи биологической химии. – 2014. – Т. 54. – С. 299–348.
8. **Королёва И.А.** Метаболизм хрусталика: особенности и пути коррекции / И.А. Королёва, А.Е. Егоров // Клиническая Офтальмология. – 2015. – Т. 4. – С. 191-195.
9. **Кошиц И. Н.** Адаптационная миопия. Часть 1. Исполнительные механизмы роста оптической оси глаза в теории изменения ретинального дефокуса / И. Н. Кошиц, О.В. Светлова, М. Г. Гусева, Л. И. Балашевич, Ф. П. Макаров, М. Б. Эгембердиев // Офтальмол. журн. – 2016. – №6. – С. 45-58.
10. **Кошиц И. Н.** Адаптационная миопия. Часть 3. Взаимодействие физиологических механизмов наведения глаза на резкость с механизмами развития приобретенной «миопии» / И. Н. Кошиц, О.В. Светлова // Офтальмол. журн. – 2017. – №2. – С. 51-79.
11. **Кошиц И. Н.** Оптические особенности прохождения света через преломляющие структуры глаза / И. Н. Кошиц, О. В. Светлова, М. Г. Гусева, Д. В. Певко, М. Б. Эгембердиев // Глаз. – 2017. – №2. – С. 29-42.
12. **Кошиц И. Н.** Патогенез открытоугольной глаукомы и перспективные пути её стабилизации и профилактики / И. Н. Кошиц, О.В. Светлова, Ф.Н. Макаров // Сборник научн. трудов Всеросс. офтальмол. конф. с междунар. участием «Ерошевские чтения-2017», Самара. – 2017. – С.105-110.
13. **Кошиц И. Н., Светлова О. В.** Современные представления о теории аккомодации Гельмгольца: учебное пособие. // СПб.: ИД СПбМАПО, 2002. — 30 с.
14. **Кошиц И. Н.** Функционирование исполнительных механизмов аккомодации и развитие теории аккомодации Гельмгольца. Нормальная физиология глаза. / И. Н.

- Кошиц, О. В. Светлова, А. И. Горбань // СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова. – 2014. – С.160.
15. **Мальцев Э. В.** Биологические особенности и заболевания хрусталика / Э. В. Мальцев, К. П. Павлюченко // Одесса: «Астропринт», 2002. – С.499.
  16. **Рудницкий Л. В.** Глаукома и катаракта: лечение и профилактика. / Л. В. Рудницкий // СПб: Изд-во Питер. – 2012. – С. 130.
  17. **Светлова О. В.** Взаимодействие механизмов оттока водянистой влаги и аккомодации при миопии и глаукоме. Патологическая физиология глаза: монография / О. В. Светлова, И. Н. Кошиц, Г. А. Дроздова // СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2-е изд, испр. и доп. – 2016. – С.160.
  18. **Сычев Г. М.** Способ исследования транспортной функции хрусталика / Г. М. Сычев, О. Г. Гетто, А. И. Кобежиков, А. П. Якимов, В. Г. Безгачев, Н. П. Олейник / А.С. №1776395 от 23.11.1993 Бюл. № 43.
  19. **Baudouin C.** Detrimental effect of preservatives in eyedrops: implications for the treatment of glaucoma / C. Baudouin // Acta Ophthalmologica. – 2008. – Vol.86. №7. – P. 716-726.
  20. **Beebe D.C.** Counterpoint: the lens fluid circulation model – a critical appraisal / D.C. Beebe, R.J. Truscott // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2010. – Vol.51. №5. – P. 2306-2310.
  21. **Candia O.A.** Fluid circulation determined in the isolated bovine lens. / O.A. Candia, R. Mathias, R. Gerometta // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2012. – Vol.53. №11. – P.7087–7096.
  22. **Candia O. A.** Regional distribution of the Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> currents around the crystalline lens of rabbit / O. A. Candia, A. C. Zamudio // American Journal of Physiology - Cell Physiology. – 2002. – Vol. 282. – P.252-C262.
  23. **Delamere N. A.** Expression, regulation and function of Na,K-ATPase in the lens / N. A. Delamere, S. Tamiya // Progress in Retinal and Eye Research. – 2004. – Vol. 23. №6. – P. 593-615.
  24. **Donaldson P. J.** Functional imaging: new views on lens structure and function / P. J. Donaldson, A. C. Gry, B. R. Merriman-Smith // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. – 2004. – Vol.31. – P.890-895.
  25. **Donaldson P. J.** Point: A Critical appraisal of the lens circulation model — an experimental paradigm for understanding the maintenance of lens transparency? / P. J. Donaldson, L. S. Musil, R. T. Mathias // Investigative Ophthalmology & Visual Science. — 2010. — Vol. 51. №5. — P.2303-2306.
  26. **Fischbarg J.** Transport of fluid by lens epithelium / J. Fischbarg, F.P. Diecke, K. Kuang // American Journal of Physiology - Cell Physiology. — 1999. — Vol. 276. — P. 548-557.
  27. **Gao J.** Isoform-specific function and distribution of Na/K pumps in the frog lens epithelium / J. Gao, S.X. Yatsula, R.S. Wymore, R.T. Mathias // Journal of Membrane Biology. — 2000. — Vol.178. — P.89–101.
  28. **Mathias R. T.** The lens: local transport and global transparency / R. T. Mathias, J. L. Rae // Experimental Eye Research. — 2004. — Vol.78. №3. — P. 689-698.
  29. **Mathias R. T.** Physiological properties of the normal lens // R. T. Mathias, J. L. Rae, G. J. Baldo // Physiological Reviews. — 1997. — Vol. 77 — P.21–50.
  30. **Rae J. L.** Dye transfer between cells of the lens / J. L. Rae, C. Bartling, R. T. Mathias // Journal of Membrane Biology. — 1996. — Vol.150. №1. — P.89-103.

Поступила 06.09.2017

## Фізіологічні особливості водообмінних процесів в кришталиках тварин з урахуванням фази акомодатії

Л. В. Степанова, Г. М. Сичов, В. А. Кратасюк, О. В. Светлова

ФГАОУ ВО «Сибірський федеральний університет»; Красноярськ (Росія)

Хакаській державний університет ім. Н. Ф. Катанова; Абакан (Росія)

ФГБОУ ВО «Північно-Західний державний медичний університет ім. І. І. Мечникова»; Санкт-Петербург (Росія)

**Актуальність.** Традиційні уявлення про рух водянистої вологи в кришталику припускають її переміщення через капсулу кришталика всередину-назовні і її поверхневий розподіл в кришталиковій масі. Стверджується, що «свіжа» водяниста волога спрямовано дифундує із задньої камери всередину кришталика до його центру як через його передньо-капсульний епітелій, так і через задню стінку капсули. Потім водяниста волога переміщається уздовж слоїстих структур кришталика в напрямку екватора, де, імовірно, є найбільша активність Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-помпи. Виведення «відпрацьованої» водянистої вологи з сумки кришталика відбувається в усіх напрямках: як через передню, так і через задню частини капсули, а також через її екваторіальну область.

Однак ці уявлення не враховують фізіологічну особливість транспортних властивостей передньо-кап-

сульного епітелію, який здатний за рахунок наявної в ньому іонообмінної системи забезпечувати лише одностороннє надходження водянистої вологи: зовні - всередину. Не враховано також можливу зміну рівня внутрішньокришталикового тиску в різних фазах акомодатії, що може впливати на інтенсивність або спрямованість водного обміну.

**Мета роботи** – виявлення основних механізмів водообмінного процесу в кришталиках тварин з урахуванням фази акомодатії.

**Матеріал та методи.** Досліджено кришталики кроликів і великої рогатої худоби. Процеси транспорту рідини в кришталиках досліджували *in vitro* за змінами їх маси при зануренні в інкубаційні розчини з додаванням інгібітору Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФази або без нього. У першій частині досліджень *in vitro* кришталики частково (одні кришталики передньою поверхнею, інші –

задньою поверхнею) занурювали в розчини, що представляють омиваючі зовні кришталіків середовища. У другій частині дослідження *in vitro* кришталіки повністю занурювали в розчин, схожий за іонним складом з водянистою вологою, з різними за величиною осмотичними тисками. Напрямок руху рідкої вологи досліджували *in vivo* за переміщенням барвника методами біомікроскопії і «зупиненої дифузії».

**Результати.** Встановлено, що епітелій передньої поверхні капсули кришталіка кроликів і великої рогатої худоби підтримує транспорт водянистої вологи із задньої камери ока всередину кришталіка за рахунок роботи  $Na^+$ ,  $K^+$  -АТФази. Ця система активного іонного транспорту сприяє спрямованому переміщенню багатой на метаболіти «свіжої» водянистої вологи через передньо-капсульний епітелій від передньої поверхні капсули кришталіка до задньої.

Вперше нами виявлено, що в момент фази акомодациї повністю «близько» максимальне внутрішньокришталіковий тиск в капсулі кришталіка становить 6 мм рт. ст. Даний стан є динамічною рівновагою для кришталіка, тобто величина осмотичного тиску в 6 мм рт. ст. зрівноважує в кришталіку рівень механічного тиску капсули. Маса кришталіків відразу після енуклеації близька до їх початкової маси при величині осмотичного тиску в 6 мм рт. ст.

При погляді повністю «вдалину» сумка кришталіка розтягнута війковим пояском і мінімально стискає

внутрішньокришталіковій маси (мінімальний внутрішньокришталіковий тиск). Це сприяє інтенсивному надходженню всередину кришталіка «свіжої» водянистої вологи. Встановлено, що передньо-капсульний епітелій кришталіка підтримує транспорт водянистої вологи із задньої камери ока всередину кришталіка за рахунок роботи системи активного іонного транспорту  $Na^+$ ,  $K^+$  -АТФази. Важливо відзначити, що її пересування всередині кришталіка відбувається за осмотичним градієнтом і завжди односпрямовано від його переднього епітелію до задньої стінки капсули. Дифузійне переміщення водянистої вологи всередині кришталіка відбувається не через його ядро, а вздовж поверхонь його внутрішньокришталікових концентричних волокон з наступною дифузійною «відпрацьованою» водянистої вологи назовні через задню поверхню кришталіка в скловидну камеру. Даний механізм мікрозмін обсягу і / або заміщення водянистої вологи в кришталіку можна уявити як механізм «флуктуації» об'єму кришталіка.

**Висновок.** Представлена теорія «флуктуації об'єму кришталіка» в моменти акомодациї «близько-вдалину» підтверджена в експериментах на тваринах *in vivo* та *in vitro*. Розуміння цього фізіологічного процесу дозволяє спрямованно вибирати тип раціональної корекції для більш ефективного гальмування і профілактики катарактального або пресбіопіческого процесу.

**Ключові слова:** кришталік тварини, транспорт рідкої вологи, осмос, дифузія, тиск в кришталіку, акомодация, катаракта, профілактика, раціональна корекція