

## **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ПИГМЕНТНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА**

**Гистологическими и электронно-микроскопическими методами изучена структура клеток пигментного эпителия сетчатки крыс линии WAG/Rij. Рекомендовано использовать новую потенциально полезную экспериментальную модель для разработки методов лечения дегенеративных заболеваний сетчатки глаза.**

**Ключевые слова:** дегенерация сетчатки, клетки пигментного эпителия, крысы линии WAG/Rij.

### **Актуальность**

В век постоянно увеличивающихся нагрузок на зрительный анализатор весьма злободневную проблему представляют заболевания сетчатки глаз дегенеративно-дистрофического характера, имеющие наследственную или приобретенную природу [3, 13]. Существует множество экспериментальных моделей животных с пигментной дегенерацией сетчатки, в том числе линии собак, кошек, кур, свиней, мышей и крыс [10]. Крысы линии WAG/Rij также характеризуются врожденной двусторонней дегенерацией клеток пигментного эпителия сетчатки (ПЭС) [11]. Известно, что животные рождаются зрячими, но постепенно слепнут за счет деструкции фоторецепторного слоя сетчатки. В какой мере заболевание животных по своим признакам подобно болезни людей, неизвестно. Анализ этого вопроса серьезно затрудняет недостаток аутопсического материала – сетчаток больных людей на разных стадиях развития заболевания. Результаты изучения структуры клеток пигментного эпителия сетчатки глаза крыс линии WAG/Rij могут внести определенный вклад, как в фундаментальную, так и в прикладную науку для разработки новых методов лечения дегенеративных заболеваний сетчатки глаза человека.

### **Цель исследования**

Выявить особенности структурной организации клеток пигментного эпителия сетчатки крыс линии WAG/Rij.

### **Материалы и методы исследования**

При проведении исследований соблюдали «Правила проведения работ с использова-

нием экспериментальных животных» (приказ Минвуза от 13 ноября 1984 г. №724). У 10 крыс (линий Wag/Rij и Wistar) обоего пола в возрасте 6 – 12 месяцев энуклеировали глазные яблоки (20 глаз). Крысы линии Wistar использовались для сравнения как контрольная группа. Крысы содержались в одинаковых условиях со стандартным рационом питания. Для гистологического исследования энуклеированные глаза фиксировали в 10% забуференном формалине по Лилли, после обезвоживания в серии спиртов возрастающей концентрации заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 и окрашивали гематоксилином и эозином, по методам Ван-Гизон, по Нислю. Для электронной микроскопии кусочки сетчатки фиксировали в 2,5% глутаральдегиде на какодилатном буфере (рН 7,2–7,4) с дофиксацией в 1% OsO<sub>4</sub>, обезвоживали и заливали в эпон-812 по общепринятой методике. Ультратонкие срезы контрастировали 2% водным р-ром уранилацетата и цитратом свинца по Рейнольдсу и изучали в трансмиссионном микроскопе Jeol-100XB (Япония) при увеличениях 5800–30 000.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

На гистологических препаратах глазных яблок крыс линии Wistar структура сетчатки была характерна для нормы. У крыс линии Wag/Rij был зафиксирован факт деструкции отдельных клеток ПЭС и отсутствие пигментных гранул в сохранившихся клетках. Более подробные отличия были выявлены на ультраструктурном уровне.

У крыс линии Wistar клетки ПЭС располагались в один слой. Это полярные клетки, одна сторона которых (базальная, или склеральная) обращена к сосудистой оболочке, а другая (апикальная или витреальная) – к фоторецепторным клеткам (ФР). Ядра клеток имели в основном овальную форму, нередко вытянутую в горизонтальной плоскости. В светлом матриксе карิโอплазмы среди равномерной мелкой зернистости четко выделялись осмиофильные скопления хроматина и ядрышко. Цитоплазма клеток была богата органеллами. Митохондрии овальной формы, с тонкими светлыми кристами, располагались преимущественно в базальной части клеток. Клетки содержали как гладкий, так и гранулярный эндоплазматический ретикулум (ГЭР). Гладкий эндоплазматический ретикулум (ГлЭР) был представлен развитой сетью трубчатых и везикулярных форм, которые составляли большую часть мембранных элементов клетки и занимали значительную часть цитоплазмы от базальной до апикальной зоны. Но они не проникали в удлиненные тонкие апикальные отростки, очень плотно обхватывающие наружные сегменты ФР. Немногочисленные короткие каналы ГЭР обнаруживались в основном в апикальной части клеток ПЭС. Здесь же определялось множество осмиофильных пигментных гранул (меланосомы или меланопротеиновые гранулы) расположенных в один-два ряда. В цитоплазме ПЭС встречалось множество мелких лизосом и фагоцитированные фрагменты наружных сегментов ФР. Кроме описанных органелл выявлялись пластинчатый аппарат Гольджи, миелоидные тела, диффузно расположенные рибосомы и полисомы.

У крыс линии Wag/Rij овальной формы ядра клеток ПЭС были без выраженных изменений. Цитоплазма пигментных клеток содержала почти все органеллы, свойственные пигментному эпителию сетчатки, кроме меланосом. Но нужно отметить, что в клетках ПЭС крыс линии Wag/Rij, в отличие от ПЭС крыс линии Wistar, почти все органеллы претерпевали какие-либо изменения. Митохондрии округлой формы были сильно набухшими, происходила или их вакуолизация с полным просветлением матрикса и деструкцией крист, или же помутнение матрикса с разрушением крист. Опреде-

лялись также митохондрии с признаками жирового перерождения. Кристы хорошо просматривались только в отдельных митохондриях. Наблюдалась потеря двухконтурности наружной мембраны и разрушение ее на отдельных участках. Основная масса цитоплазмы клеток ПЭС уплотнялась. Цистерны ГлЭР были представлены в виде многочисленных трубчатых и везикулярных форм разных размеров с электронно-плотным содержимым. В апикальной части клетки некоторые каналы ГлЭР сильно раздувались в виде больших везикул со светлым содержимым. Немногочисленные цистерны ГЭР также расширялись. Рибосомы и полисомы были диффузно рассеяны по всей цитоплазме клетки. Лишь в отдельных клетках встречались единичные мелкие лизосомы и пластинчатый аппарат Гольджи. На апикальном полюсе клеток почти полностью отсутствовали специфические органеллы – пигментные гранулы – меланосомы. Вместо них определялись единичные липофусциновые гранулы. В клетках отсутствовали специфичные фагосомы, содержащие фрагменты наружных сегментов ФР. Утолщенные и укороченные микровиллы клеток ПЭС большей частью были не способны на характерное плотное обхватывание наружных сегментов ФР. Фрагменты наружных сегментов ФР теряли правильную ориентацию расположения. Поэтому межклеточные взаимоотношения клеток ПЭС с фоторецепторными нейронами нарушались. Базальная мембрана клеток ПЭС и мембрана Бруха, на которой располагаются клетки ПЭС, просматривались нечетко вследствие их набухания.

Ранее придавали основное значение двум функциям пигментного эпителия – как светопоглощающего экрана и неотъемлемого участника в цикле восстановления родопсина [2, 6, 14]. На самом деле клетки ПЭС представляют собой полифункциональную систему, от полноценной деятельности которой зависит жизнеспособность сетчатки и всей зрительной системы [1, 5, 12]. Дисфункция клеток ПЭС приводит к дегенерации всей сетчатки глаза [3, 13]. Выполнение многочисленных функций ПЭС осуществляется благодаря высокоспециализированной структурной организации его клеток [5]. Меланосомы пигментного эпителия, поглощая избыточные кванты света, повышают разрешающую способность фоторецепторных ней-

ронов, защищают сетчатку от повреждающего действия света и ультрафиолетовых лучей. Меланин также играет защитную роль, предохраняя наружные сегменты ФР от перекисного окисления липидов [4]. Факт почти полного разрушения меланосом в клетках ПЭС крыс линии Wag/Rij, без сомнения, свидетельствует о выпадении вышеперечисленных функций клеток, следствием которого является расстройство зрительной системы глаза.

Клетки ПЭС переваривают фагоцитированные части наружных члеников палочек и колбочек ФР благодаря наличию хорошо развитой лизосомной системы. В пигментных клетках крыс линии Wag/Rij лизосомы определялись редко, что является доказательством ослабления катаболизма в данных клетках. Но катаболические и метаболические процессы в клетках неразделимы. Наряду с эстерификацией, изомеризацией, хранением и транспортом витамина А в клетках ПЭС осуществляется и синтез межклеточного матрикса: межфоторецепторного матрикса и базального компонента базальной мембраны [8]. Клетками ПЭС осуществляется транспорт большого количества метаболитов к зрительным нейронам и от них в направлении сосудистой оболочки [5, 7, 9, 12]. Учитывая вышеперечисленные данные, нельзя отрицать, что

множество патоморфологических изменений, выявленных нами в клетках ПЭС глаза крыс линии Wag/Rij, не могли не отразиться отрицательно на ходе физиологических процессов в сетчатке глаза.

Таким образом, клетки пигментного эпителия сетчатки глаза крыс линии Wag/Rij характеризуются признаками выраженных дегенеративных процессов цитоплазмы и большинства органелл, которые ведут обычно к нарушению клеточных взаимоотношений в сетчатке. Такие процессы всегда сопровождаются нарушением функций глаза. Новую потенциально полезную экспериментальную модель дегенерации пигментных клеток сетчатки крыс линии Wag/Rij рекомендуем использовать для разработки методов лечения дегенеративных заболеваний сетчатки глаза человека. Выбрав правильную тактику лечебных мероприятий направленных, в первую очередь, на восстановление и поддержание состояния клеток пигментного эпителия сетчатки, а также восстановление межклеточных контактов с фоторецепторными клетками, вероятно, можно добиться в какой-либо мере стабилизации физиологических процессов в сетчатке глаза пациентов с пигментными ретинитами (врожденное заболевание) и возрастной макулодистрофией (приобретенное заболевание).

18.09.2012

**Список литературы:**

1. Вит В.В. Строение зрительной системы человека. – Одесса: Астропринт. – 2003. – 664с.
2. Донцов А.Е., Островский М.А. Пигментный эпителий (структурные, физиологические и биохимические особенности) // Итоги науки и техники. Физиология человека и животных. – 1984. – Т.28. – С.127.
3. Муслимов С. А. Морфологические аспекты регенеративной хирургии. – Уфа: Башкортостан, – 2000. – 168с., илл. 48с.
4. Островский М.А., Зак П.П., Федорович И.Б., Донцов А.Е. Защита структур глаза от светового повреждения и оптимизация зрительных функций (Физиологические, медицинские и гигиенические аспекты) // Вест. АН СССР. -1988.- №2. – 63 с.
5. Панова И.Г. Цитоструктура и цитохимия пигментного эпителия сетчатки // Серия биологическая. – 1993. – №2. – С.165-190.
6. Blanks J.C. Morphology of the retina // In Ryan S.J., Ogdan T.E. (eds) Retina St. Louis, CV Mosby. – 1989. – Vol. 1. – P.37-52.
7. Luty G, Grunwald J, Majji AB, Uyama M, Yoneya S. Changes in choriocapillaris and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration // Mol Vis. – 1999. – Nov. – Vol.3. – P.5-35.
8. Hewitt A., Adier R. The retinal pigment epithelium and interphotoreceptor matrix: structure and specialized functions // In: Retina (eds S. J. Ryan, T. Ogdan). – C.V. Mosby, St-Louis, 1989. – P.57-64.
9. Hicks D., Malecaze F. Physiology de l'epithelium pigmentaire. Encicl Ved Chir (Paris-France) // Ophtalmologie. – 1990. – Vol.21 – 20. – №30. – P.4.
10. Rivas M.A., Vecino E. Animal models and different therapies for treatment of retinitis pigmentosa // Histol. Histopathol. – 2009. – Vol. 24. – No. 10. – P. 1295-1322.
11. O'Steen W.K., Donnelly J.E. Chronologic analysis of variations in retinal damage in two strains of rats after short-term illumination // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. -1982. – Feb. Vol.22. – №2. – P.252-255.
12. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function // Physiological Reviews. – 2005. – Vol.85. -№3. – P.845–881.
13. Zarbin MA. Age-related macular degeneration: review of pathogenesis // Eur. J. Ophthalmol. – 1998. – Oct-Dec. – Vol.8. -№4. – P.199-206.
14. Wald G. The molecular basis of visual excitation // Nature. – 1968. – Vol.219. – P.800.

Сведения об авторах:

**Мусина Ляля Ахияровна**, вед.науч.сотр.отдела морфологии ФГБУ Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» Министерства здравоохранения РФ  
450075, г.Уфа, ул.Р.Зорге, 67/1, e-mail: morphoplant@mail.ru

**Балхиева Лилия Ханифовна**, аспирант кафедры морфологии и физиологии человека и животных биологического факультета Башкирского государственного университета

**Хисматуллина Зухра Рашидовна**, зав.кафедрой морфологии и физиологии человека и животных биологического факультета Башкирского государственного университета, профессор,  
доктор медицинских наук

**Табанакова Татьяна Матвеевна**, магистр 2 года обучения кафедры морфологии и физиологии человека и животных биологического факультета Башкирского государственного университета  
450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32

**UDC 617.735**

**Musina L.A., Balkhiyeva L.Kh., Khismatullina Z.R., Tabanakova T.M.**

**THE EXPERIMENTAL MODEL OF THE EYE RETINAL PIGMENTAL DEGENERATION**

The pigmental epithelial cell structure of WAG/Rij rat strain retina has been studied with histological and electron-microscope methods. A new potentially useful experimental model was recommended to develop the methods for the treatment of the eye retinal degenerative diseases.

Key words: degeneration of retina, pigmental epithelial cells, WAG/Rij rat strain

**Bibliography:**

1. Vit V.V. Structure of visual system of the person.– Odessa: Astroprint. – 2003. – 664p.
2. Dontsov A.E., Ostrovskiy M.A. Pigmental epithelium (structural, physiological and biochemical features) // Results of science and techniques. Physiology of human and animals. – 1984. – Vol.28. – P.127.
3. Muslimov S.A. Morphological aspects of regenerative surgery. – Ufa: Bachkortostan, – 2000. – 168p.
4. Ostrovskiy M.A., Zak P.P., Fedorovich I.B., Dontsov A.E. Protection of structures of an eye against light damage and optimization of visual functions (Physiological, medical and hygienic aspects) // Vest. AN SSSR. -1988.– №2. – 63p.
5. Panova I.G. Cytostructure and cytochemistry of retina pigmental epithelium // Biological series. – 1993. – №2.– P.165-190.
6. Blanks J.C. Morphology of the retina // In Ryan S.J., Ogden T.E. (eds) Retina St.Louis, CV Mosby. – 1989. – Vol. 1. – P.37-52.
7. Luty G, Grunwald J, Majji AB, Uyama M, Yoneya S. Changes in choriocapillaris and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration // Mol Vis. – 1999. – Nov. – Vol.3. – P.5-35.
8. Hewitt A., Adier R. The retinal pigment epithelium and interphotoreceptor matrix: structure and specialized functions // In: Retina (eds S. J. Ryan, T. Ogden). – C.V. Mosby, St-Louis, 1989. – P.57-64.
9. Hicks D., Malecaze F. Physiology de l'epithelium pigmentaire. Encicl Ved Chir (Paris-France) // Ophtalmologie. – 1990. – Vol.21 – 20. – №30. – P.4.
10. Rivas M.A., Vecino E. Animal models and different therapies for treatment of retinitis pigmentosa // Histol. Histopathol.– 2009.– Vol. 24.– No. 10.– P. 1295-1322.
11. O'Steen W.K., Donnelly J.E. Chronologic analysis of variations in retinal damage in two strains of rats after short-term illuminatio // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. -1982. – Feb. Vol.22. – №2. – P.252-255.
12. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function // Physiological Reviews. – 2005. – Vol.85. -№3. P.845–881.
13. Zarbin MA. Age-related macular degeneration: review of pathogenesis // Eur. J. Ophthalmol. – 1998.– Oct-Dec.– Vol.8. - №4. P.199-206.
14. Wald G. The molecular basis of visual excitation // Nature. – 1968. – Vol.219. – P.800.