

ХАРАКТЕРИСТИКА РАДИАЛЬНЫХ ГЛИОЦИТОВ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС С ПИГМЕНТНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИЕЙ

Иммуногистохимическими, электронно-микроскопическими и морфометрическими методами установлено, что радиальные глиоциты сетчатки глаза экспериментальных крыс линии WAG/Rij с различиями генотипа по локусу Taq 1A DRD2 характеризуются деструктивными и пролиферативными изменениями, сопровождающимися разной степенью экспрессии кислого глиального фибриллярного белка GFAP.

Ключевые слова: крысы линии WAG/Rij, дегенерация сетчатки, радиальные глиоциты.

Актуальность

Ранее нами было установлено, что у гомозиготных крыс линии WAG/Rij с различиями генотипа по локусу Taq 1A гена рецептора дофамина второго типа (DRD2) патоморфологические изменения дистрофически-деструктивного типа в сетчатке глаза более выражены у крыс с генотипом A_2A_2 [1]. Наибольшим структурным изменениям с нарушением клеточных взаимоотношений между ними подвергались клетки пигментного эпителия сетчатки и нервосенсорные клетки – фоторецепторы. У крыс линии WAG/Rij с недостаточностью дофаминергической системы к развитию дистрофических и деструктивных процессов в клетках сетчатки глаза мог привести дисбаланс между мелатонином и дофамином, одним из множества нейромедиаторов, регулирующих обновление наружных сегментов фоторецепторных нейронов, участвующих в функционировании рецептивных полей, в антагонистических взаимодействиях его с мелатонином при дегенеративных изменениях в сетчатке, а также в возникновении электрофизиологических феноменов, которые их сопровождают [14], [15]. В то же время, ранее к одной из причин дегенерации слоя пигментного эпителия сетчатки глаз у крыс линии WAG/Rij относили факт недостаточного количества правильно функционирующих радиальных глиоцитов сетчатки [10], [12].

Цель исследования

Выявление морфо-функциональных особенностей радиальных глиоцитов сетчатки глаза гомозиготных крыс линии WAG/Rij с различиями генотипа по локусу Taq 1A гена рецептора дофамина второго типа (DRD2).

Материалы и методы исследования

При проведении исследований соблюдали «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ Минвуза от 13 ноября 1984 г. №724). У 10 крыс линии WAG/Rij обоего пола в возрасте 6–12 месяцев двух генотипов, отличающихся по локусу Taq 1A DRD2 (10 глаз крыс с генотипом A_1A_1 , 10 глаз крыс с генотипом A_2A_2) и у 5 крыс линии Wistar (10 глаз), составивших контрольную группу, энуклеировали глазные яблоки и фиксировали в 10% забуференном формалине по Лилли, после обезжизивания в серии спиртов возрастающей концентрации заливали в парафин по общепринятой методике. Маркер глиальных клеток кислый глиальный фибриллярный белок (GFAP) выявляли на парафиновых срезах толщиной 5 мкм согласно протоколу производителя, используя мышинные моноклональные антитела (Santa Cruz Biotechnology) и универсальную систему вторичной детекции для визуализации (Novocastra™). Иммуногистохимическое окрашивание производили в гистостейнере LEICA BOND MAX (Германия). Исследовали сетчатку глаз крыс линии WAG/Rij, имеющих различия генотипа по локусу Taq 1A DRD2 (10 глаз крыс с генотипом A_1A_1 , 10 глаз крыс с генотипом A_2A_2) и сетчатку глаз крыс линии Wistar (10 глаз) – контрольная группа. Срезы докрашивали гематоксилином и заключали в бальзам. На микроскопе AXIO IMAGER-Z1 фирмы «CARL ZEISS» (Германия) при увеличении X400 измеряли площадь (в μm^2), занимаемую экспрессированным GFAP в одном поле зрения. Для каждого глаза всех групп крыс (всего по 10 глаз в каждой группе) использовали по 50 полей зрения. Всего сде-

лано 1500 измерений. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0. Достоверность различий определяли с помощью параметрического критерия Стьюдента. Для электронной микроскопии кусочки сетчатки фиксировали в 2,5% глютаральдегиде на какодилатном буфере (pH 7,2–7,4) с дофиксацией в 1% OsO₄, обезживали 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

Деструктивные изменения сетчатки гомозиготных крыс линии WAG/Rij с различиями генотипа по локусу Taq 1A DRD2 характеризовались закономерно убывающей степенью выраженности в перечисленной последовательности: пигментные клетки эпителия сетчатки – нейросенсорные клетки – ассоциативные нейроны – радиальная глия – ганглиозные нейроны. Наибольшим структурным изменениям с нарушением клеточных взаимоотношений между ними подвергались клетки пигментного эпителия сетчатки и нейросенсорные клетки – фоторецепторы. У крыс линии WAG/Rij вне зависимости от генотипа дегенерация клеток пигментного эпителия сетчатки с нарушением клеточных взаимоотношений с фоторецепторными нейронами сопровождалась сохранением более статичных плоских синапсов и исчезновением характерных для сетчатки ленточных синапсов, что является одним из непосредственных доказательств нарушения функций зрительного анализатора у крыс. Реакция на повреждение пигментных клеток и нейронов глиальных элементов сетчатки глаза, а именно радиальных, или так называемых Мюллеровских глиоцитов, у крыс линии WAG/Rij с генотипами A₁A₁ и A₂A₂ по локусу Taq 1A гена DRD2 была неоднозначной и характеризовалась проявлением как регрессивных, так и прогрессивно-пролиферативных изменений.

Все эти морфофункциональные нарушения сопровождалось изменениями степени экспрессии в ткани сетчатки кислого глиального фибриллярного белка GFAP, выполняющего

роль маркера глиоза [4]. В сетчатке глаза у крыс линии Wistar иммуноцитохимически белок GFAP определялся в незначительном количестве только во внутренней части Мюллеровых глиоцитов (рис. 1, цветная вкладка). Такая картина обычно характерна для нормы [8, 11].

Деструктивные процессы клеточных элементов, обнаруженные в сетчатке глаза крыс линии WAG/Rij, приводили к усилению в ней экспрессии кислого глиального фибриллярного белка и распределению его почти во всех слоях сетчатки (рис. 2, рис. 3, цветная вкладка). Выраженный синтез GFAP в нервной ткани обычно является ответной реакцией на деструкцию нейронов и играет основную роль в формировании глиального рубца [2], [5], [9], [13]. Результаты наших исследований показали, что в сетчатке глаза крыс с генотипом A₂A₂ определяется более выраженная экспрессия маркера глиоза кислого глиального фибриллярного белка GFAP (3307,61±91,59 мкм²) в сравнении с сетчаткой крыс с генотипом A₁A₁ (1871,77±30,51 мкм² при p<0,01) и сетчаткой крыс линии Wistar (840,75±13,83 мкм² при p<0,001), что несомненно является свидетельством более значительных разрушений нервных клеток и пролиферации радиальной глии в сетчатке крыс с генотипом A₂A₂.

Электронно-микроскопические исследования показали, что не только пролиферация, но и деструкция радиальных глиоцитов вносит значительный вклад в дегенерацию нейронной популяции сетчатки, так как нарушается их изоляция, трофическое обеспечение, и, если можно так назвать, их «опора». Пролиферативная активность радиальных глиоцитов приводит к изоляции очагов деструкции от неизменных тканей, что является отражением адаптивных реакций организма при повреждениях [6], [7]. Полученные нами данные о состоянии радиальных глиоцитов сетчатки крыс линии WAG/Rij согласуются с результатами исследований А.М.Мусиной [3], полученными при изучении нейроно-глиальных взаимоотношений в соматосенсорной коре головного мозга у крыс линии WAG/Rij с различиями в аллельной структуре гена рецептора дофамина второго типа. Согласно этим данным в соматосенсорной коре у крыс с генотипом A₁A₁ обнаруживается большая плотность нейронов, меньшее количество клеток глии и свободной глии, и соответственно у крыс с генотипом A₂A₂ меньшая

плотность нейронов, большее количество клеток глии и свободной глии, замещающей погибшие нейроны в нервной ткани.

Таким образом, радиальные глиоциты в сетчатке глаза экспериментальных крыс линии WAG/Rij с различиями генотипа по локусу Taq 1A гена рецептора дофамина второго типа (DRD2) характеризуются как деструктивными, так и прогрессивно-пролиферативными изменениями, сопровождающимися разной степенью

экспрессии кислого глиального фибриллярного белка GFAP. Установленные качественные и количественные различия радиальных глиоцитов сетчатки глаза у крыс линии WAG/Rij двух генотипов позволяют нам предположить, что большая степень замещения глиальными элементами разрушенных нейронов, характерная для сетчатки глаза крыс с генотипом A_2A_2 , должна проявляться и большей степенью ослабления функции зрительной системы глаза.

22.09.2014

Список литературы:

1. Балхиева, Л.Х. Морфология сетчатки крыс линии WAG/Rij с различиями генотипа по локусу Taq 1A DRD2 / Л.Х. Балхиева, З.Р. Хисматуллина, Л.А. Мусина // Вестник БГАУ. – 2013. – №1 (25). – С. 47–49.
2. Реакция радиальных глиоцитов крыс при фотоповреждении на фоне коррекции асковертином как показатель репарационных механизмов сетчатки / С.В. Логвинов [и др.] // Актуальные проблемы учения о тканях. – Санкт-Петербург, 2006. – С. 58–59.
3. Мусина, А.М. Количественные характеристики нейроно-глиальных взаимоотношений в соматосенсорной коре у крыс линии WAG/Rij / А.М. Мусина // Морфология. – 2010. – Т.137, №4. – С. 136.
4. Иммуногистохимическое выявление астроцитов головного мозга при черепно-мозговой травме / Е.Г. Сухорукова [и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. – 2010. – №1. – С. 14–16.
5. Чехонин, В.П. Иммунохимический анализ нейроспецифических антигенов / В.П. Чехонин, Т.Б. Дмитриева, Ю.А. Жиров. – 2000. – М.: Медицина – 416 с.
6. Патогенетическая роль нарушения проницаемости гематоэнцефалического барьера для нейроспецифических белков при перинатальных гипоксически-ишемических поражениях ЦНС / В.П. Чехонин [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т.3, №2. – С. 50–56.
7. Шехтер, А.Б. Воспаление, адаптивная регенерация и дисрегенерация (анализ межклеточных взаимодействий) / А.Б. Шехтер, В.В. Серов // Архив патологии. – 1991. – С. 7–14.
8. Eng, L.F. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000) / L.F. Eng, R.S. Ghirnikar, Y.L. Lee // Neurochem. Res. – 2000. – №9–10. – P. 1439–1451.
9. Immunohistochemical investigations on the course of astroglial GFAP expression following human brain injury / R. Hausmann [et al.] // Int. J. Legal. Med. – 2000. – V.113, №2. – P. 70–75.
10. Retinitis pigmentosa / Y.L. Lai [et al.] // Am. J. Pathol. – 1980. – №98. – P. 281–284.
11. Lewis, G.P. Changes in the organization of cytoskeletal proteins during retinal degeneration induced by retinal detachment / G.P. Lewis, B. Matsumoto, S.K. Fisher // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1995. – №36. – P. 2404–2416.
12. O'Steen, W.K. Chronologic analysis of variations in retinal damage in two strains of rats after short-term illumination / W.K. O'Steen, J.E. Donnelly // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1982. – Vol.22, №2. – P. 252–255.
13. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and CD34 expression in the human optic nerve and brain in methanol toxicity / N. Turkmen [et al.] // Adv. Ther. – 2008. – V.25, №2. – P. 123–132.
14. Intraretinal signaling by ganglion cell photoreceptors to dopaminergic amacrine neurons / D.Q. Zhang [et al.] // Proceedings of the National Academy of Science, USA. – 2008. – №105. – P. 14181–14186.
15. Witkovsky, P. Dopamine and retinal function / P. Witkovsky // Documenta Ophthalmologica. – 2004. – №108. – P. 17–40

Сведения об авторах:

Мусина Ляля Ахияровна, ведущий научный сотрудник отдела морфологии
Всероссийского центра глазной и пластической хирургии Минздравсоцразвития России

450075, г. Уфа, ул. Р.Зорге, 67/1, e-mail: morphoplant@mail.ru

Хисматуллина Зухра Рашидовна, заведующий кафедрой физиологии человека
и зоологии биологического факультета Башкирского государственного университета,
профессор, доктор биологических наук

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

Байгильдин Самат Сагадатович, магистр 1 года обучения кафедры физиологии человека и зоологии
Башкирского государственного университета

Вахитова Эльза Альбертовна, магистр 2 года обучения кафедры и физиологии человека и зоологии
Башкирского государственного университета

450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32