

Л.А. Мусина¹, С.С. Байгильдин^{2,4}, О.В. Дюдьбин³, И.Ф. Мусин⁴
**ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА
КРЫС ЛИНИИ WAG/RIJ – ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ РЕТИНИТА**

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

²ФБУН «УфНИИ Медицины труда и экологии человека», г. Уфа

³ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»

Минсельхоза России, г. Уфа

⁴ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет»

Минобрнауки России, г. Уфа

Цель исследования. Выявление особенностей ультраструктурной организации сетчатки глаза у крыс линии WAG/Rij.

Материал и методы. Электронно-микроскопическими методами была исследована сетчатка глаза крыс линии WAG/Rij, являющихся экспериментальной моделью пигментного ретинита с рождения и до половозрелости.

Результаты и обсуждение. Установлены определенные закономерности структурных изменений сетчатки по мере взросления животных. К концу 3-й недели после рождения в сетчатке крыс начинают определяться ультраструктурные признаки дистрофических и деструктивных процессов, усиливающихся с возрастом и приводящих к дегенерации сетчатки.

Заключение. Раннее проявление признаков патоморфологических изменений позволяет использовать крыс линии WAG/Rij для экспериментов не только в их половозрелом, но и в юном возрасте, когда можно предпринять попытку лечебного воздействия на сетчатку для предупреждения развития дегенеративного заболевания.

Ключевые слова: сетчатка, дегенерация, пигментный ретинит, крысы линии WAG/Rij.

L.A. Musina, S.S. Baigildin, O.V. Dyudbin, I.F. Musin
**ELECTRON MICROSCOPIC STUDY OF THE WAG/RIJ LINE RATS RETINA –
EXPERIMENTAL MODEL OF RETINITIS**

The aim of the study is to identify the features of the ultrastructural organization of the WAG/Rij rat retina.

Material and methods. The retinas of WAG/Rij rats, which are an experimental model of retinitis pigmentosa, have been studied by electron microscopic methods from birth to maturity.

Results and discussion. Certain patterns of structural changes in the retina have been established as the animals get older. By the end of the 3rd week after birth, ultrastructural signs of dystrophic and destructive processes begin to be determined in the retina of rats, which intensify with age and lead to retinal degeneration.

Conclusion. The early manifestation of signs of pathomorphological changes makes it possible to recommend WAG/Rij rats for experiments not only at puberty, but also at a young age, when an attempt can be made to treat the retina to prevent the development of degenerative disease.

Key words: retina, degeneration, retinitis pigmentosa, WAG/Rij rats.

Пигментный ретинит или возрастная макулярная дегенерация являются основной причиной необратимой слепоты [3,4]. При разработке методов лечения можно использовать экспериментальные модели животных, одними из которых являются крысы линии WAG/Rij с пигментным ретинитом [5]. Актуальность темы исследования обусловлена необходимостью детального понимания процессов развития заболевания.

Цель исследования – выявление особенностей ультраструктурной организации сетчатки глаза крыс линии WAG/Rij.

Материал и методы

Из фиксированных в 10% растворе формалина (24 часа) глазных яблок крыс линии WAG/Rij вырезали кусочки сетчатки вместе со склерой и сосудистой оболочкой в центральной и средней зонах сетчатки, исключая периферическую часть и фовеа. Ткани фиксировали в 2,5% растворе глютаральдегида на какодилатном буфере (pH 7,2-7,4) 2 часа с последующей постфиксацией в 1% растворе OsO₄ (1 час при +4°C), обезвоживали в батарее

спиртов возрастающей концентрации (этанол) и абсолютном ацетоне, заливали в смолу эпон-812 и полимеризовали при температуре 37°C и 60°C в термостате. На ультрамикротоме LKB-III 8800 (Швеция) изготавливали ультратонкие срезы и контрастировали в 2% водном растворе уранилацетата и цитрате свинца по Рейнольдсу. Срезы исследовали и фотографировали в просвечивающем электронном микроскопе Jem-1011 (Япония, JEOL) при увеличениях 2500-20000.

Результаты и обсуждение

Сетчатка крыс линии WAG/Rij в первые сутки после рождения не отличается от сетчатки крыс других линий [2]. В раннем постнатальном развитии сетчатка крыс проходит через определенную последовательность стадий и достигает относительной зрелости к концу 2-й недели жизни крыс. В конце 3-й недели начинают определяться признаки дистрофических и деструктивных процессов в виде вакуолизации и деструкции наружных сегментов фоторецепторов (ФР), потери их связи с пигментным эпителием сетчатки

(ПЭС), набухания цитоплазмы Мюллеровских радиальных глиоцитов (РГ), вакуолизации и разрушения органелл в цитоплазме ассоциативных нейронов во внутреннем ядерном слое (ВЯС) (рис. 1А), а также набухания и де-

струкции митохондрий в клетках ПЭС (рис. 1Б). Деструктивные и дистрофические изменения прогрессируют с возрастом вплоть до разрушения отдельных нейронов и замещения их Мюллеровскими клетками.

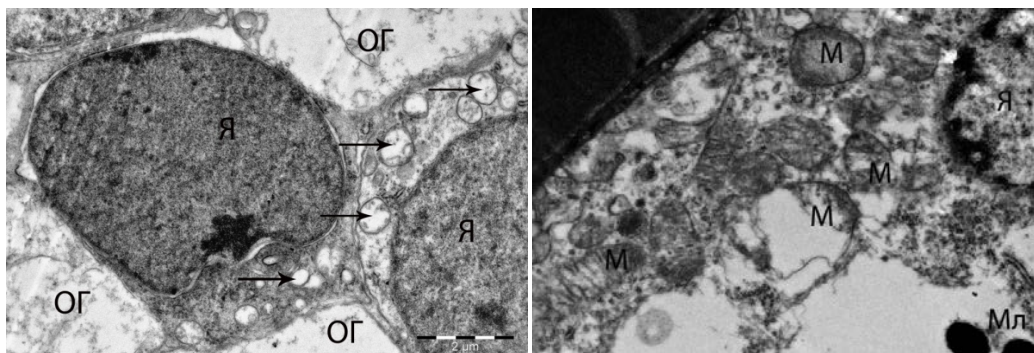


Рис. 1. Электронные микрофотографии: ультраструктура сетчатки крысы линии Wag/Rij на 20-ые сутки после рождения; А (слева) – вакуолизация в цитоплазме нейронов во внутреннем ядерном слое; Б (справа) – набухание и деструкция митохондрий в цитоплазме ПЭС. Примечание: Увел. $\times 8000$. Я – ядро; ОГ – набухшие отростки и цитоплазма радиальных глиоцитов; М – митохондрии; Мл – меланиновые гранулы; вакуоли указаны стрелкой ($\uparrow$).

В сетчатке половозрелых крыс клетки ПЭС характеризуются признаками выраженных деструктивных процессов, которые приводят к ее дегенерации. Цитозоль в клетках вакуолизируется или уплотняется, митохондрии набухают с полным просветлением матрикса и разрушением крист (рис. 2А). Сохраняются единичные цистерны эндоплазматического ретикулума в виде трубчатых и везикулярных элементов различных размеров с электронно-плотным содержимым. Редкие рибосомы в цитоплазме диффузно рассеяны.

Встречаются гетерогенные липофусциновые фаголизосомы (ФЛ). В клетках отсутствуют специфические ФЛ с фагоцитированными фрагментами наружных сегментов ФР, что свидетельствует о нарушении специфической функции ПЭС – фагоцитоза «отработанных» зрительных дисков. Относительно длинные в норме отростки пигментных клеток становятся короткими, утолщенными и теряют связь с наружными сегментами ФР, а также правильную ориентацию расположения (рис. 2Б).

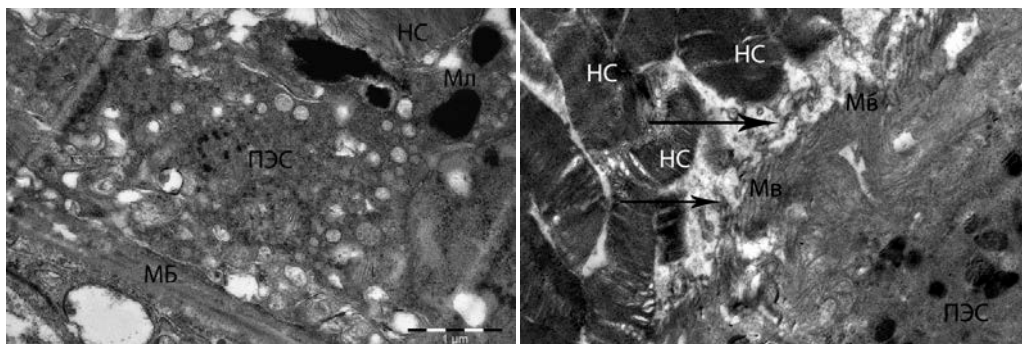


Рис 2. Электронные микрофотографии: ультраструктура сетчатки глаза половозрелой крысы линии Wag/Rij. А (слева) – деструкция органелл, одновременная вакуолизация и уплотнение цитозоля в ПЭС; Б (справа) – укорочение микровилл ПЭС, потеря связей с ФР ($\uparrow$), потеря правильной ориентации наружных сегментов ФР. Примечание. Увел. $\times 3000$. Мл – меланосома; НС – наружный сегмент ФР; МБ – мембрана Бруха; Мв – микровиллы; ПЭС – пигментный эпителий сетчатки.

Межфоторецепторный матрикс представляет собой слабое электронно-плотное аморфное вещество, которое местами подвергается разрушению. Во внутренних сегментах ФР претерпевают деструктивные изменения митохондрии, матрикс их вакуолизируется, а другие органеллы не просматриваются (рис. 3А). В наружном ядерном слое (НЯС) перинуклеарные пространства клеток расширены, в их узкой цитоплазме вокруг ядра уменьша-

ется количество органелл. Между ФР хорошо видны набухшие светлые отростки глиоцитов с разрушающимися митохондриями (рис. 3Б).

Нейроны внутреннего ядерного слоя (ВЯС) имеют признаки отека, поэтому невозможно дифференцировать их по ультраструктурным специфическим признакам (рис. 4А), их можно различить только по месторасположению в слое клеток. В цитоплазме, по нашим предположениям, было обнаружено

множество горизонтальных клеток разнокалиберных больших и малых светлых вакуо-

лей. Вероятно, это были вакуолизованные митохондрии и цистерны ГЭР.

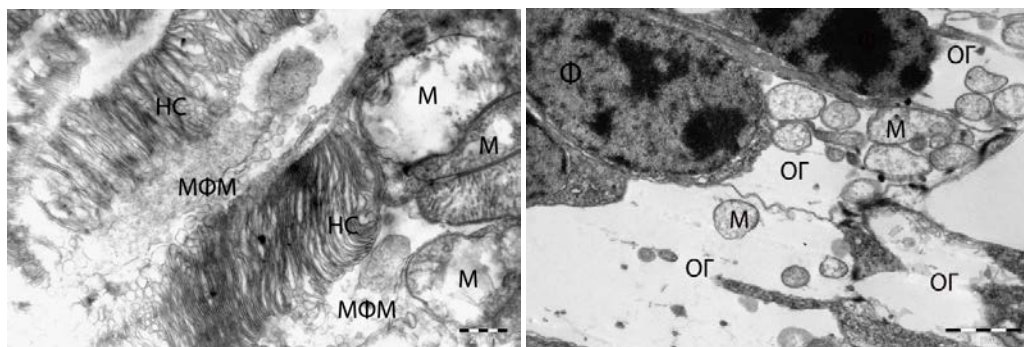


Рис. 3. Электронные микрофотографии: ультраструктура сетчатки глаза половозрелой крысы линии Wag/Rij. А (слева) – деструкция митохондрий во внутренних сегментах ФР. Б (справа) – набухание отростков радиальных глиоцитов. Примечание. ФР – фоторецепторные нейроны; НС – наружные сегменты фоторецепторов; М – митохондрии; МФМ – межфоторецепторный матрикс; ОГ – отростки радиальных глиоцитов.

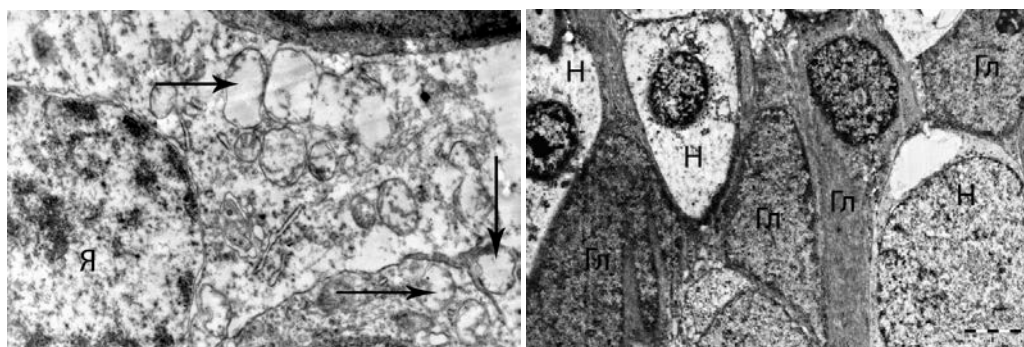


Рис. 4. Электронные микрофотографии: ультраструктура сетчатки глаза половозрелой крысы линии Wag/Rij. А (слева) – вакуолизация (↑) цитоплазмы нейронов ВЯС. Примечание. Увел. $\times 8000$; Б (справа) – пролиферация радиальных глиоцитов во ВЯС (4 глиоцита в поле зрения). Я – ядро; Гл – радиальный глиоцит; Н – нейроны.

Внутриклеточные повреждения были обнаружены и в ганглиозных нервных клетках сетчатки. Помимо вакуолизованных клеток с признаками разрушения митохондрий, цистерн ГЭР и ГлЭР, пластинчатого аппарата Гольджи, рибосом в сетчатке были обнаружены ганглиозные нейроны с обедненной цитоплазмой, но с остатками относительно целых органелл. Мюллеровские РГ в сетчатке крыс линии WAG/Rij подвергаются одновременно и деструктивным, и пролиферативным процессам. При пролиферации, когда место разрушенных нейронов занимают глиоциты, количество глиоцитарных телец во ВЯС в одном поле зрения микроскопа иногда увеличивается до 5-6 клеток, тогда как обычно в норме в одном поле зрения обнаруживаются только 1-2 клетки (рис. 4Б). Отдельные РГ кажутся стиснутыми между отеками нейронами, а их ядра из овальных или округлых становятся вытянутыми. В цитоплазме вокруг их ядер определяются редкие короткие цепочки ГЭР, короткие каналы гладкого эндоплазматического ретикулума (ГлЭР), изредка гранулы гликогена, при этом отсутствуют микрофиламенты. У других клеток Мюллера выявляются явные признаки дистрофических

процессов – вакуолизуется цитоплазма вокруг ядра. Около наружной глиальной мембраны матрикс митохондрий в глиоцитах гомогенизируется или набухают и вакуолизируются (рис. 3Б).

В наружном плексиморфном (НПС) и внутреннем плексиморфном (ВПС) слоях профили отростков нейронов и радиальных глиоцитов проявляют выраженные признаки гидропической дистрофии с разрушением внутриклеточных органелл (рис. 5А). В них совсем не обнаруживаются синапсы лентовидного типа, которые характерны для сетчатки, особенно для НПС. Так называемые плоские синапсы, более статичные, местами сохраняются. Во внутреннем сетчатом слое количество синаптических контактов также уменьшается (рис. 5Б).

Уменьшение количества плоских синапсов и исчезновение лентовидных синапсов прямо указывает на нарушения правильной работы зрительного анализатора у крыс изучаемой линии [1].

Таким образом, исследования показали, что дистрофические и деструктивные процессы в сетчатке крыс линии WAG/Rij начинаются к концу 3-й недели после рождения и

усиливаются в половозрелом возрасте, а их развитие в конечном итоге приводит к дегенерации сетчатки. Гибель нейронов сопро-

вождается набуханием отростков и пролиферацией радиальных глиоцитов [4].

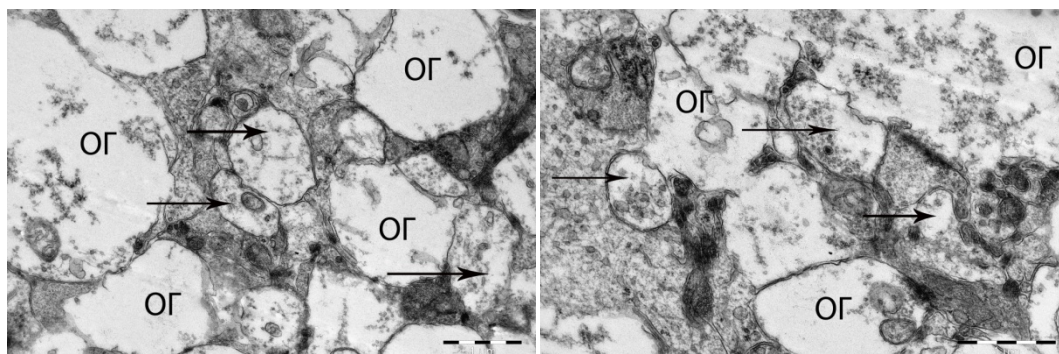


Рис. 5. Электронные микрофотографии: ультраструктура сетчатки глаза половозрелой крысы линии Wag/Rij. А (слева) – деструкция органелл (↑) в отростках нейронов и отсутствие синапсов в НПС; Б (справа) – деструкция органелл в отростках нейронов и отсутствие синапсов в НПС ОГ – отростки радиальных глиоцитов

Заключение

Установлены определенные закономерности структурных изменений сетчатки у крыс линии WAG/Rij по мере их взросления. К концу 3-й недели после рождения в сетчатке начинают определяться ультраструктурные признаки дистрофических и деструктивных процессов, усиливающихся с возрастом и

приводящих к дегенерации. Раннее проявление признаков патоморфологических изменений позволяет рекомендовать крыс линии WAG/Rij для экспериментов не только в половозрелом возрасте, но и в юном, когда можно предпринять попытку лечебного воздействия на сетчатку для предупреждения развития дегенеративного заболевания.

Сведения об авторах статьи:

Мусина Ляля Ахияровна – д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела морфологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: morphoplant@mail.ru.

Байгильдин Самат Сагадатович – мл. науч. сотр. отдела токсикологии и генетики ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека». Адрес: 450106, г. Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94. E-mail: baigildin.samat@yandex.ru.

Дюдьбин Олег Вячеславович – к.вет.н., ст. преподаватель кафедры морфологии, патологии, фармации и незаразных болезней ФГБОУ ВО БГАУ Минсельхоз России. Адрес: 450001, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, 34. Тел.: 8(347) 228-28-77; E-mail: d-oleg7@mail.ru.

Мусин Ильгиз Фанилевич – магистр 1-го года кафедры физиологии и общей биологии биологического факультета ФГБОУ ВО БГУ. Адрес: 450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32. E-mail: mif25@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вит, В.В. Строение зрительной системы человека / В.В. Вит – Одесса: Астропринт, 2003. – 664 с.
2. Мусина, Л.А. Морфологическое исследование сетчатки крыс линии WAG/Rij с пигментной дегенерацией в постнатальном онтогенезе / Л.А. Мусина, С.С. Байгильдин, З.Р. Хисматуллина // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2020. – Т. 9, №. 3. – С. 42-48.
3. Contín, M. A. Light pollution: the possible consequences of excessive illumination on retina / M. A. Contín [et al.] // Eye. – 2016. – Т. 30. – №. 2. – С. 255-263.
4. Di Pierdomenico, J. Coordinated Intervention of Microglial and Müller Cells in Light-Induced Retinal Degeneration / J. Di Pierdomenico, A. Martínez-Vacas, D. Hernández-Muñoz, A.M. Gómez-Ramírez, F.J. Valiente-Soriano, M. Agudo-Barriuso [et al.] // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2020. – Vol. 61. – №. 3. – P. 47-47.
5. LaVail, M. M. Phenotypic characterization of P23H and S334ter rhodopsin transgenic rat models of inherited retinal degeneration / M. M. LaVail [et al.] // Experimental eye research. – 2018. – Т. 167. – С. 56-90.

REFERENCES

1. Vit, V.V. Stroenie zritel'noi sistemy cheloveka / V.V. Vit – Odessa: Astroprint, 2003. – 664 с.
2. Musina, L.A. Morfoloicheskoe issledovanie setchatki krys linii WAG/Rij s pigmentnoi degeneratsiei v postnatal'nom ontogeneze / L.A. Musina, S.S. Baigil'din, Z.R. Khismatullina // Zhurnal anatomii i gistopatologii. – 2020. – Т. 9, №. 3. – С. 42-48.
3. Contín, M. A. Light pollution: the possible consequences of excessive illumination on retina / M. A. Contín [et al.] // Eye. – 2016. – Т. 30. – №. 2. – С. 255-263.
4. Di Pierdomenico, J. Coordinated Intervention of Microglial and Müller Cells in Light-Induced Retinal Degeneration / J. Di Pierdomenico, A. Martínez-Vacas, D. Hernández-Muñoz, A.M. Gómez-Ramírez, F.J. Valiente-Soriano, M. Agudo-Barriuso [et al.] // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2020. – Vol. 61. – №. 3. – P. 47-47.
5. LaVail, M. M. Phenotypic characterization of P23H and S334ter rhodopsin transgenic rat models of inherited retinal degeneration / M. M. LaVail [et al.] // Experimental eye research. – 2018. – Т. 167. – С. 56-90.