

© Ульянова Н.А., Венгер Л.В., Думброва Н.Е., Молчанюк Н.И.

УДК: 611.841.3

Ульянова Н.А.¹, Венгер Л.В.¹, Думброва Н.Е.², Молчанюк Н.И.²

Одесский национальный медицинский университет, кафедра офтальмологии (Валиховский переулок 2, Одесса, 65082, Украина)¹; НИИ глазных болезней и тканевой терапии имени В.П.Филатова, группа электронной микроскопии лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии (Французский бульвар, 49/51, Одесса, 65061, Украина)²

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕТЧАТКИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДЕПРИВАЦИОННОЙ МИОПИИ

Резюме. Исследованы ультраструктурные перестройки сетчатки при моделировании депривационной миопии. У крыс в возрасте 14 дней моделировали депривационную миопию путем блефарорафии. Изучили морфологические свойства сетчатки на ультраструктурном уровне на 14-е сутки эксперимента. Моделирование депривационной миопии сопровождается дистрофическими и дегенеративными изменениями в сетчатке, преимущественно пигментного эпителия и фоторецепторных клеток. Наблюдается внутриклеточный отек, разрушение органелл. Обнаруженные нарушения структуры наиболее выражены в перипапиллярных областях сетчатки и минимальны в экваториальной области.

Ключевые слова: сетчатка, миопия.

Введение

Благодаря широкому внедрению современных инструментальных методов визуализации в офтальмологическую практику, в настоящее время появился ряд работ посвященных изучению морфологических изменений сетчатки у пациентов с миопией [Ульянова, 2012; Faghihi et al., 2010; Leung et al., 2010]. Особого внимания заслуживают работы, описывающие изменения диска зрительного нерва и перипапиллярной сетчатки при прогрессировании миопии [Бойчук, Горбатьюк, 2009, 2011]. Однако, информативность современных клинических методов исследования, несмотря на их высокую разрешающую способность, все же не позволяет оценить ультраструктурные изменения сетчатки и хориоидеи. Помимо этого, при прогрессирующей миопии актуальным является динамический мониторинг изменений, возникающих в процессе миопизации, что невозможно без четкого объективного контроля прогрессирования, что зачастую вызывает определенные сложности в клинических исследованиях.

Исходя из этого, актуальным является исследование ультраструктурных изменений сетчатки при прогрессировании миопии в стандартизированных экспериментальных условиях. Это позволит детализировать патогенез формирования дистрофических изменений, возникающих в различных зонах сетчатки при миопии.

Цель работы: исследовать ультраструктурные перестройки сетчатки при моделировании депривационной миопии.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проведены на 12 крысах линии Вистар (5 - интактных, 7 - с моделированием депривационной миопии). Животных содержали в стандартных условиях экспериментально-биологической клиники Одесского национального медицинского университета. Все экспериментальные исследования проведены с соблюдением принципов биоэтики, изложенных в Хельсинской декларации и Законе Украины "О защите животных от жестокого отношения" (№ 1759-VI от 15.12.2009) и учетом рекомендаций относи-

тельно проведения научных морфологических исследований [Мишалов та ін., 2007].

У животных, по достижению возраста 14 дней, моделировали депривационную миопию путем блефарорафии одного из глаз [Beuerman et al., 2010]. Через 14 дней после блефарорафии, животных выводили из эксперимента. Возраст животных на момент выведения из эксперимента составил 30 дней.

Для электронно-микроскопического исследования фрагменты оболочек глазного яблока фиксировали в 2,5 % растворе глутаральдегида на фосфатном буфере при значении pH - 7,4 с последующей дофиксацией 1% раствором осмиевой кислоты при том же pH буферного раствора. Затем образцы обезвоживали в спиртах восходящей крепости. Пропитывание материала и его заключение производили в смеси эпон-аралдит. Затем ультратонкие срезы контрастировали по методике Reynolds [Reynoldes, 1963]. Просматривали и фотографировали срезы в электронном микроскопе ПЭМ-100-01. Ультраструктурные исследования проведены в группе электронной микроскопии лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии НИИ глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова под руководством профессора Н.Е.Думбровой.

Результаты. Обсуждение

В результате проведенных исследований дана ультраструктурная характеристика сетчатки интактных 30-ти дневных крыс. Клетки пигментного эпителия сетчатки содержат обильную цитоплазму, заполненную элементами мелковезикулярной гладкой эндоплазматической сети, крупными митохондриями и другими типичными для этих клеток органеллами (рис. 1). В них хорошо выражена базальная складчатость и апикальная область с микровиллами, формирующими фагосомы. Все отделы фоторецепторных клеток сформированы, имеют типичную ультраструктуру (рис. 2). Элементы внутренних слоёв сетчатки не изменены.

У животных с экспериментальной миопией выявлены дегенеративные и дистрофические изменения в

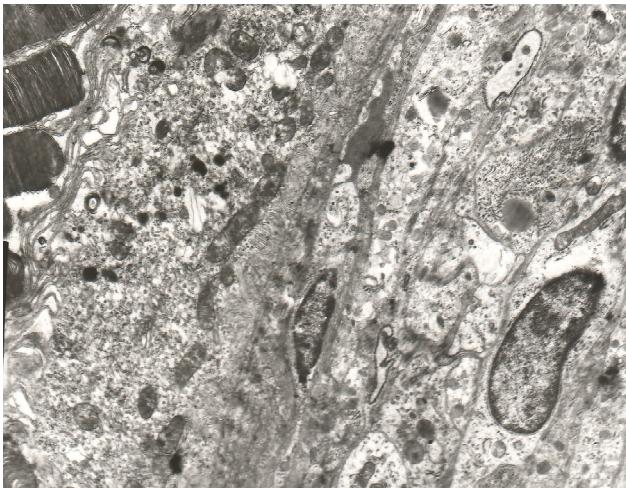


Рис. 1. Ультраструктура пигментного епітелія сітчатки інтактної крысы в віці 30 днів. Трансмісійна електронна мікроскопія. $\times 5000$.

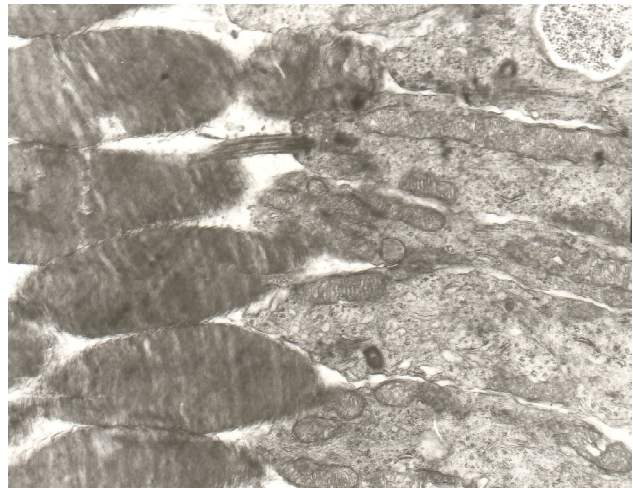


Рис. 2. Наружні і внутрішні сегменти фоторецепторної клітки сітчатки інтактної крысы в віці 30 днів. Трансмісійна електронна мікроскопія. $\times 8000$.

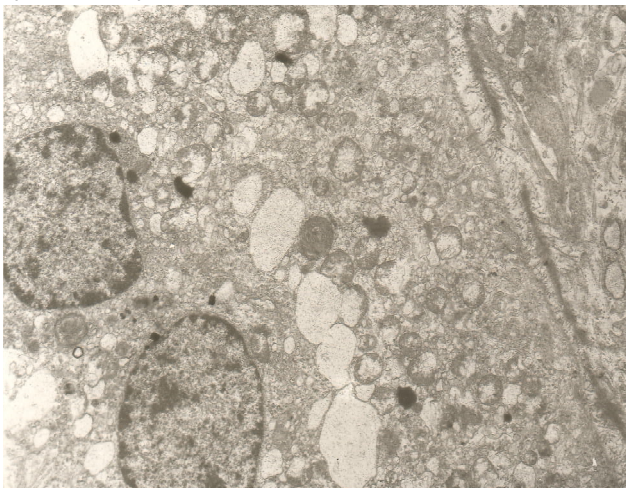


Рис. 3. Ультраструктура екваторіальної області сітчатки крысы в віці 30 днів. Моделювання деприваційної міопії, 14-е сутки після блефаротомії. Двухядерна клітка пигментного епітелія з вакуолями в цитоплазмі. Трансмісійна електронна мікроскопія. $\times 6000$.

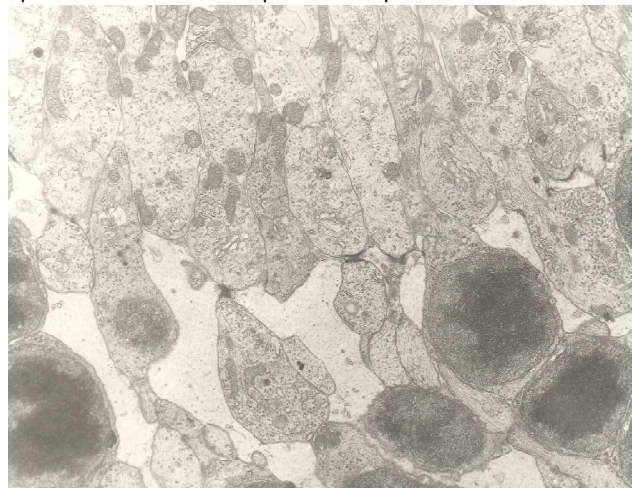


Рис. 4. Ультраструктура екваторіальної області сітчатки крысы в віці 30 днів. Моделювання деприваційної міопії, 14-е сутки після блефаротомії. Отёк ядерної області фоторецепторних кліток. Трансмісійна електронна мікроскопія. $\times 4000$.

сітчатці. В екваторіальній області сітчатки клітки пигментного епітелія крупні з обильною цитоплазмою з великим кількістю органелл. Встрічаються двухядерні клітки. В цитоплазмі окремих кліток спостерігали досить крупні, пов'язані між собою, електронно прозорі порожнини (рис. 3). В фоторецепторних клітках зовнішні сегменти сформовані не повністю: відзначалося недорозвиття дисків в зовнішніх сегментах, які ще знаходяться на стадії бульбашок. В внутрішньому шарі міститься порівняльно мало мітохондрій і багато елементів гладкої ендоплазматическої сітки. Ядра фоторецепторних кліток розташовані в вигляді стовпчиків, не змінені, однак, на окремих ділянках зустрічається набуття ядерної області (рис. 4) і атрофія інших відділів фоторецепторних кліток. Відростки мюллеровських кліток

містять електронно прозору цитоплазму з дуже невеликим числом органелл. Шар біполярних кліток сформований, тут же розташовані ядра мюллеровських кліток з нормальною ультраструктурою (рис. 5). Сітчасті шари також сформовані. Містять мікрососуди. Гангліозні клітки крупні, з великим кількістю білоксинтезуючих органелл. Відростки мюллеровських кліток в цій області досить електронно-плотні і містять дрібну вакуолізовану цитоплазму.

В свою чергу, в сітчатці перипапільлярної зони, клітки пигментного епітелія містять обильну цитоплазму з великим кількістю органелл. В клітках добре виражені апікальна і центральна зони, в той же час, базальна складчатість укорочена. Складки рихлі, місцями зовсім не виражені. В базаль-

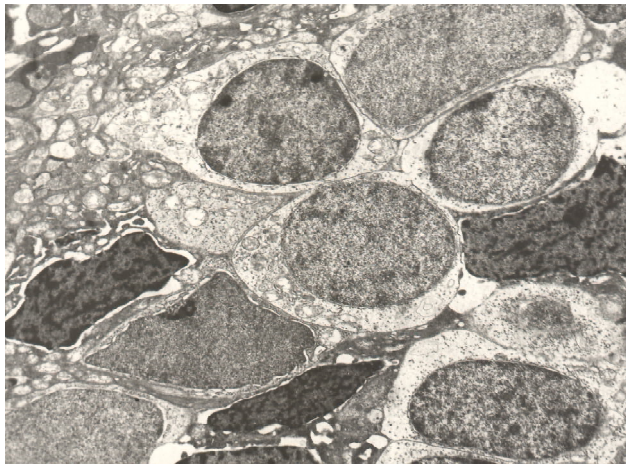


Рис. 5. Ультраструктура екваторіальної області сітчатки крысы в возрасте 30 дней. Моделирование депривационной миопии, 14-е сутки после блефарорафии. Сформированный слой биполярных клеток с нормальной ультраструктурой. Трансмиссионная электронная микроскопия. $\times 3000$.

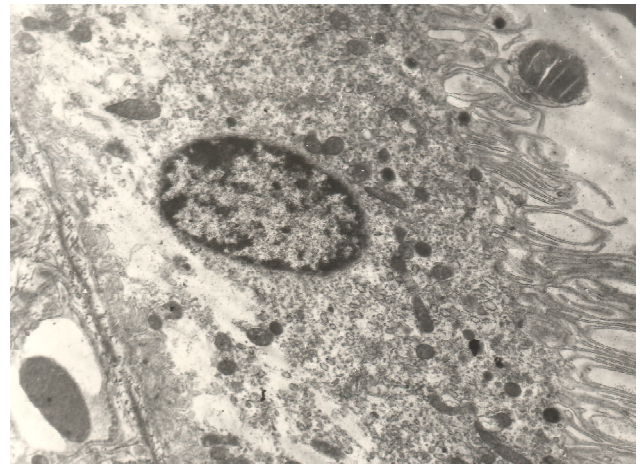


Рис. 6. Ультраструктура перипапиллярної області сітчатки крысы в возрасте 30 дней. Моделирование депривационной миопии, 14-е сутки после блефарорафии. Частичная деструкция базальной области и элементов гладкой эндоплазматической сети клеток пигментного эпителия. Трансмиссионная электронная микроскопия. $\times 5000$.

ной области клеток встречаются очаги деструкции цитоплазматических органелл (рис. 6). Слои сетчатки, лежащие субэпителиально, представляют собой массивы из внутренних сегментов и других отделов фоторецепторных клеток, расположенных беспорядочно. Здесь же встречаются отростки нейронов, синаптические окончания. Другие элементы внутренних слоёв сетчатки практически не встречаются, кроме отростков мюллеровских клеток.

Таким образом, по сравнению с интактной сетчаткой, у крыс с депривационной моделью миопии отмечаются признаки гидропических изменений цитоплазматических структур клеток пигментного эпителия. В фоторецепторных клетках отмечается недоразвитие части дисков в наружных сегментах, во внутренних сегментах содержится сравнительно меньшее количество митохондрий, основу составляет цитоплазма с небольшим количеством органелл. Ядерная область фоторецепторных клеток и остальные слои сетчатки практи-

чески не отличаются от ультраструктуры сетчатки интактного животного. Следует отметить, что на отдельных участках наблюдаются отёчные изменения в области ядер и синапсов ганглиозных клеток.

Выводы и перспективы дальнейших разработок

1. Моделирование депривационной миопии сопровождается дистрофическими и дегенеративными изменениями в сетчатке, преимущественно пигментного эпителия и фоторецепторных клеток.

2. При депривационной миопии наблюдается внутриклеточный отек, разрушение органелл. Обнаруженные нарушения структуры наиболее выражены в перипапиллярных областях сетчатки и минимальны в экваториальной области.

В перспективе планируется исследовать механизмы выявленных ультраструктурных изменений сетчатки при моделировании миопии.

Список литературы

- Бойчук И.М. Морфоструктурные особенности сетчатки и зрительного нерва у школьников с миопией /И.М.Бойчук, Т.Л.Горбатюк //Вісник морфології.- 2009.- Т.15, №2.- С.427-429.
- Горбатюк Т.Л. Морфоструктурные особенности зрительного нерва и перипапиллярных волокон у детей с миопией /Т.Л.Горбатюк, И.М.Бойчук //Офтальмолог. журн.- 2011.- №1.- С.41-44.
- Мишалов В.Д. Про правові, законодавчі та етичні норми і вимоги при виконанні наукових досліджень / В.Д.Мишалов, Ю.Б.Чайковський, І.В.Твердохліб //Морфологія.- 2007.- Т.1, №2.- С.108-115.
- Ульянова Н.А. Изменение витреоретинального интерфейса при высокой миопии по данным спектральной оптической когерентной томографии /Н.А.Ульянова //Офтальмологический журнал.- 2012.- №2.- С.22-25.
- Faghihi H. Optical coherence tomographic findings in highly myopic eyes / H.Faghihi, F.Hajizadeh, M.Riazi-Esfahani //J. Ophthalmic and Vision Research.- 2010.- Vol.5, №2.- P.110-121.
- Myopia: animal models to clinical trials / R.W.Beuerman, S.S.Maw, D.T.Tan [et al.].- Singapore: World Scientific, 2010.- 390p.
- Retinal nerve fiber layer imaging with spectral-domain optical coherence tomography a study on diagnostic agreement with Heidelberg Retinal Tomograph /C.K. Leung, C.Ye, R.N.Weinreb [et al.].- Ophthalmology.- 2010.- Vol.117, №2.- P.267-274.
- Reynoldes E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy /E.S.Reynoldes //J. Cell Biol.- 1963.- Vol.17.- P.208-212.

Ульянова Н.А., Венгер Л.В., Думброва Н.Є., Молчанюк Н.І.

УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ СІТКІВКИ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ДЕПРИВАЦІЙНОЇ МІОПІЇ

Резюме. Мета: дослідити ультраструктурні перебудови сітківки при моделюванні деприваційної міопії. У щурів у віці 14 днів моделювали деприваційну міопію шляхом блефарорафії. Досліджували морфологічні властивості сітківки на ультраструктур-

ному рівні на 14-у добу експерименту. Моделювання деприваційної міопії супроводжується дистрофічними і дегенеративними змінами в сітківці, переважно пігментного епітелію і фоторецепторних клітин. Спостерігається внутрішньоклітинний набряк, руйнування органел. Виявлені порушення структури найбільш виражені в перипапільярних областях сітківки і мінімальні в екваторіальній області.

Ключові слова: сітківка, міопія.

Ulyanova N.A., Venger L.V., Dumbrova N.E., Molchanyuk N.I.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF RETINA IN EXPERIMENTAL FORM-DEPRIVATION MYOPIA

Summary. *The purpose: to investigate morphological features of retina in form-deprivation myopia in rats. In rats aged 14 days simulated form-deprivation myopia by blepharorrhaphy. The morphological properties of sclera were studied on the 14th day of the experiment. Properties of retina have been studied on the electron microscopic level. Simulations form-deprivation myopia accompanied by dystrophic and degenerative changes in the retinal pigment epithelium and predominantly photoreceptor cells. The intracellular edema, destruction organelles have been observed. The violations of the structure are most pronounced in the peripapillary area of retina and minimal in the equatorial region have been found.*

Key words: retina, myopia.

Стаття надійшла до редакції 12 травня 2014 р.

Ульянова Надежда Анатольевна - к. мед. н., доцент кафедры офтальмологии Одесского НМУ; + 38 067 483-24-31; ulyanova@ukr.net

Венгер Людмила Виленовна - д. мед. н., профессор, заведующий кафедры офтальмологии ОНМедУ; vengerlv@ukrpost.ua

Думброва Наталья Евгеньевна - д. мед. н., профессор, заведующая группой электронной микроскопии лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии НИИ глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова; elmicroscop@gmail.com

Молчанюк Наталья Ивановна - к. биол. н., старший научный сотрудник группы электронной микроскопии лаборатории патоморфологии и электронной микроскопии НИИ глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова; +38 097 409-93-09; elmicroscop@gmail.com

© Рикало Н.А., Яровенко Л.О.

УДК: 616.36-08:599.323.4

Рикало Н.А., Яровенко Л.О.

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова, кафедра патологічної фізіології (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

ВІКОВА ДИНАМІКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХРОНІЧНОМУ АЛКОГОЛЬНОМУ УШКОДЖЕННІ ПЕЧІНКИ ТА ЙОГО МЕДИКАМЕНТОЗНІЙ КОРЕКЦІЇ

Резюме. *Стаття присвячена дослідженню та вивченню впливу хронічної алкогольної інтоксикації на біохімічні показники сироватки крові у статевонезрілих і молодих статевозрілих лабораторних щурів за умов патогенетичної корекції хронічного алкогольного ушкодження печінки кверцетином та L-аргініном L-глутаматом. Хронічне алкогольне ушкодження печінки супроводжується достовірними відхиленнями за основними біохімічними показникам вуглеводного, білкового та ліпідного обміну у лабораторних щурів, як першої так і другої групи. Доведено наявність синдромів цитолізу, холестази, мезенхімального запалення, що підтверджує розвиток печінково-клітинної недостатності. Встановлено, що кверцетин відновлює білок-синтезуючу функцію печінки, а введення L-аргініну L-глутамату значно покращило функціональний стан печінки, що проявилось у зниженні інтенсивності цитолітичних та холестатичних процесів, проявів токсичного ушкодження печінки та відновленні репаративної регенерації тканини печінки у статевонезрілих та молодих статевозрілих щурів при хронічній алкогольній інтоксикації.*

Ключові слова: *алкогольне ушкодження печінки, щури, біохімічні показники сироватки крові, синдроми цитолізу та холестази.*

Вступ

Результати численних наукових досліджень свідчать, що в структурі хронічних дифузних захворювань печінки переважають алкогольні ушкодження печінки та становлять 52,4% над вірусними (47%) [Шипулин, 2006; Abittanetal, Lieber, 1999]. В останні десятиліття, все більшого поширення в Україні набуває алкогольне ушкодження печінки серед молодого населення [Буеверов и др., 2001; Опанасюк та ін., 2007; Назар та ін., 2012], тому патології, пов'язані з алкогольним ураженням печінки, є основною соціально-медичною проблемою нашого суспільства [Дереча,

2007; Степанець та ін., 2013]. Щорічно від патології печінки, спричинених хронічним вживанням алкоголю, в Україні помирає понад 40 тис. осіб, налічується більше 900 тис. осіб з алкогольною залежністю та набагато більше людей, які регулярно вживають алкогольні напої та не числяться в лікарнях [Беленічев та ін., 2011]. Незважаючи на велику кількість досліджень, що стосуються механізмів біологічної дії алкоголю [Дунаев та ін., 2000; Зейтц, 2001; Нужный и др., 2002; Степанець та ін., 2013], у літературі недостатньо висвітлені вікові особливості порушення білкового обміну