

УДК 617.7–001.31–092.9:616–076.4

## Ультраструктурные изменения хориоретинального комплекса при моделировании контузии глаза у кроликов

Н. Е. Думброва, д. мед. н., проф., В. В. Вит, д. мед. н., проф., Т. А. Красновид, д. мед. н., Н. И. Молчанюк, к. б. н., Н. П. Грубник, асп.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины»

**Ключевые слова:** ультраструктура, хориоретинальный комплекс, контузия глазного яблока, эксперимент

**Ключові слова:** ультраструктура, хориоретинальний комплекс, контузія очного яблука, експеримент

**Мета.** Вивчити ультраструктурні зміни тканин хориоретинального комплексу при моделюванні контузії ока легкого ступеня у кроликів.

**Матеріал і методи.** Проведено електронно-мікроскопічні дослідження структур хориоретинального комплексу через 1 тиждень, 1 і 2 місяці після моделювання контузії очного яблука у кроликів.

**Результати.** Через 1 тиждень виявлено ранні гідропічні і деструктивні зміни цих структур. Через 1 місяць ці зміни зберігають свою направленість, хоча зменшуються за інтенсивністю. В усі терміни дослідження виділяються реакції мітохондрій, які відповідають за енергетичний обмін в клітині. Через 2 місяця патологічні зміни не зникають, а формують вогнища, які можуть бути пусковими моментами в розвитку різної патології органу зору.

**Висновок.** Після моделювання контузії очного яблука легкого ступеня у кроликів виявлені ультраструктурні зміни хориоретинального комплексу, що в подальшому можуть призводити до розвитку дегенеративних змін очного дна.

## Ultrastructural changes of chorioretinal complex in experimental model of eye contusion in rabbits

Dumbrova NE, Vit VV, Krasnovid TA, Molchanyuk NI, Grubnik NP

SI «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of NAMS of Ukraine», Odessa

**Key words:** ultrastructure, chorioretinal complex, eye contusion, experiment

**Purpose.** To study ultrastructural changes of chorioretinal complex in experimental model of mild eye contusion in rabbits.

**Material and methods.** The electron microscopy studies of chorioretinal complex were held after modelling the mild eye contusion in rabbit in terms of 1 week, 1 and 2 months.

**Results.** We observed hydropic and destructive changes of these structures in 1 week. In 1 month the changes were similar, but less intensive. Mitochondria reactions were found in all terms. In 2 months there were pathological focuses in chorioretinal complex.

**Conclusion.** Ultrastructural changes of chorioretinal complex are found in experimental model of mild eye contusion in rabbits. These signs can lead to development of degenerative changes of fundus even in mild cases.

**Введение.** Повреждение структур заднего отдела глаза вследствие контузии глазного яблока приводит к стойкому, а нередко, к необратимому снижению зрения.

Известно, что существует тесная структурно-функциональная взаимосвязь между сосудистой оболочкой и сетчаткой, особенно важную роль играют взаимоотношения между тесно кооперированными структурами: хориокапиллярами (ХК), пигментным эпителием сетчатки (ПЭС) и ее фоторецепторными клетками (ФК) [1, 5, 9–15, 17–20]. Примером нарушения взаимосвязи в их функционировании может быть развитие патологического

процесса при возрастной макулярной дегенерации [2, 16].

В литературе описано, что вследствие тупых травм глаза также могут развиваться дегенеративные изменения сетчатки. Так, изменения пигментного эпителия сетчатки (ПЭС) после тупой травмы были отмечены еще Naab (1888 г.), Davidson (1936 г.).

Поскольку исследовать тонкие структурные изменения сетчатки человека вследствие тупых травм глаз не всегда представляется возможным, особен-

но в ранние сроки, ряд авторов изучали их на моделях различных экспериментальных животных. Так R. Blight и J. Hart проводили электронномикроскопические исследования сетчатки у свиней после тупой травмы глаза [3, 7, 8]. Sipperley и соавторы изучали ультраструктурные особенности сетчатки при берлиновском помутнении у приматов [21]. И теми и другими были выявлены определенные изменения, в основном, в наружных слоях сетчатки — в ПЭС и ФК, особенно в их наружных сегментах (НС).

Для изучения механизмов, лежащих в основе развития патологических изменений, в основном, в сосудистой оболочке и сетчатке, нами проводится поиск новых экспериментальных моделей контузии глазного яблока сравнительно легкой степени. В литературе мы не встретили исследований относительно ультраструктурных изменений сетчатки и сосудистой оболочки после экспериментальной контузии глаза легкой степени у кроликов.

**Цель.** Изучить ультраструктурные изменения тканей хориоретинального комплекса при моделировании контузии глаза легкой степени у кроликов.

### Материал и методы

Экспериментальные исследования проведены на 20 взрослых кроликах породы шиншилла, массой 2–3,5 кг. Животные находились в стационарных условиях и на стандартном рационе вивариума ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины». Проведено две серии экспериментов: 1 — опытная, в которой моделировалась контузия глазного яблока легкой степени через открытые веки с помощью специально разработанного нами устройства. Общая анестезия осуществлялась с помощью внутримышечного введения 10 % тиопенталя натрия в дозе 1 мл/кг; эпibuльбарная анестезия — путем инстилляций 0,5 % алкаина. Животные фиксировались в станке. 2 серия — контрольная, в которую входили интактные животные.

Исследовались ХК сосудистой оболочки и сетчатка кроликов через 1 неделю, 1 и 2 месяца после моделирования контузии глазного яблока.

Эвтаназия животных осуществлялась методом воздушной эмболии под рауш-наркозом в соответствии с «Требованиями биоэтики Хельсинской декларации об этическом регулировании медицинских исследований» [22]. Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани заднего отдела глаза фиксировались в 2,5 % растворе глутаральдегида на фосфатном буфере при значении рН — 7,4 с последующей дофиксацией 1 % раствором осмиевой кислоты при том же рН буферного раствора. Затем образцы обезвоживались в спиртах восходящей крепости. Пропитывание материала и его заключение производилось в смеси эпон-аралдит. Ультратонкие срезы окрашивались растворами уранилацетата и цитрата свинца. Просматривались и фотографировались объекты в электронном микроскопе ПЭМ-100-01.

### Результаты и их обсуждение

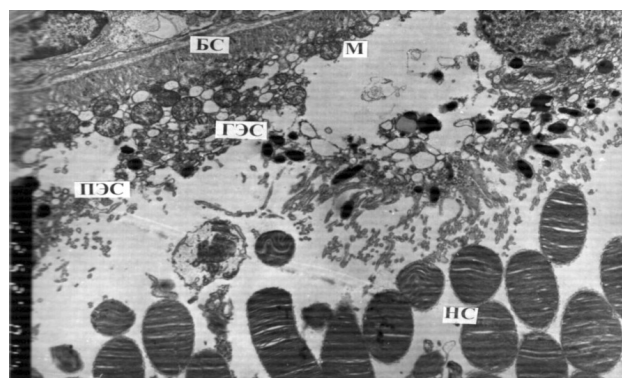
При электронно-микроскопическом исследовании через 1 неделю после моделирования контузии глазного яблока структура ХК как и других микро-

сосудов сосудистой оболочки находится в пределах нормы, то есть как и у интактных животных.

Основная патология наблюдается в области ПЭС. Слой его местами резко сужен, уплотнён, в то время как по соседству расширен, отёчен, значительно просветлён. На отдельных участках отмечается разрушение клеток ПЭС — как в центральной, так и в апикальной их частях. Базальная складчатость остаётся тесно связанной с мембраной Бруха, остальная часть клетки подвергается деструкции (рис.1). НС ФК отслоены от ПЭС, а в межжуточном пространстве лежат фрагменты ультраструктур клеток ПЭС.

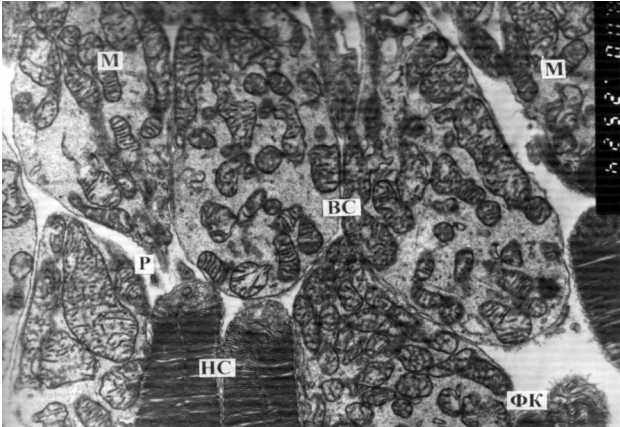
Там, где клетки ПЭС не полностью разрушены, в их цитоплазме выражены гидропические изменения и подвергается деструкции апикальная область. Это также зона отёка, охватывающая участки слоя ПЭС и НС ФК. В области более сохранных клеток ПЭС последние характеризуются вакуолизацией гладкой эндоплазматической сети (ГЭС), причём она проявляется в различной степени в разных клетках ПЭС. Помимо этого, следует особо отметить реакцию митохондрий в этих клетках, которая выражается резкой вакуолизацией и разрушением наружной мембраны органелл. Характерно также уменьшение содержания пигментных гранул в апикальной области ПЭС. Микровиллы в апикальной области хорошо выражены, здесь определяются крупные фагосомы. На участках разрушенных клеток ПЭС наблюдается дезорганизация НС ФК, сопровождаемая отёчными изменениями.

На участках более сохранных структур ПЭС — ФК следует отметить отрыв НС ФК от внутреннего сегмента (ВС) ФК, причём наружная мембрана и заключённые в ней диски остаются целыми. Можно думать, что в данном случае это связано с «поломкой» реснички, которая соединяет оба сегмента



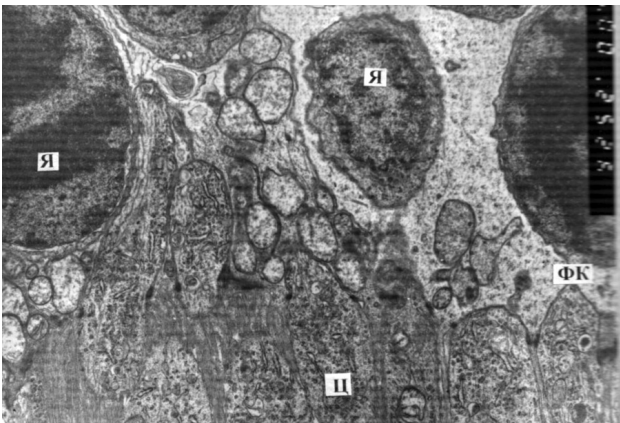
**Рис. 1.** Ультраструктура сетчатки кролика через 1 неделю после моделирования контузии глаза. Отёк и деструкция клеток ПЭС. Электронная микрофотография. X 4 000.

Условные обозначения: ПЭС — пигментный эпителий сетчатки, ГЭС — гладкая эндоплазматическая сеть, М — митохондрии, БС — базальная складчатость, НС — наружные сегменты.



**Рис. 2.** Ультраструктура сетчатки кролика через 1 неделю после моделирования контузии глаза. Элементы деструкции мембранных структур НС ФК. Электронная микрофотография. X 8 000.

Условные обозначения: ФК — фоторецепторные клетки, НС- наружные сегменты, ВС- внутренние сегменты, М — митохондрии, Р — ресничка.



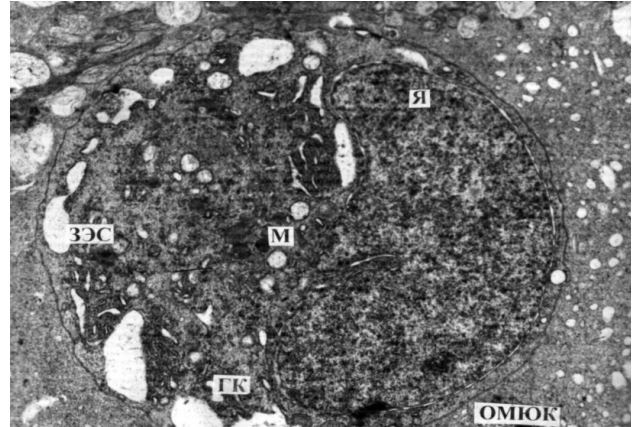
**Рис. 3.** Ультраструктура сетчатки кролика через 1 неделю после моделирования контузии глаза. Отёк отростков МЮК в окружности ядер ФК. Электронная микрофотография. X 6 000.

Условные обозначения: МЮК — отростки мюллеровских клеток, ФК — фоторецепторные клетки, Я — ядро, Ц — цитоплазма.

ФК и с последующим восстановлением (за время после контузии) мембранных структур ФК (рис. 2)

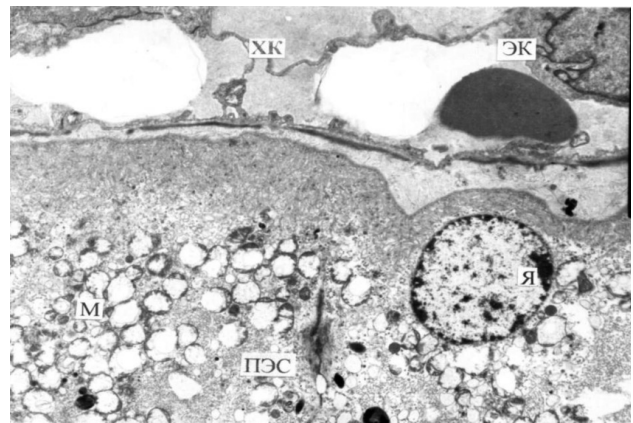
В области ядер ФК выражен местами отёк отростков мюллеровских клеток (МЮК) (рис. 3).

В слое биполярных клеток, где находится ядерная часть МЮК, в цитоплазме последних выражена мелкая вакуолизация. Такая же вакуолизация цитоплазмы наблюдается и в отростках МЮК в слое ганглиозных клеток (ГК) и у внутренней пограничной мембраны. Часть ГК имеет в цитоплазме гидропические изменения в виде крупных электронно-



**Рис. 4.** Ультраструктура сетчатки кролика через 1 неделю после моделирования контузии глаза. Ультраструктура цитоплазмы ГК и отростков МЮК. Электронная микрофотография. X 5 000.

Условные обозначения: МЮК — отростки мюллеровских клеток, ГК — гладкая эндоплазматическая сеть, Я — ядро, ЗЭС — зернистая эндоплазматическая сеть, М — митохондрии.



**Рис. 5.** Ультраструктура хориокапилляров сосудистой оболочки и пигментного эпителия сетчатки кролика через 1 месяц после моделирования контузии глаза. Истончение эндотелиальной стенки ХК с расширением их просвета и образованием электронно-прозрачных полостей. Вакуолизация митохондрий ПЭС. Электронная микрофотография. X 3 000.

Условные обозначения: ХК — хориокапилляры, М — митохондрии, ПЭС — пигментный эпителий сетчатки, ЭК — эндотелиальная клетка, Я — ядро.

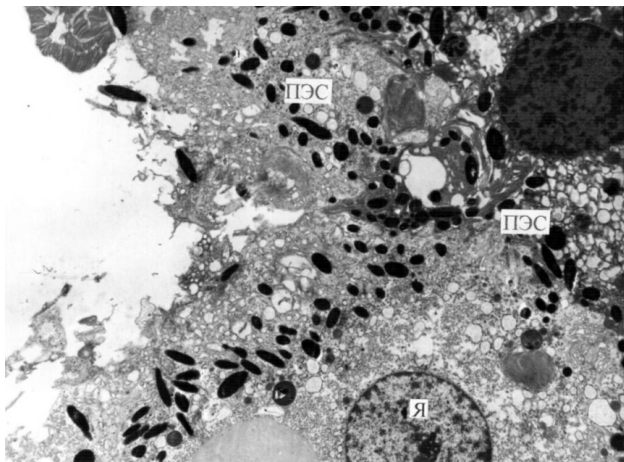
прозрачных полостей, являющихся расширением элементов зернистой эндоплазматической сети (ЗЭС) с дегрануляцией последних (рис. 4).

Через 1 месяц после контузии глазного яблока ХК сосудистой оболочки отличаются расширением просвета и очень узкими отростками эндотелиальных клеток, составляющих стенку ХК. В просвете ХК встречаются форменные элементы крови. Местами в просвете ХК образуются электронно-

прозрачные полости, возможно из-за разрушения части эндотелиальной выстилки (рис. 5).

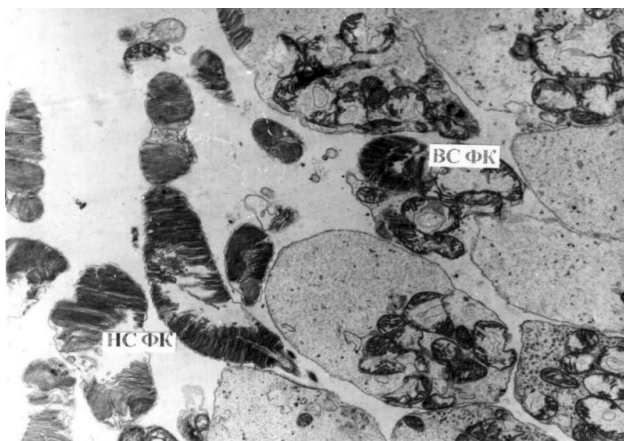
В клетках ПЭС базальная складчатость практически гомогенизирована. Большое количество мелких вакуолизованных митохондрий и мелкофрагментированные мембраны ГЭС заполняют центральную часть клетки. Ядра сохранили свою ультраструктуру. Во многих клетках ПЭС апикальная область сохранилась, в то же время у части клеток она разрушена (рис. 6).

В этих областях наблюдается отслойка фоторецепторного слоя сетчатки и деструкция НС ФК. Во ВС ФК уменьшено содержание митохондрий, при



**Рис. 6.** Ультраструктура ПЭС кролика через 1 месяц после моделирования контузии глаза. Деструкция микровилл в апикальной области клетки ПЭС. Электронная микрофотография. X 3 000.

Условные обозначения: ПЭС — пигментный эпителий сетчатки, АМ — апикальные микровиллы, Я — ядро.



**Рис. 7.** Ультраструктура слоя ФК сетчатки кролика через 1 месяц после моделирования контузии глаза. Альтерация НС ФК и ВСФК. Электронная микрофотография. X 3 000.

Условные обозначения: НС ФК — наружные сегменты фоторецепторных клеток, ВС ФК — внутренние сегменты фоторецепторных клеток.

этом большая часть сохранившихся митохондрий имеет различные степени деструкции своих ультраструктур (рис. 7).

В цитоплазме ФК также наблюдаются различные повреждения, вплоть до её опустошения. В таких участках часть ядер ФК также имеет признаки повреждения. Нейроны внутренних слоёв сетчатки остаются интактными.

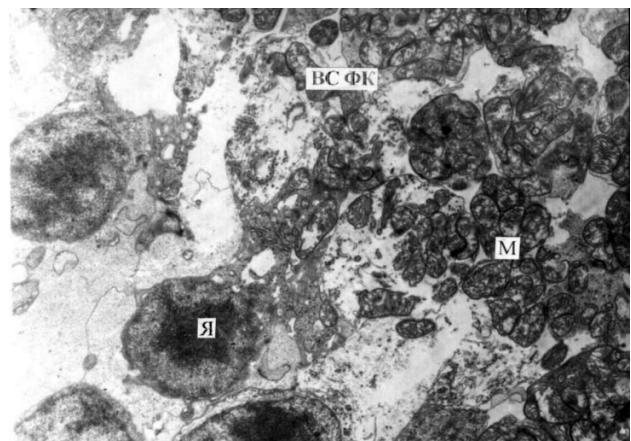
Через 2 месяца после контузии глазного яблока в хориоидея стенка ХК очень тонкая, местами она разрушена, пространство заполнено форменными элементами крови и остатками внутрисосудистого хлопьевидного материала. В такой области клетки ПЭС подвергаются деструкции в различной степени с образованием клеточного детрита.

На соседних участках клетки ПЭС более сохранны, но также имеют альтеративные изменения, аналогичные описанным выше (рис. 8).

На участках больших повреждений ПЭС заметно уменьшение числа ФК. МЮК подвергаются гиперплазии, особенно в области ядерного слоя ФК. Рядом также расположены более сохранные ФК. Часть биполярных клеток имеют признаки отёка. Остальные нейроны сетчатки не имеют видимых изменений. Следует подчеркнуть, что степень повреждения описываемых структур сетчатки отличается заметной очаговостью.

### **Заключение**

Анализ полученных результатов исследования показал, что через 1 неделю после моделирования контузии глазного яблока у кроликов наблюдается ультраструктурная патология, в основном, в клетках ПЭС, НС ФК, цитоплазме МЮК и ГК. В частности, в ПЭС наблюдаются выраженные гидропиче-



**Рис. 8.** Ультраструктура слоя ФК сетчатки кролика через 2 месяца после моделирования контузии глаза. Нарушение архитектоники и деструкция различных сегментов ФК, включая ядро. Электронная микрофотография. X 4 000.

Условные обозначения: Я — ядро, М — митохондрии, ВС ФК — внутренние сегменты фоторецепторных клеток.

ские изменения изучаемых структур, включая ГЭС и митохондрии, а также очаговые деструктивные изменения в части клеток. Следует также обратить внимание на отрыв реснички, связывающей НС и ВС ФК, что в дальнейшем ведет к дегенеративно-деструктивным изменениям в НС. Элементы гидропических изменений наблюдаются и в остальных изучаемых образованиях.

Через 1 месяц изменения структур заднего отдела глаза наблюдаются в ХК и, особенно, ПЭС. Изменения клеток ПЭС неоднородные, существенно различаются по степени выраженности патологии ультраструктур. Так, в клетках исчезает базальная складчатость, т.к. она функционально тесно связана с состоянием ХК. Митохондрии содержатся в большом количестве, но все подвергаются вакуолизации с деструкцией внутриклеточных крист. Канальцы ГЭС фрагментируются. Апикальная область сохраняет небольшое количество микровилл, но фагосомы практически отсутствуют. Часть клеток ПЭС теряет плазмолемму и апикальная область превращается в клеточный детрит. Другая часть клеток ПЭС имеют меньшие или слабые изменения. Повреждения ФК также более существенные в очагах выраженных изменений ХК-ПЭС.

Через 2 месяца после контузии формируются очаги повреждения как клеток ПЭС, так и ФК. Появляются признаки гиперплазии глиальных структур.

### Заключение

Суммируя полученные результаты, можно отметить, что данные, представленные в небольшом количестве литературных источников, изучавших контузию глаза других животных, демонстрируют некоторую ультраструктурную патологию, касающуюся ПЭС и ФК. В наших исследованиях необходимо подчеркнуть выявленные ранние (1 неделя) гидропические и деструктивные изменения изучаемых образований, через 1 месяц описанные изменения сохраняют свою направленность, хотя и уменьшаются в интенсивности. Выделяется реакция митохондрий, которые отвечают за энергетический обмен в клетке. Через 2 месяца после контузии глаза патологические изменения изучаемых образований на ультраструктурном уровне не исчезают, а формируют очаги, которые, несомненно, могут быть пусковыми моментами для развития различной патологии органа зрения.

### Литература

1. **Alon T.** Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity / T. Alon, I. Hemo, A. Itin [et al.] // *Nat Med.* — 1995. — Vol. 1. — P. 1024–1028.
2. **Bhutto I.** Understanding age-related macular degeneration (AMD): Relationships between the photoreceptor / retinal pigment epithelium / Bruch's membrane / choriocapillaris complex / I. Bhutto, G. Luty // *Mol Aspects Med.* — 2012. — Vol. 33(4). — P. 295–317.
3. **Blight R., Hart J. C.** Dean Structural changes in the outer retinal layers following blunt mechanical non-perforating trauma to the globe: an experimental study / R. Blight, J. C. Hart // *Br J Ophthalmol.* — 1977. — Vol. 61. — P.573–587.
4. **Davidson M.** Minor sequelae of eye contusions / M. Davidson // *American Journal of Ophthalmology.* — 1936. — Vol. 19. — P. 757–769.
5. **Del Priore L. V.** Retinal pigment epithelial debridement as a model for the pathogenesis and treatment of macular degeneration / L. V. Del Priore, H. J. Kaplan, R. Hornbeck, Z. Jones, M. Swinn // *Am J Ophthalmol.* — 1996. — Vol. 122. — P. 629–643.
6. **Haab O.** Ueber bei Erkrankung der Macula Lutea / O. Haab // *Report of the 7th International Ophthalmological Congress Bermann: Wiesbaden.* — 1988. — P. 429–436.
7. **Hart, J. C. D.** Retinal opacification after blunt non-perforating concussional injuries to the globe: a clinical and retinal fluorescein angiographic study / J. C. D. Hart, H. J. Frank // *Transactions of the Ophthalmological Societies of the United Kingdom.* — 1975. — Vol.95. — P. 94–100.
8. **Hart J. C. D.** Electrophysiological and pathological study of concussional injury: an experimental study / J. C. D. Hart, R. Blight, R. Cooper [et al] // *Transactions of the Ophthalmological Societies of the United Kingdom.* — 1975. — Vol. 95. — P. 326–334.
9. **Hayashi A.** Surgically induced degeneration and regeneration of the choriocapillaris in rabbit / A. Hayashi, A. B. Majji, S. Fujioka, H. C. [et al] // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* — 1999. — Vol.237. — P.668–677.
10. **Henkind P.** The relationship between retinal pigment epithelium and the choriocapillaris / P. Henkind, S. Gartner // *Trans Ophthalmol Soc U K.* — 1983. — Vol. 103. — P. 444–447.
11. **Ivert L.** Changes in the choroidal circulation of rabbit following RPE removal / L. Ivert, J. Kong, P. Gouras // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* — 2003. — Vol. 241. — P.656–666.
12. **Karsan A.** Fibroblast growth factor-2 inhibits endothelial cell apoptosis by Bcl-2-dependent and independent mechanisms / A. Karsan, E. Yee, G. G. Poirier [et al] // *Am J Pathol.* — 1997. — Vol.151. — P.1775–1784.
13. **Korte G. E.** Choriocapillaris regeneration in the rabbit: a study with vascular casts / G. E. Korte, F. Pua // *Acta Anat (Basel).* — 1988. — Vol. 133. — P.224–228.
14. **Korte G. E.** RPE destruction causes choriocapillary atrophy / G. E. Korte, V. Reppucci, P. Henkind // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* — 1984. — Vol. 25. — P.1135–45.
15. **Liu X.** Extracellular matrix of retinal pigment epithelium regulates choriocapillaris endothelial survival in vitro / X. Liu, X. Ye, M. Yanoff [et al] // *Exp Eye Res.* — 1997. — Vol. 65. — P. 117–126.
16. **McLeod D. S.** Relationship between RPE and choriocapillaris in age-related macular degeneration / D. S. McLeod, R. Grebe, I. Bhutto // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* — 2009. — Vol.50(10). — P. 4982–91.

17. **Roberts W.** Increased microvascular permeability and endothelial fenestration induced by vascular endothelial growth factor / W. Roberts, G J Palade // *Cell Sci.* — 1995. — Vol. 108. — P.2369–2379.
18. **Sakamoto T.** Vessel formation by choroidal endothelial cells in vitro is modulated by retinal pigment epithelial cells/ T. Sakamoto, H. Sakamoto, T. L. Murphy [et al] // *Arch Ophthalmol.* — 1995. — Vol.113. — P. 512–520.
19. **Sarks JP.** Evolution of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium/ J. P. Sarks, S. H. Sarks, M. C. Killingsworth// *Eye.* — 1988. — Vol. 2. — P.552–77.
20. **Shichiri M.** Endothelin-1 as an autocrine/paracrine apoptosis survival factor for endothelial cells/ M. Shichiri, H. Kato, F. Marumo // *Hypertension.* — 1997. — Vol. 30. — P.1198–120.
21. **Sipperley O. M. J.** Traumatic Retinopathy in Primates. The Explanation of Commotio Retinae / O. M. J. Sipperley, A. Q. Harry, M. Gass // *Arch Ophthalmol.* — 1978. — Vol. 96. — P. 2267–2273.
22. **Норман Х. Дж.** Хроника ВОЗ. — 1985. — Т.39. — № 3. — С.3–9.

*Поступила 21.08.2013*

*Received 21.08.2013*