

Особливості ультраструктурних змін у нейросенсорних елементах сітківки щурів при моделюванні діабетичної ретинопатії на тлі осьової міопії

І.М. Михейцева, Н.І. Молчанюк, Амайєд Ахмед, С.Г. Коломійчук,
Т.І. Сіроштаненко

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії імені В.П. Філатова НАМН України», Одеса;
e-mail: filatovbiochem@ukr.net

Формування та розвиток діабетичної ретинопатії в умовах міопізації очного яблука супроводжується особливостями клінічної картини. При міопії частота виникнення особливо проліферативної ретинопатії, а також швидкість прогресування цих діабетичних змін у сітківці можуть бути знижені. Метою нашої роботи було вивчення ультраструктури нейросенсорних елементів сітківки у щурів при моделюванні стрептозотоциніндукованого діабету та деприваційної осьової міопії. Експерименти проводили на щурах віком від 2 до 10 тиж, яких розподілили на 4 групи. До 1-ї контрольної групи ввійшли інтактні тварини, до 2-ї – з міопією, до 3-ї – з діабетом; до 4-ї – з міопією і діабетом. Двотижневим щурам моделювали осьову міопію підвищеного ступеня блефарорафією обох очей і знаходженням в умовах зниженого освітлення протягом ще 2 тиж. Стрептозотоциніндукований діабет викликали кратним внутрішньоочеревинним введенням субдіабетичних доз стрептозотину (15,0 мг/кг маси) протягом 5 днів. Через 2 міс усіх тварин виводили з експерименту під наркозом і енуклоювали очі. Зразки тканин фотографували в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 та вивчали ультраструктуру нейросенсорних елементів сітківки. Отримані результати дослідження свідчать, що ультраструктурні ретинальні нейросенсорні елементи відрізнялись у різних групах. При моделюванні діабету на тлі осьової міопії в клітинах внутрішніх шарів сітківки спостерігались деякі ділянки з ознаками гідропічної дистрофії з великими полями деструкції органел, переважно у внутрішньому ядерному шарі, що характерно для діабету, але зустрічались також ділянки, ультраструктура яких була близькою до норми. Це свідчить про те, що процес міопізації очного яблука щурів з подовженням передньо-задньої осі може пом'якшувати тяжкість ультраструктурних змін сітківки при моделюванні діабетичної ретинопатії.

Ключові слова: діабетична ретинопатія; міопія; сітківка; нейросенсорні елементи; ультраструктура.

ВСТУП

Ускладнення цукрового діабету в очах та формування тяжкого захворювання діабетичної ретинопатії (ДР) залишається однією з найскладніших проблем як медичного, так і соціального профілю у світі, яка потребує різноспрямованого вирішення. Тому важливим є вивчення особливостей змін метаболізму, структури, функцій сітківки при розвитку ретинопатії в різних умовах.

Формування та розвиток ДР при міопізації очного яблука, а саме подовження його

сагітальної осі, супроводжується особливостями клінічної картини. Зокрема відомо, що при міопії, особливо високого ступеня, частота виникнення непроліферативної і проліферативної ретинопатії, а також швидкість прогресування цих діабетичних змін у сітківці можуть бути зменшеними [1–5]. Метааналіз популяційних перехресних досліджень показав зниження ризику діабетичних ускладнень у сітківці при міопізації ока порівняно з очима з еметропією. Збільшення аксіальної довжини очного яблука на 1 мм у

пацієнтів з цукровим діабетом знижує частоту розвитку початкової ДР в 0,86 раза, розвинутої – в 0,8 раза. Збільшення рефракції на 1 діоптр зменшує ризик розвитку ДР в 0,9 раза, збільшення глибини передньої камери на 1,1 мм – в 0,32 раза. Повідомлялось, що у хворих на діабет з міопією дуже рідко розвивається проліферативна форма ДР [2, 5]. При цьому залишаються нез'ясованими особливості структурних змін заднього відділу очей при діабеті, який супроводжується міопією.

У попередніх наших працях було показано особливості ультраструктури хоріоретинального комплексу при експериментальному діабеті з осьовою міопією. Встановлено, що міопізація очного яблука сприяла зменшенню тяжкості ультраструктурних змін хоріоретинального комплексу. Зазначено зниження набряку хоріоїдеї, а також, що в ендотелії судин і хоріокапілярів і в клітинах пігментного епітелію сітківки посилюються компенсаторні процеси та поліпшуються білоксинтезуючі, енергоутворюючі функції [6]. Водночас залишається невивченим стан внутрішньоклітинних елементів нейронів сітківки при цих порушеннях.

Метою цієї роботи було вивчення ультраструктури нейросенсорних елементів сітківки у щурів при моделюванні стрептозотоциніндукованого діабету, деприваційної осьової міопії та при їх поєднанні.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на лабораторних щурах відповідно до вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших цілей» (Страсбург, 1986), «Правил виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених наказом МОЗ України та законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009). Досліди проводили на 55 щурах віком від 2 до 10 тиж, яких поділяли на 4 групи. До 1-ї контрольної

групи ввійшли інтактні тварини ($n = 10$), до 2-ї – щури з міопією ($n = 15$), до 3-ї – з діабетом ($n = 15$); до 4-ї – з міопією і діабетом ($n = 15$). Експеримент починали на 2-тижневих щурах, яким моделювали осьову міопію підвищеного ступеня блефарорафією обох очей і знаходженням в умовах зниженого освітлення протягом ще 2 тиж [7]. Стрептозотоциніндукований діабет моделювали кратним внутрішньоочеревинним введенням субдіабетичних доз стрептозотоцину (15,0 мг/кг маси) протягом 5 днів. Крім того, тварини отримували підвищений вміст жирів у харчовому раціоні. Щури контрольної групи утримували в звичайних умовах віварію щодо освітлення та харчування.

Через 2 міс всіх тварин виводили з експерименту під наркозом і енукліювали очі. Для електронно-мікроскопічного дослідження тканини обробляли за загальноприйнятою методикою. Шматочки тканин фіксували в 2,5%-му розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері при рН 7,4 з додатковою дофіксацією 1%-м розчином осмієвої кислоти при тому самому рН буферного розчину. Потім зразки зневоднювали в спиртах висхідної концентрації. Просочення тканин та їх полімералізацію проводили в суміші епоксидних смол епон-аралдит. Контрастували ультратонкі зрізи за методикою Reynoldes [8]. Зразки тканин фотографували в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 та вивчали ультраструктуру нейросенсорних елементів сітківки.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ультраструктурні дослідження зразків очей щурів після моделювання міопії показали, що у внутрішніх шарах сітківки як у нервових клітинах, так і в їх аксонах, ультраструктура практично не відрізняється від таких у інтактних тварин (рис. 1). Лише на окремих ділянках визначалися ознаки набряку гіалоплазми. В шарі гангліозних клітин (рис. 2) клітини знаходилися в різному функціональному стані: з підвищеним вмістом органел і не-

значним їх вмістом та електронно-прозорою цитоплазмою і каріоплазмою.

Дослідження зразків нервового апарата сітківки шурів після моделювання діабету навпаки свідчать, що більшість нервових клітин внутрішнього ядерного шару сітківки перебувають у стані гідропічної дистрофії (рис. 3). Тіла мюллерівських клітин характеризуються наявністю патологічних елементів з осміофільним ядром та деструкцією органел. Аналогічні ультраструктурні зміни притаманні також гангліозним клітинам та відросткам мюллерівських клітин. Тоді як ультраструктура капілярів сітківки в очах цих тварин без видимих змін, однак їх просвіт має підвищену електронну щільність.

У сітківці шурів після моделювання діабету на тлі міопії ми спостерігали неоднорідну картину змін ультраструктури нейросенсорних елементів сітківки. Так, деякі ділянки внутрішніх шарів сітківки мали структуру близьку до такої, що спостерігалась у контрольних тварин, тобто без ознак патології. Водночас було зазначено місця з явищами гідропічної дистрофії в нервових та гліальних клітинах, які притаманні структурам внутрішнього ядерного шару (ВЯШ),

з вираженими явищами деструкції органел мюллерівських клітин, що спостерігалися після моделювання ДР. Зміни в шарі гангліозних клітин були подібними (рис. 4).

Аналіз результатів мікроструктурного дослідження показав, що в нервових клітинах внутрішніх шарів сітківки шурів після моделювання у них міопії спостерігається незначний набряк мембранних органел. Водночас у відростках мюллерівських клітин, які розташовані навколо гангліозних клітин, разом з ознаками набряку деяких органел, визначається підвищений вміст у них мітохондрій та елементів гангліозної ендоплазматичної сітки.

У шурів з діабетом порівняно зі значеннями у тварин з міопією гідропічна дистрофія цитоплазматичних органел нервових клітин внутрішніх шарів сітківки та гангліозних клітин стає більш глибокою. У мюллерівських клітин значні деструктивні зміни цитоплазматичних органел. Структура капілярів сітківки більш збережена.

При моделюванні діабету на тлі міопії ми відзначили неоднорідний характер ультраструктурного стану клітин нейросенсорного апарата сітківки в зразках. У клітинах внутрішніх шарів сітківки залишаються

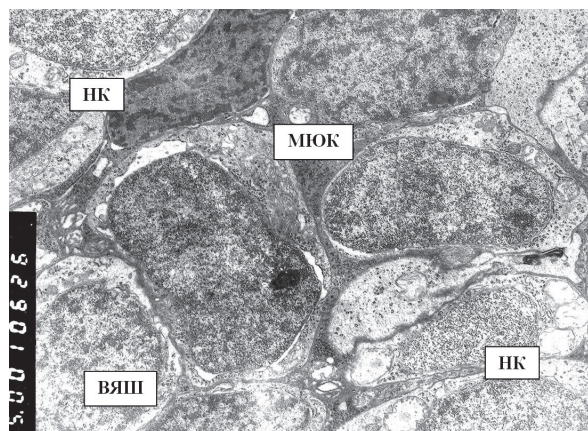


Рис. 1. Ультраструктура сітківки інтактного шура. Клітини внутрішнього ядерного шару знаходяться в межах норми. ВЯШ – клітини внутрішнього ядерного шару, НК – нервові клітини, МЮК – мюллерівські клітини. Збільшення у 5000 разів

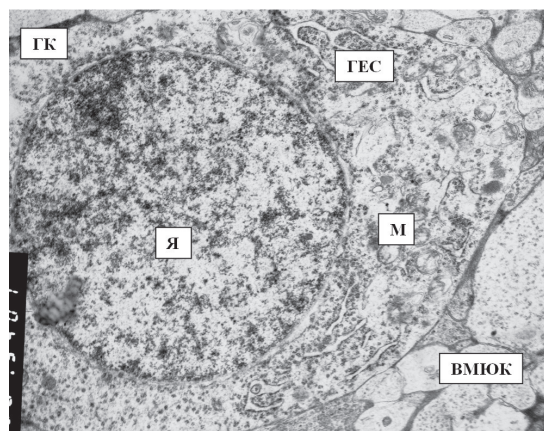


Рис. 2. Ультраструктура гангліозних клітин сітківки. Гангліозна клітина з підвищеним вмістом полісом. ГК – гангліозна клітина, ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка, М – мітохондрії, Я – ядро, ВМЮК – відростки мюллерівських клітин. Збільшення у 4000 разів

ділянки, які зберігають ознаки гідропічної дистрофії з великими полями деструкції органел, переважно у внутрішньоядерному шарі вони частково більші порівняно зі значеннями у тварин з діабетом. Водночас спостерігали ділянки нейросенсорного апарата сітківки з ультраструктурою, близької до норми. При діабеті на тлі осьової міопії в нейросенсорній сітківці визначається гідропічна дистрофія частини нервових клітин та деструктивні зміни в клітинах Мюллера, що характерно для них при модельованому діабеті. Одночасно у цих тварин зустрічаються нейрони сітківки з проявом компенсаційно-відновних процесів, які виявляються в них при моделюванні осьової міопії, що, ймовірно, зменшує ультраструктурні зміни в досліджуваних тканинах сітківки при поєднанні хвороб. Це свідчить про те, що процес міопізації очного яблука шурів з подовженням передньо-задньої осі може зменшувати прояви патологічних змін у разі моделювання діабету у шурів.

При порівнянні отриманих нами результатів ультраструктурних змін клітин сітківки при ДР з даними інших дослідників, голов-

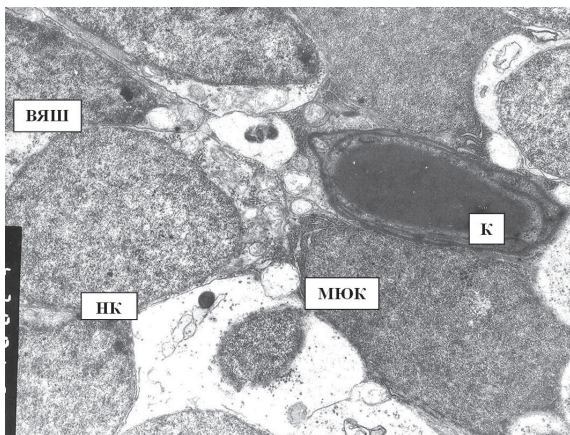


Рис. 3. Ультраструктура сітківки шура після моделювання діабету. Нервові клітини внутрішнього ядерного шару з набряком гіалоплазми та вакуолізацією мітохондрій, окремі із них із спустошеною гіалоплазмою. ВЯШ – клітини внутрішнього ядерного шару, НК – нервові клітини, МЮК – мюллерівські клітини, К – капіляр. Збільшення у 5000 разів

ною думкою є факт, що ДР – це патологічний процес, який вражає не тільки судини сітківки, але й нейрональні та гліальні тканини [9–11]. Крім того, стає все більш розповсюдженим трендом, що нейродегенерація сітківки – найбільш рання подія при прогресуванні ДР [12, 13], на відміну від донедавна існуючої думки про первинність судинних змін при ДР. Апоптоз ретинальних нейронів у шурів дослідники спостерігали вже за місяць після моделювання діабету [14]. При цьому пошкоджувалися гангліозні клітини, що є основною патологічною ознакою нейродегенерації сітківки, яка спричинена діабетом [15].

Таким чином, наші результати на моделях захворювань деякою мірою розкривають таємницю «протекторної» дії міопії при розвитку діабетичних ускладнень на сітківці. Отримані свідчення особливостей ультраструктурних змін нейросенсорного апарата сітківки при діабеті у шурів, розвинутому на тлі подовження передньо-задньої осі очного яблука (осьової міопії), говорять про спроможність сітківки в цих умовах зберігати структуру, близьку до нормальної.

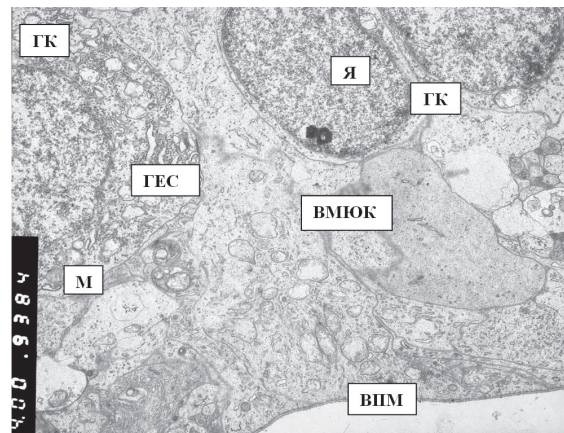


Рис. 4. Ультраструктура сітківки шура після моделювання діабету та деприваційної міопії. В шарі гангліозних клітин розширення цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки і деструкція крист мітохондрій. Відростки мюллерівських клітин з великою кількістю мітохондрій з деструкцією їх крист. ГК – гангліозна клітина, Я – ядро, М – мітохондрія, ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка, ВМЮК – відростки мюллерівських клітин, ВПМ – внутрішня межа мембрана. Збільшення у 4000 разів

ВИСНОВКИ

Отримані нами результати ультраструктурного дослідження сітківки при моделюванні експериментального діабету, осьової міопії та поєданого моделювання цих патологічних станів свідчать, що ультраструктурні ретинальні нейросенсорні елементи відрізнялись у різних групах. Встановлено, що при моделюванні діабету на тлі осьової міопії в клітинах внутрішніх шарів сітківки спостерігалися деякі ділянки з ознаками гідропічної дистрофії з великими полями деструкції органел, переважно у внутрішньому ядерному шарі, що характерно для діабету, але зустрічалися також ділянки, ультраструктура яких була близька до норми з проявом компенсаційно-відновних процесів. Це свідчить про те, що при міопізації очного яблука щурів з подовженням передньо-задньої осі може зменшуватися тяжкість ультраструктурних змін у нервових клітинах сітківки та послаблятися прояви патологічних змін при моделюванні діабету.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

I. Mikheytsva, N. Molchanuk, Ahmed Amayed, S. Kolomiichuk, T. Siroshstanenko

FEATURES OF ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE NEUROSENSORY ELEMENTS OF THE RETINA OF RATS IN THE MODELING OF DIABETIC RETINOPATHY ON THE BACKGROUND OF AXIAL MYOPIA

SI «Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy», National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Odesa; e-mail: filatovbiochem@ukr.net

The formation and development of diabetic retinopathy in conditions of myopization of the eyeball is accompanied by the features of the clinical picture of retinopathy. With myopia,

the incidence of especially proliferative retinopathy, as well as the rate of progression of these diabetic changes in the retina, can be reduced. The aim of our work was a comparative study of the ultrastructure of the neurosensory elements of the retina in rats in the simulation of streptozotocin-induced diabetes and deprivation axial myopia. Experiments were performed on rats aged from 2 to 10 weeks, which were divided into 4 groups. The 1st control group included intact animals, the 2nd - with myopia, the 3rd - with diabetes; the 4th - with myopia and diabetes. Two-week-old rats were modeled with a high degree of axial myopia by blepharorrhaphy of both eyes and exposure to low light for another 2 weeks. In rats with axial myopia and intact rats, streptozotocin-induced diabetes was modeled by repeated intraperitoneal administration of subdiabetic doses of streptozotocin (15.0 mg/kg body weight) for 5 days. After 2 months, all animals were removed from the experiment under anesthesia and their eyes were enucleated. The tissue samples were photographed in a PEM-100-01 electron microscope and the ultrastructure of the neurosensory elements of the retina was studied. The obtained results of the study indicate that ultrastructural retinal neurosensory elements differed in different groups. When modeling diabetes against the background of axial myopia, some areas with signs of hydropic dystrophy with large fields of organelle destruction were observed in the cells of the inner layers of the retina, mainly in the inner nuclear layer, which is inherent in diabetes, but there were also areas whose ultrastructure was close to normal. This indicates that the process of myopization of the eyeball of rats with the lengthening of the anterior-posterior axis can mitigate the severity of ultrastructural changes of the retina in the simulation of diabetic retinopathy.

Key words: diabetic retinopathy; myopia; retina; neurosensory elements; ultrastructure.

REFERENCES

1. Tayyab H, Haider MA, Haider Bukhari Shaheed. Axial myopia and its influence on diabetic retinopathy. *J Coll Phys Surg.* 2014; 24(10): 728-31.
2. Wang X, Tang L, Gao L. Myopia and diabetic retinopathy: A systematic review and meta-analysis. *Diabet Res Clin Pract.* 2016; 111:1-9.
3. Bobr T. Features of the course of diabetic retinopathy depending on the size of the anterior-posterior axis of the eyeball. *Ophthalmology (East Eur).* 2017;7(2):152-6.
4. Wat N, Wong RL, Wong IY. Associations between diabetic retinopathy and systemic risk factors. *Hong Kong Med. J.* 2016; 22(6): 589-99.
5. Bazzazi N, Akbarzadeh S, Yavarikia M, et al. High myopia and diabetic retinopathy: A contralateral eye study in diabetic patients with high myopic anisometropia. *Retina.* 2017; 37(7): 1270-6.
6. Mykheitseva IM, Molchaniuk NI, Muhammad Abdulhadi, Kolomiichuk SG, Suprun OO. Ultrastructural changes in the chorioretinal complex of the rat after inducing form-deprivation axial myopia only, diabetic retinopathy only and diabetic retinopathy in the presence of myopia

- J Ophthalmol. 2021;4:72-8. [Ukrainien].
7. Mikheyseva IN, Abdulhadi Mohammad, Putienko AA, et al. Modelling form deprivation myopia in experiment. J Ophthalmol. 2018; 2 (481):50-5.
 8. Reynoldes ES. The use of lead citrate at high pH an electronopaque stain in electron microscopy. J Cell Biol. 1963;17:208-12.
 9. Fletcher EL, Phipps JA, Ward MM, et al. Neuronal and glial cell abnormality as predictors of progression of diabetic retinopathy. Curr. Pharm Des. 2007;13:2699-712.
 10. Lynch SK, Abràmoff MD. Diabetic retinopathy is a neurodegenerative disorder. Vis Res. 2017; 139: 101-7.
 11. van Dijk HW, et al. Decreased retinal ganglion cell layer thickness in patients with type 1 diabetes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010;51(7):3660-5.
 12. Shen Nian, Amy CYLo, Yajing Mi, et al. Neurovascular unit in diabetic retinopathy: pathophysiological roles and potential therapeutical targets. Eye Vis (Lond). 2021;8(1):15.
 13. Mikheyseva IM. Current view on pathogenic mechanisms of diabetic retinopathy. Fiziol Zh. 2023; 69(3): 106-14. [Ukrainian].
 14. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Gardner TW. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. J Clin Investig. 1998;102:783-91.
 15. Liu XF, Zhou DD, Xie T, et al. The Nrf2 signaling in retinal ganglion cells under oxidative stress in ocular neurodegenerative diseases. Int J Biol Sci. 2018; 14 (9): 1090-8.

*Матеріал надійшов
до редакції 01.11.2023*