

УДК 611. 843. 1 – 018: 611. 843. 1 – 018 – 019.

Е. В. Палатов, Л. Р. Матешук-Вансба, Ю. Я. Кривко
 Львівський національний медичний університет ім. Д. Галицького, м. Львів

СПІВСТАВЛЕННЯ МІКРОСТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ ШАРІВ СІТКІВКИ ЩУРА ТА ЛЮДИНИ В НОРМІ

У представлений нами роботі була поставлена мета проведення фундаментального вивчення питання, що стосується компонентного співставлення мікроструктурної організації шарів сітківки щура і людини в нормі. Поставлене нами завдання було досягнуто за допомогою використання гістологічної методики візуалізації шарів сітківки. Гістологічні препарати готували за загальноприйнятою методикою з використанням барвників, до яких відносять гематоксилін, еозин та (азан) по методиці Гайденайна. Отримані дані в майбутньому дасть можливість сформувати морфологічну базу посмертної картини шарів сітківки щура в нормі з елементами топографічного співставлення її шарів з шарами сітківки людини в нормі. Це в майбутньому дасть можливість сформувати морфологічний субстрат норми з подальшою можливістю проведення порівняльної характеристики елементів сітківки щура при впливі на неї різноманітних патологічних станів а також на ранніх та пізніх термінах проведення корекції.

Ключові слова: мікроструктура, сітківка, шари, щур.

Робота є фрагментом НДР «Структурна організація, ангіоархітектоніки та антропометричні особливості органів у внутрішньо та позаутробному періодах розвитку, за умов екзо – та ендопатогенних факторів» (номер держреєстрації 0115U000041).

В сучасній медичній науці досить інтенсивно досліджуються структура і функції сітківки за умов фізіологічних та патологічних станів органа зору. Зокрема існує цілий ряд робіт, що свідчать про надзвичайну роль цієї оболонки очного яблука в патогенезі розвитку вікової макулодигенерації [6, 13, 14, 15], тоді як при різного генезу ретинопатичних станах сітківка практично не досліджена. А враховуючи виключну роль сітківки і складність її організації надзвичайно важливо розуміти особливості її будови з метою створення морфологічного субстрату, з яким в подальшому буде проводитись порівняльна характеристика отриманого матеріалу на різних термінах перебігу змодельованого патологічного процесу [3, 5, 7, 8, 12]. З'ясування питань структурної організації тканин окремих органів піддослідних лабораторних тварин є необхідним на сьогоднішні питанням у зв'язку з їх чисельним використанням в експериментальній медицині з метою моделювання патологічних процесів та вивчення морфології в динаміці [1, 4].

Метою роботи було доповнення і розширення питань моделювання патологічних процесів та вивчення морфології сітківки щура та людини в нормі, в динаміці завдяки власним дослідженням, що стосуються морфологічної організації шарів досліджуваного об'єкту.

Матеріали та методи дослідження. Матеріалом дослідження слугували статеві зрілі щури-самці в кількості 5 – ти тварин лінії “Wistar”, масою 160 г. Усі тварини знаходились в умовах віварію і робота, що стосувалася питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень “ Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей ” [Стразбург, 1985], “ Загальних етичних принципів експериментів на тваринах ”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики [Київ, 2001]. Комісією з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01. 11. 2000 року (протокол № 10 від 26.12. 2011 року).

Перед проведенням забору біопсійного матеріалу тварину присипляли внутрішньоочеревинним введенням тіопенталу (з розрахунку 25 мг/1кг). Як матеріал для мікроструктурного дослідження використали очні яблука щурів з врахуванням збереження топографічного співвідношення оболонок ока. Гістологічні препарати готували за загальноприйнятою методикою з використанням барвника гематоксиліну, еозину та азану за методом Гайденайна [9].

Результати дослідження та їх обговорення. В результаті проведеного нами мікроскопічного дослідження структурної організації шарів сітківки щура у нормі отримано наступні результати. На підставі отриманого матеріалу при вивченні морфологічної організації шарів сітківки щурів у нормі встановлено морфологічну ідентичність у структурній організації між шарами сітківки щура і людини, як це видно на рис. 1.

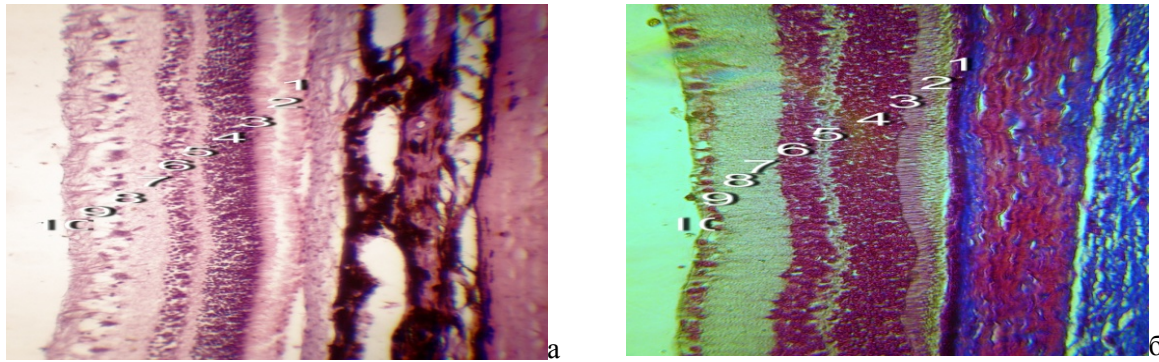


Рис. 1. Порівняльна ідентифікація пошарової організації шарів сітківки людини (а) та щура (б) в нормі. Заб.: гемоксиліном та еозином, азаном. Зб.: х 400. Протокол №1. 1–пігментний епітелій сітківки з прилеглою базальною мембраною; 2– фотосенсорний шар; 3– зовнішній пограничний шар; 4–зовнішній ядерний шар; 5–зовнішній сітчастий шар; 6–внутрішній ядерний шар; 7–внутрішній сітчастий шар; 8–гангліонарний шар; 9–нервоволокнистий шар; 10–внутрішній пограничний шар.

Сітківка належить до поліфункціональної та багаторівневої багатоклітинної структури, яка містить складні поза – та внутрішньоклітинні зв'язки. Пігментний епітелій (I), (ПЕ) сітківки щурів у нормі, це поліфункціональний клітинний комплекс, представлений клітинами, щільно пов'язаними між собою, що формують суцільний клітинний скелет. Пігментний епітелій сітківки щура, як і людини [2, 10, 12] представлений видовженими клітинами, які своєю повздовжньою віссю розташовуються паралельно до базальної мембрани і міцно з'єднані з внутрішнім шаром останньої. Ядра більшості епітеліоцитів овальні, цитоплазма вузька, помірно ацидофільна, при зафарбуванні азаном ядра епітеліоцитів набувають рожево–червоного кольору, цитоплазма–сіро–фіолетового, зерниста. Фотосенсорний шар (II), (ФСШ) сітківки щурів у нормі має вигляд дрібнозернистої субстанції з нечітко вираженим малюнком. Ширина фотосенсорного шару сітківки щура становить 27,63 мкм. Цей шар утворений цитоплазматичними виростами фотосенсорних клітин. Зовнішні частини фотосенсорних клітин представлені вузькими довгими тяжами рожевого кольору при зафарбуванні гематоксиліном та еозином та світлофіолетового кольору при зафарбуванні азаном. Палички і колбочки розміщені між відростками пігментних епітеліоцитів. За мікроструктурним малюнком ФСШ проблематично провести остаточну та чітку ідентифікацію морфологічного представництва клітинного пласту цього шару. Зовнішній пограничний шар (III), (ЗПШ) сітківки щурів в нормі, за своєю будовою не нагадує базальну мембрану. ЗПШ утворений плоскими товстими адгезивними контактами між фоторецепторами та зовнішніми відростками радіальних гліоцитів і представлений сіткоподібною сукупністю фібрил, що формують термінальні відділи радіальних гліоцитів та їх щільних контактів, які формуються між ними. Таку ж будову має і ЗПШ людини [2, 10, 11]. Зовнішній ядерний шар (IV), (ЗЯШ) сітківки щура має товщину 48,76 мкм. Його формують ядерні частини фотосенсорних нейронів, тіла фотосенсорних нейронів, відростки зазначених нейронів, а також волокнисті структури, видимі на препаратах, зафарбованих азаном. У цьому шарі нараховується 15 – 16 рядів ядер. Ядра фотосенсорних нейронів гетерохромні, розміщені щільно. ЗЯШ зовнішнім пограничним шаром сітківки щурів в нормі відмежовується від субретинального простору. Зовнішній сітчастий шар (V), (ЗСШ) сітківки щурів в нормі, це ділянка розташування аксонів фотосенсорних нейронів та синапсів. ЗСШ утворений аксонами фотосенсорних нейронів та дендритами біполярних нейронів, які утворюють синапси. У цьому шарі розміщуються складові частини асоціативних нейронів (горизонтальних клітин), а також глибока сітка капілярів, яка отримує кров з центральної артерії сітківки. Зовнішній сітчастий шар має товщину 9,49 мкм. На препаратах, зафарбованих гематоксиліном та еозином, цей шар слабо рожевого кольору, має сітчасту структуру, на препаратах зафарбованих азаном, цей шар світло-фіолетового кольору та містить дрібну фіолетову зернистість. Ідентичну структурну організацію має і ЗСШ людини [2, 10, 11]. Внутрішній ядерний шар (VI), (ВЯШ) сітківки щура має товщину 34,57 мкм. Ядра нервових клітин, що розміщені у цьому шарі неоднакової форми та розмірів, розміщені у 5– 6 рядів. Перший ряд ядер – це ядра горизонтальних клітин, які є досить великими, округлими, світло зафарбованими у рожевий колір азаном з більш інтенсивно зафарбованими у червоний колір поодинокими зернами конденсованого хроматину. Ядра цих клітин не формують суцільного ряду і розміщені на межі з зовнішнім сітчастим шаром. Дещо глибше у 2–3 ряди розміщені ядра біполярних клітин. Ядра цих клітин менших розмірів, ніж ядра горизонтальних клітин, переважно округлі, інтенсивніше зафарбовані у рожево - червоний колір з чисельними інтенсивно зафарбованими зернами

хроматину. У ділянках, де відсутні ядра горизонтальних клітин, ядра біполярних клітин межують з внутрішньою ділянкою зовнішнього сітчастого шару. Можна виділити дві групи ядер біполярних клітин: 1-а група – округлі світлі дещо більші ядра, що розміщені у два ряди; 2-а група – дещо менші, інтенсивно базofilні округлі ядра біполярних клітин, що розміщені переважно у внутрішній зоні внутрішнього ядерного шару. Між ядрами біполярних клітин подекуди розташовуються витягнуті вертикально ядра радіальних гліоцитів. Подекуди видно при зафарбуванні азаном як від зазначених клітин відходять відростки фіолетового кольору. Іноді ядра цих клітин мають трикутну форму і вони дещо інтенсивніше забарвлені гематоксиліном, ніж округлі світлі ядра біполярних клітин. Ряд внутрішнього ядерного шару, що межує з внутрішнім сітчастим шаром, – це ряд ядер амакринових клітин. Ядра їх досить великі округлі, овальні, ядерце розміщене здебільшого в центрі, добре видимі грудки хроматину по периферії. У внутрішній частині внутрішнього ядерного шару подекуди розміщені ядра міжплексиформних клітин. ВЯШ сітківки шурів в нормі, це шар, що містить найбільшу кількість клітин. Така особливість пов'язана з тим, що у ньому розташовуються асоціативні біполярні нейрони, а також частини радіальних гліоцитів. Також у ВЯШ розташовуються тіла амакринових нейронів, відростки яких розташовуються у ВСШ. Внутрішній сітчастий шар (VII), (ВСШ) сітківки шурів як і людини, в нормі, сформований аксонами біполярних клітин, дендритами, гангліонарними клітинами та їх синапсами. Цей шар візуально має багаторядну будову. Внутрішній сітчастий шар представлений слабкобазофільною ацидофільною сітчастою структурою при зафарбуванні гематоксиліном та еозином та світло-фіолетовою сітчастою структурою, у якій містяться фіолетові волокна різних розмірів, а також фіолетові краплі та цяточки, що, на нашу думку, є синапсами. У цей шар волокон подекуди переміщуються ядра амакринових клітин. Гангліонарний шар (VIII), (ГШ) сітківки шурів як і людини [2, 10, 11] в нормі, малочисельний. ГШ містить тіла гангліонарних клітин та невелику кількість клітин нейроглії. Також у товщі клітин цього шару сітківки локалізуються капілярне русло. В центральній частині цей шар представлений переважно двома рядами ядер. Подекуди ядра розміщуються в один ряд, особливо в ділянці зубчастої лінії. Товщина гангліонарного шару сітківки щура складає 13,77 мкм. Ядра гангліонарних клітин переважно округлі, іноді овальні, містять чітко видиме округле об'ємне ядерце червоного кольору та дрібні зерна хроматину рожевого кольору при зафарбуванні азаном. Цитоплазма більшості гангліонарних клітин досить широка, зафарбована оксифільно гематоксиліном та еозином та фіолетового кольору, подекуди з рожевим відтінком при зафарбуванні азаном. Нервоволокнистий шар (IX), (НВШ) сітківки шурів в нормі, звертає на себе увагу за рахунок того, що має нерівномірну товщину вздовж свого розташування. Цей шар найтонший в ділянці сосочка та плямки, що локалізуються з боку носової частини зорового нерва. Цей шар представлений аксонами гангліонарних клітин. Досягаючи внутрішньої частини сітківки, волокна змінюють свій напрямок ходу під прямим кутом та спрямовуються до місця виходу зорового нерва. Ця ділянка не містить мієліну та шванівських оболонки, що зумовлює її прозорість. Цей шар також містить кровоносні капіляри. Про структурну організацію нервоволокнистого шару сітківки людини у фаховій літературі трапляються лише поодинокі відомості [2, 10, 11]. Внутрішній пограничний шар (IX), (ВПШ) сітківки шурів в нормі, вкриває шар нервових волокон. Він побудований із відростків радіальних гліоцитів, колагенових фібрил, базальної та плазматичної мембран. Ця мембрана відсутня по краях зорового нерва і зливається з базальною мембраною його гліальних клітин, що є характерним також і для людини [2, 10, 11]. Товщина цього шару у центральній ділянці сітківки становить 1,38 мкм. На мікропрепаратах цей шар представлений базофільними однорідними волокнами при зафарбуванні гематоксиліном та еозином. На мікропрепаратах, зафарбованих азаном, цей шар представлений чітко видимими фіолетовими колагеновими волокнами та основною речовиною сіро-фіолетового кольору.

Висновки

1. В процесі дослідження особливостей мікроструктури шарів сітківки шурів у нормі нами встановлена кількісна морфологічна ідентичність у пошаровій структурній організації між шарами сітківки щура та людини в нормі.
2. Нами також ідентифіковані у сітківці щура морфологічні компоненти, сукупність яких бере участь в утворенні гематоретинального бар'єру, що запобігає транспорту крупномолекулярних білків з плазми крові. Процес щільного сполучення між клітинами пігментного епітелію має також не тільки регуляторне, але і розмежувально – ізолююче значення.

3. В результаті вивчення розташування ланок гемомікроциркуляторного русла у шарах сітківки щура ми констатували, що судини утворюють два сплетення: поверхнєве–локалізується в нервоволокнистому шарі та глибоке – розташоване на межі між внутрішнім ядерним та зовнішнім сітчастим шарами, що співпадає з даними фахової літератури щодо локалізації ланок гемомікроциркуляторного русла ретинального басейну у людини. Крім того, нами виявлені нечисельні капіляри у товщі гангліонарного шару.

Перспективи подальших розробок у даному напрямку. Вивчення мікроструктурної організації та співставлення шарів сітківки людини та щура нормі в майбутньому дасть можливість прослідкувати процеси наростання змін в динаміці на різних термінах хронічного опіоїдного впливу, що в подальшому буде слугувати патоморфологічним підґрунтям для визначення та вибору термінів проведення корегуючого медикаментозного впливу на ранніх і пізніх строках експериментального опіоїдного впливу.

Список літератури

1. Avisov P. B. Kratkoe posobie k operacijam na zhivotnyh po kursu topograficheskoy anatomii i operativnoj hirurgii / P. B. Avisov, N. P. Bisenkov, E. A. Dyskin [i dr.] // – М.: MEDGIZ, 1953.–192 s.
2. Arhangel'skij V. N. Normal'noe i patologicheskoe razvitie organa zrenija / V.N. Arhangel'skij // – М., - 1962. – т.1 – С. 206 – 236.
3. Gerasimjuk I. E. Osoblivosti budovi organa zoru ta jogo krovopostachannja u kroliv v normi / I.E. Gerasimjuk, I.M. Shkil'njuk // Visnik morfologii .– 2010. – №16 (3). – С. 516–520.
4. Kovalenko V. M. Eksperimental'ne vivchennja toksichnoї дії potencijnih likars'kih zasobiv / V. M. Kovalenko, O. V. Stefanov, Ju. M. Maksimov [ta in.] // – К.: Avicena, - 2001. – 588 s.
5. Kirik H. A. Morfologija sudinnoї obolonki ochного jabluka shhura v normi i za umov cukrovogo diabetu / H.A. Kirik // Visnik morfologii .– 2005. – Т.11, №1. – С. 36 – 38.
6. Lopashov G. V. Razvitie glaza v svete jeksperimental'nyh issledovanij / G. V. Lopashov, O.G. Stroeva // – М., Izd – vo AN SSSR, - 1963. 207 s.
7. Mateshuk – Vaceba L. R. Porivnjal'na anatomija angioarhitektoniki sudinnoї obolonki ochного jabluka ljudini i shhura / L. R. Mateshuk – Vaceba, H. A. Kirik // Visnik morfologii .– 2003. – Т.9, №2. – С. 217 – 218.
8. Mateshuk-Vaceba L.R. Porivnjal'na morfologija sudinnoї obolonki ochного jabluka ljudini i shhura / L. R. Mateshuk-Vaceba, H. A. Kirik // Praktichna medicina. – 2005. – Т.11, №1. – С. 87 – 90.
9. Romejs B. Mikroskopicheskaja tehnika / B. Romejs // – М.: Medicina, - 1953. – С. 71 – 72.
10. Smirnov E. B. Osobennosti kletочноj proliferacii v razvezvajushhejsja setchatke glaza cheloveka / E. B. Smirnov, V. F. Puchkov // Morfologija, - 2003, t. 123, № 2, S. 51–56.
11. H'jubel D. Glaz, mozg, zrenie / D. H'jubel // – М.: Mir, - 1990. – 240 s.
12. Harkovenko R. V. Lektinova gistohimija sitkivki ta zorovogo nerva shhuriv v normi ta pri gipergeromocisteinemii / R. V. Harkovenko, M. S. Pushkar, A. M. Jashhenko // Svit biologii ta medicini.– 2009.–№3 (1).– С. 173–179.
13. Cai J. Oxidative damage and protection of the RPE. (Review) / J. Cai, K. C. Nelson, M. Wu [et al.] // Progress in Retinal and Eye Research.- 2000. – Vol. 19 (2). – P. 205 – 331.
14. Sjolie A.K. Retinoprotection: nev methods of altering the development and progression of retinopathy / A. K. Sjolie // XXXU Nordic. Congress of Ophthalmol. Acta Ophthalm. Scandinavi. – 2002. –Vol. 80 (4).– P. 415 – 423.
15. Winkler B. S. Oxidative damage and age – related macular degeneration. (Review) / B. S. Winkler, M. E. Boulton, J. D. Gottsch [et. al.] // Molecular Vision. – 1999. – Vol. 5 (40).

Реферати

СОПОСТАВЛЕНИЕ МИКРОСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ СЛОЕВ СЕТЧАТКИ КРЫСЫ И ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ

Пальтов Е. В., Матешук-Вацеба Л. Р., Крывко Ю. Я.

В представленной нами работе была поставлена цель проведения фундаментального изучения вопроса, который касается компонентного сопоставления микроструктурной организации слоев сетчатки крысы и человека в норме. Поставленная нами цель была достигнута при помощи использования гистологической методики визуализации сетчатки. Гистологические препараты готовили по общепринятой методике с использованием красителей гематоксилин, эозин и (азан) по методике Гайденгайна. Эта информация в будущем даст возможность сформировать морфологическую базу посмертной картины слоев сетчатки крысы в норме с элементами топографического сопоставления ее слоев со слоями сетчатки человека в норме. Это в будущем даст возможность сформировать морфологический субстрат нормы с дальнейшей возможностью проведения сравнительной характеристики элементов сетчатки крысы при воздействии на нее различных патологических состояний а также на ранних и поздних сроках коррекции.

Ключевые слова: микроструктура, сетчатка, слои, крыса.
Статья надійшла 17.02.2015 р.

THE COMPARISON OF MICROSTRUCTURAL ARRANGEMENT OF NORMAL RETINAL LAYERS IN RAT AND HUMAN

Paltov E. V., Mateshuk-Vatseba L.R., Kryvko Ye. Ya.

The purpose of present investigation was the study fundamental questions concerning the comparison of microstructural component layers of the retina of rat and human normal. The task has been achieved through the use of techniques of histological visualization of the retina layers. Histological preparations were prepared by the conventional method using dyes, which include hematoxylin, eosin and (Azan) in Heidenhain method. This information will enable the future to form the basis for post-mortem morphological pattern of rat retinal layers at normal with the elements of topographic comparing it with the layers of the human retina at normal. This will make it possible in the future to form a morphological substrate of normal with the next possibility of comparative characteristics of rat retinal elements at the influence of the various pathological conditions and in earlier and later terms of the correction.

Key words: microstructure, retina, layers, rat.

Рецензент Шенітько В.І.