

УДК 617.735

## МОДЕЛЬ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ СЕТЧАТКИ

Файзрахманов Р. Р., Ярмухаметова А. Л.

*ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ», г. Уфа, Россия (450077, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Пушкина, 90), e-mail: [Rinatrf@gmail.com](mailto:Rinatrf@gmail.com)*

Макулярная дегенерация сетчатки представляет собой хронический дистрофический процесс с преимущественным поражением пигментного эпителия сетчатки. Тяжесть заболевания обусловлена центральной локализацией процесса, двусторонним характером поражения и медленным прогрессирующим течением. Созданы экспериментальные модели повреждения пигментного эпителия сетчатки, отличающиеся сложностью проведения, низкой результативностью. Цель данной работы – создание новой экспериментальной модели макулярной дегенерации сетчатки для изучения патологического процесса. Методы. Проведен эксперимент на животных (кролики породы Шиншила – 38 глаз). На основе повреждения пигментного эпителия сетчатки создана и оценена модель макулярной дегенерации, определена гистологическая картина фовеолярной зоны. Заключение. Новая экспериментальная модель определяет стабильность патологического процесса на протяжении всего исследования, что определяет возможность проведения дальнейших диагностических и терапевтических мероприятий в экспериментальных условиях.

Ключевые слова: макулярная дегенерация сетчатки, эксперимент.

## MACULAR DEGENERATION RETINAL MODEL

Fayzrakhmanov R. R., Yarmukhametova A. L.

*Ufa Eye Research Institute, Ufa, Russia (450077, Russia, Ufa, street Pushkin, 90), e-mail: [Rinatrf@gmail.com](mailto:Rinatrf@gmail.com)*

Macular degeneration of the retina is a chronic degenerative process with primary lesion of the retinal pigment epithelium. The severity of the disease is caused by central localization process, the bilateral nature of the lesion and the slow progressive course. The experimental model of retinal epithelial damage differing in complexity of implementation, low efficiency. The aim of this work - the creation of a new experimental model of macular degeneration of the retina to study a pathological process. Techniques. An experiment on animals (rabbits breed Shinshu - 38 eyes). On the basis of damage to the retinal pigment epithelium is created and evaluated a model of macular degeneration, defined histologically in the foveolar zone. Conclusion. A new experimental model determines the stability of the pathological process throughout the study, which determines the possibility of further diagnostic and therapeutic interventions in experimental conditions.

Key words: macular degeneration of the retina, the experiment.

### **Введение**

Макулярная дегенерация (МД) сетчатки представляет собой хронический дистрофический процесс с преимущественным поражением пигментного эпителия сетчатки. Тяжесть заболевания обусловлена центральной локализацией процесса, двусторонним характером поражения и медленным прогрессирующим течением [2].

В настоящее время экспериментальное моделирование патологического процесса в макулярной области определяется тремя направлениями исследований [4,5]:

- лазерное воздействие на сетчатку;
- травматическое воздействие на сетчатку;
- использование геномодифицированных животных.

Используемые модели могут быть модифицированы путем применения цитокинов, учета возраста лабораторных животных, изменения рациона питания и использования других факторов.

Установлено, что хориоидальная неоваскуляризация (ХНВ) развивается при наличии повреждения или дефекта мембраны Бруха. Что может являться следствием травматического повреждения сетчатки, дегенеративных процессов, наличия тракционного компонента и/или воспаления. Этот факт определяет основное направление повреждающего фактора. Разработанные на сегодняшний день модели отличаются сложностью выполнения [3].

**Цель работы** – создание новой экспериментальной модели макулярной дегенерации сетчатки.

**Материалы и методы.** Для гистологического исследования макулярной области при МД разработана оригинальная экспериментальная модель, основанная на повреждении слоя пигментного эпителия сетчатки, фоторецепторных клеток.

Эксперимент выполнен на 38 половозрелых кроликах мужского рода породы Шиншилла. Масса животных составляла 2700–3200 гр. Создана экспериментальная группа (38 глаз).

Всем животным проводили витреоретинальное вмешательство в стерильных условиях под операционным микроскопом. Операцию выполняли по стандартной методике под местной анестезией (инокаин 0,4 % эпibuльбарно, лидокаин 0,5 % субконъюнктивально) на основе 3-х портовой хирургии 20 г. В 4 мм от лимба в проекции плоской части цилиарного тела формировали склеротомии (2,7,11ч). В нижнее-наружном секторе устанавливали ирригационный наконечник, используя бесшовную фиксацию. При полной работе ирригационной системы через рабочую склеротомию (верхнее-наружный сектор) световодом визуализировали макулярную область. Для манипуляции в центральном отделе использовали склеротомию верхнее-внутренний сектор. В макулярной области проводили массаж сетчатки иглой с силиконовым наконечником 20 г до дисперсии пигментного эпителия. Размер повреждения составлял 3 мм. Каких-либо изменений преломляющих сред глаз экспериментальных животных до операции выявлено не было. Все операции прошли без осложнений.

После хирургического вмешательства всем кроликам субконъюнктивально вводили раствор гентамицина и дексаметазона в дозе 3 мг/кг и 0,2 мг/ кг соответственно. В последующие 7 дней в конъюнктивальную полость закапывали раствор левомицетина 0,25 %- 4р/д и дексаметазона 0,1 % 4р/д.

Животные выводились из эксперимента методом воздушной эмболии под общим эфирным наркозом (согласно приказу МинВуза СССР №724 от 13.11.1984).

## **Результаты**

Для оценки зоны повреждения готовили гистологические препараты. На энуклеированных глазах выделяли центральную область сетчатки размером 5×5 мм и фиксировали в 10 % растворе формалина в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов. Препараты промывались в течение 30 минут и обезвоживались в спиртах восходящей концентрации до 96,6<sup>0</sup> в течение 12 часов, уплотнялись в хлороформе 30 минут и растворе хлороформа с парафином в соотношении 50:50 в течение часа. После обработки раствором гистомикса препараты заливались в парафиновые блоки. Для морфологического исследования на микротоме готовили серийные срезы толщиной 7–10 мкм. Окраску гистологических срезов осуществляли гематоксилином и эозином. Светооптическое исследование проводили с использованием микроскопа «AxioStar» фирмы Carl Zeiss (Германия). Оценка результатов проводили с использованием нового программного обеспечения для морфометрической оценки патологии глазного дна [1].

Через день после травмы на гистологических срезах препаратов визуализируется дефект пигментного эпителия, вогнутость наружного ядерного слоя и наружной пограничной мембраны. Клетки пигментного эпителия находятся в различной степени дегрануляции, отмечается их уплощение. По краям дефекта свободные гранулы пигмента. Наблюдается полнокровие хориокапилляров, прилежащих к базальной мембране (рис. 1).

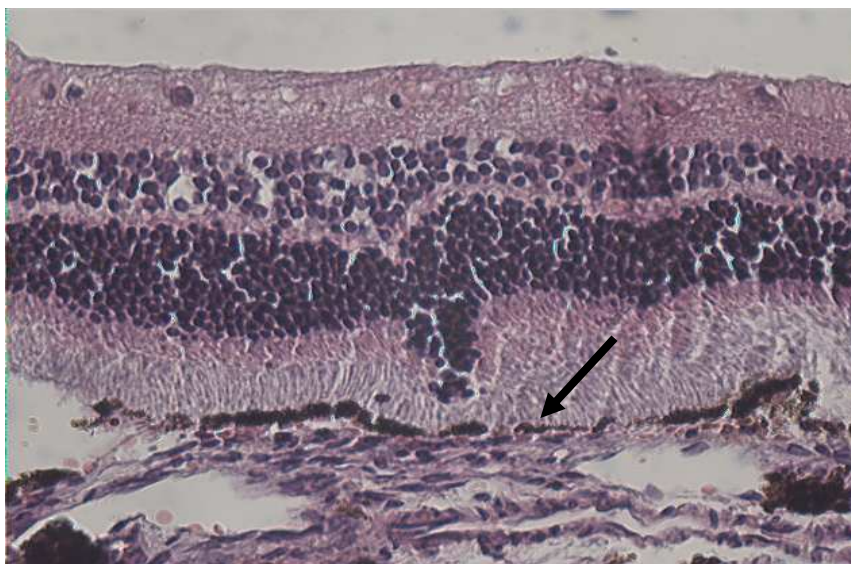


Рис.1. Деструкция пигментного эпителия через 1 сутки после эксперимента. Окраска гематоксилин-эозин. Увел.10×40

**Примечание.** Здесь и далее стрелкой указаны гранулы пигмента в зоне повреждения.

На 15 сутки эксперимента в зоне произведенного вмешательства пигментный слой сетчатки истончен, пигментные клетки сильно уплощены. Выявлена миграция клеток пигментного эпителия вдоль базальной пластинки. Деструктивно измененная зона пигментного эпителия сохраняется, клетки пигментного эпителия дегранулированы. В зоне

отсутствия пигментного эпителия базальная мембрана утолщена и кровеносные капилляры, прилегающие к базальной пластинке, характеризуются полнокровием (рис.2).



Рис.2. Изменение пигментного эпителия на 15-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилин-эозин. Увел.10×40

У экспериментальных животных через 30 дней после хирургического вмешательства пигментные клетки, расположенные на базальной мембране, плотно прилегают друг к другу. Все клетки тесно связаны с базальной мембраной, уплощены. В цитоплазме выявляется меланин (рис. 3).

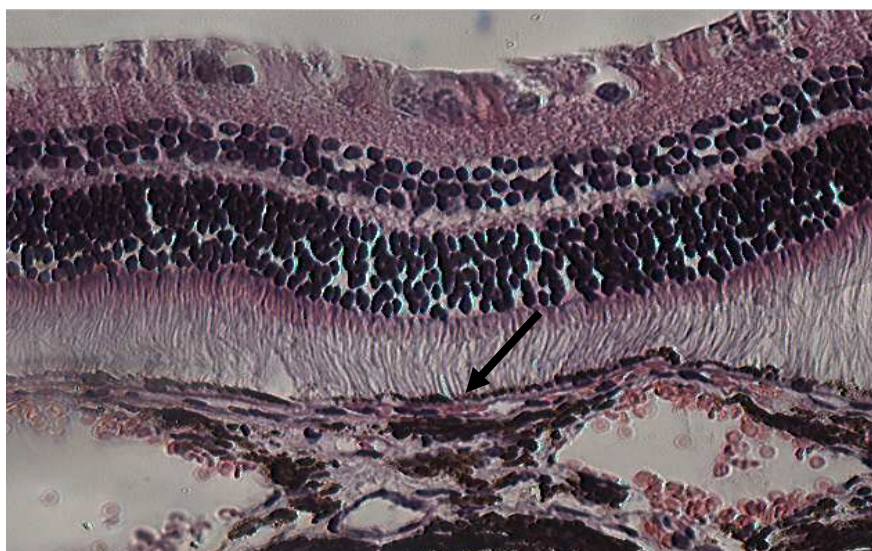


Рис.2. Состояние пигментного эпителия на 30-е сутки эксперимента. Окраска гематоксилин-эозин. Увел.10×40

### Обсуждение

Проведенные исследования демонстрируют перспективность использования новой экспериментальной модели, возможность влияния на клетки пигментного эпителия сетчатки

с целью запуска развития ХНВ. Эта модель может быть свидетельством роли воспалительного повреждения мембраны Бруха и экспрессии VEGF 165, приводящего к формированию неоваскулярной мембраны. Установлено, что при введении пигментного эпителия, экспрессирующего фактор роста, в стекловидное тело экспериментальным животным, индукция ХНВ может достигаться только при дополнительном механическом воздействии на мембрану Бруха. Ранние исследования также выявили, что субретинальное введение стекловидного тела вызывает пролиферацию пигментного эпителия сетчатки и развитие ХНВ [6].

На сегодняшний день доказано, что механическое повреждение пигментного эпителия сетчатки у экспериментальных животных приводит к более стойкому развитию ХНВ, чем при использовании других моделей.

Таким образом, при использовании оригинальной модели повреждения пигментного эпителия исследована гистологическая картина макулярной дегенерации сетчатки, определяющая стабильность патологического процесса на протяжении всего исследования, что определяет возможность проведения дальнейших диагностических и терапевтических мероприятий в экспериментальных условиях. Данные исследования помогут в экспериментальных условиях определить факторы, влияющие на развитие данной патологии, разработать новые схемы лечения. Результаты исследований определяют ход дальнейшей клинической работы.

### ***Выводы***

- Предложена новая экспериментальная модель развития макулярной дегенерации сетчатки.
- Доказана перспективность использования данной модели для оценки эффективности влияния проводимой терапии на патологический процесс, изучение развития данного заболевания.

### **Список литературы**

1. Бикбов М. М., Файзрахманов Р. Р. Программа для диагностики заболеваний глазного дна // Катарактальная и рефракционная хирургия. – 2012. – Т.12, № 2. – С. 63-65.
2. Островская Т. В., Черний В. И. Церебропротекция в аспекте доказательной медицины // Медицина неотложных состояний. – 2007. – Т.9, № 2. – С.48-52.
3. Файзрахманов Р. Р., Ярмухаметова А. Л., Мухамедьянова А. Ш., Гильманшин Т. Р. Нейропротекция сетчатки при влажной форме возрастной макулярной дегенерации сетчатки // Вестник ОГУ. – 2011. – № 14. – С. 379-382.

4. Penfold P. L. Age-related macular degeneration: ultrastructural studies of the relationship of leucocytes to angiogenesis/ P. L. Penfold, J. M. Provis, F. A. Billson // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 1987. – № 225. – P. 70–76.
5. Penfold P. An ultrastructural study of the role of leucocytes and fibroblasts in the breakdown of bruch's membrane / P. Penfold, M.C. Killingsworth, S. Sarks // Australian Journal of Ophthalmology. – 1984. – Vol. 12, №1. – P. 23-31.
6. C.W. Spraul Histologic and morphometric analysis of the choroid, bruchs membrane, and retinal pigment epithelium in postmortem eyes with age-related macular degeneration and histologic examination of surgically excised choroidal neovascular membranes/ C. W. Spraul, G. E. Lang, H. E. Grossniklaus et al. // Survey of Ophthalmology. – 1999. – Vol. 44, № 1. – P.10-32.

**Рецензенты:**

Мальханов В. Б., доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением по изучению инфекционных заболеваний глаз ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», г. Уфа.

Шевчук Н. Е., доктор биологических наук, заместитель директора по научно-производственной работе ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», г. Уфа.