

МЕХАНИЗМЫ ПРЕНАТАЛЬНОГО РЕТИНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

Научная статья

Рева Г.В.^{1,*}, Можилевская Е.С.², Шахариар И.М.³, Шиндина А.Д.⁴, Рева И.В.⁵

¹ ORCID : 0000-0001-6502-4271;

² ORCID : 0000-0002-1706-9472;

³ ORCID : 0000-0001-6710-7599;

⁴ ORCID : 0000-0003-3684-892x;

⁵ ORCID : 0000-0002-3727-393X;

^{1, 2, 3, 4, 5} Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (revagal[at]yandex.ru)

Аннотация

На 123 эмбрионах и плодах человека различных возрастных групп в соответствии с требованиями Минздравмедпрома РФ от 29.04.94 № 82 и согласно номенклатуре клинических лабораторных исследований МЗ РФ (приказ № 64 от 21.02.2000 г.) с учётом положений Хельсинской декларации (2000-2013), с разрешения этического комитета ФГАОУ ВО ДВФУ с помощью методов иммунной гистохимии изучены вопросы развития сетчатки глаза человека. Установлен алгоритм васкуляризации сетчатки и механизмы ингибирования васкулогенеза в фоторецепторном слое. Механизмы, лежащие в основе миграции и перепрограммирования нейроглиоцитов в физиологической регенерации структур глаза человека имеют значение для разработки новых стратегий с использованием клеточных мишеней при офтальмопатологии.

Ключевые слова: ретиногенез, нейроглия, иммунocyты, макрофаги, васкулогенез, нейрон, апоптоз, дифференцировка, межклеточные взаимодействия.

THE MECHANISMS OF PRENATAL RETINAL DEVELOPMENT

Research article

Reva G.V.^{1,*}, Mozhilevskaya Y.S.², Shakhariar I.M.³, Shindina A.D.⁴, Reva I.V.⁵

¹ ORCID : 0000-0001-6502-4271;

² ORCID : 0000-0002-1706-9472;

³ ORCID : 0000-0001-6710-7599;

⁴ ORCID : 0000-0003-3684-892x;

⁵ ORCID : 0000-0002-3727-393X;

^{1, 2, 3, 4, 5} Far eastern federal university, Vladivostok, Russian Federation

* Corresponding author (revagal[at]yandex.ru)

Abstract

In 123 human embryos and fetuses of different age groups, in accordance with the requirements of the Russian Ministry of Health and Medical Industry of 29.04.94 № 82 and according to the Nomenclature of Clinical Laboratory Research of the Russian Ministry of Health (Order № 64 of 21.02.2000), in accordance with the Helsinki Declaration (2000-2013), with permission of the ethical committee of FSAEI HE, retinal development in human eyes using immune histochemistry methods was studied. An algorithm of retinal vascularization and mechanisms of vasculogenesis inhibition in the photoreceptor layer were established. Mechanisms underlying the migration and reprogramming of neuroglyocytes in the physiological regeneration of human eye structures have significance for the development of new strategies using cellular targets for ophthalmopathology.

Keywords: retinogenesis, neuroglia, immunocytes, macrophages, vasculogenesis, neuron, apoptosis, differentiation, intercellular interactions.

Введение

По данным анализа современного состояния вопроса механизмов патологических процессов, связанных со снижением зрения, проведенном Н.В. Машченко, (2017), Е. С. Можилевской, И. В. Рева, А. С. Новиковым, Я. О. Садовой (2022) патология сетчатки остается главной причиной необратимого снижения зрения, в основе которой лежит нарушение обменных и восстановительных процессов, расстройство микроциркуляции, повреждение структурной организации сетчатки. Лечение ретинопатии затруднено в связи с недостаточно изученными механизмами ангиогенеза [1], [2], [3], [4]. Лучше изучены процессы ретиногенеза на экспериментальных животных: данио-рерио [5], [6], [7], позвоночных [8], старых рыбах и крысах [9], [10]. Единичные работы имеются по изучению морфологических нарушений васкуляризации структур глаза детей [11]. Сосудистая ретинальная сеть развивается в физиологически гипоксичной ткани, при этом недостаточно изучено трофическое обеспечение ретинальных нейронов, хотя на современном этапе имеются данные о применении лечебных мероприятий, направленных на нормализацию метаболических потребностей как нейронов, так и нейроглии. Наименее изученными вопросами являются трофическое обеспечение сетчатки, до сих пор не решен вопрос, почему в нейральном слое фоторецепторов сосуды отсутствуют, хотя в других структурах сетчатки они появляются; механизмы индукции ангиогенеза в сетчатке не

изучены, на сегодня не закрыт вопрос происхождения эндотелия и источники развития сосудов не только в сетчатке, но и в организме эмбриона в целом неизвестен, постоянно дискутируется. Существующие 3 концепции, ни одна из которых окончательно не подтверждена, не дают исчерпывающего ответа, как осуществляется трофика фоторецепторов в онтогенезе. Не решен вопрос, почему именно в этом слое нет сосудов в постнатальный период и почему так отличаются сосуды в сетчатке, имея соматический тип, как и в мозге, а в хориоиде сосуды фенестрированного типа. Также предметом острых дискуссий является вопрос, чем обусловлено формирование сосудов в таком направлении. Поэтому существует острая необходимость на основе иммуногистохимического изучения закономерностей ретинального развития и совершенствования трофического обеспечения, адекватного перестройке и специализации сетчатки, провести мониторинговый анализ особенностей сетчатки в пренатальном онтогенезе человека.

Целью исследования явилось установление закономерностей развития структур сетчатой оболочки глаза человека и их трофического обеспечения в пренатальном онтогенезе.

Материал и методы

Исследования проведены на 123 эмбрионах и плодах человека различных возрастных групп в соответствии с требованиями Минздравмедпрома РФ от 29.04.94 № 82 и согласно номенклатуре клинических лабораторных исследований МЗ РФ (приказ № 64 от 21.02.2000 г.) с учётом положений Хельсинской декларации (2000-2013), с разрешения этического комитета ФГАОУ ВО ДВФУ. Использованы современные высокочувствительные иммуногистохимические методы EPOS и En Vision. С помощью иммунной гистохимии выявлены различные фенотипы клеток моноцитарного пула по дифферону ССК, а также тучные клетки в соединительной ткани. Выявляли локализацию CD34, CD68, CD163, S100 и GFAP, VEGF – позитивных клеток с помощью реактивов фирмы DAKO для иллюстрации и последующего сравнительного анализа динамики их количества в разные периоды онтогенеза человека, для доказательства участия иммунных клеток в механизмах перестройки структур глаза в физиологической регенерации. Подсчёт клеток производили в 100 полях зрения в 198 срезах. При этом подсчитывали общее количество иммунных клеток в поле зрения и анализировали степень их окрашивания.

Фон и неспецифическое окрашивание исключали, строго соблюдая условия обработки материала – температуру, pH, время. Для блокирования неспецифического окрашивания срезы в течение 20 минут инкубировали с не иммунной сывороткой, а уже затем инкубировали с первичными антителами.

Основные результаты

На самых ранних этапах развития сетчатки отмечается неравнозначность трофического обеспечения: со стороны пигментного эпителия ликворная трофика обеспечивает физиологические запросы сетчатки, с внешней стороны в этом процессе участвуют структуры развивающегося стекловидного тела. По мере изменения эктомезенхимного стекловидного тела и васкуляризации его паренхимы, диффузная трофика приближенных к стекловидному телу слоев сменяется на гематогенную за счет трофического обеспечения из сосудов гиалоидного бассейна. При инволюции стекловидного тела, начиная с 14 недели и до 8 месяца пренатального онтогенеза, начинается собственный ретинальный ангиогенез во всех слоях, кроме фоторецепторного слоя. Это говорит в пользу того, что в структуре сетчатки в связи с изменением количества слоев и пролиферативной активности предшественников нейроглии и сетчатки изменяются физиологические запросы нейрональных производных и их соответствующее трофическое обеспечение. Особенно высокая ликворная зависимость наблюдается в зоне сетчатки, соответствующей области желтого пятна – центре наилучшего видения. Остатки первичной глазной щели в этой зоне сохраняются дольше всего. Очевидно, это играет роль и в дальнейших морфологических и функциональных особенностях этого отдела сетчатки.

Васкулогенез в стекловидном теле происходит на основе дифференцировки клеток эктомезенхимы в эндотелиоциты по тем механизмам, которые описаны в работах Банина В.В. и Куприянова В.В., как адаптация на изменяющиеся физиологические запросы структур, обеспечивающих в дальнейшем зрительные функции. Нами отмечено, что ангиогенез в сетчатке, как процесс прорастания уже имеющихся на этом этапе развития человека сосудов из магистральных веточек, врастающих в нервную ткань головного отдела развивающегося организма, индуцируется клетками, экспрессирующими VEGF и CD34. Кроме этого установлено, что клетки, секретирующие фактор роста эндотелия, аффилированы с макрофагами, которые и отвечают за васкуляризацию как сетчатки, так и сосудистой оболочки. Таким образом, часть сетчатки, а именно, ее внутренние слои приобретают гематогенное трофическое обеспечение уже не за счет гиалоидного сосудистого бассейна, а имеют свою собственную сосудистую систему. Фоторецепторный слой, самый наружный и более длительно имевший ликворное трофическое обеспечение после сближения с пигментным эпителием и появлением наружной пограничной мембраны, сохраняет вокруг себя фоторецепторный бессосудистый матрикс. Плотных интимных связей с пигментным эпителием фоторецепторный слой не образует, об этом свидетельствует тот факт, что при нарушении метаболических взаимодействий между фоторецепторами и пигментным листком между ними накапливается жидкость, приводящая к отслойке сетчатки. Вопрос участия в трофическом обеспечении сетчатки за счет сосудистой оболочки является спорным, на современном этапе окончательно не решен. По нашему мнению, мембрана Бруха, а также пигментный эпителий и его базальная мембрана являются достаточно серьезным препятствием для исчерпывающего и достаточного обеспечения фоторецепторов, однако, несомненно, обеспечивают собственные нужды посредством собственного гематоофтальмического барьера, отличающегося от такового от ретинального. Наряду с особенностями гематоофтальмического барьера в отношении фоторецепторов, какие присущи и барьерным структурам в самой сетчатке, по нашему мнению, они должны быть идентичны гематоэнцефалическому барьеру, и характеризуется участием в избирательной проницаемости астроглии и эндотелия капилляров соматического типа. Фенестрированный эндотелий сосудистой оболочки свидетельствует в пользу существования обменных процессов между пигментным

эпителием и структурами хориоидеи, но вектор взаимодействия при этом больше направлен к эндотелию сосудистой стенки для удаления метаболитов.

Заключение

В целом в раннем онтогенезе человека развивающаяся сетчатка сменяет ликворную трофику на гематогенную, сохраняя ликворную для фоторецепторного слоя. Эти данные являются перспективными для разработки стратегии таргетной терапии в купировании патологических процессов в сетчатке, включая нейродегенеративные, связанные с возрастной макулярной дистрофией и глаукомой, лечение которых на современном этапе не является патогенетически обоснованным, а лишь симптоматическим.

Таким образом, развитие глаза человека представляет собой сложно регулируемый процесс, который состоит из нескольких перекрывающихся этапов:

I) закладка, затем обособление глаза от развивающегося переднего мозга;

II) дифференцировка и структурирование глазного пузырька с обособлением оболочек;

III) специализация структур глазного бокала в нейрональную сетчатку и пигментный эпителий, формирование прозрачных сред глаза;

IV) специализация и васкуляризация всех структур глаза, которые развиваются из пула клеток-предшественников, производных эктодермы, экто- и нейроэктодермы.

При этом приоритет в развитии структур глаза получают именно прозрачные среды глаза, в которых идёт инволюция сосудов, ограничение роговицы и склеры, формирование мембраны Бруха для создания векторного роста сосудов. Генетическая регуляция этапов развития глаз включает в себя как воздействия извне с помощью морфогенов, факторов роста, а также внутренних факторов, в первую очередь, транскрипционных факторов, которые взаимодействуют с характерными участками ДНК, расположенными в регуляторных областях генов. Действуя в соответствии с генетической программой и/или в ответ на внешние воздействия, они инициируют или подавляют транскрипцию определенных генов, что влечет за собой изменения в клеточной морфологии, клеточную дифференциацию, реализуя морфо и органогенез.

Исследования важных механизмов, лежащих в основе миграции и перепрограммирования Мюллеровской глии в физиологической регенерации структур глаза человека, могут привести к новым стратегиям для стимуляции регенерации сетчатки и других структур глаз при офтальмопатологии.

Конфликт интересов

Не указан.

Conflict of Interest

None declared.

Рецензия

Ефременко Е.С., Омский государственный медицинский университет, Омск, Российская Федерация

Review

Efremenko E.S., Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation

Список литературы / References

1. Daruich A. Rétinopathie du prématuré : de la prévention au traitement / A. Daruich, D. Bremond-Gignac, F. Behar-Cohen et al. // *Medical Sciences (Paris)*. — 2020. — Vol. 36(10). — p. 900-907.
2. Good W.V. Retinopathy of prematurity incidence in children / W.V. Good // *Ophthalmology*. — 2020. — Vol. 127(4S). — p. S82-S83.
3. Hartnett M.E. Retinopathy of prematurity: evolving treatment with anti-vascular endothelial growth factor / M.E. Hartnett // *American Journal of Ophthalmology*. — 2020. — Vol. 218. — p. 208-213.
4. Martínez-Castellanos M.A. Surgery for stage 5 retinopathy of prematurity / M.A. Martínez-Castellanos, G.Y. Ortiz-Ramirez // *Current Opinion in Ophthalmology*. — 2021. — Vol. 32 (5). — p. 482-488.
5. Mitchell D.M. Dynamic changes in microglial and macrophage characteristics during degeneration and regeneration of the zebrafish retina / D.M. Mitchell, A.G. Lovel, D.L. Stenkamp // *Journal of Neuroinflammation*. — 2018. — Vol. 15. — p. 163. — DOI: 10.1186/s12974-018-1185-6.
6. Raymond P.A. Regeneration of goldfish retina: rod precursors are a likely source of regenerated cells / P.A. Raymond, M.J. Reifler, P.K. Rivlin // *The Journal of Neurobiology*. — 1988. — Vol. 19. — p. 431-463. — DOI: 10.1002/neu.480190504.
7. Stenkamp D.L. Development of the vertebrate eye and retina / D.L. Stenkamp // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. — 2015. — Vol. 134. — p. 397-414. — DOI: 10.1016/bs.pmbts.2015.06.006.
8. Strittmatter K. Targeting platelet-derived growth factor receptor β (+) scaffold formation inhibits choroidal neovascularization / K. Strittmatter, H. Pomeroy, A.G. Marneros // *American Journal of Pathology*. — 2016. — Vol. 186. — Iss. 7. — p. 1890-1899.
9. Thomas J.L. Reactive gliosis in the adult zebrafish retina / J.L. Thomas, A.H. Ranski, G.W. Morgan et al. // *Experimental Eye Research*. — 2016. — Vol. 143. — p. 98-109. — DOI: 10.1016/j.exer.2015.09.017/
10. Wan J. Preferential regeneration of photoreceptor from Müller glia after retinal degeneration in adult rat / J. Wan // *Vision Research*. — 2008. — Vol. 48. — p. 223-234.
11. Pueyo Asensio C. Crystalline retinopathy associated with chronic retinal detachment in a child / C. Pueyo Asensio, J. Català Mora, J. Díaz Cascajosa // *Journal Français d Ophthalmologie*. — 2021. — Vol. 44(3). — p. e131-e132.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Daruich A. Rétinopathie du prématuré : de la prévention au traitement [Retinopathy of prematurity: from prevention to treatment] / A. Daruich, D. Bremond-Gignac, F. Behar-Cohen et al. // *Medical Sciences (Paris)*. — 2020. — Vol. 36(10). — p. 900-907. [in French]
2. Good W.V. Retinopathy of prematurity incidence in children / W.V. Good // *Ophthalmology*. — 2020. — Vol. 127(4S). — p. S82-S83.
3. Hartnett M.E. Retinopathy of prematurity: evolving treatment with anti-vascular endothelial growth factor / M.E. Harnett // *American Journal of Ophthalmology*. — 2020. — Vol. 218. — p. 208-213.
4. Martínez-Castellanos M.A. Surgery for stage 5 retinopathy of prematurity / M.A. Martínez-Castellanos, G.Y. Ortiz-Ramirez // *Current Opinion in Ophthalmology*. — 2021. — Vol. 32 (5). — p. 482-488.
5. Mitchell D.M. Dynamic changes in microglial and macrophage characteristics during degeneration and regeneration of the zebrafish retina / D.M. Mitchell, A.G. Lovel, D.L. Stenkamp // *Journal of Neuroinflammation*. — 2018. — Vol. 15. — p. 163. — DOI: 10.1186/s12974-018-1185-6.
6. Raymond P.A. Regeneration of goldfish retina: rod precursors are a likely source of regenerated cells / P.A. Raymond, M.J. Reifler, P.K. Rivlin // *The Journal of Neurobiology*. — 1988. — Vol. 19. — p. 431-463. — DOI: 10.1002/neu.480190504.
7. Stenkamp D.L. Development of the vertebrate eye and retina / D.L. Stenkamp // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. — 2015. — Vol. 134. — p. 397-414. — DOI: 10.1016/bs.pmbts.2015.06.006.
8. Strittmatter K. Targeting platelet-derived growth factor receptor β (+) scaffold formation inhibits choroidal neovascularization / K. Strittmatter, H. Pomeroy, A.G. Marneros // *American Journal of Pathology*. — 2016. — Vol. 186. — Iss. 7. — p. 1890-1899.
9. Thomas J.L. Reactive gliosis in the adult zebrafish retina / J.L. Thomas, A.H. Ranski, G.W. Morgan et al. // *Experimental Eye Research*. — 2016. — Vol. 143. — p. 98-109. — DOI: 10.1016/j.exer.2015.09.017/
10. Wan J. Preferential regeneration of photoreceptor from Müller glia after retinal degeneration in adult rat / J. Wan // *Vision Research*. — 2008. — Vol. 48. — p. 223-234.
11. Pueyo Asensio C. Crystalline retinopathy associated with chronic retinal detachment in a child / C. Pueyo Asensio, J. Català Mora, J. Díaz Cascajosa // *Journal Français d Ophthalmologie*. — 2021. — Vol. 44(3). — p. e131-e132.