

БИОХИМИЯ

УДК 576.311:591.484.3:598.617.1

**СУБКЛЕТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ СТАРЕНИЯ
РЕТИНАЛЬНОГО ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ
ЯПОНСКОГО ПЕРЕПЕЛА *COTURNIX JAPONICA*****Н.Б. Серезникова, П.П. Зак*, Л.С. Погодина, Н.Н. Трофимова*,
Т.В. Липина, М.А. Островский****(кафедра клеточной биологии и гистологии, кафедра молекулярной физиологии;
e-mail: natalia.serj@yandex.ru)*

Методом электронной микроскопии с применением морфометрического анализа исследованы возрастные изменения пигментного эпителия сетчатки японского перепела, являющегося в настоящее время перспективной экспериментальной моделью ускоренного старения. Установлено, что наряду с накоплением гранул липофусцина и ультраструктурными изменениями мембраны Бруха маркерами старения ретинального пигментного эпителия являются изменения формы ядер и митохондрий (увеличение доли кольцевидных и гантелевидных митохондрий), снижение численности миеоидных телец и дезорганизация базальных отростков.

Ключевые слова: японский перепел, ретинальный пигментный эпителий, липофусцин, митохондрии, старение.

Старение — неизбежный процесс, характеризующийся нарушением физиологических функций, снижением адаптационных возможностей и повышением вероятности развития различных заболеваний. Возрастные нарушения зрения достаточно разнообразны, но одно из первых мест занимает поражение сетчатки [1]. Сохранение зрительных функций на уровне сетчатки во многом зависит от целостности клеток ретинального пигментного эпителия (РПЭ), выполняющего многочисленные специализированные функции по поддержанию гомеостаза сетчатки. РПЭ — это монослой пигментированных кубовидных клеток, обеспечивающих двусторонний транспорт веществ между фоторецепторами и капиллярами сосудистой оболочки [2]. Между самим РПЭ и сосудистой оболочкой расположена мембрана Бруха, фильтрующая растворы, диффундирующие между РПЭ и сосудистой оболочкой. Инволюционные изменения клеток РПЭ могут способствовать развитию серьезных глазных патологий, сопровождающихся значительным снижением зрения или даже его потерей [3, 4].

Медленное развитие процессов старения делает практически невозможными прижизненные наблюдения возрастных изменений сетчатки человека. В этой связи для моделирования процессов старения сетчатки и развития заболеваний глаз обычно используют лабораторных грызунов — мышей, крыс, кроликов. Наряду с ними в качестве удобной живот-

ной модели старения сетчатки сейчас рассматривается японский перепел *Coturnix japonica*. Эти мелкие домашние птицы имеют короткий срок жизни (1,5—2 года), и к 1,5 года в их РПЭ проявляются характерные возрастные изменения, присущие людям в возрасте 60—70 лет [5, 6]. Сетчатки перепела и человека имеют значительное морфологическое сходство и близкий оксикаротиноидный антиоксидантный обмен, отсутствующий у традиционных лабораторных грызунов, что придает дополнительную привлекательность данной животной модели. Вместе с тем возрастные изменения в сетчатке перепела, в том числе в РПЭ, особенно на ультраструктурном уровне, сейчас изучены не в полной мере. Известными субклеточными маркерами старения РПЭ как перепела, так и человека являются липофусциновые гранулы (ЛГ) [7, 8], однако их количественное измерение довольно трудоемко. В этой связи данная работа направлена на выявление других субклеточных маркеров старения РПЭ — демонстративных и вместе с тем доступных для измерений.

Материалы и методы

В работе были использованы самки японского перепела возрастом 9, 25, 39—40, 52 и 78 недель. Светоадаптированных птиц декапитировали, и энуклеированные глаза разрезали по линии *ora serrata* на глазной бокал, содержащий сетчатку с окружающими ее оболочками, и на роговичную часть с радужкой и

*ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва.

хрусталиком. Далее глазные бокалы разрезали радиально на узкие сегменты, сходящиеся от краев бокала к центру, из которых для дальнейшей работы использовались зоны центральной области.

Электронная микроскопия. Полученные кусочки глазных бокалов фиксировали в смеси 2,5%-го глютарового альдегида с 2%-м формалином на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,2–7,4) в течение 3–5 ч., дофиксировали раствором 1%-го OsO_4 2 ч., дополнительно контрастировали 2%-м спиртовым раствором уранилацетата, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и ацетоне, заливали в эпон 812. Для пространственной ориентировки материала на пиромитоме изготавливали поперечные срезы толщиной 2 мкм с центральных участков кусочков, окрашивали их 1%-м метиленовым синим. Ультратонкие срезы сетчатки с РПЭ контрастировали 2%-м уранилацетатом, а затем лимоннокислым свинцом по Рейнольдсу. Срезы просматривали в электронные микроскопы JEM-100В и JEM-1011 при увеличении $\times 8000$, $\times 15\,000$ и $\times 25\,000$.

Морфометрический анализ. На электронограммах с помощью программы “Image J” и квадратной тестовой решетки (площадь 64 мкм²) стандартным методом [9] определяли численную плотность и удельный объем профилей митохондрий, ЛГ, миелоидных

телец, фагосом на срезах ядросодержащей части клеток РПЭ, свободной от гранул меланина, т.е. на площади, на которой сосредоточены органеллы, ограниченной расстоянием 8 мкм от мембраны Бруха.

Для оценки апоптоза клеток РПЭ применяли метод TUNEL, выявляющий межнуклеосомные разрывы ДНК [10]. Кусочки глазных бокалов перепелов возрастом 25 и 52 недели фиксировали в 4%-м формалине на фосфатно-солевом буфере (PBS). Для окраски парафиновых срезов использовали набор “Apor-Tag Plus Peroxidase in Situ Apoptosis Detection Kit” (Millipore). Меченые ядра РПЭ подсчитывали при увеличении 1500.

Статистический анализ данных проводили с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни в программе Statistica 5.5. Различия признавались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты электронно-микроскопического анализа свидетельствовали о выраженных изменениях в ультраструктуре клеток РПЭ по мере старения птиц (рис. 1).

Наиболее характерным оказалось увеличение количества гранулярных структур (рис. 1, Г), распола-

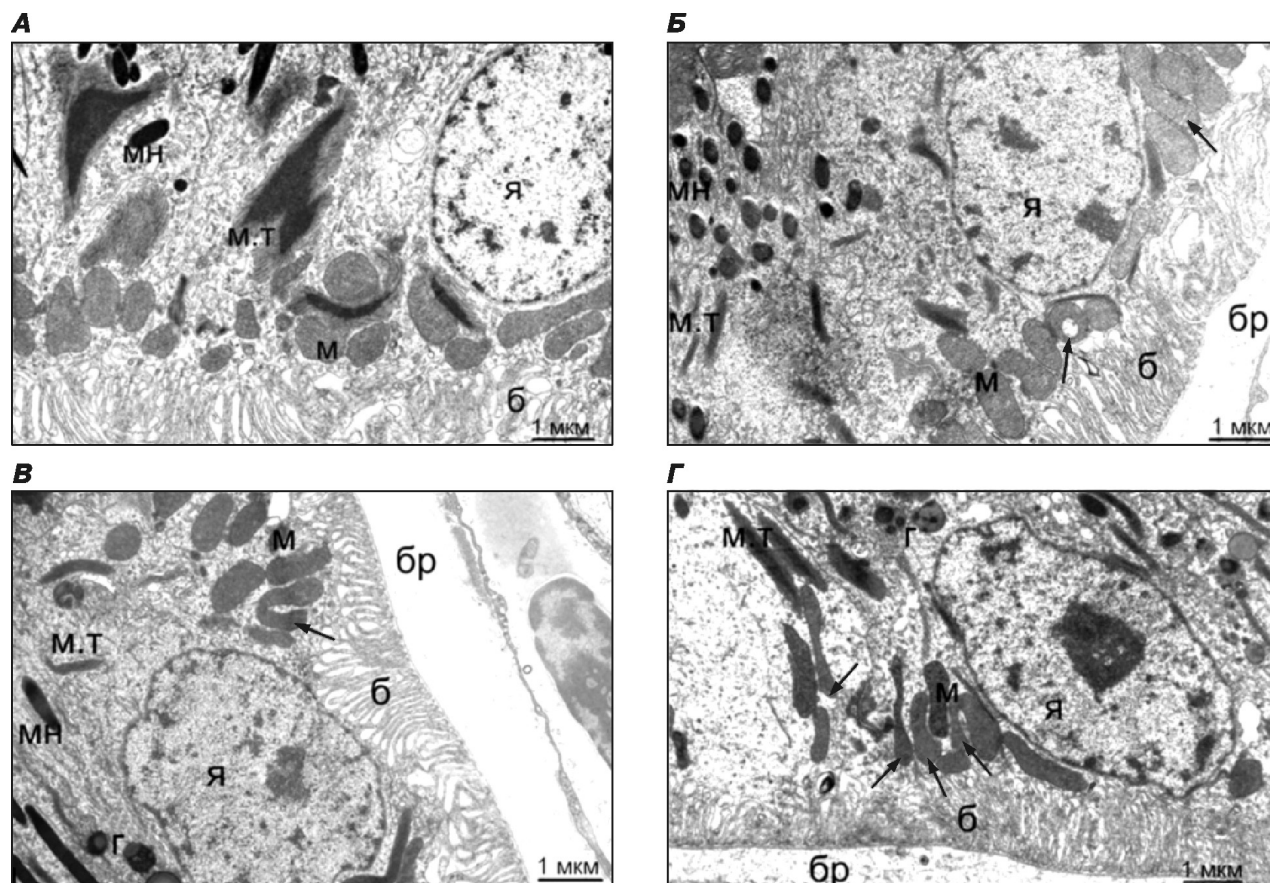


Рис. 1. Ультраструктура ядросодержащей части клеток РПЭ сетчатки перепела разного возраста: А — 9 недель, Б — 25 недель, В — 39–40 недель, Г — 52 недели;

я — ядро, мн — гранулы меланина, м — митохондрии, м.т — миелоидные тельца, г — гранулы разных типов, б — базальная складчатость плазмалеммы, бр — мембрана Бруха. Стрелками указаны кольцевидная и гантелевидные митохондрии

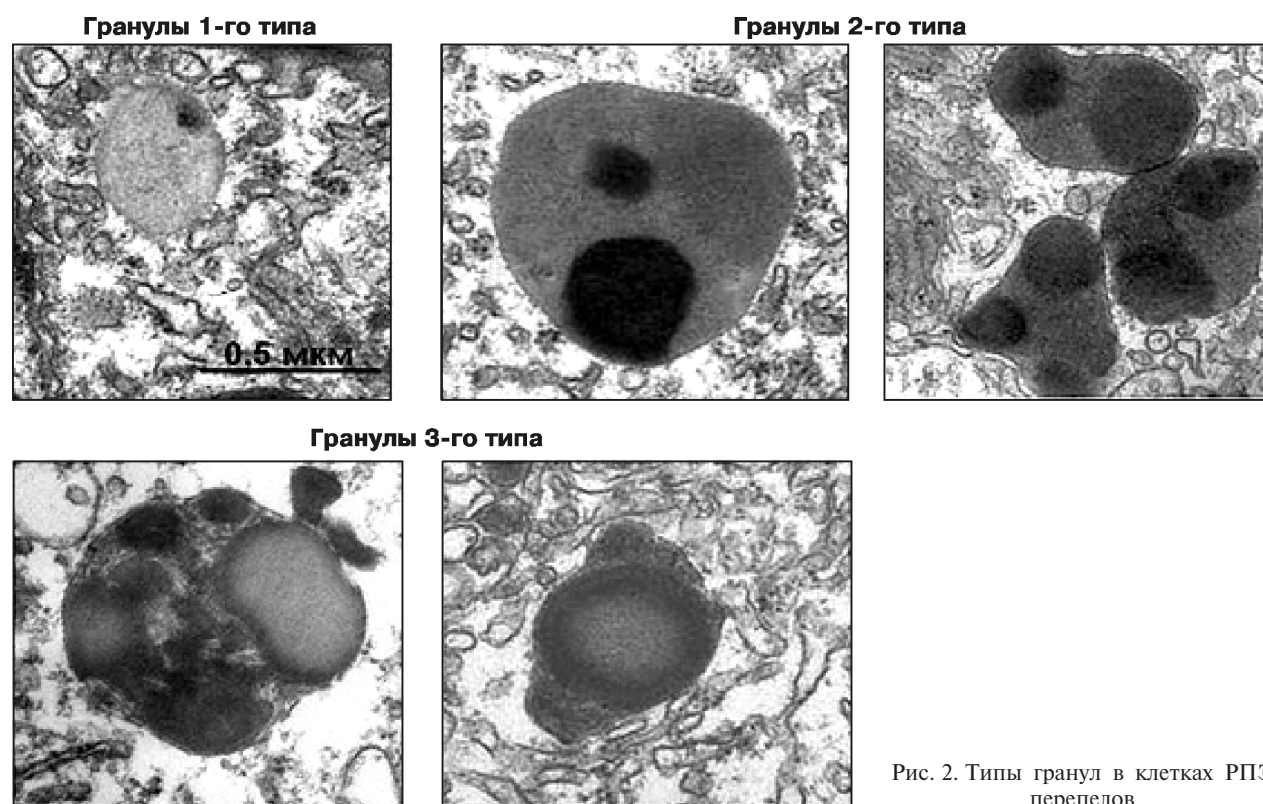


Рис. 2. Типы гранул в клетках РПЭ перепелов

гающихся преимущественно в ядродержащем слое цитоплазмы. Эти структуры окружены одинарной мембраной и могут быть разной формы и размера. Их можно классифицировать на три типа (рис. 2): 1-й — небольшие округлые гранулы с однородным тонкозернистым содержимым средней электронной плотности; 2-й — более крупные гранулы с гетерогенным содержимым разной электронной плотности; 3-й — крупные гранулы смешанного строения с ограниченной темным ободком, светлой центральной частью и периферией с включениями разной

электронной плотности. Гранулы 1-го типа соответствовали по структуре лизосомам, описанным в РПЭ кролика [11]. Гранулы 2-го и 3-го типа, согласно литературным данным [7, 8, 12], представляют собой липофусцин. При этом гранулы 2-го типа, очевидно, являются “меланолипифусцином” — продуктом неполного переваривания разрушающегося меланина [7], а гранулы 3-го типа — зрелым липофусцином, поскольку именно они преобладают у старых перепелов. Морфометрический анализ (таблица) показал, что у перепелов в возрасте 39—40 не-

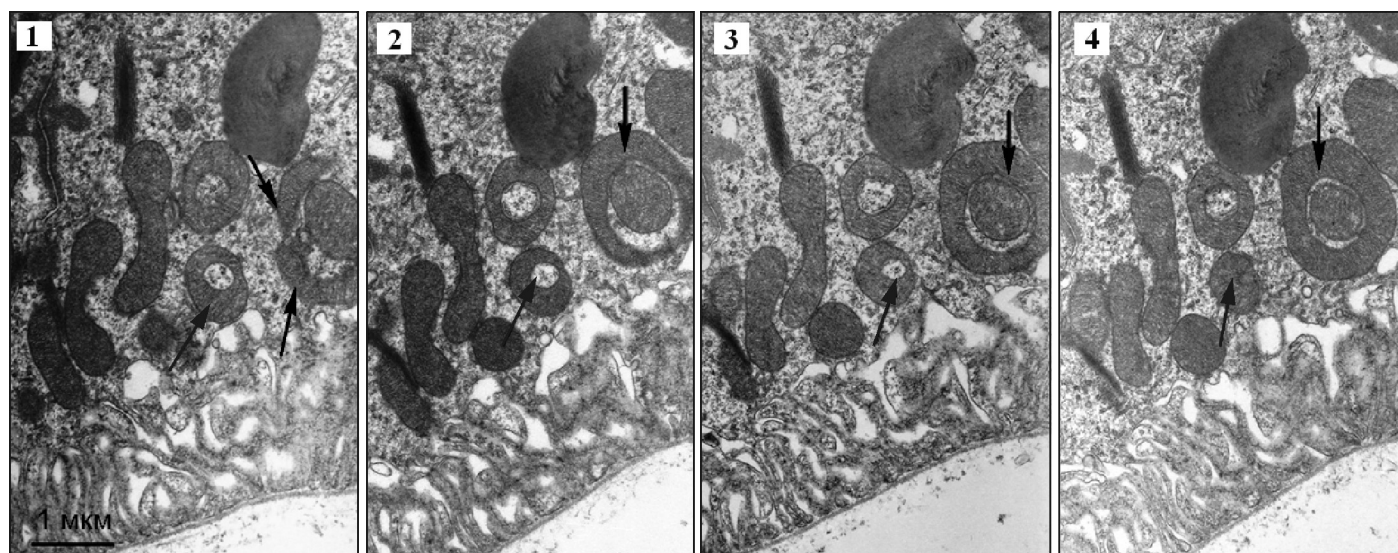


Рис. 3. Серийные срезы митохондрий в РПЭ перепела в возрасте 25 недель. Крупные стрелки указывают на кольцевидные митохондрии, а мелкие — на гантелевидные

**Морфометрический анализ ультраструктуры клеток РПЭ
у японских перепелов разного возраста**

Возраст перепелов (недели)	9	25	39—40	52	78
Гранулы					
Численная плотность (N_n) (число гранул на 100 мкм ² цитоплазмы)					
1-й тип	0,42 ± 0,20	0,20 ± 0,10	0,87 ± 0,30	0,00	0,47 ± 0,30
2-й тип	0,88 ± 0,20*	1,91 ± 0,40*	2,40 ± 0,40	1,55 ± 0,80	1,63 ± 0,50
3-й тип	0,42 ± 0,20	0,10 ± 0,10*	1,80 ± 0,60*	5,86 ± 1,90*	5,70 ± 0,90
Всех типов	1,72 ± 0,40	2,20 ± 0,40*	5,18 ± 0,70*	7,40 ± 1,40*	7,80 ± 0,90
Удельный объем (V_v), %					
1-й тип	0,21 ± 0,10	0,07 ± 0,10	0,00	0,00	0,00
2-й тип	0,30 ± 0,20*	0,83 ± 0,20*	0,62 ± 0,20	0,40 ± 0,30	0,71 ± 0,30
3-й тип	0,10 ± 0,10	0,14 ± 0,10	0,38 ± 0,20*	1,45 ± 0,60*	2,62 ± 0,70
Всех типов	0,64 ± 0,20	1,00 ± 0,20	1,00 ± 0,30	1,86 ± 0,50	3,09 ± 0,70
Митохондрии					
Численная плотность (N_n) (число митохондрий на 100 мкм ²)					
Измененная форма	3,35 ± 0,40	2,85 ± 0,30*	4,96 ± 0,50*	6,71 ± 0,70*	—
Всех типов	18,01 ± 0,90	16,70 ± 0,90	18,23 ± 1,04	16,71 ± 1,46	—
Удельный объем (V_v), %					
Измененная форма	2,92 ± 0,60	2,64 ± 0,40*	4,62 ± 0,70*	4,37 ± 0,70	—
Всех типов	10,5 ± 0,70	10,52 ± 0,70	11,71 ± 0,90	10,04 ± 1,26	—
Миелоидные тельца					
Численная плотность (N_n) (число миелоидных телец на 100 мкм ²)					
	8,68 ± 0,50*	12,04 ± 0,70*	8,00 ± 0,60*	7,92 ± 0,70	9,53 ± 0,80
Удельный объем (V_v), %					
	8,66 ± 0,60*	5,76 ± 0,60*	6,00 ± 0,60	5,02 ± 0,80	4,88 ± 0,80
Фагосомы					
Численная плотность (N_n) (число фагосом на 100 мкм ²)					
	1,13 ± 0,30	0,90 ± 0,20	1,12 ± 0,30	0,00	0,54 ± 0,30
Удельный объем (V_v), %					
	1,81 ± 0,50	2,12 ± 0,60	0,80 ± 0,30	0,00	0,60 ± 1,36

*Группы перепелов разного возраста, для которых различия показателей достоверны.

дель по сравнению с более молодыми птицами численная плотность (N_n) всех гранул возрастает в 2 раза, а у 52-недельных птиц — еще в 1,5 раза, при этом удельный объем (V_v) гранул остается постоянным. Соотношение гранул разных типов меняется по мере старения. Так, у 25-недельных птиц N_n и V_v гранул 2-го типа возрастают (в 2 и почти в 3 раза соответственно), а затем остаются постоянными; к 39—40 неделям увеличиваются N_n и V_v гранул 3-го типа (в 18 и 3 раза соответственно), и у птиц в возрасте 52 недели происходит дальнейшее увеличение этих показателей. В то же время показатели для гранул 1-го типа остаются неизменными на протяжении жизни.

При увеличении возраста птиц наблюдаются также выраженные изменения хондриома в клетках РПЭ. У молодых птиц митохондрии, как правило, имеют округлую или палочковидную форму; кристы ровные узкие или несколько расширенные; матрикс средней электронной плотности (рис. 1, А). У перепелов старшего возраста чаще встречаются необычные по форме митохондрии, имеющие на срезах вид колец или изогнутых гантелей, при этом их внутренняя структура такая же, как и у остальных митохондрий (рис. 1, Б—Г; 3). Такие видоизмененные митохондрии у птиц в возрасте 52 недели составляют 40,1% от общего числа митохондрий (при расчете

на 100 мкм² площади цитоплазмы), причем число гантелевидных митохондрий в 12 раз больше, чем кольцевидных (37,1% по сравнению с 3,1%) (таблица). Кольцевидные и гантелевидные митохондрии встречаются и в клетках РПЭ молодых птиц, но гораздо реже, составляя в среднем около 18,6% от общего числа митохондрий. Как показало изучение серийных срезов, профили кольцевидных и некоторых гантелевидных митохондрий, скорее всего, представляют собой сечения чашевидных митохондрий, хотя, видимо, существуют митохондрии и гантелевидной формы (рис. 3). По данным морфометрического анализа (таблица), к возрасту 39–40 недель N_n и V_v митохондрий измененной формы повышаются почти в 2 раза за счет гантелевидных митохондрий; N_n и V_v кольцевидных митохондрий с увеличением возраста не меняются. Примечательно, что V_v и N_n для всей совокупности митохондрий клеток РПЭ старых и молодых птиц сходны.

N_n миелоидных телец у перепелов в возрасте 25 недель увеличивается в 1,4 раза по сравнению с более молодыми, однако к 39–40 неделям возвращается к прежнему уровню. При этом V_v этих телец снижается в 1,5 раза. Показатели V_v и N_n для фагосом в клетках РПЭ перепела остаются неизменными на протяжении жизни (таблица).

Возрастные изменения ультраструктуры клеток РПЭ затрагивают также их ядра: у молодых птиц ядра округлые с ровной поверхностью, у старых нередко наблюдаются ядра неправильной формы с инвагинациями ядерной оболочки (рис. 1, В, Г).

Также при старении нарушается упорядоченное расположение базальных отростков клеток РПЭ, характерное для молодых птиц: они становятся более редкими (рис. 4, Б).

Внутренняя структура мембраны Бруха, состоящая у молодых птиц из гомогенного вещества малой электронной плотности, с возрастом становится заметно гетерогенной с различными везикулярными,

гранулярными, линейными и пластинчатыми включениями (рис. 4, Б).

При анализе методом TUNEL РПЭ молодых птиц (25 недель) апоптотические ядра не выявлены; у старых птиц (52 недели) 16% всех ядер клеток РПЭ были апоптотическими.

Обсуждение результатов

Полученные нами данные позволяют сформировать систему маркеров старения РПЭ на электронно-микроскопическом уровне и дают представления о развитии возрастных изменений в его клетках.

Наиболее специфическими маркерами старения клеток млекопитающих считаются ЛГ — не поддающиеся перевариванию токсичные метаболиты. В РПЭ ЛГ включают окисленные липиды, белки и ретиноидные флуорофоры, оставшиеся после внутриклеточного расщепления фагоцитированных участков наружных сегментов фоторецепторных клеток [13, 14]. В клетках РПЭ человека предельное накопление ЛГ происходит к 60–70 годам [7], а в РПЭ японского перепела аналогичное накопление ЛГ, по результатам настоящей работы, наблюдается уже к 1–1,5-годовалому возрасту. Сходные электронно-микроскопические данные по накоплению ЛГ в РПЭ перепела приведены в работе Файт и Бенгстон [8]. Вместе с тем нами установлен не описанный ими факт, что в клетках РПЭ перепела при старении меняется соотношение разных типов ЛГ: количество гранул 2-го типа (меланолипофусцин) резко возрастает к возрасту 25 недель, но затем остается постоянным, тогда как количество ЛГ 3-го типа, напротив, прогрессивно увеличивается. Эти данные коррелируют с распределением меланолипофусцина и липофусцина в РПЭ сетчатки человека по мере старения [7]. Исходя из этого наиболее выраженными и специфическими маркерами старения РПЭ перепела можно считать ЛГ 3-го типа. Результаты измерений численности ЛГ в РПЭ перепела в нашей работе служили отправной точкой по оценке демонстрационной эффективности других субклеточных маркеров старения клеток РПЭ. Полученные нами результаты показывают, что наряду с отложениями липофусцина дополнительной характеристикой стареющих клеток могут служить значительные изменения в строении ядерного и энергетического аппаратов клеток РПЭ. Так, у старых птиц нередко наблюдались ядра с неровной поверхностью, иногда в них отмечалось увеличение конденсации хроматина. Возрастные изменения, наблюдаемые в хондриоме клеток РПЭ перепела, также оказались весьма существенными: резко возросло содержание митохондрий, имеющих на срезах вид изогнутых гантелей или колец. В совокупности изменения ядер и митохондрий позволяют оценивать старение РПЭ на клеточном уровне и дают воз-

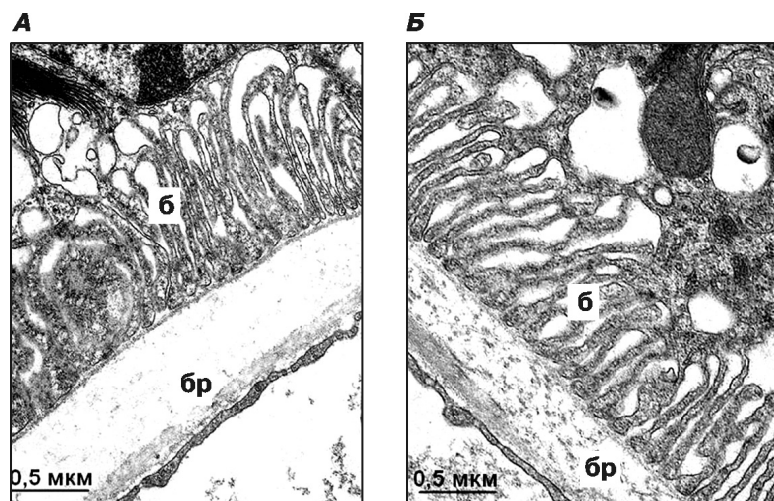


Рис. 4. Базальная часть клеток РПЭ и мембрана Бруха сетчатки перепелов в возрасте 9 недель (А) и 39–40 недель (Б): б — базальная складчатость плазмалеммы, бр — мембрана Бруха

возможность сопоставления функционального состояния клеток в разных зонах РПЭ.

Возрастные изменения, наблюдаемые в мембране Бруха и базальных отростках РПЭ перепела, представляются достаточно значимыми, однако они более трудоемки для морфометрических измерений на электронно-микроскопическом уровне. Наименее выраженными оказались изменения, характеризующие фагоцитарную активность клеток РПЭ, хотя они и свидетельствовали о в некотором ее снижении с возрастом.

Все выделенные нами субклеточные маркеры старения клеток РПЭ сами по себе могут служить маркерами функционального состояния клетки. Так, наблюдаемые нами у стареющих перепелов ядра с инвагинациями поверхности и с увеличенной конденсацией хроматина описаны в разных тканях млекопитающих при развитии патологических процессов и гибели клеток, в частности при апоптозе [15]. Полученные нами методом TUNEL данные подтвердили присутствие апоптотических клеток в РПЭ стареющих птиц. Увеличение числа кольцевидных митохондрий с возрастом, выявленное нами в клетках РПЭ перепела, отмечалось и в клетках РПЭ цыплят [16]. У человека гантелевидные и кольцевидные митохондрии наблюдали в РПЭ при гиратной атрофии сетчатки [17]. Описаны они и в клетках других тканей при патологических условиях, в частности в печени, где их появление связывают с усилением синтеза митохондриальных белков [18]. Изучение нами серийных срезов клеток РПЭ показало, что кольцевидные и гантелевидные митохондрии, скорее всего, представляют собой срезы чашевидных митохондрий. Поскольку изменение формы приводит к увеличению площади поверхности митохондрии, это можно рассматривать как проявление адаптивной реакции, направленной на компенсацию сниженного уровня энергетического метаболизма клеток РПЭ, отмечающегося при старении [16].

Наряду с изменениями ядер и хондриома наблюдаемое нами в РПЭ накопление ЛГ при старении может влиять на функциональное состояние клеток за счет фототоксичности этих гранул, генерирующих при действии света свободные радикалы [19–21]. Развивающиеся при этом окислительные реакции могут привести к нарушению метаболизма клеток и повреждению их структуры [22, 23].

Установленное нами снижение содержания в клетках РПЭ миелоидных телец может указывать на угнетение фагоцитарной активности РПЭ, поскольку образование этих структур, характерных для птиц, связывают с процессами фагоцитоза [24, 25].

Важную роль в межклеточном обмене между РПЭ и сосудистой оболочкой играют мембрана Бруха и

контактирующие с ней базальные отростки клеток РПЭ. В нашем исследовании, как и в работе Файт и соавторов [26], мы наблюдали, что в РПЭ перепела по мере старения происходит дезорганизация базальных отростков и появление различных включений в толще мембраны Бруха. Сходные явления описывают и в сетчатке млекопитающих, в том числе человека [2, 27]. Они могут быть связаны со снижением при старении деградации внеклеточного матрикса, накоплением в нем липидов и жирных кислот [27], что ведет к замедлению транспорта веществ между сосудистой оболочкой и РПЭ и ухудшает его функциональное состояние. Одним из наиболее характерных признаков старения сетчатки человека является образование посторонних включений — так называемых друз — между РПЭ и мембраной Бруха. Друзы представляют собой отложения нейтральных жиров, фосфолипидов, белков, везикул [28]. Друзоподобные включения описаны и для РПЭ перепела *C. japonica* [26]. Наблюдаемые нами пластинчатые и везикулярные включения в мембране Бруха старых птиц похожи по структуре на компоненты “мягких” друз человека [29] и, возможно, могут служить предшественниками друзоподобных отложений. Считают, что образование друз — результат нарушения нормального функционирования клеток РПЭ, при котором происходит перемещение в мембрану Бруха различного материала, накапливающегося в клетках РПЭ вследствие его недостаточного устранения [30, 31]. У человека обнаружена корреляция между плотностью этих отложений и степенью дегенерации клеток РПЭ и фоторецепторов [2]. Для перепела было показано, что область распространения и размер друзоподобных отложений увеличиваются по мере старения [26]. Однако в нашей работе друзы, подобные описанным, не были обнаружены. Возможно, это объясняется недостаточно большим возрастом изученных нами птиц.

Таким образом, из наших данных следует, что наиболее значимыми субклеточными маркерами старения клеток РПЭ японского перепела являются ЛГ 3-го типа, измененные ядра и митохондрии. Для всех трех видов маркеров имеются коррелирующие литературные данные по РПЭ человека, что подтверждает возможность использования японского перепела *C. japonica* в качестве хорошей модели для изучения в ускоренном временном режиме функционального состояния РПЭ при старении и дает дополнительную систему тестов, позволяющую на ультраструктурном уровне оценить степень развития данного процесса. При этом у японского перепела можно выделить возрастные группы ювильного, зрелого и старческого возраста, четко отличающиеся по содержанию маркерных структур в РПЭ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Трофимова С.В., Хавинсон В.Х. Сетчатка и старение // Усп. геронтол. 2002. № 9. С. 79–82.

2. Ehrlich R., Harris A., Kheradiya N.S., Winston D.M., Ciulla T.A., Wiostko B. Age-related macular degeneration

and the aging eye // Clin. Interv. Aging. 2008. Vol. 3. N 3. P. 473–482.

3. Fine S.L., Berger J.W., Maguire M.G., Ho A.C. Age-related macular degeneration // New Engl. J. Med. 2000. Vol. 342. N 7. P. 483–492.

4. Nowak J.Z. Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy // Pharmacol. Rep. 2006. Vol. 58. N 3. P. 353–363.

5. Зак П.П., Зыкова А.В., Трофимова Н.Н., Эскина Э.Н., Островский М.А. Экспериментальная модель ускоренного старения сетчатки: японский перепел *Coturnix japonica* // Сенсорные системы. 2012. Т. 26. № 1. С. 3–10.

6. Khachik F., Moura F.F. de, Zhao D.Y., Aebischer C.P., Bernstein P.S. Transformations of selected carotenoids in plasma, liver, and ocular tissues of humans and in nonprimate animal models // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2002. Vol. 43. N 11. P. 3383–3392.

7. Feeney-Burns L., Hilderbrand E.S., Eldridge S. Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1984. Vol. 25. N 2. P. 195–200.

8. Fite K.V., Bengston L. Aging and sex-related changes in the outer retina of Japanese quail // Curr. Eye Res. 1989. Vol. 8. N 10. P. 1039–1048.

9. Автандилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию. М.: Медицина, 1980. 216 с.

10. Gavrieli Y., Sherman Y., Ben-Sasson S. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation // J. Cell Biol. 1992. Vol. 119. N 3. P. 493–501.

11. Kim I.T., Kwak J.S. Degradation of phagosomes and diurnal changes of lysosomes in rabbit retinal pigment epithelium // Korean J. Ophthalmol. 1996. Vol. 10. N 2. P. 82–91.

12. Julien S., Schraermeyer U. Lipofuscin can be eliminated from the retinal pigment epithelium of monkeys // Neurobiol. Aging. 2012. P. 1–8.

13. Яковлева М.А., Сакина Н.Л., Канонихин А.С., Фельдман Т.Б., Николаев Е.Е., Донцов А.Е., Островский М.А. Обнаружение и исследование продуктов фотоокисления N-ретинилиден-N-ретинилэтанол-амин (A2E) — флуорофора липофусциновых гранул из клеток пигментного эпителия глаза человека // Докл. АН. 2006. № 3. С. 411–414.

14. Kennedy C.J., Rakoczy P.E., Constable I.J. Lipofuscin of the retinal pigment epithelium: a review // Eye. 1995. N 9. P. 763–771.

15. Лушников Е.Ф., Абросимов Ф.Ю. Гибель клетки (апоптоз). М.: Медицина, 2001. 190 с.

16. Lauber J.K. Retinal pigment epithelium: ring mitochondria and lesions induced by continuous light // Curr. Eye Res. 1982–1983. Vol. 2. N 12. P. 855–862.

17. Liang H., Crewther S.G., Crewther D.P. A model for the formation of ring mitochondria in retinal pigment epithelium // Yan Ke Xue Bao. 1995. Vol. 11. N 1. P. 9–15.

18. Almsheerqi Z., McLachlan C.S., Tay S.K., Deng Y. Chronic phenobarbital-induced mitochondrial pleomorphism in the rat liver // Toxicol. Pathol. 2007. Vol. 35. N 6. P. 833–835.

19. Островский М.А., Донцов А.Е., Сакина Н.Л., Боултон М., Джарвис-Эванс Дж. Способность липофусциновых гранул из ретиального пигментного эпителия глаза человека к фотосенсибилизированному перекисному окислению липидов при действии видимого света // Сенсорные системы. 1992. Т. 6. № 3. С. 51–54.

20. Островский М.А. Фотобиологический парадокс зрения // Усп. биол. химии. 2005. Т. 45. С. 173–204.

21. Boulton M., Dontsov A., Ostrovsky M., Jarvis-Evans J., Sivistunen D. Lipofuscin is a photoinducible free radical generator // J. Photochem. Photobiol. 1993. Vol. 19. P. 201–204.

22. Dontsov A.E., Glickman R.D., Ostrovsky M.A. Retinal pigment and epithelium pigment granules stimulate the photo-oxidation of unsaturated fatty acids // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 26. N 11–12. P. 1436–1446.

23. Wassel J., Davis S., Bardesley W., Boulton M. The photoreactivity of the retinal age pigment lipofuscin // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 23828–23832.

24. Abran D., Dickson D.H. Biogenesis of myeloid bodies in regenerating newt (*Notophthalmus viridescens*) retinal pigment epithelium // Cell Tissue Res. 1992. Vol. 268. N 3. P. 531–538.

25. Dickson D.H., Harvey H.L. Myeloid body development in the chick retinal pigment epithelium // Curr. Eye Res. 1992. Vol. 11. N 2. P. 147–152.

26. Fite K.V., Bengston L., Cousins F. Drusen-like deposits in the outer retina of Japanese quail // Exp. Eye Res. 1994. Vol. 59. N 4. P. 417–424.

27. Bonilha V.L. Age and disease-related structural changes in the retinal pigment epithelium // Clin. Ophthalmol. 2008. Vol. 2. P. 413–424.

28. Wang L., Clark M.E., Crossman D.K., Kojima K., Messinger J.D., Mobley J.A., Curcio C.A. Abundant lipid and protein components of drusen // PLoS One. 2010. Vol. 5. N 4. P. 1–12.

29. Johnson P.T., Lewis G.P., Talada K.C., Brown M.N., Kappel P.J., Johnson L.V. Drusen-associated degeneration in the retina // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2003. Vol. 44. N 10. P. 4481–4488.

30. Birch D.G., Liang F.Q. Age-related macular degeneration: a target for nanotechnology derived medicines // Intern. J. nanomedicine. 2007. Vol. 2. N 1. P. 65–77.

31. Johnson L.V., Forest D.L., Banna C.D., Radeke C.M., Maloney M.A., Hu J., Spencer C.N., Walker A.M., Tsie M.S., Bok D., Radeke M.J., Anderson D.H. Cell culture model that mimics drusen formation and triggers complement activation associated with age-related macular degeneration // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. Vol. 108. N 45. P. 18277–18282.

Поступила в редакцию
15.11.12

SUBCELLULAR AGING MARKERS OF JAPANESE QUAIL *COTURNIX JAPONICA* RETINAL PIGMENT EPITHELIUM (ELECTRON-MICROSCOPIC INVESTIGATION)

N.B. Seryoznikova, P.P. Zak, L.S. Pogodina, N.N. Trofimova, T.V. Lipina, M.A. Ostrovsky

It is known that aging of retina of humans and quails is very similar by a number of parameters, so the Japanese quail *Coturnix japonica* is considered as one of the most successful experimental ani-

mal models of accelerated aging of retina. Structural changes of pigment epithelium in the central area of retina were examined in Japanese quails (age 9, 25, 39—40, 52 weeks) by transmission electron microscopy and morphometric analysis. Our study revealed that in addition to accumulation of lipofuscin granules and ultrastructure changes in Bruch's membrane, demonstrative subcellular markers of retinal pigment epithelium cell state at aging are alteration of mitochondria and nuclei shapes, decrease in myeloid bodies quantity and disorganization of basal infoldings.

Key words: *Japanese quail, retinal pigment epithelium, lipofuscin, mitochondria, aging.*

Сведения об авторах

Серезжникова Наталья Борисовна — аспирантка кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-916-262-30-87; e-mail: natalia.serj@yandex.ru

Зак Павел Павлович — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН. Тел.: 8-916-949-48-93; e-mail: pavelzak@mail.ru

Погодина Лариса Сергеевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-917-511-38-65; e-mail: lpogod@mail.ru

Трофимова Наталья Николаевна — канд. биол. наук, науч. сотр. ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН. E-mail: ntrofimova@mail.ru

Липина Татьяна Владимировна — канд. биол. наук, доц. кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-916-920-26-49; e-mail: tlipina@mail.ru

Островский Михаил Аркадьевич — докт. биол. наук, акад. РАН, зав. кафедрой молекулярной физиологии биологического факультета МГУ, зав. лабораторией физико-химических основ рецепции ИБХФ им. Н.М. Эмануэля РАН. Тел.: 8-499-939-73-57; e-mail: ostrovsky@sky.chph.ras.ru