

Реакция гематоретинального барьера на комбинированное воздействие ионизирующей радиации и яркого света

Потапов А.В., Варакута Е.Ю., Логвинов С.В., Жданкина А.А., Мухуля Е.П., Аникина Е.Ю.

Haemoretinal barrier reaction on combined exposure of ionizing radiation and bright light

Potapov A.V., Varakuta Ye.Yu., Logvinov S.V., Zhdankina A.A., Mikhoullya Ye.P., Anikina Ye.Yu.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Потапов А.В., Варакута Е.Ю., Логвинов С.В. и др.

Цель настоящей работы — установление характера модифицирующего влияния ионизирующей радиации на повреждения компонентов гематоретинального барьера, вызываемые светом. Исследование показало, что предварительное тотальное рентгеновское облучение (5 Гр) крыс усиливает световые повреждения (3 500 лк в течение 1, 2, 7, 14, 30 сут) гематоретинального барьера, которые проявляются снижением удельной площади открытых капилляров хориоидеи, гемодинамическими расстройствами, реактивными и деструктивными изменениями пигментного эпителия. Нарушения гематоретинального барьера носят очаговый характер и наиболее выражены на участках сетчатки с массовой гибелью нейросенсорных клеток.

Ключевые слова: свет, рентгеновское излучение, гематоретинальный барьер, пигментный эпителий.

The aim of this work was to determine character of modifying radiation influence on damages of haemoretinal barrier components which is caused by light. The study showed that preliminary total x-ray radiation (5 Gy) increases lightning damages (3 500 lx, on the 1-st, 2-nd, 7-th, 14-th, 30-th days) of haemoretinal barrier which manifest by decreased specific square of chorioidea's open capillaries, by haemodynamic disorders, reactive and destructive changes of pigmental epithelium. Damages of haemoretinal barrier is of focal character and are mostly expressed on the areas of retina with massive destruction of neurosensory cells.

Key words: light, x-ray radiation, haemoretinal barrier, pigmental epithelium.

УДК 612.843-001.28-092

Введение

В настоящее время наблюдается широкое внедрение во многие сферы жизнедеятельности человека мощных источников света, уровень излучения которых часто не соответствует гигиеническим стандартам. Клинические исследования показали, что высокоинтенсивный свет может служить фактором внешней среды, ускоряющим возрастные болезни и дистрофию сетчатой оболочки глаза [13, 14]. Известно, что фотооблучение приводит к повреждению клеточных компонентов сетчатки [11, 12]. Проблема комбинированного воздействия ионизирующей радиации и света на сетчатую оболочку глаза связана с высокой поражаемостью органа зрения [4, 6, 9]. Сочетание указанных факторов встречается не только в промышленности и на производстве, но и в повседневной жизни при воздействии на человека естественного и

бытового радиационного фона [1, 4, 5]. Имеющиеся в литературе данные о морфологических изменениях структурных компонентов сетчатки после комбинированных облучений немногочисленны и противоречивы.

Цель настоящей работы — установить характер модифицирующего влияния ионизирующей радиации на повреждения компонентов гематоретинального барьера, вызываемые светом.

Материал и методы

Эксперименты проведены на 100 беспородных половозрелых белых крысах обоего пола массой 180—200 г. В 1-й серии опытов ($n = 25$) животных в течение 1, 2, 7, 14, 30 сут подвергали равномерному облучению люминесцентными лампами ЛБ-40. Освещенность крыс составила

3 500 лк. Крысы 2-й группы ($n = 25$) подвергали однократному тотальному рентгеновскому облучению в дозе 5 Гр с помощью аппарата РУМ-17, а крысы 3-й группы ($n = 25$) подвергали комбинированному тотальному воздействию рентгеновского излучения и света в указанных параметрах с интервалом в 1 ч. На каждую экспериментальную точку приходилось 5 животных. В качестве контрольной группы ($n = 25$) использовали интактных крыс, содержащихся в условиях искусственного светового режима (12 ч день, 12 ч ночь) с интенсивностью дневного освещения 25 лк. Взятие материала осуществляли после декапитации животных сразу и через 1, 2, 7, 30 сут после экспериментального воздействия.

Глазные яблоки фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в парафин. Для ультраструктурного анализа центральные участки задней стенки глаза фиксировали в 2,5%-м глутаральдегиде на какодилатном буфере ($\text{pH} = 7,4$). Материал постфиксировали в 2%-м растворе четырехоксида осмия и заливали в эпон. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали и фотографировали в электронном микроскопе JEM-100 CX-II. На полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синим, определяли удельную площадь открытых капилляров хориоидеи и толщину пигментного эпителия. Статистическая обработка проведена с вычислением среднего арифметического значения M и ошибки среднего значения m . Достоверность различия данных определялась с применением непараметрического U -критерия Манна—Уитни. Критический уровень значимости p принимался равным 0,05.

Результаты исследования

После 1 сут светового воздействия в клетках пигментного эпителия наблюдается увеличение базальной складчатости, набухание митохондрий, в апикальных отделах возрастает количество фагосом (рис. 1). Микроворсинки большинства пигментоэпителиоцитов увеличены в размере. Изменения сосудов носят очаговый характер. На одних участках сетчатки некоторые хориокапилляры резко сужены или закрыты за счет набухания ядросодержащей части эндотелия. Цитоплазма эндотелиоцитов образует складки, выступающие в просвет сосудов. Базальные мембраны таких капилляров выглядят утолщенными, а их просвет не содержит форменных элементов крови. На других участках строение хориокапилляров не отличается от контроля.

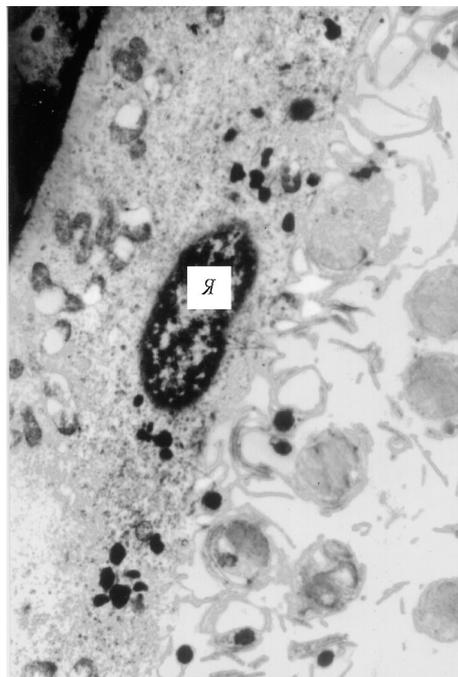


Рис. 1. Активизация фагоцитоза наружных сегментов нейросенсорных клеток пигментоэпителиоцитами после 1 сут светового облучения. Я — ядро пигментоэпителиоцита. Ув. 4800

После 2 сут светового воздействия в сетчатке появляются гипертрофированные пигментоэпителиоциты, имеющие крупные округлые ядра. Их цитоплазма имеет множество вакуолей и микровезикул, набухшие митохондрии с частичной деструкцией крист. Встречаются участки сетчатки, на которых отмечается сужение просвета сосудов хориоидеи и нередко отсутствие в них форменных элементов крови. Цитоплазма эндотелиоцитов содержит набухшие митохондрии, различной величины вакуоли, мембранные комплексы. Базальная мембрана данных капилляров характеризуется неравномерной толщиной и местами разрыхлена и утолщена. На других участках в капиллярах хориоидеи наблюдается полнокровие, стаз и сладж эритроцитов.

После 7 сут светового облучения встречаются участки сетчатки, лишённые фотосенсорного слоя, а наружный ядерный слой представлен единичными ядрами нейросенсорных клеток, при этом большинство из них подвержено пикнозу. В очагах поражения отмечается уменьшение содержания открытых капилляров хориоидеи. Эндотелиоциты функционирующих капилляров набухшие, а количество органелл в них снижено. Из-за деструкции отежных митохондрий в цитоплазме появляются крупные вакуоли. Цитоплазматический матрикс характеризуется низкой электронной плотностью. Вне

очага поражения изменения сосудов носят реактивный характер. Это проявляется их расширением, локальным отеком базальной мембраны. Часть сосудов полнокровна.

После 14 сут воздействия светом большинство клеток пигментного эпителия имеют нормальное строение, у многих из них гипертрофированы апикальные отростки. Также встречаются уменьшенные в размере клетки, в цитоплазме которых выявляются отечные митохондрии, миелиноподобные тельца. У некоторых пигментноэпителиоцитов нарушается целостность апикальных отростков и исчезает базальная складчатость цитолеммы. В очагах деструкции нейросенсорных клеток резко уменьшается количество гемокапилляров хориоидеи. Большая часть сохранившихся сосудов характеризуется сужением просвета. В эндотелиоцитах и перицитах данных капилляров наблюдается повышение осмиофилии цитоплазмы, увеличение числа лизосом, появление фагосом и миелиноподобных телец. Толщина базальной мембраны неравномерна, местами происходит ее разволокнение.

После 30 сут светового воздействия часть пигментноэпителиоцитов подвержена кариопикнозу. Их цитоплазма представляет собой однородную мелкогранулярную структуру с малым количеством органелл (деструктивные митохондрии, отдельные лизосомы и вакуоли). Базальный комплекс утолщен. Практически отсутствуют слои, образованные нейросенсорными клетками, вследствие чего ядра внутреннего ядерного слоя приближены к пигментному эпителию. Деструктивные изменения хориокапилляров сохраняются и прогрессируют.

После рентгеновского облучения в ранние сроки (1—2-е сут) наблюдаются реактивные изменения пигментного эпителия, проявляющиеся увеличением базальной складчатости, набуханием митохондрий, гипертрофией апикальных отростков и активизацией фагоцитарной активности. Часть хориокапилляров расширена. В более поздние сроки (7, 14, 30-е сут) после рентгеновского воздействия пигментный эпителий в основном не поврежден, но характеризуется некоторым уменьшением базальной складчатости и набуханием митохондрий. В единичных хориокапиллярах наблюдается повышение степени фенестрированности эндотелия.

После 1—2 сут комбинированного воздействия в клетках пигментного эпителия обнаруживается существенное увеличение количества фагосом и базальной складчатости, более выраженное, чем после одного светового облучения (рис. 2). Появляются гипертрофированные клетки. Крупные ядра (одно-два) располагаются в центре пигментноэпителиоцита. В апикальной части цитоплазмы повышается содержа-

ние фагосом. В базальных и центральных отделах выявляются многочисленные вакуоли, образующиеся в результате деструкции митохондрий. Просвет большинства капилляров сосудистой оболочки сужен или закрыт. Эндотелиоциты хориокапилляров нередко гиперхромны и пикноморфны. В некоторых сосудах, прилегающих к базальному комплексу, наблюдается гиперемия.

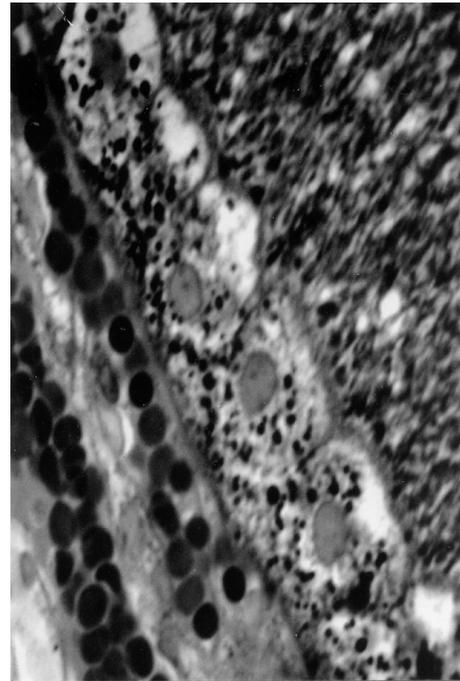


Рис. 2. Высокое содержание фагосом в цитоплазме пигментноэпителиоцитов после 1 сут комбинированного облучения. Полутонкий срез, окраска толудиновым синим. Ув. 900

После 7 сут комбинированного облучения подавляющее большинство пигментноэпителиоцитов гипертрофированы. Их цитоплазма гомогенна и содержит большое количество вакуолей. Количество микроворсинок уменьшено. Сохранившиеся утолщены и захватывают поврежденные сегменты нейросенсорных клеток. Субретинальное пространство заполнено деструктивно измененными наружными сегментами. Сосуды хориоидеи, прилежащие к пигментному эпителию, часто сужены. Цитоплазма эндотелиоцитов отечна. Перициты вакуолизированы. В единичных сосудах наблюдается тромбоз. Базальный комплекс утолщен и расслоен.

После 14 сут комбинированного воздействия часть пигментноэпителиоцитов имеет нормальное строение или характеризуется гипертрофией апикальных отростков. Встречаются клетки, цитоплазма которых в несколько раз увеличена в объеме и буквально «нафарширована» многочисленными фагосомами, которые, как правило, содержат фрагменты

поврежденных наружных сегментов на разной стадии лизиса. В базальных отделах появляются отечные митохондрии. Апикальные отростки единичные и укороченные. Также выявляются уменьшенные в размере клетки пигментного эпителия. В их цитоплазме находятся осмиофильные вакуоли и миелоноподобные тельца. Количество гемокапилляров в сосудистой оболочке снижено. Эндотелий сохранившихся сосудов хориоидеи характеризуется выраженной вакуолизацией цитоплазмы. Цитоплазматический матрикс представляет собой мелкогранулярную структуру с весьма малым количеством органелл, среди которых преобладают деструктивные митохондрии, множественные вакуоли и лизосомы. Базальный комплекс неравномерно утолщен вследствие пролиферации волокнистого компонента.

После 30 сут комбинированного воздействия пигментный эпителий в основном представлен увеличенными в объеме клетками. Их цитоплазма вакуолизована, а базальная складчатость цитолеммы сглажена. Количество митохондрий в таких клетках резко уменьшается. Встречаются участки сетчатки, на которых пигментный слой отсутствует. Здесь обнаруживаются единичные эпителиальные клетки, вблизи которых отмечается глиальная пролиферация, а внутренний ядерный слой приближен к базальному комплексу. Эндотелиоциты сохранившихся капилляров хориоидеи набухшие, содержание органелл в них резко снижено. Цитоплазматический матрикс обладает низкой электронной плотностью. В околоядерных зонах в цитоплазме встречаются миелоноподобные тельца.

Анализ изменений толщины пигментного эпителия показал, что после окончания рентгеновского облучения в дозе 5 Гр данный показатель достоверно не отличается от такового в контроле и не меняется до 30-х сут эксперимента (рис. 3). После 30 сут светового облучения толщина пигментноэпителиоцитов в 3,5 раза меньше таковой в контроле. После 14 сут комбинированного облучения данный показатель в 1,7 раза меньше такового в световой серии и достоверно не меняется до 30-х сут эксперимента.

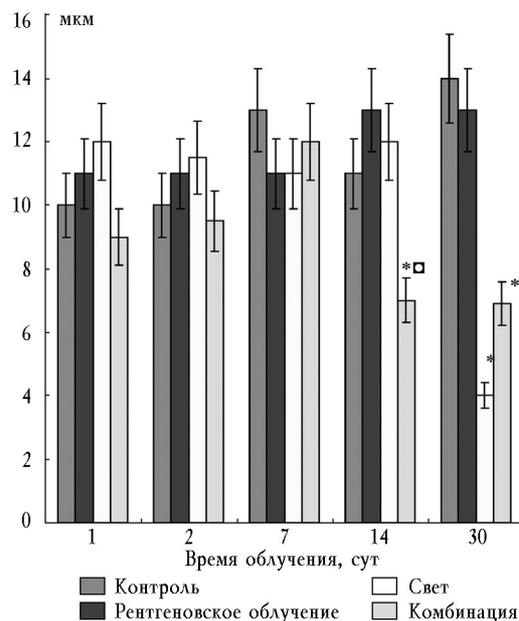


Рис. 3. Динамика изменения толщины пигментного эпителия после рентгеновского (5 Гр), светового (3 500 лк) и комбинированного воздействия ионизирующей радиации и света

На 2-е сут светового облучения удельная площадь капилляров сосудистой оболочки составила $(14,41 \pm 0,12)\%$, (контроль $(23 \pm 1,6)\%$, $p < 0,05$) (рис. 4). В дальнейшие сроки эксперимента наблюдалось снижение удельной площади хориокапилляров, и к 30-м сут она оказалась в 2,1 раза меньше контрольных значений. На 7-е сут комбинированного облучения удельная площадь капилляров хориоидеи в 1,6 раза, а на 30-е сут в 2,7 раза ниже таковой после светового облучения в аналогичный срок.

Таким образом, изменения гематоретинального барьера являются важным звеном повреждения сетчатой оболочки глаза при световом и комбинированном воздействиях. В ранние сроки (1-е, 2-е сут) эксперимента структурные реакции гематоретинального барьера выражаются в активации фагоцитарной функции пигментного эпителия, отеком и вакуолизацией цитоплазмы эндотелиоцитов капилляров хориоидеи. Сохранность пигментного эпителия, по-видимому, обусловлена тем, что он обладает мощной антиоксидантной системой защиты от повреждающего воздействия синглетного кислорода и перекисного окисления липидов, образующихся при облучении [7, 8, 10].

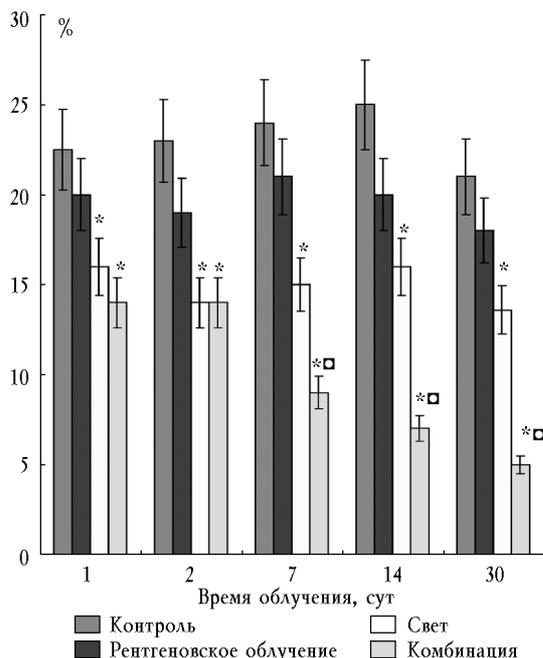


Рис. 4. Динамика изменения удельной площади среза открытых хориокапилляров после ионизирующего (5 Гр), светового (3 500 лк) и комбинированного облучения рентгеновскими лучами и светом

В поздние сроки эксперимента (14—30 сут) в пигментном эпителии развиваются деструктивные изменения, приводящие к гибели части пигментноэпителиоцитов. Весьма существенные нарушения гематоретинального барьера наблюдаются после комбинированного воздействия, в первую очередь на это указывают очаговые дефекты в пигментном эпителии, в которых пигментноэпителиоциты отсутствуют, а ведь именно пигментный эпителий и плотные замыкающие контакты между ними являются основным компонентом гематоретинального барьера [2, 3]. Необходимо отметить, что деструкция пигментного эпителия носит очаговый характер, что, вероятно, связано с функционально неодинаковым исходным состоянием клеток, а также с очаговыми нарушениями хориокапилляров, которые проявляются сужением просвета открытых хориокапилляров, явлениями стаза и сладжа форменных элементов, деструктивными изменениями эндотелия. В данном исследовании наблюдается очаговость поражения хориокапилляров. Резкое снижение удельной площади открытых капилляров хориоидеи, более выраженное при ком-

бинированном воздействии, происходит в основном на участках с массовой гибелью нейросенсорных клеток, тогда как на других участках сетчатки отмечается полнокровие этих сосудов. Данные явления способствуют дегенеративным процессам в нейронах сетчатки и срыву компенсаторно-приспособительных реакций.

Литература

1. Амиров А.Н. Гигиенические и офтальмологические аспекты коррекции профессионально значимых зрительных нарушений у пользователей видеодисплейных терминалов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Казань, 2001. 27 с.
2. Антипов В.В., Федоров В.П., Ушаков И.Б., Давыдов Б.И. Проблемы космической биологии. Л.: Наука, 1989. Т. 66. 328 с.
3. Бредбери М. Концепция гематоэнцефалического барьера. М.: Медицина, 1983. 480 с.
4. Василенко И.Я. Радиобиологические проблемы малых доз радиации // Воен.-мед. журн. 1993. № 4. С. 28—32.
5. Гусова Б.А., Асланукова Л.А. Повышение устойчивости зрительной системы у пользователей зрительных видеотерминалов // Материалы 55-й региональной конференции по фармации, фармакологии и подготовке кадров. Пятигорск, 2000. С. 183.
6. Котелянская К.Е., Обуховский Г.А. Ангиопатии органа зрения у жителей радиационно пораженных территорий Ровенской области // Офтальм. журн. 2000. № 5. С. 43—45.
7. Aydemir O., Celebi S., Yilmaz T. et al. Protective Effects of Vitamin E Forms (Alpha-tocopherol, Gamma-tocopherol and d-alpha-tocopherol Polyethylene Glycol 1000 Succinate) on Retinal Edema During Ischemia-reperfusion Injury in the Guinea Pig Retina // Int. Ophthalmol. 2004. V. 25. № 5—6. P. 283—289.
8. Cahill G.M., Besharse J.C. Light-sensitive melatonin synthesis by Xenopus photoreceptors after destruction of the inner retina // Vis. Neurosci. 1992. V. 8. № 5. P. 487—490.
9. Demirchoglian G.G. On the effect of ionizing radiation upon the retina in man and animals // Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 2002. V. 31. P. 443—484.
10. Kozaki J., Takeuchi M., Takehashi K. et al. Light-induced retinal damage in pigmented rabbit-2. Effect of alpha-tocopherol // Jpn. J. Ophthalmol. 1992. V. 36. № 3. P. 315—322.
11. Organisciak D.T., Li M., Darrow R.M., Farber D.B. Photoreceptor cell damage by light in young Royal College of Surgeons rats // Curr. Eye Res. 1999. № 19. P. 188—196.
12. Peyman G.A., Kazi A.A., Unal M. et al. Problems with and pitfalls of photodynamic therapy // Ophthalmology. 2000. V. 107. № 1. P. 29—35.
13. Wenzel A., Reme C.E., Williams T.P. et al. The Rpe65 Leu450Met variation increases retinal resistance against light-induced degeneration by slowing rhodopsin regeneration // J. Neurosci. 2001. V. 21. № 1. P. 53—58.
14. Winkler B.S., Boulton M.E., Gottsch J.D., Sternberg P. Oxidative damage and age-related macular degeneration // Molecular Vision. 1999. № 5. P. 32.

Поступила в редакцию 22.11.2006 г.