

УДК 611.843.018.29.018.7:612.843.42.014:617.753-001.15-001.26:576.3.084.1

РЕАКЦИИ ГЕМАТОРЕТИНАЛЬНОГО БАРЬЕРА НА КОМБИНИРОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ И ЯРКОГО СВЕТА

Герасимов А.В., Потапов А.В., Варакута Е.Ю., Логвинов С.В., Аникина Е.Ю.
*ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Томск, e-mail: potalex@mail.ru*

С помощью методов световой и электронной микроскопии изучены структурные изменения гематоретинального барьера у белых беспородных крыс-самцов ($n = 40$) при комбинированном воздействии ионизирующей радиации в дозе 10, 15 Гр и света (3500 лк, 48 ч). Реакции гематоретинального барьера при облучении ионизирующей радиацией и их комбинацией со светом сходны, но несут дозовую зависимость и наиболее выражены при комбинированном воздействии ионизирующей радиацией в дозе 15 Гр и света. Изменения характеризуются появлением дегенеративно измененных пигментоэпителиоцитов, снижением толщины пигментного эпителия, стазом и сладжем форменных элементов, деструкцией эндотелия и сужением просвета капилляров хориоида. Анализ изменений толщины пигментного эпителия показал, что после окончания воздействия ионизирующей радиации в дозе 10, 15 Гр данный показатель в 1,5 раза превышает контрольные значения и достоверно не отличается друг от друга после окончания комбинированного воздействия ионизирующей радиации в дозе 10 Гр и света. После окончания комбинированного воздействия ионизирующей радиации в дозе 15 Гр и света толщина пигментоэпителиоцитов в 1,25 раза меньше таковой в серии с изолированным рентгеновским воздействием в дозе 15 Гр.

Ключевые слова: свет, рентген, сосуды, эпителий, гематоретинальный барьер

REACTION OF BLOOD-RETINAL BARRIER ON THE COMBINED EXPOSURE TO X-RAYS AND BRIGHT LIGHT

Gerasimov A.V., Potapov A.V., Varakuta E.Y., Logvinov S.V., Anikina E.Y.
Siberian State Medical University, Tomsk, e-mail: potalex@mail.ru

Using light and electron microscopy studied structural changes blood-retinal barrier white mongrel male rats ($n = 40$) with the combined effects of ionizing radiation at a dose of 10, 15 Gr and light (3500 Lux, 48 h). Reaction of the blood-retinal barrier when exposed to ionizing radiation and their combination with the light are similar, but carry dose dependence and are most expressed at the combined influence by the ionizing radiation in a dose of 15 Gr and light. Changes are characterized by emergence of degenerately changed pigmentoepiteliotsit, decrease in thickness of a pigmentary epithelium, stazy and sladzhy formed elements, destruction an endoteliya and narrowing of the lumen of the capillaries of the choroid. The analysis of changes of thickness of a pigmental epithelium showed that after the end of influence of the ionizing radiation in a dose of 10, 15 Gr this indicator by 1,5 times exceeds control values and authentically not differ from each other after completion of the combined influence of ionizingradiation in a dose 10 Gr and light. After the end of the combined influence of the ionizing radiation in a dose of 15 Gr and light thickness of pigmentoepiteliotsit in 1,25 times less that in a series with the isolated x-ray influence in a dose of 15 Gr.

Keywords: light, x-rays, blood vessels, epithelium, blood-retinal barrier

Поражения глаз комбинированным воздействием ионизирующей радиацией и высокоинтенсивным светом возможны в условиях авиакосмического полета в верхних слоях атмосферы и стратосфере [7, 8, 10]. Нагрузка значительно увеличивается при изучении излучения солнечных вспышек при выходе космонавта в открытый космос в области электронного слоя Земли или в исследовательских экспедициях за пределы околоземной орбиты [5, 6]. Нервные компоненты сетчатки, подобно всей центральной нервной системе, высокорезистентны к действию ионизирующей радиации [1, 2, 3, 4]. Крайне мало сведений о реакции и количественной оценке изменений на световое и комбинированное облучения всех компонентов гематоретинального барьера.

Цель настоящей работы – установить характер модифицирующего влияния высокоинтенсивного света на повреждения гематоретинального барьера, вызываемые ионизирующей радиацией.

Материал и методы исследования

Эксперименты проведены на 40 беспородных половозрелых белых крысах обоего пола массой 180–200 г. В первой и второй серии опытов ($n = 10$) животных подвергали тотальному воздействию рентгеновского излучения в дозе 10, 15 Гр с помощью аппарата РУМ-17. Животных третьей и четвертой групп ($n = 10$) подвергали комбинированному воздействию ионизирующей радиации (10, 15 Гр), и равномерному световому облучению люминесцентными лампами ЛБ-40 (3500 лк, 48 ч) с интервалом в один час. Количество животных на каждую экспериментальную точку – 5. В качестве контроля ($n = 20$) 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 умерщвления животных декапитацией сразу после окончания экспериментального воздействия. Центральные участки задней стенки глаза фиксировали в 2,5% глютаральдегиде на какодилатном буфере (РН 7,4), постфиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия и заливали в эпон. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе JEM-100 CX-II. На полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синим, производили подсчет удельной площади открытых капилляров хориоидеи и толщину пигментного эпителия. Для оценки достоверности различий при сравнении средних величин использовали критерий Манна – Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение

Описывая структурные реакции гематоретинального барьера при различных воздействиях, необходимо отметить, что составляющими последнего являются эндотелиоциты капилляров хориоидеи, базальный комплекс и пигментоэпителиоциты [9]. После окончания воздействия ионизирующей радиации в дозе 10 Гр значительная часть клеток пигментного эпителия гипертрофирована и характеризуется наличием фагосом в цитоплазме, набуханием и частичной деструкцией митохондрий, активацией лизосомального аппарата. Со стороны базального комплекса отмечается утолщение в основном за счет отека передней, волокносодержащей части. На отдельных участках сетчатки пигментный эпителий характеризуется уменьшением базальной складчатости цитолеммы и набуханием митохондрий. Открытые капилляры хориоидеи имеют обычную ультраструктурную организацию и умеренно заполнены форменными элементами крови. В отдельных хореокапиллярах наблюдались сладж и агрегации эритроцитов.

Цитоплазма подавляющего большинства пигментоэпителиоцитов после окончания комбинированного воздействия ионизирующей радиации в дозе 10 Гр и высокоинтенсивного света гипертрофирована и содержит многочисленные фагосомы и вакуоли. Базальная складчатость цитолеммы у таких клеток увеличена, а набухшие митохондрии сосредоточены в базальных отделах цитоплазмы. Апикальные отростки активно фагоцитируют деструктивно измененные наружные сегменты. Часть клеток пигментного эпителия сохраняет обычное строение. В части капилляров хориоидеи наблюдается увеличение размеров их просвета. Цитоплазма эндотелиоцитов данных капилляров сильно вакуолизована, что, по-видимому, свидетельствует об усилении микропиноцитозного транспорта.

Подавляющее большинство пигментоэпителиоцитов после окончания воздействия ионизирующей радиации в дозе 15 Гр характеризуется гипертрофией цитоплазмы, увеличением количества фагосом, набуханием и отеком митохондрий. Встречаются клетки, в которых активизируются деструктивные процессы. Это проявляется повышением осмиофилии цитоплазмы, гиперхромией, а в отдельных случаях пикнозом ядра, отсутствием микроворсинок, исчезновением базальной складчатости. Также в них наблюдается утолщение и отек базального комплекса. Фотосенсорный слой вблизи таких пигментоэпителиоцитов заполнен не утилизируемыми наружными сегментами нейросенсорных клеток.

Просвет большинства хориокапилляров сужен. Эндотелиоциты набухшие, содержание органелл в них снижено по сравнению с контролем, цитоплазматический матрикс обладает низкой электронной плотностью. Кроме того, в цитоплазме эндотелиоцитов и перичитов появляются крупные вакуоли, часть из них имеет вид полых мешочков, содержащих мелкогранулярный материал. Некоторые эндотелиоциты имеют гиперхромные ядра, остальные – обычное строение хроматина.

После окончания комбинированного воздействия ионизирующей радиации дозой 15 Гр и высокоинтенсивного света увеличивается содержание уплощенных клеток, базальная складчатость цитолеммы которых снижена, а цитоплазматический матрикс представляет собой однородную мелкогранулярную структуру с весьма малым количеством органелл. Среди последних в основном обнаруживаются деструктивные митохондрии, мембранные комплексы, множественные лизосомы и вакуоли. Базальный комплекс подобных клеток характеризуется утолщением и потерей поперечной исчерченности коллагеновых фибрилл. Также в сетчатке встречаются гипертрофированные пигментоэпителиоциты. В их цитоплазме обнаруживается множество мелких вакуолей и микровезикул, что, возможно, свидетельствует об усилении транспортных процессов в клетке (рис. 1). В значительной части хориокапилляров наблюдается стаз и сладж форменных элементов. Их ультраструктурные изменения характеризуются набуханием эндотелиоцитов. В цитоплазме обнаруживаются крупные вакуоли, по-видимому образующиеся в результате деструкции митохондрий и цистерн эндоплазматической сети. Встречаются хориокапилляры, эндотелиоциты которых практически не содержат органелл, в результате этого снижается электронная плотность цитоплазмы и она становится как бы «пустой».

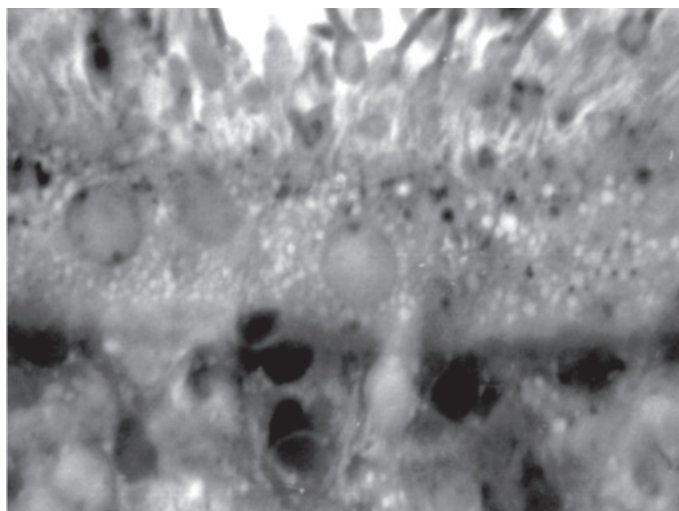


Рис. 1. Гипертрофированные пигментэпителиоциты, содержащие в цитоплазме вакуоли и микровезикулы после воздействия ионизирующей радиации в дозе 15 и при комбинированном облучении. Полутонкий срез, окраска толуидиновым синим. Ув. – 900

После окончания воздействия ионизирующей радиации в дозе 10, 15 Гр толщина пигментного эпителия в 1,5 раза превышает контрольные значения и достоверно не отличается от таковой после окончания комбинированного воздействия ионизирующей радиации в дозе 10 Гр и высокоинтенсивного света (рис. 2). После окончания комбинированного воздействия ионизирующей

радиации в дозе 15 Гр и высокоинтенсивного света толщина пигментэпителиоцитов в 1,25 раза меньше таковой в серии с изолированным рентгеновским воздействием в дозе 15 Гр. Анализ изменений удельного объема открытых капилляров сосудистой оболочки свидетельствует о том, что во всех сериях экспериментов данной группы он достоверно не отличается от контроля.

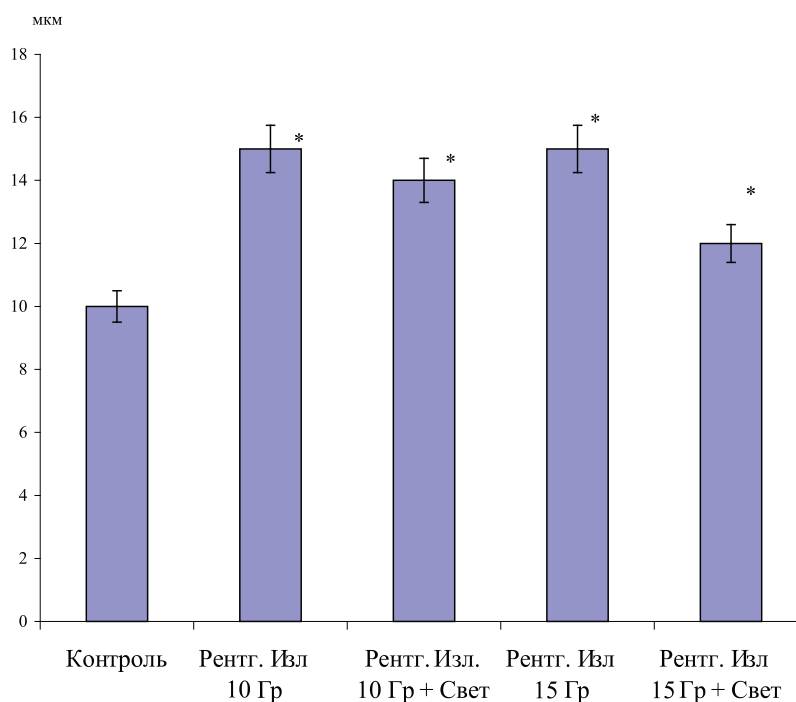


Рис. 2. Динамика изменения толщины пигментного эпителия после окончания ионизирующего (10, 15 Гр) и комбинированного облучения (2 сут, 3500 лк, 10, 15 Гр) ионизирующей радиацией и светом

Заключение

Таким образом, изменения гематоретинального барьера при облучении ионизирующей радиацией в дозе 10, 15 Гр и их комбинации со светом сходны и носят дозовую зависимость. Изменения пигментного эпителия проявляются его гипертрофией и увеличением в клетках базальной складчатости после окончания воздействия ионизирующей радиации в дозе 10, 15 Гр.

Изменения сосудистых компонентов сетчатки проявляются полнокроем и вакуолизацией цитоплазмы эндотелия хориокапилляров после окончания воздействия ионизирующей радиации в дозе 10 Гр и его комбинации со светом. После окончания комбинированного воздействия ионизирующей радиации в дозе 15 Гр и высокоинтенсивного света активируются деструктивные процессы, что вызывает появление дегенеративно измененных клеток, снижение толщины пигментного эпителия по сравнению с таковой в серии с изолированным рентгеновским воздействием в дозе 15 Гр, сужение просвета хориокапилляров, стаз и сдвиг форменных элементов, деструктивные изменения эндотелия.

Список литературы

1. Логвинов С.В. Закономерности поражения и репарации зрительного анализатора при воздействии микроволн и ионизирующей радиации: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Томск, 1993. – 26 с.
2. Логвинов С.В. Радиация и зрительный анализатор: нейроморфологические аспекты. – Томск, 1998. – 138 с.
3. Потапов А.В. Реакция зрительного нерва на комбинированное воздействие ионизирующей радиации и яркого света // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – № 2. С. 130–133.
4. Потапов А.В. Реакция нейронов внутренних слоев сетчатки на комбинированное воздействие ионизирующей радиации и света / А.В. Потапов, М.В. Светлик // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – № 2. – С. 93–97.
5. Chancellor J.C. Space Radiation: The Number One Risk to Astronaut Health beyond Low Earth Orbit / J.C. Chancellor, G.B. Scott, J.P. Sutton // *Life (Basel)*. – 2014. – Vol. 11. – № 4(3). – P. 491–510.
6. Cosmic ray hits in the central nervous system at solar maximum / S.B. Curtis, M.E. Vazquez, J.W. Wilson, W. Atwell, M.H. Kim // *Adv Space Res.* – 2000. – Vol. 25, № 10 – P. 2035–2040.
7. Flight attendant radiation dose from solar particle events / J.L. Anderson, C.J. Mertens, B. Grajewski, L.Luo, C.Y. Tseng, R.T. 2nd. Cassinelli // *Aviat Space Environ Med.* – 2014. – Vol. 85, № 8. – P. 828–832.
8. Radiation Exposure of German Aircraft Crews under the Impact of Solar Cycle 23 and Airline Business Factors / G. Frasch, L. Kammerer, R. Karofsky, A. Schlosser, R. Stegemann // *Health Phys.* – 2014. – Vol. 107, № 6. – P. 542–554.
9. Runkle E.A., Antonetti D.A. The blood-retinal barrier: structure and functional significance // *Methods Mol Biol.* – 2011. – Vol. 686 – P. 133–148.
10. Townsend L.W. / Implications of the space radiation environment for human exploration in deep space // *Radiat Prot Dosimetry.* – 2005. – Vol. 115 (1–4). – P. 44–50.

References

1. Logvinov S.V. Author. dis. doc. medical. sciences Tomsk, 1993. 26 p.
2. Logvinov S.V. Radiation and visual analyzer: neuromorphological aspects. Tomsk, 1998. 138 p.
3. Potapov A.V. Bulletin of Siberian medicine 2006 no. 2. pp. 130–133.
4. Potapov A. V., Svetlik M. B. Bulletin of Siberian medicine 2006 no. 2. pp. 93–97.
5. Chancellor J.C., Scott G.B., Sutton J.P. *Life (Basel)*. 2014. Vol. 11, no. 4(3). pp. 491–510.
6. Curtis S.B., Vazquez M.E., Wilson J.W., Atwell W., Kim M.H. *Adv Space Res.* 2000. Vol. 25, no. 10 pp. 2035–2040.
7. Anderson J.L., Mertens C.J., Grajewski B., Luo L., Tseng C.Y., Cassinelli R.T. 2nd. *Aviat Space Environ Med.* 2014. Vol. 85, no. 8. pp. 828–832.
8. Frasch G., Kammerer L., Karofsky R., Schlosser A., Stegemann R. *Health Phys.* 2014. Vol. 107, no. 6. pp. 542–554.
9. Runkle E.A., Methods D.A. *Mol Biol.* 2011 Vol. 686, pp. 133–148.
10. Townsend L. W. *Radiat Prot Dosimetry.* 2005. Vol. 115 (1–4). pp. 44–50.

Рецензенты:

Солонский А.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии, ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» СО РАМН, г. Томск;
 Мустафина Л.Р., д.м.н., профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск.

Работа поступила в редакцию 10.12.2014.