

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

На правах рукописи

Варакута Елена Юрьевна

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА НА РАННЕЙ СТАДИИ
АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ СВЕТА ВЫСОКОЙ
ИНТЕНСИВНОСТИ

(экспериментальное исследование)

03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор С.В. Логвинов

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОТОПОВРЕЖДЕНИЯ СЕТЧАТКИ	11
1.2. МОРФОЛОГИЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗ ПРИ ФОТОПОВРЕЖДЕНИИ	14
1.3. МЕХАНИЗМЫ ФОТОПОВРЕЖДЕНИЯ СЕТЧАТКИ	20
1.4. ЗАЩИТНЫЕ СИСТЕМЫ СЕТЧАТКИ	26
1.5. МЕХАНИЗМ ДИАБЕТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ АЛЛОКСАНА	28
1.6. МОРФОЛОГИЯ СЕТЧАТКИ ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ	30
1.7. МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ	36
1.8. ВОЗДЕЙСТВИЕ ИЗЛУЧЕНИЙ РАЗЛИЧНОГО ДИАПАЗОНА НА СЕТЧАТКУ ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ	40
1.9. РЕЗЮМЕ	41
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	43
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	50
СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ, ПОСЛЕ СВЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ И ПРИ КОМБИНАЦИИ ДАННЫХ ФАКТОРОВ	

3.1. ПИГМЕНТНЫЙ ЭПИТЕЛИЙ	50
3.2. НЕЙРОСЕНСОРНЫЕ КЛЕТКИ	56
3.3. НЕЙРОНЫ ВНУТРЕННЕГО ЯДЕРНОГО СЛОЯ	69
3.4. МУЛЬТИПОЛЯРНЫЕ НЕЙРОНЫ ГАНГЛИОНАРНОГО СЛОЯ	75
3.5. МЕЖНЕЙРОННЫЕ СИНАПСЫ	85
3.6. ГЛИАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ	97
3.7. СОСУДЫ И ГЕМАТОРЕТИНАЛЬНЫЙ БАРЬЕР	105
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	115
ВЫВОДЫ	136
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	138

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АЗК - активная зона контакта

Лк - люкс

НК – нейросенсорная клетка

НЯС – наружный ядерный слой

НС – наружные сегменты

ПП – плотые проекции

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПЭ – пигментный эпителий

ССЕ – система субсинаптических единиц

ЭПС – эндоплазматическая сеть

ФВК – фосфорно-вольфрамовая кислота

ВВЕДЕНИЕ

АКТУАЛЬНОСТЬ. Сахарный диабет становится все более серьезной проблемой здравоохранения, затрагивающей лиц всех возрастов. В 32-х европейских странах – членах ВОЗ с общей численностью населения 850 млн. человек количество больных сахарным диабетом в возрасте 15 лет и старше достигает 13-32,5 млн. (данные за 1991 г). Одним из самых тяжелых офтальмологических проявлений сахарного диабета является диабетическая ретинопатия, осложняющаяся при прогрессировании ростом новообразованных сосудов, внутриглазными кровоизлияниями, фиброзом сетчатки и стекловидного тела, тракционной отслойкой сетчатки, атрофией зрительного нерва и приводящая к слепоте. Слепота, связанная с диабетической ретинопатией, обнаруживается у 0,6% больных сахарным диабетом, болеющих меньше 6 лет, а при продолжительности заболевания больше 15-и лет она в 10 раз выше (Можеренков В.П., Калинин А.П., 1991). За последние годы отмечается рост частоты диабетической ретинопатии, которая в настоящее время стала основной причиной необратимой слепоты, особенно у лиц трудоспособного возраста, что создает серьезные медико-социальные проблемы для многих стран.

Морфологические изменения микроциркуляторного русла сетчатки при сахарном диабете на сегодняшний день в литературе освещены достаточно подробно. Встречаются также сообщения об изменениях глиальных элементов сетчатки при диабете. Однако информации о характере и динамике морфологических изменений пигментного эпителия, нейросенсорных клеток, нейронов, синаптического аппарата сетчатки при данном заболевании в изученной литературе не найдено. Установлено, что диабетическая ретинопатия может возникнуть на раннем этапе развития заболевания, даже при преддиабете. Это подтверждается электронно-микроскопическими исследованиями базальной мембраны капилляров сетчатки (Комаров Ф.И., 1982; Garner A., 1993; Carlson E.C., 1994; Stitt A.J. et

al., 1994; Anderson H.R. et al., 1994; 1995; Ljubimow A.W. et al., 1996). Имеются экспериментальные данные о состоянии микроциркуляторного русла сетчатки на начальных этапах диабета (Dorchy H. et al., 1980; Yamana Y. et al., 1983; Chen J. et al., 1997; Antonetti Alistair D.J. et al., 1998). Но материалы, касающиеся морфологических изменений нервного аппарата глаза на начальных этапах диабета, в литературе отсутствуют.

Проблема световых повреждений органа зрения также весьма актуальна в связи с внедрением в промышленное производство и офтальмологическую практику мощных источников света и лазерного излучения. За последние годы в научной литературе появилось большое число сообщений о повреждающем действии света на сетчатку глаза человека и животных, что свидетельствует о необычайно возросшем интересе к так называемым фотодегенерациям сетчатки. В литературе отмечаются такие факты, как нарушение зрения у новорожденных после фототерапии, назначенной им в связи с билирубинемией, переходящая слепота у альпинистов, нарушение зрения вследствие наблюдения солнечного затмения, у рабочих некоторых отраслей промышленности, усугубление светом дистрофических процессов в глазу больных с наследственными абiotрофиями сетчатки. Современные офтальмологические приборы также нередко вызывают нарушения органа зрения, как у пациентов, так и у медицинского персонала (Dawson W.W., 1976; Sliney D.H., Wolbarsht M.L., 1980; McDonald H.R., Irvine A.R., 1983; Michels M. et al., 1990; Mori K. et al., 1992; Arafat A.F. et al., 1994; Azzolini C. et al., 1994; Bradham M.S. et al., 1995).

В литературе относительно детально исследованы фотоповреждения пигментоэпителиоцитов и фоторецепторов сетчатки (Логвинов С.В., Потапов А.В., 1998; 2000; Rowland S.L., Dawson W.W., 1986; Lee H.L., Yu D.Y., Tso M.O.; 1990; Kozak Y., Tarraf M., 1991; Ando H., Noell W.K., 1993; Rapp L.M., Fisher R.L., 1994; Koutz K., Wiegand R.D. et al., 1995; van Best J.A. et al., 1997;

Thumann G. et al., 1999). Недостаточно информации о реакции на световое облучение нейронов внутреннего ядерного слоя, глиальных элементов, ретинальных сосудов, синаптического аппарата сетчатки.

В литературе имеются сообщения о воздействии ионизирующей радиации на сетчатку при диабетической ретинопатии (Dhir S.P. et al., 1982; Viebahn M. Et al., 1991; Karren K.A. et al., 1992; Gardiner T.A. et al., 1993). Данные о влиянии излучений оптического диапазона на глаза при диабете единичны (Johnson D.D. et al., 1986), но в них отражены лишь сосудистые изменения, а характер структурных реакций пигментного эпителия, нейронов, синаптического аппарата не изучен. Этот факт и подтолкнул нас к попытке исследования морфологических изменений сетчатки глаза на ранних этапах сахарного диабета при воздействии света высокой интенсивности.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Установить особенности световых повреждений и последующей репарации в сетчатке на ранних этапах сахарного диабета.

Для достижения поставленной цели решались следующие

ЗАДАЧИ.

1. Изучить характер и динамику изменений нейронов и нейросенсорных клеток сетчатки на ранних этапах сахарного диабета, при воздействии света высокой интенсивности и при комбинации двух указанных факторов.
2. Выявить реакцию глиальных элементов сетчатки при воздействии указанных факторов.
3. Изучить ультраструктурные изменения синаптического аппарата сетчатки при воздействии указанных факторов.
4. Установить изменения сосудов и гематоретинального барьера при воздействии указанных факторов.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. Впервые изучены структурные изменения сетчатки глаза при воздействии высокоинтенсивного света (6000 лк) на фоне

ранней стадии аллоксанового диабета. Дана количественная и сравнительная характеристика изменений клеточных элементов наружного и внутреннего ядерных слоев, синаптического аппарата внутреннего сетчатого слоя и глиальных элементов сетчатки после светового, комбинированного воздействия, а также на ранней стадии аллоксанового диабета. Обнаружено, что при аллоксановом диабете наиболее ранимыми являются глия и ассоциативные нейроны внутреннего ядерного слоя. Выявлено, что при световом и комбинированном воздействии наиболее поражаемыми элементами сетчатки являются пигментоэпителиоциты, нейросенсорные клетки и синапсы. Установлен синергистический эффект света и аллоксанового диабета по отношению к нейросенсорным и ассоциативным клеткам. Изучены ультраструктурные изменения гематоретинального барьера после светового воздействия и светового облучения на фоне аллоксанового диабета, сопровождающиеся на поздних стадиях развитием неоваскулогенеза. Разработана схема патоморфогенеза сетчатки при воздействии указанных факторов.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ РАБОТЫ.

Данные об усилении альтерации при воздействии света на фоне диабета могут быть использованы при проведении офтальмологического обследования больных с диабетической ретинопатией. Материалы работы используются в учебном процессе при чтении лекций на кафедрах гистологии, эмбриологии и цитологии; морфологии с курсом общей патологии Сибирского Государственного медицинского университета по разделу “Органы чувств”.

Диссертация выполнена в соответствии с планом Проблемной комиссии Межведомственного научного совета при Президиуме РАМН “Структурно-функциональные основы организации мозга в норме и патологии”.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ.

1. Аллоксановый диабет на ранней стадии своего развития усиливает фотодегенерацию сетчатки. Световое и комбинированное воздействие вызывают выраженные деструктивные изменения пигментоэпителиоцитов и нейросенсорных клеток сетчатки с последующим очаговым выпадением соответствующих слоев сетчатки. Менее чувствительны к данным воздействиям нейроны внутреннего ядерного и ганглионарного слоев.
2. Реакция радиальной глии после светового воздействия, а также облучения на ранней стадии аллоксанового диабета проявляется как деструктивными нарушениями, так и прогрессивными изменениями в виде повышения фагоцитарной активности и пролиферации отростков, которые в дальнейшем прорастают в субретинальное пространство.
3. Изменения межнейрональных связей в сетчатке после светового и комбинированного воздействия характеризуются снижением общей численной плотности синапсов, в основном за счет асимметричных контактов. Репарация синаптоархитектоники осуществляется за счет неосинаптогенеза, созревания и гипертрофии синапсов.
4. Изменения гематоретинального барьера характеризуются деструкцией его компонентов, что приводит к развитию процессов неоваскулогенеза, играющих ведущую роль в тканевых механизмах поражения сетчатки в отдаленный период после экспериментальных воздействий.

АПРОБАЦИЯ. Материалы диссертации доложены на VI международной научно-практической конференции «Качество – стратегия XXI века» (Томск, 2001); Всероссийской научной конференции с участием зарубежных специалистов «Актуальные проблемы эволюционной и популяционной физиологии человека» (Тюмень, 2001); научно-практической конференции «Современные аспекты биологии и медицины» (Томск, 2002); Конференции, посвященной 150-летию со дня рождения А.С. Догеля (Томск, 2002).

ПУБЛИКАЦИИ. По теме диссертации опубликовано 11 работ.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ. Диссертация изложена на 174 страницах и состоит из введения, 4 глав, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 3 таблицами, 49 рисунками (13 микрофотографий, 27 электроннограмм, 8 графиков и 1 схема). Библиографический указатель включает 343 источника, из них 124 на русском и 219 на иностранных языках. Все материалы, представленные в диссертации, получены, обработаны и проанализированы лично автором.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. КЛИНИКО- ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОТОПОВРЕЖДЕНИЯ СЕТЧАТКИ

Глаз, наряду с кожей, относится к числу органов, наиболее доступных для воздействия света. Повреждения глаз видимым световым излучением Солнца были известны еще врачам древности. Галилео Галлилей был, вероятно, первым человеком, получившим такое повреждение при наблюдении солнечного диска через телескоп (Slaney D.H., Wolbarsht M.L., 1980).

Наиболее часто солнечные ожоги глазного дна возникают при длительном наблюдении солнечного затмения глазом, не вооруженным средствами защиты. Первое в России описание такого ожога принадлежит М.И. Рейху в 1883 году (цит. Преображенский П.В. и др., 1986). Многочисленные случаи солнечных ожогов имели место и после затмений последних лет (Жернакова С.А., 1961; Penner R., 1966; Dhir S. et al., 1981). Известны солнечные ожоги глазного дна у служителей культа, в частности барминов, для которых длительное наблюдение солнечного диска являлось элементом религиозного ритуала.

В некоторых экстремальных ситуациях видимый свет, будучи слишком ярким или длительно действующим, способен оказать повреждающее воздействие на глаз, особенно больной или предрасположенный к заболеванию. Для человека эта проблема становится все более актуальной в связи с появлением техники, имеющей мощное и концентрированное световое излучение. В 30-е годы появились описания хориоретинальных ожогов у людей светом вольтовой дуги, применявшейся в прожекторах на киносъемках и при других видах деятельности (Power W.J. et al., 1991). Повреждение глаза от сварочной дуги впервые были замечены в 1902 году (Terrien F., 1902). После первых испытаний атомных бомб стал известен новый вид патологии - профильные световые ожоги кожи и

хориоретинальные ожоги световым излучением атомного взрыва (Cogan D., 1951).

М.В. Зуева и соавт. (1979) выявили существенное понижение функциональной активности палочковой и колбочковой систем у рабочих алмазодобывающей промышленности, работающих при высокой освещенности на рабочем месте порядка 5590-6000 лк.

В последнее время значительно возросло число производств, где осуществляется обработка мелких деталей с особо высокой степенью точности, появилось много новых миниатюрных производственных операций, приняли индустриальные масштабы такие классические отрасли промышленности, как часовая, ювелирная и электронная. Для всех этих производственных процессов при освещении рабочего места стали использовать новые источники света высокой мощности, уровень излучения, которых не всегда соответствует предельно допустимым гигиеническим нормативам и представляет опасность для глаз людей, работающих в данных условиях (Зуева М.В., Кармолин А.Л., Федорович И.Б., Островский М.А., 1985).

Современные диагностические и лечебные приборы в офтальмологии зачастую вызывают поражения органа зрения, причем не только у пациентов, но и у медицинского персонала (Sloney D.H., Wolbarsht M.L., 1980). Эта проблема возникла и приобрела значительную актуальность в связи с накоплением достаточного количества фактов о отрицательном влиянии на зрительные функции осветительных систем, применяемых в офтальмологии. Известно, что офтальмоскопическое исследование в течение 8 минут значительно замедляет ход темновой адаптации у здорового человека (Dawson W.W., Herron W.L., 1970; Dawson W.W., 1976). Так, М. Ts'о (1973) были получены световые повреждения сетчатки у обезьян после часовой непрямой офтальмоскопии с линзой +20 дптр., которые выявлялись в течение 1-й недели после окончания исследования. При гистологическом

исследовании обнаружены изменения рецепторов и пигментного эпителия. Офтальмохирурги сталкиваются с целым рядом ситуаций, могущих вызвать фотоповреждение органа зрения. Верхние осветители создают облученность на сетчатке в 3 раза меньше, чем непрямой офтальмоскоп, но и она может оказаться опасной, так как длительность операций может превышать максимально допустимую экспозицию при данной плотности мощности излучения. Источники внутреннего света некоторых хирургических микроскопов создают на сетчатке облученность в 10 раз большую, чем непрямой офтальмоскоп, что небезопасно и для глаз хирурга (Fuller D., Macheimer R., Knighton R.W., 1980).

На глазах обезьян экспериментально доказано повреждающее действие на сетчатку внутреннего света операционных микроскопов (Ham W.T., et al., 1982, 1984, 1988; Calkins J.L., Hochheimer B.F., 1979). В 1983 году появилось первое сообщение о подобном повреждении сетчатки человека (Mc Donald H.R., Irvine A.R., 1983). Авторы сообщили о 6-ти случаях поражения макулы светом у пациентов, подвергавшихся экстракапсулярной экстракции хрусталика при катаракте и имплантации интраокулярной линзы в заднюю камеру. В 1984 г. появилось следующее сообщение о повреждении сетчатки у 3-х пациентов, подвергшихся операции экстакции хрусталика при катаракте и имплантации интраокулярной линзы в переднюю камеру (Ross W.H. 1984). Иногда офтальмологи подвергаются риску лазерной фоторетинопатии, несмотря на тот факт, что стандартные клинические лазерные установки снабжены защитными фильтрами.

Многочисленные данные о повреждающем действии света современных диагностических приборов и операционных микроскопов послужили основанием для того, чтобы выдвинуть новую гипотезу о природе синдрома Ирвина- Гесса, выражающегося в кистозной макулодистрофии, наступающей после операций по поводу катаракты и некоторых других заболеваний. Предполагается, что его появление связано не с витреальными

тракциями, как это считалось ранее, а с длительной экспозицией под операционным микроскопом (Henry M. et al., 1977; Calkins J. et al., 1980). Повреждения сетчатки интенсивным светом в процессе офтальмологических исследований обсуждены и другими авторами (Brod R.D. et al., 1989; Michels M., Sternberg P., 1990; Stiller H., Rassow B., 1991; Michels M. et al., 1992; Mori K., Yoneya S., Iida T, 1992; Brigss T.P. et al., 1992; Chen W.H., Zhang H.R., 1993; Orzalesi N., 1993; Arafat A.F. et al., 1994; Azzolini C. et al., 1994; Bradham M.S. et al., 1995).

1.2. МОРФОЛОГИЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗ ПРИ ФОТОПОВРЕЖДЕНИИ

Способность видимого света повреждать сетчатку глаза животных была подтверждена экспериментально американскими исследователями в 60-х годах двадцатого столетия. В экспериментах Dowling, Sidman (1962), Noell (1965) установлено, что у животных, страдающих различными формами дистрофии сетчатки, свет существенно ускоряет процесс дегенерации зрительных клеток, повреждая при этом пигментный эпителий. Имелись также указания на возможность повреждающего действия яркого света видимой области спектра на здоровый глаз человека.

Фотоповреждение может приводить к дегенерации клеточных элементов сетчатки, в первую очередь ее рецепторов и клеток пигментного эпителия. На сегодняшний день нет единой точки зрения исследователей на факт первоочередности фотопоражения этих элементов. По мнению одних авторов изменения начинаются с пигментоэпителиоцитов, а затем развиваются в фоторецепторах (Зуева М.В., Иванина Т.А., 1980; Rowland S.L., Dawson W.W., 1986; Ando H., Noell W.K., 1993; Kozaki J., Takeushi M., Takahashi K., 1994, 1995; Thumann G., Bartz-Schmidt K.U., Kociok N., Kayatz P., Heimann K., Schraermeyer U., 1999). Данные других исследователей свидетельствуют о первичности изменений в нейросенсорных клетках (Lee H.L., Yu D.Y., Tso M.O., 1990; Kozak Y., Tarraf M., 1991; Yamashita H., Horie

K., Yamamoto T., 1992; Rosner M., Lam T.T., Chen E., 1993; Rapp L.M., Fisher R.L., Dhindsa H.S., 1994; Rapp L.M., Smith S.C., 1992; Unoki K., Ohba N., Arimura H., 1994; Wang H.M., Organisciak D.K., 1994; Koutz R., Wiegand R.D., Rapp K.M., Anderson K.A., 1995). Наиболее выраженным, по-видимому, является нарушение нормальных клеточных контактов между наружными сегментами фоторецепторов и клетками пигментного эпителия (Островский М.А., Федорович И.Б., 1982).

Надо заметить, что, по мнению вышеуказанных авторов, характер и степень проявления морфологических изменений в первую очередь зависит от интенсивности облучения, а также от времени экспозиции, источника облучения, реактивности облучаемого организма. Так, прерывистое световое воздействие вызывает большее повреждение сетчатки, чем непрерывное световое воздействие той же самой продолжительности и интенсивности (Organisciak D.T., Jiang Y.L., et al., 1989; Li S., Chang C.J., et al., 1996). Также воздействие светом различных длин волн причиняет неодинаковые повреждения в сетчатке (Rapp L.M., Tolman B.L., Dhindsa H.S., 1990; Gorgels T.G., van Norren D., 1995).

Наибольшую опасность для здорового и особенно для больного глаза представляет коротковолновая область видимого света (синий свет) (Островский М.А., Федорович И.Б., 1982; van Norren D., Schellekens P., 1990; Dorey C.K., Delori F.C., Akeo K., 1990; Hietanen M.T., Hoikkala M.J., 1990; van Best J.A., Putting B.J., Oosterhuis J.A., Zweypfenning R.C., Vrensen G.F., 1997). Синий свет вызывает апоптотические изменения в сетчатке, максимум которых был через 8-16ч после экспозиции. Измененные ядра рассеяны во внешнем ядерном слое. Они фрагментированы, хроматин и цитоплазма конденсированы, обнаружены апоптотические тела (Wu J. et al., 1999).

Ряд авторов предполагает, что ранние изменения нейросенсорных клеток и пигментного эпителия возникают при воздействии светом на сетчатку с наименьшей интенсивностью в 65-130 лк (Williams R.A., Howard

A.G., Willams T.P., 1985; Rowland S.L., Dawson W.W., 1987). При воздействии света интенсивностью 80 лк в течение 2-х часов на сетчатку крыс в нейросенсорных клетках наблюдали следующие изменения: дегенерацию некоторых дисковых мембран на концах наружных сегментов, дезагрегацию рибосом, исчезновение аппарата Гольджи, набухание митохондрий (Moriya M., Barker B.N., Williams T.P., 1986). По данным других авторов (Heeke D.S., White M.R., Mele G.D., Hanifin J.P., et al., 1999) при воздействии светом интенсивностью 100 лк в течение 14 дней повреждений сетчатки крыс на светооптическом уровне выявлено не было.

При световом облучении интенсивностью 800 лк в течение 15 мин. уже через час после заката было обнаружено расширение и везикулез мембранных дисков в наружных сегментах колбочек и набухание митохондрий пигментного эпителия сетчатки крыс (Reme C., 1991).

При воздействии света интенсивностью 1000 лк в течение 12 часов на сетчатку золотистых хомячков возникает фокальное повреждение пигментного эпителия, коллагеновые волокна в оболочке Бруха теряют свою параллельную ориентацию, изредка наблюдается слияние мембранных дисков наружных сегментов палочек (Thumann G., Bartz-Schmidt K.U., Kociok N., Kayatz P., Heimann K., Schraermeyer U., 1999).

У крыс, облученных люминисцентными лампами интенсивностью 3500 лк в течение 48 часов, в сетчатке встречаются участки, лишенные пигментного эпителия и нейросенсорных клеток, вследствие предшествующего некроза. Субретинальное пространство заполнено многослойным базальным комплексом. Между базальными мембранами встречаются фибробластоподобные элементы и макрофаги. Видны очаговые дефекты в базальном комплексе. В местах этих дефектов наблюдаются сосудистые почки и прорастание сосудов из сосудистой оболочки в сетчатку. Деструктивные изменения капилляров сосудистой оболочки вызывают локальные дефекты пигментного эпителия и базального комплекса. На

данных участках наблюдается массовая гибель нейросенсорных клеток и как следствие исчезновение слоев, образованных фоторецепторами. По краям дефектов - пролиферация пигментоцитов, гипертрофия и нагромождение их друг на друга. Новообразованные капилляры прорастают между пигментоэпителиоцитами во внутренние слои сетчатки. В последующем наступает атрофия и дегенерация пигментного эпителия. Происходит образование нового гематоретинального барьера на границе с внутренним ядерным слоем (Потапов А.В., Логвинов С.В., Малиновская И.С., 1998; Логвинов С.В., Потапов А.В., 2000).

У крыс, находящихся в условиях освещения по 7 ч ежедневно в течение 9 дней при уровне освещенности 5000 лк, во всех слоях сетчатки отмечались фотодегенеративные изменения, наиболее выраженные при применении люминисцентных ламп. В центральной части наружный плексиморфный слой вдвое тоньше, чем в контроле. Наружный ядерный слой узкий, ядер нейросенсорных клеток значительно меньше. С наружной стороны располагаются более мелкие в объеме ядра фоторецепторов. Количество ядер снижено по сравнению с контролем. Биполярные клетки мелкие, уплотнены, как бы сдавлены. В ганглиозном слое наблюдается вакуолизация клеток.

В средней части сетчатки - слой фоторецепторов узкий, клетки меньше в размерах. Биполярные клетки тоже мельче, сдавлены, более интенсивно окрашены и с трудноопределяемым ядром.

На периферии наружный плексиморфный слой хорошо выражен. Объем ядер нейросенсорных клеток уменьшен. Биполярные клетки уплотнены, а ганглиозные округлой формы и по размерам меньше, чем в контроле (Черкасов И.С., Усов Н.И., Солдатова А.М., Ковальчук Л.П., 1988; Солдатова А.М., Усов Н.И., Плевинскис В.П., 1991).

При воздействии на белых крыс светом интенсивностью 10000 лк в течение 3,5 часов уже через 24 часа после действия света наблюдаются

структурные изменения как в пигментном эпителии, так и в фоторецепторных клетках сетчатки. Цитоплазма клеток пигментного эпителия содержит большое количество осмиофильных липидных включений, которые в норме у альбиносов не присутствуют. Это свидетельствует в пользу отложения липофусциноподобных пигментов в сетчатке. Кроме того, в клетках пигментного эпителия исчезают базальные выросты, частично или полностью разрушаются митохондрии, имеющие в некоторых случаях вид полых мешков, ограниченных мембраной, а также наблюдается сильная деструкция апикальных микровилл, которые в норме имеют контакт с наружными сегментами нейросенсорных клеток и принимают участие в процессе фагоцитоза. В нервной части сетчатки на этой стадии ранние изменения проявляются в частичной дезориентации наружных сегментов нейросенсорных клеток, нарушении ламеллярности дисков и незначительной везикуляции фоторецепторных мембран. Через неделю после экспозиции в центральной области полностью отсутствуют пигментный эпителий и слои сетчатки, образованные фоторецепторными клетками. Сохраняются только внутренние слои, начиная от внутреннего ядерного слоя. На периферии сетчатка имеет практически нормальную структуру (Зуева М.В., Иванина Т.А., 1980; Егорова Э.В., Бабижаев М.А., Иванина Т.А., Зуева М.В., Иошин И.Э., 1988).

Исследования S. Shahinfart, D.F. Edward, M.O. Tso (1991) показали, что в первые сутки после окончания воздействия интенсивностью 20000 лк в течение 25 часов погибает 14-47% поврежденных нейросенсорных клеток сетчатки крыс.

Имеются данные о дегенеративных процессах в синаптических структурах при массовой гибели фоторецепторных клеток, вызываемой действием зеленого света. Прогрессирующая дегенерация отличается асинхронностью изменений в синапсах и отечностью митохондрий. В первую очередь исчезали Т-образные синаптические ленты, затем элементы

постсинаптической тетрады и, наконец, наступала гибель обычных синапсов (Brandstatter J.H., Shaw S. R., Meinertzhagen J.A. 1991).

После полуторачасовой стимуляции сетчатки лягушки мелькающим светом обнаруживается образование контактов поверхностной мембраны микроворсинок Мюллеровских клеток с плазмалеммой пигментоэпителиоцитов. В зоне наружного пограничного слоя в радиальных глиоцитах и в пигментном эпителии наблюдается увеличение содержания пузырьков. Значительно увеличивается сеть тонких, продольно ориентированных глиофибрилл. Возрастает количество рибосом. В зоне мультиполярных нейронов и внутренней пограничной мембраны цитоплазма радиальных глиоцитов содержит обширную гранулярную эндоплазматическую сеть, что коррелирует с гистохимическим выявлением здесь большого количества белка (Боровягин В.Л., Франк Г.М., 1962).

Ряд исследователей (de Raad S. et al., 1996; Grosche J. et al., 1997) обнаружили, что Мюллеровские клетки в поврежденной светом сетчатке были короче, но более толстые, чем в контроле. Также, используя иммуногистохимический метод было определено увеличение содержания кислого глиального фибриллярного белка в Мюллеровских клетках и астроцитах в областях повреждения фоторецепторов.

После гибели нейросенсорных клеток от воздействия высокоинтенсивного света апикальные отростки глиоцитов распространяются и пролиферируют в субретинальном пространстве, контактируя с апикальной поверхностью клеток пигментного эпителия. Далее Мюллеровские волокна окружают новообразованные сосуды сетчатки, растущие по направлению к пигментоэпителиоцитам. Однако при появлении контакта сосудов с пигментным эпителием, периваскулярные глиальные отростки исчезают (Roque Rouel S., Cardwele Ruth B., 1990).

Нарушение гематоретинального барьера наблюдается даже при действии света с энергией, недостаточной для нанесения значимого

офтальмологического повреждения (Borsje R.A., Vrensen G.F., 1990; Putting B.J., Zweyphenning R.C., Vrensen G.F., 1992; Putting B.J., van Best J.A., 1993, 1994).

Ряд исследователей выявили факторы влияния на процессы субретинальной неоваскуляризации. При повреждении хореокапилляров, пигментного эпителия и фоторецепторов, разрыве мембраны Бруха в результате высокоинтенсивного светового воздействия в сетчатке наблюдаются процессы неоваскулогенеза. Области новообразующихся сосудов окружены пигментноэпителиоцитами. Предполагается, что именно пигментный эпителий является индуктором процесса неоваскуляризации (Takahashi K., Itagaki T., Yamagishi K., Ohkuma H., Uyama M., 1990; Miller J.W., Walsh A.B., Bramer M., 1995; Pollack A., Korte G.E., 1997).

1.3. МЕХАНИЗМЫ ФОТОПОВРЕЖДЕНИЯ СЕТЧАТКИ

Механизм действия светового излучения на орган зрения может быть различным в зависимости от длины волны, мощности и длительности воздействия.

Различают 3 основные группы механизмов повреждающего действия света на орган зрения (Преображенский П.В. и соавт., 1986; Brennan D.H., 1985).

1. Фотомеханические повреждения. В случае, когда в очаге светового воздействия достигается температура кипения воды, происходит механический взрыв ткани расширяющимся парагазовым пузырем. Такие разрывы сетчатки, происходящие за счет превращения части поглощенного света в механическую энергию давления, нередко имеют место при массивной коагуляции внутриглазных опухолей полихроматическим излучением ксенонового фотокоагулятора. Как правило, такие разрывы сопровождаются выраженным звуковым эффектом. Вскоре после появления лазеров, обеспечивающих получение мощных импульсов света малой

длительности, стало ясно, что роль механического фактора в механизме повреждающего действия света возрастает не только по мере роста мощности, но и по мере сокращения длительности воздействия до 1 мс и менее.

2. Термический механизм повреждения органа зрения световым излучением является наиболее универсальным для видимой и инфракрасной части спектра при длительности воздействия от 1 мс до 10 с (Sloney D., Wolbarsht M., 1980). Значительная часть энергии излучения этого диапазона, поглощаясь оболочками глаза, превращается в тепло и нагревает ткань. При достаточно высокой плотности мощности излучения выделяющееся в очаге облучения тепло вызывает коагуляцию белков и других органических материалов, что клинически выявляется в виде ожога ткани.

3. Фотохимические механизмы. Существование этих механизмов повреждающего действия видимого света на сетчатку стало известно, когда W. Noell и соавт. (1966) показали, что длительное воздействие видимого света небольшой интенсивности вызывает повреждение рецепторов, которое не может быть объяснено их нагреванием. Существует 3 возможных пути реализации повреждающего действия малых доз света на сетчатку. Первый из них заключается в том, что свет активизирует окислительные деструктивные реакции в дисках фоторецепторов (фотооксидация). Вторым возможным механизмом является нарушение метаболических функций клеток сетчатки и пигментного эпителия, в котором свет ингибирует окислительные ферменты, вследствие чего он не может осуществлять свою трофическую функцию. Третье предположение сводится к тому, что при длительной адаптации к свету в сетчатке образуется избыточное количество токсического продукта, которым может быть ретинол, способный растворять клеточные мембраны. Ретинол имеется в большом количестве в наружных сегментах рецепторов и при длительном воздействии света накапливается в пигментном эпителии и повреждает его.

В основе механизмов фотохимического повреждения лежат процессы фотосенсибилизированного свободно-радикального окисления. Любая реакция фотосенсибилизированного окисления определяется 3-мя факторами: 1) присутствие окрашенного вещества - фотосенсибилизатора; 2) присутствие веществ, легко подверженных окислению - субстратов окисления; 3) присутствие кислорода. В сетчатке, в первую очередь в наружных сегментах фоторецепторов, а также в пигментном эпителии все три фактора присутствуют в полной мере.

Ретиналь является одним из наиболее эффективных природных фотосенсибилизаторов процессов окисления. Принимая во внимание высокую концентрацию ретиналя в наружных сегментах фоторецепторов, его потенциальная повреждающая опасность становится существенно выше, чем опасность других фотосенсибилизаторов. Поглощая свет на стадии метародопсина 2, а также на более поздних стадиях фотолиза или будучи связанным с фосфолипидом, родопсин способен инициировать окисление и белков, и липидов, что выражается в повреждении мембранных дисков наружных сегментов нейросенсорных клеток (Островский М.А., Донцов А.Е., Боултон М., 1991; Островский М.А., Федорович И.Б., 1994).

Различают 2 типа фотосенсибилизированного окисления белков и липидов: 1. химическая сенсibilизация, 2. физическая сенсibilизация. Первичная реакция в химической сенсibilизации – взаимодействие возбужденной светом молекулы сенсibilизатора (ретиналя) с субстратом окисления (родопсин, липиды). Образовавшийся свободный радикал белка или липида присоединяет кислород, далее развивается процесс окисления, который от света уже не зависит. Первичной реакцией физической сенсibilизации является сначала активация молекулы кислорода. Возбужденная молекула сенсibilизатора, отдавая энергию молекулярному кислороду переводит его из основного триплетного состояния в возбужденное синглетное (Кулиев И.Я. и соавт., 1982).

Фотосенсибилизированное ретиналом окисление и родопсина и липидов в фоторецепторной мембране происходит одновременно и параллельно, причем фотоокисление липидов идет по механизму первого типа, а родопсина по механизму второго типа (Погожева И.Д., Федорович И.Б., Эммануэль Н.М., Островский М.А., 1981). Окисление SH-групп родопсина сопровождается образованием межмолекулярных дисульфидных сшивок. В результате в мембране возникают стабильные агрегаты из нескольких молекул родопсина. В норме же молекулы родопсина находятся в мономерном состоянии и крайне подвижны в «жидкой» фоторецепторной мембране. Естественно, что патологическая агрегация родопсина замедляет движение зрительного пигмента в мембране.

Фотоокисление родопсина и липидов и необратимая агрегация родопсина приводят к потере зрительным пигментом способности регенерировать как в ходе темновой адаптации, так и при добавлении 11-цис ретиналя (Островский М.А. и соавт., 1979).

Для нормального функционирования зрительной клетки важно поддержание малой вязкости фоторецепторной мембраны, которая обеспечивается высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот. Небезынтересно, что в отличие от мембран почек, эритроцитов в фоторецепторной мембране независимо от диеты поддерживается высокая концентрация ненасыщенных жирных кислот. Увеличение в эксперименте содержания в зрительных клетках насыщенных жирных кислот сопровождается увеличением вязкости фоторецепторной мембраны и подавлением электрической активности сетчатки (Островский М.А., Федорович И.Б., 1982, Bush R.A. et al., Organisciak D. Et al., 1992).

Как указывалось выше, кислород является третьим необходимым участником процесса фотосенсибилизированного свободно-радикального окисления. Из широкой сети капилляров мощной сосудистой оболочки глаза кислород диффундирует через однослойный пигментный эпителий к

фоторецепторам сетчатки. В ткани сетчатки, как известно, парциальное давление кислорода весьма велико, причем около 60% его потребляется именно фоторецепторными клетками (Linsenmeier R.A. et al., 2000). Как было показано в работе Н.А. Hansson (1970), на свету концентрация свободного кислорода в наружном сегменте фоторецепторной клетки возрастает. Повышение уровня содержания кислорода уменьшает порог для фотохимического повреждения сетчатки (Kapusta N.V. et al., 1987; Parver L.M., Mitchard R., Ham W.T., 1989). В опытах на крысах было показано, что гипероксия и, особенно, гипербарическая оксигенация усугубляют повреждающее действие света на сетчатку. Это проявлялось как в снижении порога уменьшения или полного исчезновения электроретинограммы, так и в значительной потере способности зрительного пигмента к регенерации при последующей длительной темновой адаптации (Шведова А.А., 1986).

Гипертермия является фактором усиливающим фотоповреждение сетчатки (Берман А.Л., Рычкова М.П., 1984; Organisciak D.T., Darrow R.M., Noell W.K., Blanks J.C., 1995). Однако этот факт противоречит данным других исследователей. M.F. Barbe, M. Tytell, D.J. Gower, W.S. Welch исследовали этот феномен в 1988 году на крысах. Животных подвергали гипертермии (увеличивали температуру тела до 41 градуса по С в течение 15 минут), после чего оценивали эффект яркого освещения сетчатки (с разными интервалами после гипертермии) через 2 недели после световой экспозиции. Такая процедура привела к заметному снижению числа дегенеративных фоторецепторов после освещения ярким светом по сравнению с нормотермическими животными. Биохимические исследования показали увеличение синтеза в сетчатке 3-х белков теплового шока. Именно с этими белками авторы связывают протекторное действие гипертермии.

Как одно из звеньев механизма повреждения сетчатой оболочки при длительном воздействии видимого света даже небольшой интенсивности можно выделить значительное увеличение активности ферментов лизосом.

Вовлечение этих органелл в светоиндуцированный патологический процесс сопровождается нарушением структурной целостности сетчатой оболочки (Леус Н.Ф., Линник Л.А. с соавт., 1989; Penn J.S. et al., 1985).

Другой мишенью для светового повреждения являются митохондрии. Исследования ультраструктуры зрительных клеток при воздействии синего света на глазную ткань выявили, что к 60-й мин. после облучения митохондрии подвержены вакуолизации, которая приводит к отечности, набуханию и разрыву органеллы в течение 1 часа (Pautler E.L., Morita M., Beezly D., 1990).

В сетчатке присутствуют и другие потенциально опасные фотосенсибилизаторы. К таким веществам в первую очередь относятся флавины, в том числе такой классический фотосенсибилизатор как рибофлавин, поглощающий в области 400 нм, и никотинамидадениндинуклеотид, поглощающий в той же области спектра, что и ретиналь. Содержание этих соединений в фоторецепторной клетке, особенно в ее внутреннем сегменте и в клетках пигментного эпителия, достаточно высоко. В последнее время исследователи обращают внимание на еще один потенциально опасный эффективный фотосенсибилизатор, также поглощающий свет в фиолетово-синей области видимого спектра. Речь идет о предшественнике гемоглобина – протопорфирине IX. Находясь в доступных свету хореокапиллярах, он способен вызвать ряд фотодегенеративных процессов. Предполагается участие протопорфирина IX в патогенезе старческой макулярной фотодегенерации сетчатки (Bunol L.A. et al., 1993).

Липофусциновые гранулы, присутствующие в клетках пигментного эпителия, также являются фотосенсибилизаторами. В клетках пигментного эпителия они образуются и накапливаются в результате неполной деградации фагоцитированных обломков наружных сегментов фоторецепторов (Katz M.L., Eldred G.E., 1989; Ko. M.K. et al., 1991; Fite K.V.

et al., 1993; Gaillard E.R. et al., 1995). Липофусциновые гранулы способны генерировать кислород при действии на них видимого света, таким образом проявляется их фотохимическая активность. Однако липофусциновые гранулы пигментного эпителия человека способны ингибировать перекисное окисление липидов, но эта способность невелика и в перерасчете на 1 гранулу меланосомы оказывается в среднем в 5 раз более эффективным ингибитором, нежели липофусциновая гранула. В пожилом возрасте в пигментном эпителии наблюдается падение содержания меланина и повышение количества липофусциновых гранул, что существенно повышает опасность его фотоповреждения по механизму свободно-радикального окисления (Островский М.А., Донцов А.Е., Боултон М., 1991).

1.4. ЗАЩИТНЫЕ СИСТЕМЫ СЕТЧАТКИ

В ходе эволюции органов зрения беспозвоночных и позвоночных животных сформировались надежные системы защиты сетчатки от опасности светового повреждения. Можно выделить, по крайней мере, три системы такой защиты - обновление фоторецепторных мембран, системы оптической и биохимической защиты.

В процессе своего обновления наружные сегменты фоторецепторов теряют диски, содержащие фотопигмент, и таким образом устраняют компоненты, способные подвергаться фотохимическим превращениям (Young R.W., 1976). При этом клетки пигментного эпителия сетчатки утилизируют остатки наружных сегментов, липидный компонент которых представлен полиненасыщенными жирными ацилами, что предполагает возможность их легкого автоокисления молекулярным кислородом в процессе освещения. В.Е. Каган, А.А. Шведова, К.Н. Новиков (1978) обсуждают роль эндогенных фосфолипаз сетчатки в механизмах репарации фоторецепторных мембран, подвергшихся перекисному окислению, и

обновления фосфолипидов фоторецепторов по типу молекулярного замещения.

Оптические среды глаза также способны предотвращать световые повреждения сетчатки. Так, роговица нормального глаза полностью задерживает свет с длиной волны менее 300 нм, в то время как хрусталик поглощает свет в диапазоне 300 - 400 нм, защищая сетчатку от ближнего ультрафиолетового света. Однако после экстракции катаракты сетчатка подвергается действию света зоны ультрафиолета. В ряде случаев у афакичных больных возникает кистоидный отек макулы, в механизме развития которого принимают участие свободно-радикальные процессы (Collier R.J., Waldron W.R., Zigman S., 1989).

Химическая система защиты сетчатки включает природные антиоксиданты: альфа-токоферол, специализированные антиокислительные ферменты, органеллы, обладающие антирадикальной активностью (например меланосомы позвоночных).

Генераторы активных форм кислорода и перекисей липидов в клетке находятся под контролем ферментных и неферментных регуляторных систем, среди которых наибольшее значение придают супероксиддисмутазе, глутатионпероксидазе и витамину Е. Активность ферментных систем очень низка. В то же время содержание альфа-токоферола в наружных и внутренних сегментах фоторецепторов в 5-10 раз выше, чем в митохондриях и микросомах печени. Таким образом, в мембранных структурах фоторецепторных клеток сетчатки основная нагрузка по защите полиеновых липидов от активных форм кислорода и ПОЛ ложится на систему витамина Е (Каган В.Е. и соавт., 1978; Aonuma H et al., 1997).

Также экранирующие пигменты глаза – меланосомы - как антиоксиданты ингибируют фотоиндуцированное окисление (Островский М.А., Сакина Н.Л., Донцов А.Е., 1987; Sanyal S., Zeilmaker G.H., 1988). Однако, по мнению ряда других авторов, меланин не защищает от светового

повреждения и не увеличивают его степени, чем объясняется отсутствие морфологических различий в фотопораженной сетчатке пигментированных и альбиносных животных (Hoppeler T., Hendrickson P., Dietrich C., Rem C., 1988).

Многими независимыми исследователями была установлена антиоксидантная способность аскорбиновой кислоты. Она способна собирать и связывать супероксидные и гидроксильные радикалы, тем самым значительно снижая потери родопсина (Organisciak D.T., Wang H.M., Li Z.Y., Tso M.O., 1985; Tso M.O., 1987).

Другими авторами установлена защитная роль дегидратации от фотоповреждения, которая коррелирована с осмотическими изменениями в сетчатках дегидратированных животных (O'Steen W.K. et al., 1990).

Также интравитреальное введение фактора роста фибробластов перед световым воздействием уменьшает повреждение (Masuda K. et al., 1995; Gargini C. et al., 1999).

Дальнейшее развитие фундаментальных и прикладных исследований в области физиологии зрения способствует лучшему пониманию механизмов его совершенной и безопасной работы.

1.5. МЕХАНИЗМ ДИАБЕТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ АЛЛОКСАНА

В 1937 г. Н. Jackobs впервые показал, что внутривенное введение кроликам аллоксана вызывает гипергликемию. В 1943 г. J. Dunn et al. сообщили о появлении у кроликов в результате введения аллоксана избирательного некроза островков поджелудочной железы с последующим развитием сахарного диабета. В литературе имеются данные о том, что в основе избирательного действия аллоксана на β -клетки поджелудочной железы лежит свойство этого препарата реагировать с сульфгидрильными группами. Исключительная чувствительность β -клеток к аллоксану объясняется небольшим содержанием в них веществ, имеющих

сульфгидрильные группы (глутатион, цистеин, метионин). Предварительное введение глутатиона предотвращает развитие диабета. Однако после того, как аллоксан вызвал поражение островков, введение веществ, содержащих SH-группы не влияет на развитие диабета (Козлов М.П., 1977; Lazarow A., 1946, 1954; Watkins D. et al., 1971). По мнению А. Lazarow (1946, 1954) содержание SH-групп в островковом аппарате поджелудочной железы является относительно низким за счет того, что они расходуются на синтез дисульфидных связей инсулина. Последнее обстоятельство снижает способность β -клеток инактивировать аллоксан, в результате чего и реализуется его избирательное цитотоксическое действие. Известно, что под влиянием ионизирующего излучения количество SH-групп в организме убывает, так как они превращаются в S-S группы. Вследствие этого аллоксан, введенный в организм, обезвреживается в меньшей степени и сильнее проявляется его токсическое воздействие (Манукян М., 1966).

Заслуживают внимания и другие гипотезы, в основе которых лежат ферментные и обменные механизмы, объясняющие повреждение β -клеток. Маске (Maske H., 1960), Шмидт (Schmidt R., 1967), Е.Д. Гольдберг и соавт. (1993) считают, что в основе диабетогенного действия аллоксана лежит блокирование Zn в островках поджелудочной железы, приводящее к образованию аллоксаната Zn, разрушающего β -клетки. Имеются прямые доказательства действия аллоксана на митохондрии, в частности на освобождение ими неорганического фосфора, что ведет к необратимому нарушению функций митохондрий и может играть важную роль в диабетогенном действии аллоксана (Nelson L., 1982).

Установлено появление в плазме крови животных, больных аллоксановым диабетом и у людей, больных сахарным диабетом диабетогенного фактора. Это белок – глобулин, обладающий высоким сродством к гепарину. Этот фактор вызывает резкое снижение концентрации иммунореактивного инсулина в крови, приводит к развитию гипергликемии,

что свидетельствует о блокирующем действии диабетогенного фактора на функцию инсулярного аппарата (Кудряшов Б.А., 1989).

Несмотря на большое количество доказательств избирательного поражения аллоксаном β -клеток сущность этого феномена до конца не выяснена.

1.6. МОРФОЛОГИЯ СЕТЧАТКИ ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

Одним из самых тяжелых офтальмологических проявлений сахарного диабета является диабетическая ретинопатия, осложняющаяся при прогрессировании ростом новообразованных сосудов, внутриглазными кровоизлияниями, фиброзом сетчатки и стекловидного тела, тракционной отслойкой сетчатки, атрофией зрительного нерва и приводящая к слепоте. Слепота связанная с диабетической ретинопатией обнаруживается у 0,6% больных сахарным диабетом, болеющих меньше 6 лет, а при продолжительности заболевания больше 15 лет она в 10 раз выше. За последние годы отмечается рост частоты диабетической ретинопатии, которая в настоящее время стала основной причиной необратимой слепоты, особенно у лиц трудоспособного возраста, что создает серьезные медикосоциальные проблемы для многих стран. Ретроспективные исследования больных сахарным диабетом в возрасте 35-55 лет (выборка многонационального исследования ВОЗ “Сосудистые поражения у больных диабетом”) показали, что распространенность диабетической ретинопатии составляет у больных инсулинзависимым сахарным диабетом в зависимости от его продолжительности 21,7- 70,1%, а у больных инсулиннезависимым сахарным диабетом 14,4-61,6% к общему числу обследованных (Можеренков В.П., Калинин А.П., 1991). Диабетическая ретинопатия характеризуется постепенно прогрессирующими изменениями в микроциркуляторном русле сетчатки, ведущими к 3-м фундаментальным нарушениям: 1) сосудистая гиперпроницаемость; 2) сосудистая окклюзия; 3) образование новых сосудов.

Результаты электронномикроскопического исследования показали наличие микроциркуляторных расстройств уже на 1-ом месяце аллоксанового диабета (Захаров Г.П., 1985). Наблюдается утолщение базальной мембраны капилляров (Лекишвили В.П., Скотт Д.Дж., 1968; Комаров Ф.И., 1982; Garner A., 1993; Carlson E.C., 1994; Stitt A.J. et al., 1994; Anderson H.R. et al., 1995). Аморфный материал, подобный бесструктурному компоненту базального слоя капилляра, приобретает слоистый вид с вплетением в него коротких коллагеновых микрофибрилл. На других участках капиллярной стенки при расширении базального слоя в этих межмембранных пространствах скапливается аморфная бесструктурная масса малой электронной плотности. Такая же субстанция располагается в субмембранном или субэндотелиальном слое, расширяя их. Скопление в этих зонах при гистохимическом исследовании ШИК- положительных субстанций дает основание предположить, что обнаруженные депозиты относятся к гликопротеинам и к нейтральным гликозаминогликанам (Спесивцева В.Г., 1985). Кроме того, увеличивается отложение липопротеидов и повышается синтез коллагена второго типа (Евграфов В.Ю., Алябьева Ж.Ю., 1995; Ljubimow A.V. et al., 1996). Через год после моделирования аллоксанового диабета происходит утолщение и огрубление мембраны Бруха (Захаров Г.П., 1985).

Существенную роль в развитии микроциркуляторных изменений играет состояние эндотелиальной выстилки капилляров (Гогина И.Ф., Плешанов Е.В., 1987, 1989). Обращает на себя внимание сужение их просвета вследствие набухания отдельных эндотелиальных клеток, что приводит к редукции терминального отдела сосудистого русла. Дистрофические изменения эндотелиоцитов выражаются неравномерностью распределения свободных рибосом и полисом, набуханием митохондрий и уменьшением в них количества крист, гипертрофией пластинчатого комплекса, шероховатостью эндоплазматического ретикулума и наличием большого

количества микроворсин на люминальной поверхности эндотелия, что свидетельствует о микроциркуляторной гипоксии (Зербино Д.Д., 1976). Одновременно отмечено снижение микропиноцитоза, свидетельствующее о понижении активности трансцеллюлярных обменных процессов (Куприянов В.В. и соавт., 1975) и появление в цитоплазме эндотелия фибриллярных структур, участвующих в сокращении клеток и свидетельствующих о повышении их проницаемости (Чернух А.М. и соавт., 1984).

Пластическая недостаточность эндотелия капилляров проявляется изменением ядер данных клеток, которые становятся укрупненными, приобретают неправильную форму, ядерная мембрана становится складчатой и образует инвагинации, нуклеоплазма просветляется, ядрышко часто не определяется. Это указывает на снижение синтеза нуклеиновых кислот, без которых невозможен ресинтез структурных белков (Втюрин Б.В., Калашников М.М., 1972).

По мере нарастания тяжести сахарного диабета, метаболических нарушений и сосудистых проявлений отмечаются еще более значительные нарушения эндотелиальных клеток, которые выражаются в микрокламатозе, в повреждении органелл и выходе их в просвет капилляра, в истончении эндотелиальной выстилки вплоть до обнажения базальной мембраны капилляров. В истонченной периферической части эндотелиоцитов обнаруживаются многочисленные поры и фенестры, расширяются межэндотелиальные стыки капилляров (Плешанов Е.В., Гогина И.Ф., 1985; Fuchs U. et al., 1988; Ishibashi T. et al., 1993). Вследствие этого образуются «локусы утечки», через которые выходят форменные элементы крови и плазма, что способствует повышению проницаемости и развитию интерстициального отека.

В последнее время обращается внимание на повышение проницаемости ретинальных капилляров (Салдан И.Р. и соавт. 1982; Сорокин Е.Л., Смолякова Г.П., 1997; Ishibashi T et al., 1981; Bek T., Lund-Andersen H.,

1990; Gillies M.C. et al., 1997). Имеются сообщения о динамике ранних сосудистых изменений сетчатки при сахарном диабете (Dorchy H. et al., 1980; Yamana Y. et al., 1983). Так, Yamana с соавторами (1983) провели флюоресцентную ангиографию у 166 больных сахарным диабетом без клинических признаков ретинопатии. Ими были обнаружены ранние изменения сосудов сетчатки у 66,5% больных. Ангиографическая картина патологического процесса характеризовалась просачиванием краски и расширением капилляров с нарушением их кровенаполнения.

Одновременно с эндотелием дистрофические процессы происходят и в перицитах, которые гибнут (Fuchs U. et al., 1985; Sharma N.K. et al., 1985; Wang M., Wang Y.H., 1989; Kern T.S., Engerman R.L., 1995; Yang Y. et al., 1997; Imesch P.D. et al., 1997). Так, если в норме соотношение между количеством перицитов и эндотелиальных клеток составляет 1:1, то при сахарном диабете оно изменяется 1:2,7. Однако по данным некоторых авторов (Sakaki Y. et al., 1996) наоборот происходит гипертрофия перицитов. Методами иммуногистохимии были обнаружены апоптатические изменения в перицитах и эндотелиальных клетках. Причем количество апоптатически измененных перицитов преобладает над содержанием эндотелиоцитов с апоптозом (Mizutani M., Kern T.S., Lorenzi M., 1996; Li W. et al., 1997).

По данным некоторых исследователей (Gardiner T.A. et al., 1994) исчезновение перицитов идет параллельно с гибелью гладкомышечных клеток в мелких артериолах центральных отделов сетчатки. В результате деструкции эндотелия и перицитов с последующей десквамацией в просвете кровеносных капилляров скапливается большое количество погибших клеток, микроклазматозных частиц, клеточного детрита, фибрина, лейкоцитов, что вызывает окклюзию капилляра (Smit D. et al., 1994; Bek T., Ledet T., 1996; Yang Y. et al., 1997; Ogura Y., 2000). Позднее в полость окклюзированного сосуда врастают радиальные глиоциты и мигрируют макрофаги (Bek T., 1997; Ishibashi T., 2000). Кроме того, макрофаги выходят

во внутренние слои сетчатки и располагаются в местах выпота. В областях смежных с макрофагами внутренние отделы сетчатки теряют гладкую и непрерывную структуру, матрица во внутренней пограничной мембране исчезает, так что грубая сеть волокон лежит на поверхности сетчатки (Kishi S., Numaga T., Yamazaki I., 1982). При диабетической ретинопатии изменения затрагивают в основном внутренние слои сетчатки. Наблюдается пикноз ганглионарных нейронов, истончение внутреннего ядерного слоя. Между наружными сегментами фоторецепторов и пигментным эпителием накапливается эозинофильное вещество, причем в тех же областях, где обнаружены изменения внутренних слоев сетчатки (Гаджиев Р.В., 1998; Век Т., 1994).

Изменения затрагивают и глию. Глиальные клетки играют центральную роль в гомеостатическом регулировании сетчатки (Newman E., Reichenbach A., 1996). Нормальная нейронная и сосудистая функция основана на взаимодействии с нейроглией. Глиальные клетки участвуют в поддержании гематоретинального барьера (Gardner et al., 1997), также внеклеточная ионная среда оптимизирована нейроглией для надлежащей электрофизиологической функции нейронов. Она регулирует уровень нейромедиатора глутамата в сетчатке. Это аминокислота в высоких концентрациях губительна для нейронов (Romano C. et al., 1995). Морфологически изменения мюллеровых глиоцитов при диабете проявляются таким образом: их ядра имеют шестиугольную форму и более высокую плотность, чем другие ядра, наблюдается дисперсия ядерного хроматина. В цитоплазме повышено содержание гликогена, электронноплотных тел и лизосом, в которых повышена активность гидролитических ферментов, что необходимо для устранения продуктов распада клеток и чрезмерного количества гликогена, накапливающихся в сетчатке при диабете (Hori S., 1980; Schellini S.A. et al., 1995). Эти изменения чаще встречаются в периваскулярной области.

Метаболические изменения происходят в сетчатке на 3-м месяце стрептозотоцинового диабета. Увеличивается количество кислого глиального фибриллярного белка в астроцитах и радиальных глиоцитах, что указывает на глиальную реактивность - индикация относительно измененной глиальной функции (O'Callaghan J.P., 1991; Huxlin K.R. et al., 1995; Bek T., 1997; Mizutani M. et al., 1998). В цитоплазме Мюллеровых клеток повышено содержание γ -аминобутировой кислоты, что говорит о функциональном ухудшении радиальных глиоцитов (Ishikawa A. et al., 1996; Ambati J. et al., 1997).

Одна из важных глиальных функций в сетчатке - это преобразование глутамата в амид α -аминоглутаровой кислоты. При диабете глутаматный обмен нарушается, глутамат накапливается в сетчатке, где может действовать как токсин на ганглионарные клетки и другие нейроны сетчатки (Lucas D.R. et al., 1957; Olney J.W., 1969; Vorwerk C.K. et al., 1996; Gamberino W.C., 1997; Erich Lieth Alistair J. et al., 1998). Ряд лабораторий исследует возможность цитотоксического действия глутамата в запуске активного процесса смерти клетки типа апоптоза (Lucas D.R., Newhouse J.P., 1957; Olney J.W., 1969; Romano C. et al., 1995).

Третьим фундаментальным нарушением является образование новых сосудов. Их строение особенно предрасполагает к появлению кровоизлияний. В стенке таких сосудов нередко обнаруживается чередование толстых и тонких эндотелиоцитов, суперпозиция эндотелиальных отростков с усложнением межклеточных контактов (Гурина О.Ю., Куприянов В.В., Миронов А.А. и др., 1985). Характерны также плохо развитые, открытые межклеточные соединения, фенестрация и наличие трансэндотелиальных каналов (Gulha D.C. et al., 1994; Ishibashi T. et al., 1999), почти полное отсутствие базальной мембраны (Ausprunk D.H., Folkman J., 1977), вследствие чего вновь образованные сосуды очень хрупки и легко кровоточат.

Таким образом, изменения сетчатки при сахарном диабете развиваются сравнительно медленно и касаются прежде всего сосудов микроциркуляторного русла.

1.7. МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

Диабетическая ретинопатия носит генерализованный характер. В ее развитии принимают участие различные (метаболические, гормональные, иммунные, реологические, генетические, гипоксические и др.) патогенетические факторы, приводящие последовательно или одновременно к повреждению стенки мелких сосудов, нарушению сосудистой проницаемости, плазморрагии и накоплению качественно или количественно измененных компонентов плазмы (Салтыков Б.Б., 1984).

Наиболее распространенными и признанными являются теории, согласно которым ведущую роль в формировании диабетической ретинопатии играют метаболические факторы. Пусковой механизм – нарушение углеводного обмена. Большое значение при этом имеет полиоловый путь метаболизма глюкозы, не требующий участия инсулина и завершающийся образованием сорбитола, часть которого затем превращается в фруктозу. Сорбитол значительно увеличивает проницаемость сосудистой стенки, вызывая выраженный отек и повреждение тканей, нарушая тем самым микроциркуляцию (Балаболкин М.И., Гаврилюк Л.И., 1983; Мазовецкий, 1987; Ефимов А.С., 1989). У больных сахарным диабетом развиваются нарушения не только углеводного, но и белкового и жирового обмена. Так, для заболевания характерны гипергликемия, гипоальбуминемия, гиперуглобулинемия, гиперлипидемия, гипертриглицеридемия, гиперхолестеринемия, гиперβлипопротеидемия (Лейтес С.М., 1972; Вецвагарс Ю.Я., Ханина Е.В., 1978; Ефимов А.С., 1983). Эти проявления нарушения метаболизма в органах и тканях связаны с инсулиновой недостаточностью и (или) избытком контринсулярных гормонов. Среди

последних в развитии сосудистых нарушений особое значение придают соматотропному гормону (Марголис М.Г. и др., 1966; Узбекова Н.Р., 1992; Alzaid A.A. et al., 1994), глюкогону и глюкостероидам (Сорокин Е.Л., 1998). Действие этих гормонов проявляется путем нарушения обмена веществ, возможно и их непосредственное действие на гликозаминогликаны сосудистой стенки, где они вызывают деполимеризацию белково-углеводных комплексов, что приводит к повреждению, а потом и к утолщению базальной мембраны (Ефимов А.С., 1983).

Существенную роль в возникновении диабетической ретинопатии играют местные факторы. Это высокая интенсивность ретинального метаболизма, сочетание процессов биологического окисления с гликолизом, изолированность сетчатки от соседней с ней хориоидеи. В условиях венозного застоя возможность удаления продуктов патологического обмена из глаза ограничена, в результате чего они накапливаются в вязких структурах стекловидного тела. Играют роль особенности строения ретинальной сосудистой сети: дихотомическое деление каждого сосудистого ствола, концевой характер кровоснабжения ретинальных зон, неравномерность распределения микрососудов в различных отделах сетчатки, плотное соединение эндотелиальных клеток. Отмеченные выше особенности облегчают возникновение в сетчатке ишемических зон (Нестеров А.П., 1994, 1997).

В патогенезе диабетической ретинопатии имеют значение и внутрисосудистые факторы. Например, накопление в эритроцитах гликозилированного гемоглобина, лишенного способности переносить кислород, вызывая таким образом гипоксию в тканях. Она сопровождается нарушением микроциркуляции: расширение венозной части капилляра, увеличение его проницаемости (Глуходед С.В. и др., 1981; Салдан И.Р., 1982, 1985), что способствует нарушению гематоофтальмического барьера (Нестеров А.П., 1994; Сорокин Е.Л., Смолякова Г.П., 1997; Евграфов В.Ю.,

Алябьева Ж.Ю., 1995). Нарушения микроциркуляции усиливаются в результате повышения вязкости крови (Бахритбинова Ф.А., 1996; McMillan D.E., 1976), увеличения агрегации эритроцитов и тромбоцитов, повышения протромбинового индекса, изменения содержания и качества фибриногена, понижения фибринолитической активности крови (Беляева М.И., Шестаков В.А., 1977; Беляева И.М., 1988; Салдан И.Р. и др., 1982; Плешанов Е.В., Гогина И.Ф., 1985; Heath H. et al., 1971; Kwaan H.C. et al., 1972; Colwell J.A., 1983; Little H.L., 1983). Эти показатели усиливаются при наличии гиперлипидемии характерной для сахарного диабета (Анестиади В.Х., Нагорнев В.А., 1982; Семенова Г.С., 1987).

Поражение сосудов согласно генетической теории, возникает вследствие наследственных особенностей обменных процессов, обусловленных наличием специального гена, способствующего изменениям сосудов и прежде всего их базальных мембран. Действие гена не связано с углеводными расстройствами, но особенно выражено при гипергликемии (Кондратьев Я.Ю. и др., 1998).

Необходимо отметить участие иммунных процессов в патогенезе диабетической ретинопатии. Так, одним из основных этиопатогенетических факторов, способствующих прогрессированию клинического течения сахарного диабета, является развитие аутоиммунного ответа с повышением уровня агрессивных антител (Дегтяренко Т.В., 1981; Зайцева Н.С. и др., 1990; Baynes J.W., 1991; Gall M.A. et al., 1991; Ceriello A., 1998; Attawia M.A., Nayak R.C., 1999) и циркулирующих иммунных комплексов, способных осаждаться на клетках и в тканях, повреждать стенки капилляров (Семенова Г.С., 1987; Балашова Н.С. и др., 2000; Ceriello A. Et al., 1996), вызывая нарушение гематоретинального барьера, активацию перекисного окисления липидов, появление хронического ДВС-синдрома. Исследование иммунологической реактивности у больных сахарным диабетом выявило выраженную депрессию клеточных механизмов иммунного ответа, а также дисбаланс

между клеточным и гуморальным звеньями иммунитета (Дегтяренко Т.В., 1982; Кашинцева Л.Т. и др., 1988; Экгардт В.Ф. и др., 1998).

Все вышеперечисленные факторы вызывают развитие диффузной гипоксии сетчатки с последующим появлением ишемических неперфузированных зон. Ишемия приводит к стимуляции синтеза вазопротрофирующих (ангиогенных) факторов, обуславливающих неоваскуляризацию сетчатки (Глуходед С.В. 1981; Салдан И.Р. и др., 1985).

Один из таких факторов – сосудистый эндотелиальный фактор роста, обнаруженный в конце 1980-ых группой Harold. Кроме образования новых более хрупких и негерметичных сосудов он увеличивает проницаемость гематоретинального барьера (Miller J.W. et al., 1994; Aiello L.P. et al., 1994; Malecaze F. et al., 1994; Adamis A.P. et al., 1995; Barinara M., 1995; Shima D.T. et al., 1995; Murata T. et al., 1995; Mathews M.K. et al., 1997; Amin R.H. et al., 1997). Сосудистый эндотелиальный фактор роста уменьшает содержание окклюдина - трансмембранный компонент межэндотелиальных плотных контактов и, таким образом, увеличивает проницаемость гематоретинального барьера (Furuse M. et al., 1993; Van Itallie C.M., Anderson J.M., 1997; Chen Y. et al., 1997; Antonetti Alistair D.J. et al., 1998).

В связи с развитием гипоксии сетчатки происходит активация свободно-радикальных процессов и ослабление антиоксидантной защиты (Нелаева А.А. и др., 1998; Булатова О.С. и др., 1999; Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., 2000; Нероев В.В., 2000; Wolff S.P., 1987, 1991; Oberley L.W., 1988; Baynes J.W., 1991, 1999; Fu M.X., 1994; Giugliano D. Et al., 1996; Ceriello A., 1996, 1999). Немаловажное значение в этих процессах играет оксид азота, который под влиянием гипоксии синтезируется из L- аргинина и увеличивает продукцию пероксид-нитрита, обладающего высокой реакционной способностью. Это приводит к нарушению многих клеточных структур в том числе ДНК клеток (Реутов В.П., Сорокина Е.Г., 1994, 1998; Архипова М.М. и др., 2000; Roufail E. Et al., 1998). По данным А.В. Ховряков и соавт. (2000)

повышение синтеза NO можно рассматривать как один из возможных механизмов развития апоптоза.

1.8. ВОЗДЕЙСТВИЕ ИЗЛУЧЕНИЙ РАЗЛИЧНОГО ДИАПАЗОНА НА СЕТЧАТКУ ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

В литературе имеются сообщения о воздействии ионизирующей радиации на сетчатку при диабетической ретинопатии (Dhir S.P. et al., 1982; Brown G.C. et al., 1982; Amoaku W.M.K., Archer D.B., 1990; Viebahn M. et al., 1991; Karren K.A. et al., 1992). Было обнаружено, что существующий ранее диабет потенцирует действие радиации на сосудистую сеть сетчатки, что проявляется увеличением количества бесклеточных капилляров по сравнению с таковым при изолированном облучении (Gardiner T.A., Amoaku W.M.K., Archer D.B., 1993). Большую роль в данном синергизме играет увеличение окислительного напряжения и срыв системы антиоксидантной защиты в сетчатке, как при воздействии ионизирующей радиации (Srinivasan V., Weiss J.F., 1992), так и при сахарном диабете (Wolff S.P., 1987; Oberley L.W., 1988; Wolff S.P. et al., 1991; Baynes J.W., 1991; Kashiwagi A., Kikkawa R., 1991).

В научной литературе имеется большое число сообщений о повреждающем действии света на сетчатку глаза человека и животных, что свидетельствует о возросшем интересе к так называемым фотодегенерациям сетчатки. Изучение условий, в которых видимый свет способен вызывать сложные дегенеративные изменения в глазу человека и животных является важным в связи с тем, что в клинике и на производстве нередки ситуации с потенциальной возможностью возникновения и развития фотодегенерации. В литературе отмечаются такие факты, как нарушение зрения у новорожденных после фототерапии, назначенной им в связи с билирубинемией, преходящая слепота у альпинистов без солнцезащитных очков на больших высотах, нарушение зрения вследствие наблюдения солнечного затмения, появление дегенеративных изменений на глазном дне у

пациентов, слишком часто подвергавшихся офтальмоскопированию, нарушения сетчатки после глазных операций, при которых использовалась волоконная оптика, обеспечивающая интенсивное освещение операционного поля (Dawson W.W., 1976; Sliney D.H., Wolbarsht M.L., 1980; Mc Donald H.R., Irvine A.R., 1983). Нарушение зрительных функций наблюдается у рабочих некоторых отраслей промышленности, также при световом воздействии отмечается усиление дистрофических процессов в глазу больных с наследственными абиотрофиями сетчатки. Поэтому вызывает интерес изучение повреждающего действия света на глаза с изначальной патологией, такой как диабетическая ретинопатия.

1.9. РЕЗЮМЕ

Сахарный диабет становится все более серьезной проблемой, затрагивающей лиц всех возрастов. Диабетическая ретинопатия является одним из его осложнений, приводящим на поздних стадиях к слепоте. Установление особенностей световых повреждений в сетчатке при сахарном диабете приобрело актуальность в связи с накоплением фактов об отрицательном влиянии на глаза осветительных систем, применяемых на многих производствах и в офтальмологии. Однако сообщения о влиянии света на глаза при диабете единичны (Johnson D.D. et al., 1986). Слабо изучены изменения гематоретинального барьера и наружного ядерного слоя сетчатки при световом воздействии на фоне сахарного диабета. В доступной литературе отсутствуют данные о реакции нейронов и глии внутреннего ядерного и ганглионарного слоев, а также синаптического аппарата сетчатки на вышеперечисленные воздействия. Этот факт и подтолкнул нас к попытке исследования поражений и репарации сетчатки глаза на ранних этапах сахарного диабета при воздействии света высокой интенсивности, что представляет интерес для решения фундаментальных задач экспериментальной нейрогистологии, касающихся реактивности,

регенерационной способности, пластичности тканевых элементов сетчатой оболочки глаза. А также имеет практическое значение как для гигиенистов, так и для офтальмологов.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 80 беспородных белых крысах обоего пола с первоначальной массой 150-180 г, полученных из вивария СГМУ.

Перед экспериментом всех животных выдерживали на протяжении двухнедельного карантинного срока в условиях вивария на обычном пищевом рационе.

Для исключения влияния сезонных колебаний эксперименты проводились в осенне-зимний период. Начало экспериментальных воздействий и взятие материала осуществляли в одно и тоже время суток - в 10-12 часов. Животных содержали в стандартных условиях вивария при световом режиме 12 часов день, 12 часов ночь с искусственным дневным освещением низкой интенсивности (20 лк).

Животных распределили по сериям экспериментов в соответствии с данными в таблице 1.

В первой серии экспериментов моделировали сахарный диабет. Для этого 20-и животным после 24-х часового голодания вводили аллоксан в дозе 15 мг/100 г внутрибрюшинно однократно. Критерием тяжести заболевания служили уровень гипергликемии, потеря массы тела, выраженность полиурии и полифагии. Содержание сахара в крови определяли ортотолуидиновым методом 1 раз в неделю на базе ЦНИЛа. Средний уровень сахара на 7-е сутки после введения аллоксана составил – 20,7 ммоль/л (контроль 5-7 ммоль/л). Через 1 месяц после введения препарата осуществляли энуклеацию глаз животных на 1-е, 7-е, 14-е и 30-е сутки. Одновременно производили забор поджелудочных желез для морфологического исследования. Светооптически на 1-7-е сутки после введения аллоксана в островках поджелудочной железы развиваются дегенеративные процессы. Клетки теряют связь друг с другом, располагаются в островке беспорядочно, появляются инсулиноциты с

Таблица 1. Распределение животных по сериям эксперимента.

Серия эксперимента	Количество животных	Сроки взятия материала
Контроль	20	соответственно экспериментальным
Аллоксановый диабет (1месяц)	20	1 сут, 7 сут, 14 сут, 30 сут.
Световое облучение	20	1 сут, 7 сут, 14 сут, 30 сут.
Световое облучение через месяц после введения аллоксана	20	1 сут, 7 сут, 14 сут, 30 сут.

пикнозом ядра. На 14-30-е сутки было обнаружено уменьшение количества и величины островков Лангерганса.

Во второй серии 20 животных помещали в специально сконструированную установку из прямоугольных рефлекторов с вмонтированными в них лампами, освещающая клетку с 5-и сторон. В ней производилось тотальное облучение люминисцентными лампами ЛБ-40 с освещенностью 6000 лк в течение 6 ч. Перед облучением проводили атропинизацию и дикаинизацию глаз животных. Спектральные характеристики ламп приведены на рис. 1, максимум излучения - в фиолетовой и зеленой областях спектра. Дозиметрический контроль освещенности осуществляли с помощью объективного люксметра. Взятие материала осуществляли через 1, 7, 14 и 30 суток после облучения.

В третьей серии 20 животным вводили аллоксан в дозе 15 мг/100г внутрибрюшинно. Через 1 месяц после введения препарата животных облучали люминисцентными лампами ЛБ-40 с освещенностью 6000 лк в течение 6 ч. Взятие материала осуществляли через 1, 7, 14 и 30 суток после облучения. Животных выводили из эксперимента посредством декапитации под эфирным наркозом.

Контрольным материалом служили сетчатки 20 животных, которых содержали в идентичных условиях вивария с экспериментальными животными.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Глазные яблоки фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в парафин. Готовили отвесные срезы задней стенки глаза толщиной 5-7 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином (Ромейс Б., 1954); крезидовым фиолетовым по Нисслю для выявления хроматофильного вещества в перикарионах нейронов.

Для изучения ультраструктурных изменений заднюю стенку глаз фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида, забуференном на 0,2 М

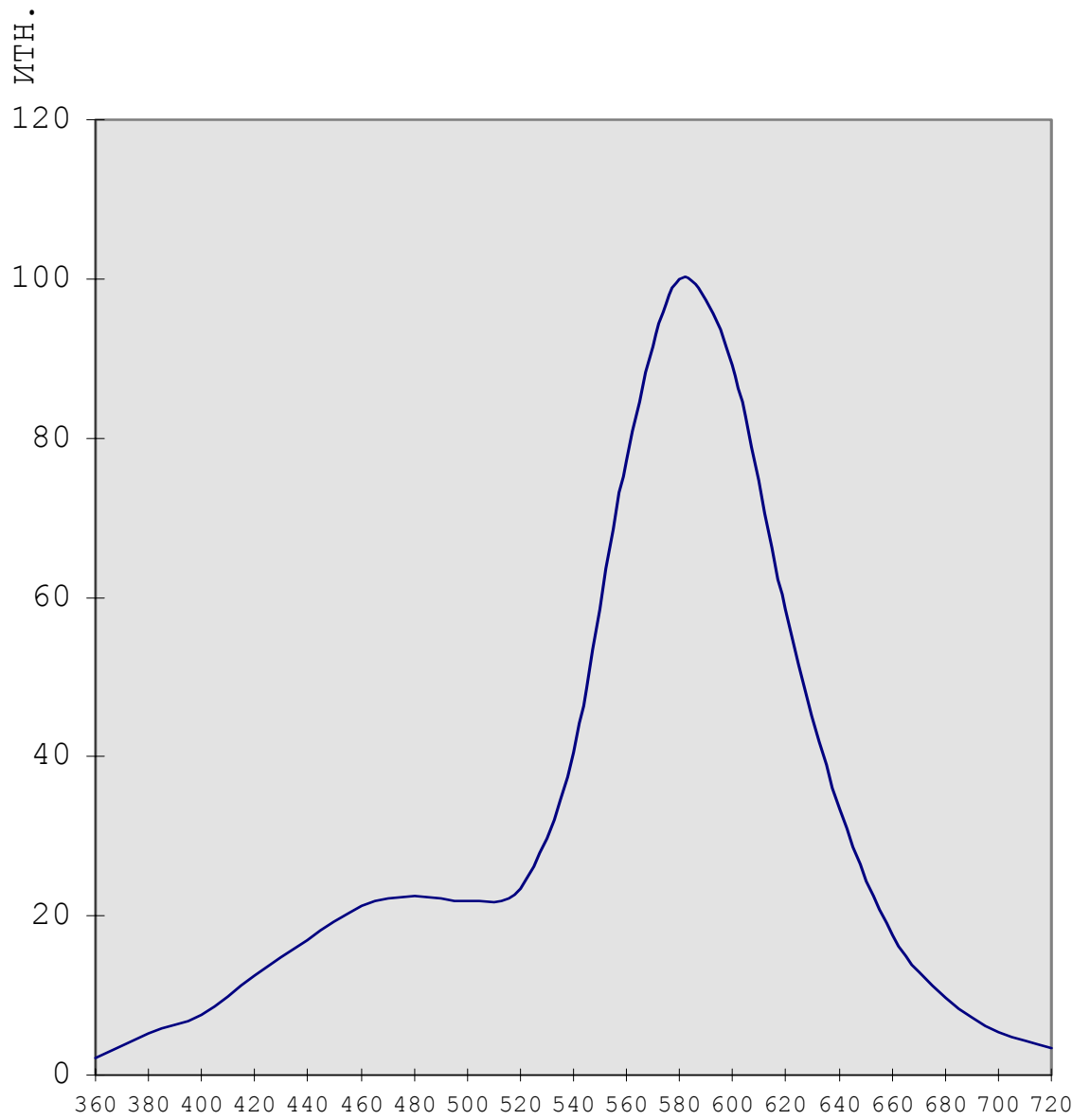


Рис.1 спектральная характеристика
люминисцентной лампы ЛБ - 40.

По оси абсцис - длина волны (нм).

По оси ординат - интенсивность (в
относительных единицах).

какодилатном буфере (рН 7,4). Материал постфиксировали в 2% растворе четырехокси осмия на холоду в течение 3-х час., дегидратировали в спиртах восходящей концентрации и заливали в эпон.

На осмированных препаратах плохо выявляются филаментозные парамембранные образования, поэтому для количественного изучения синаптического пула на этапе дегидратации, без предварительного осмирования, сетчатки контрастировали в 5% растворе фосфорновольфрамовой кислоты (ФВК) на абсолютном спирте в течение 3 часов. ФВК, взаимодействуя с белками микрофиламентов системы субсинаптических единиц (ССЕ), приводит к значительному возрастанию электронной плотности последних, что и позволяет проводить количественный анализ синаптической популяции.

На ультратоме LKB-4 (Швеция) готовили полутонкие и ультратонкие срезы. На полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синим, производили подсчет нейросенсорных клеток с пикнозом ядра на 1000 фоторецепторов с каждой сетчатки. Определяли количество слоев и плотность распределения ядер в наружном ядерном слое. Подсчет клеток производили в окулярной рамке на площади 900 мкм² с 5 срезов каждой сетчатки при увеличении 10х90. Определяли процент пикноморфных радиальных глиоцитов, нейронов внутреннего ядерного и ганглиозного слоев на 200 клеток с каждой сетчатки.

Просмотр и фотографирование полутонких срезов производили на световом микроскопе «Люмам И1». Ультратонкие серебристые и бледно-золотистые срезы помещали на медные сетки. Осмированные препараты докрашивали уранилацетатом и цитратом свинца (Reynolds, 1963) и изучали в электронном микроскопе JEM –7 А.

МОРФОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Для оценки изменений синаптоархитектоники фотографировали по 15

случайно выбранных полей зрения внутреннего сетчатого слоя с 5 срезов каждой сетчатки при стандартном увеличении 8500. При конечном увеличении 30000, полученном с помощью фотоувеличителя, определяли количество межнейронных контактов (площадь поля зрения – 50 мкм²) и высчитывали численную плотность синапсов на 100 мкм² нейропиля.

Выявленные на электроннограммах ФВК-позитивные контакты в зависимости от плоскости среза подразделяли на ряд категорий. Анализировали только определенные синаптические контакты, в которых четко были видны все элементы ССЕ: электронноплотный материал пресинаптической зоны, синаптической щели и постсинаптической части. В плоскость среза контактов неопределенного вида попадала только часть ССЕ. Подсчитывали количество определенных контактов с асимметричной и симметричной организацией ССЕ. Для асимметричных контактов характерно дискретное расположение ФВК-позитивного материала пресинаптической зоны в виде плотных проекций (ПП) пресинаптической решетки, а в симметричных контактах электронно-плотный материал пресинаптической зоны неорганизован в отдельные филаментозные образования.

Асимметричные контакты, в свою очередь, по степени выраженности ПП дифференцировали на типы: А, В, С (Семченко В.В., Степанов С.С., 1987.). В контактах типа А высота ПП пресинаптической решетки, представляющих материал пресинаптической зоны, была больше 60 нм, в контактах типа В соответствовала 50-60 нм, а в контактах типа С – меньше 50 нм. Длину активной зоны контакта (АЗК), которая на ФВК-контрастированном материале соответствовала всему синаптическому профилю, определяли с помощью тестовой решетки с шагом 3 мкм. По протяженности АЗК все контакты делили на очень мелкие (<100 нм), мелкие (100-200 нм), малые (200-300 нм), средние (300-500 нм), крупные (500-700 нм) и очень крупные (>700 нм). Цифровой материал обработан

общепринятыми методами вариационной статистики (Автандилов Г.Г. и др., 1990). Для оценки достоверности различий при сравнении средних величин использовали непараметрический метод Манна-Уитни. Статистическая обработка проведена при помощи программы STATISTICA for Windows Release 4.3. на компьютере IBM PC Pentium.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА ПРИ АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ, ПОСЛЕ СВЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ И ПРИ КОМБИНАЦИИ ДАННЫХ ФАКТОРОВ

3.1.ПИГМЕНТНЫЙ ЭПИТЕЛИЙ

В ранние сроки (4-5 недель) после введения аллоксана изменения пигментного эпителия незначительны. В части пигментоэпителиоцитов наблюдается увеличение базальной складчатости, незначительная гипертрофия апикальных отростков и активизация фагоцитарной активности, что выражается в увеличении количества фагосом (рис.3). На светооптическом уровне фагосомы выявляются в виде интенсивно окрашенных базофильных гранул различной величины. На 5-8-й неделе отдельные пигментоэпителиоциты гипертрофированы, что выражается в значительном увеличении объема ядра и цитоплазмы, вследствие чего клетка выбухает в субретинальное пространство. При ультрамикроскопическом исследовании цитоплазма таких клеток заполнена фрагментами наружных сегментов НК, мембранные диски которых расслоены и подвергаются лизису. Некоторые пигментоэпителиоциты повреждены. В них практически отсутствует базальная складчатость и микроворсинки, в ядре наблюдается гиперконденсация хроматина.

Изменения ПЭ после изолированного светового воздействия и облучения на фоне аллоксанового диабета имеют сходный характер и динамику.

Через сутки после высокоинтенсивного светового воздействия, а также светового облучения на фоне аллоксанового диабета большая часть пигментоэпителиоцитов гипертрофирована. Контакт между ПЭ и наружными сегментами НК сохранен, апикальные микроворсинки увеличены в размерах и активно фагоцитируют разрушенные дистальные отделы периферических

отростков НК. Отдельные ядра ПЭ подвержены кариопикнозу. В таких клетках наблюдается повышение осмиофилии цитоплазмы, микроворсинки редуцированы, базальные отделы подвержены вакуолизации. Слой палочек и колбочек вблизи таких пигментоэпителиоцитов заполнен не утилизированными, разрушенными наружными сегментами НК.

На 7-е сутки после светового облучения на фоне диабета и изолированного светового воздействия изменения носят очаговый характер. На светооптическом уровне в очагах поражения пигментный эпителий уплощен, к нему вплотную прилегает НЯС, содержащий пикнотизированные ядра НК. (рис. 4). Встречаются участки сетчатки с полным отсутствием ПЭ, а также фотосенсорного слоя. Вне очага большинство пигментоэпителиоцитов сохраняют нормальное строение, а в некоторых клетках наблюдается вакуолизация базальных отделов цитоплазмы, деструкция микроворсинок (рис. 5). Отдельные клетки гипертрофированы, в них активно идут процессы фагоцитоза.

На 14-е сутки после изолированного облучения и комбинированного воздействия в очагах поражения ядра большинства ПЭ подвержены пикнозу. Цитоплазма клеток резко осмиофильна и вакуолизована (рис. 6). Базальный комплекс характеризуется утолщением и потерей поперечной исчерченности коллагеновых фибрилл. Вне очага часть пигментоэпителиоцитов сохраняет обычное строение, а отдельные клетки гипертрофированы, в них активно идут процессы фагоцитоза.

На 30-е сутки после указанных воздействий изменения ПЭ также имеют очаговый характер и в очагах они практически идентичны, наблюдаемым в предыдущие сроки. Вне очага увеличивается содержание гипертрофированных пигментоэпителиоцитов, имеющих крупные ядра. В цитоплазме обнаруживается множество мелких вакуолей и микровезикул, что возможно, свидетельствует об усилении транспортных процессов в клетке. Таким образом, сахарный диабет вызывает изменения пигментного

эпителия сетчатки, которые носят преимущественно реактивный характер и проявляются усилением фагоцитарной активности. Изолированное световое воздействие, а также облучение на фоне аллоксанового диабета вызывают сходные по характеру деструктивные изменения уже на 1-е сутки. Начиная с 7-х суток эти изменения имеют очаговый характер. Очаги деструкции пигментного эпителия сохраняются и через месяц после воздействия.

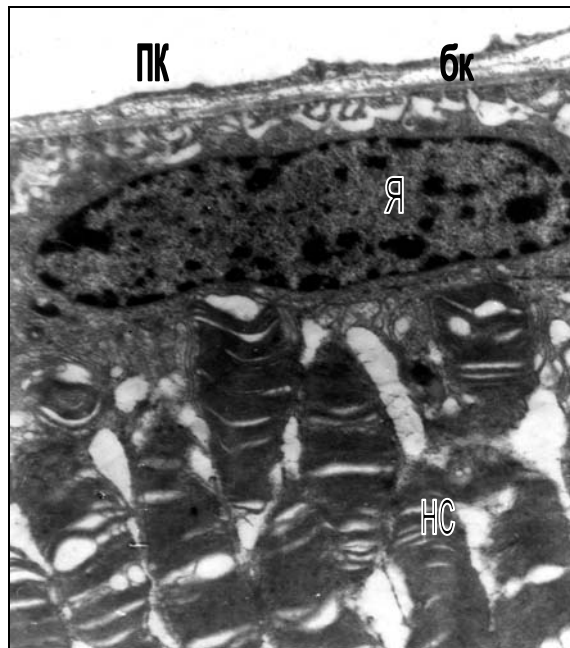


Рис. 2. Структурная организация пигментоэпителиоцита интактной белой крысы (контроль). БК – базальный комплекс; ПК – просвет хориокапилляра; Я – ядро пигментоэпителиоцита; НС – наружные сегменты нейросенсорных клеток. Ув. 4000.

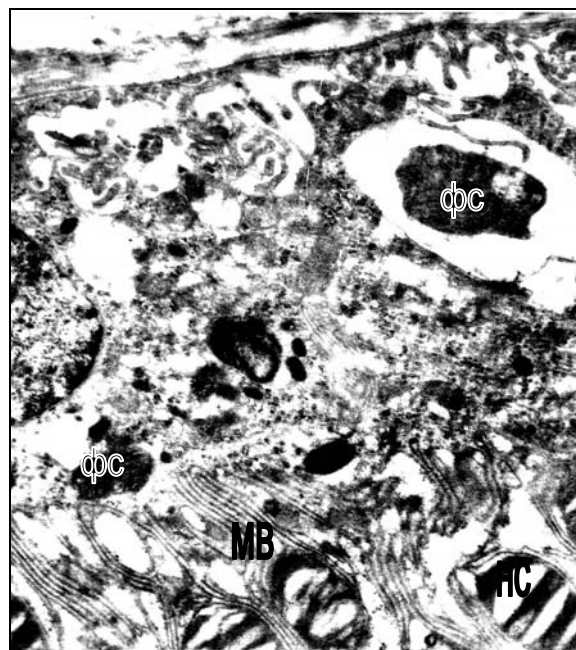


Рис. 3. Усиление фагоцитоза наружных сегментов фоторецепторов пигментоэпителиоцитами, гипертрофия микроворсинок через 5 недель после введения аллоксана. ФС – фагосомы; МВ – микроворсинки; НС – наружные сегменты фоторецепторов. Ув. 7000.

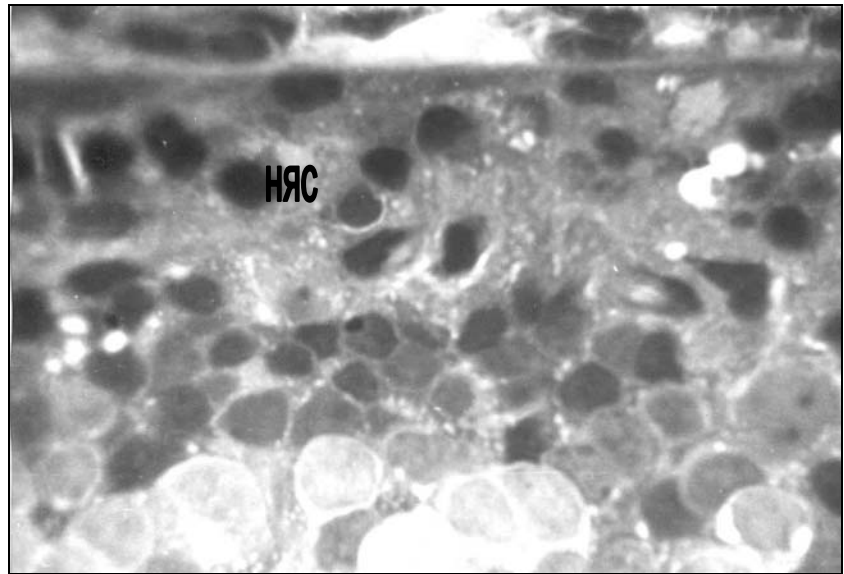


Рис. 4. Пигментный эпителий уплощен. Наружный ядерный слой, содержащий пикнотизированные ядра нейросенсорных клеток, контактирует с базальным комплексом через 7 суток после высокоинтенсивного светового облучения. НЯС – наружный ядерный слой. Полутонкий срез.

Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

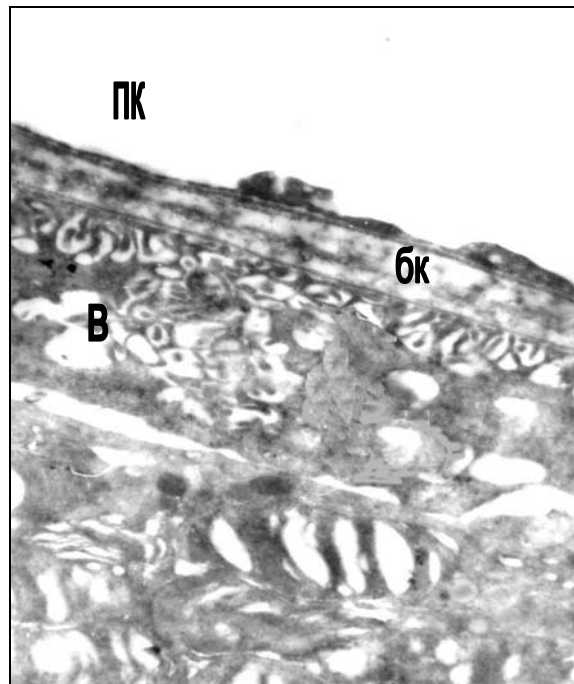


Рис. 5. Утолщение базального комплекса. Вакуолизация базальных отделов цитоплазмы и деструкция микроворсинок ПЭ через 7 суток после светового воздействия на фоне аллоксанового диабета вне очага. В – вакуоли; БК – базальный комплекс; ПК – просвет капилляра хориоидеи. Ув. 5000

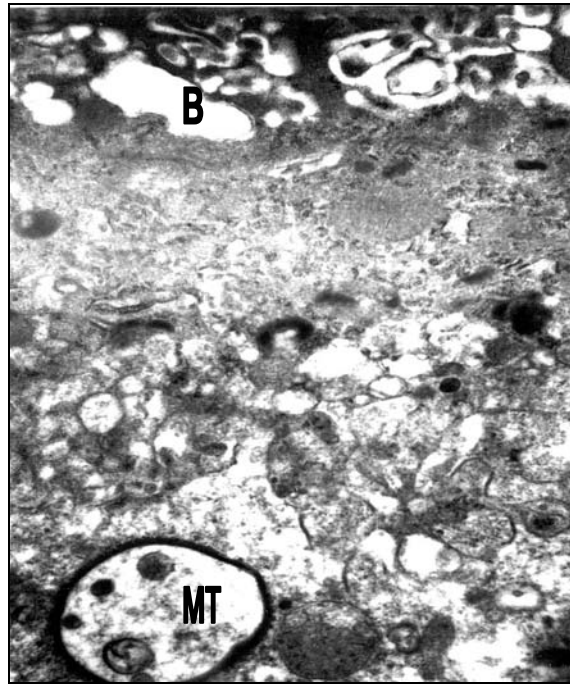


Рис. 6. Повышение осмиофилии и вакуолизация цитоплазмы пигментоэпителиоцита. Вакуоли и мультивезикулярные тельца в цитоплазме пигментоэпителиоцита через 14 суток после светового облучения. В – вакуоли; МТ – мультивезикулярные тельца. Ув. 8000.

3.2. НЕЙРОСЕНСОРНЫЕ КЛЕТКИ

На 4-5-й неделе после инъекции аллоксана изменения нейросенсорных клеток не выявлены. На 6-8-й неделе наблюдается уменьшение плотности распределения наружных сегментов НК, дисконкомплексация мембранных дисков и расширение межмембранных пространств в дистальных отделах некоторых наружных сегментов. Изменения внутренних сегментов характеризуется набуханием митохондрий, просветлением их матрикса и деструкцией крист, цистерны эндоплазматической сети расширены.

Через сутки после высокоинтенсивного светового воздействия и облучения на фоне аллоксанового диабета на светооптическом уровне субретинальное пространство содержит неравномерно утолщенные, фрагментированные наружные сегменты НК (рис. 7). Ультраструктурные изменения их характеризуются разрывом и лизисом мембран (рис.9). Во внутренних сегментах к реактивным изменениям присоединяются деструктивные. Митохондрии увеличены в размерах, лишены крист и имеют электронно-прозрачный светлый матрикс, измененные митохондрии подчас трудно отличить от крупных вакуолей. В эндоплазматической сети наблюдается снижение количества рибосом и полисом. Часть внутренних сегментов изменена по темному типу. Спустя сутки в субретинальное пространство выселяются моноклеары, которые через 7 суток обнаруживаются в НЯС и дифференцируются в макрофаги (рис. 10).

На 7-е сутки после воздействия указанных факторов изменения фотосенсорного слоя имеют очаговый характер. В очагах поражения субретинальное пространство заполнено фрагментами разрушенных наружных сегментов, мембранными комплексами и крупными вакуолями. Наблюдается разрыв и лизис внутренних сегментов. Со стороны наружной глиальной пограничной мембраны в субретинальное пространство проникает большое количество удлиненных микроворсинок радиальной глии (рис. 11).

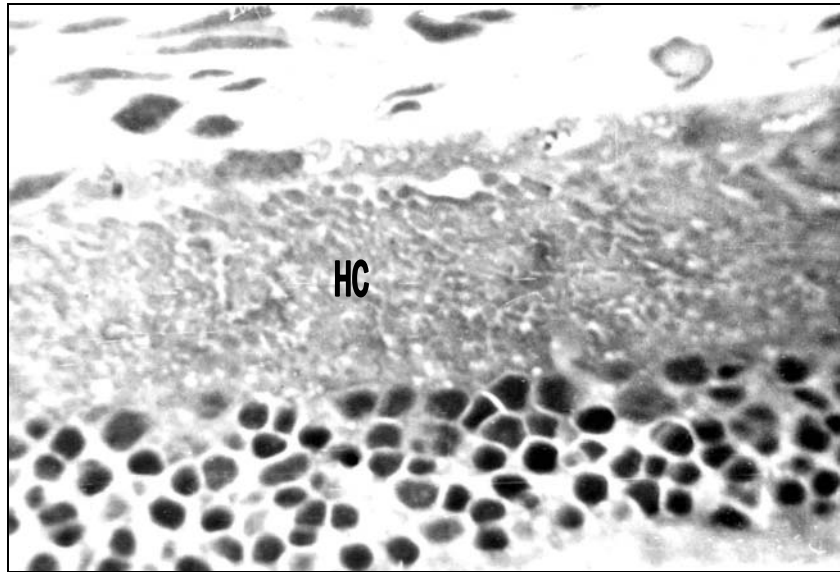


Рис. 7. Фрагментация и неравномерное утолщение наружных сегментов, кариопикноз части нейросенсорных клеток через сутки после светового облучения. НС – наружные сегменты нейросенсорных клеток.

Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

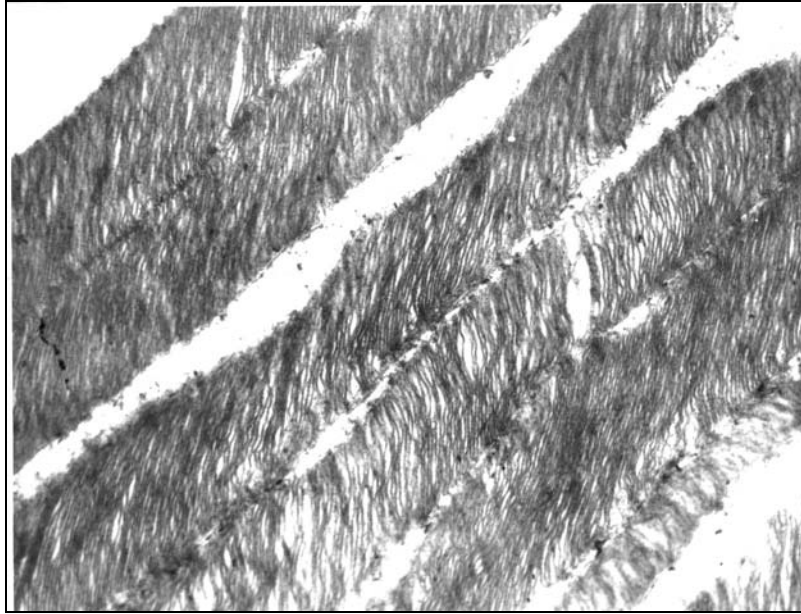


Рис. 8. Наружные сегменты нейросенсорных клеток сетчатки intactных крыс (контроль). Ув. 5000

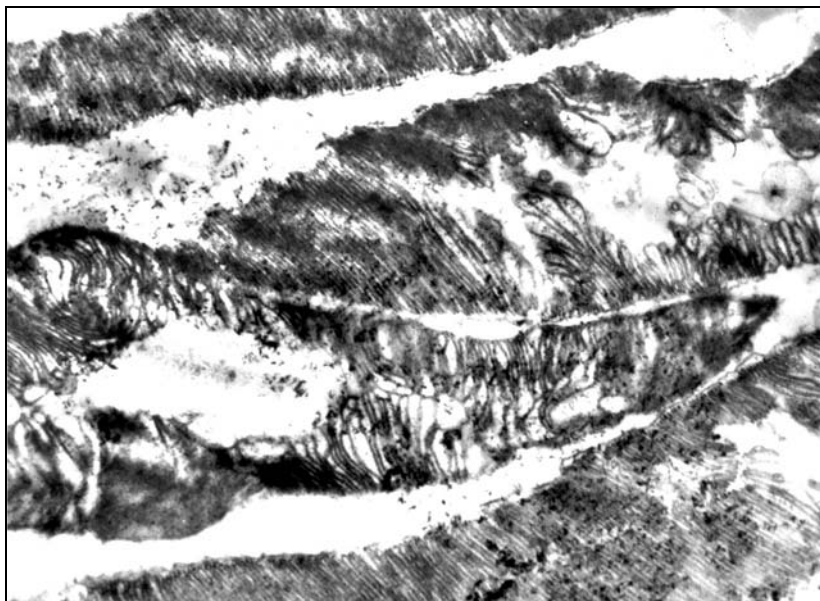


Рис. 9. Разрыв и вакуолизация мембранных дисков наружных сегментов нейросенсорных клеток через сутки после светового воздействия. Ув. 6000.

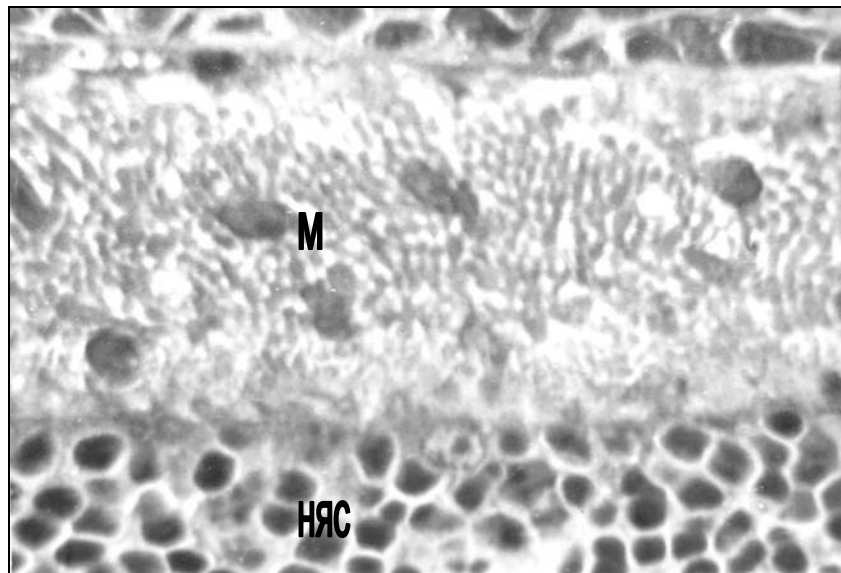


Рис. 10. Мононуклеары в субретинальном пространстве через сутки после светового облучения. М – мононуклеары; НЯС – наружный ядерный слой; Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим.

Ув. 900.

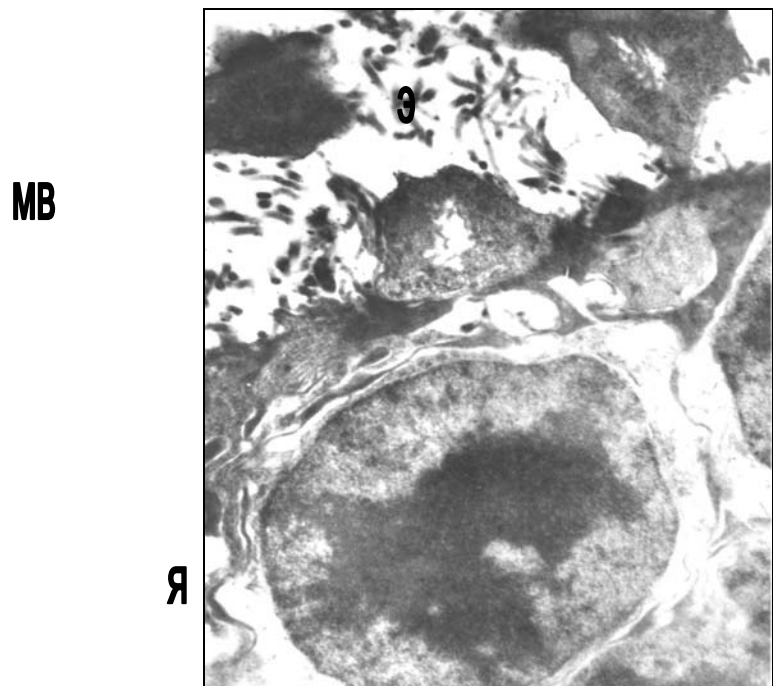


Рис. 11. Удлинение и увеличение количества глиальных микроворсинок в субретинальном пространстве, отрыв и деструкция эллипсоидов внутренних сегментов через 7 суток после светового облучения на фоне аллоксанового диабета. Я – ядро нейросенсорной клетки; Э – эллипсоид; МВ – микроворсинки радиальной глии. Ув. 10000.

Встречаются участки с полным отсутствием пигментного эпителия, а также фотосенсорного слоя. В таких очагах НЯС вплотную приближен к мембране Бруха, и в нем обнаруживаются новообразованные капилляры. Вне очага изменения менее значительны и характеризуются дезориентацией мембранных дисков, проявляющейся либо расширением межмембранных пространств, либо, напротив, сближением, «склеиванием» мембран.

На 14-30-е сутки в очагах поражения субретинальное пространство отличается резкой осмиофилией и содержит большое количество вакуолей, мембранных комплексов, мультивезикулярных телец, крупные полости и вакуоли с осмиофильным содержимым. Наружные сегменты отсутствуют, внутренние сегменты подвергаются фрагментации, утрачивают связь с перикарионами фоторецепторов и смещаются в склеральном направлении. Вне очага часть наружных сегментов восстанавливает нормальное строение. Некоторые имеют извитую форму за счет неравномерного расширения межмембранных пространств. Снижается плотность распределения внутренних сегментов, часть которых по своему строению не отличается от наблюдаемых в контроле.

Одним из основных критериев обратимости изменений НК является состояние ядерных структур. Через 4-6 недель после введения аллоксана НЯС имеет обычную структуру. На 8-ой неделе увеличивается содержание пикнотичных НК, характеризующихся повышением осмиофилии кариоплазмы и цитоплазмы с нарушением контуров клетки (рис. 12). Между ядрами располагаются гипертрофированные, отечные отростки радиальной глии (рис. 13).

Через 7 суток после светового воздействия и облучения на фоне аллоксанового диабета изменения носят очаговый характер. В очагах поражения наблюдается деструкция фотосенсорного слоя, НЯС в основном представлен 2-4 слоями ядер, большая часть которых подвержена

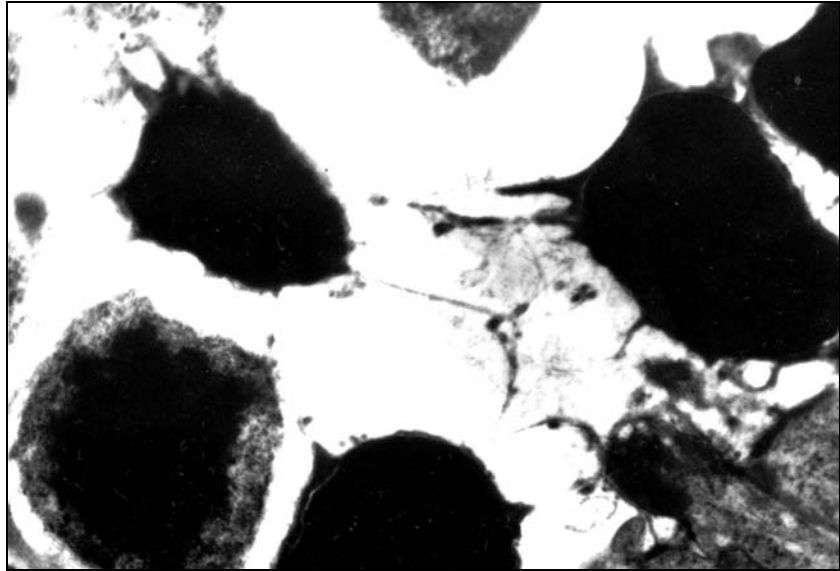


Рис. 12. Пикноз ядер нейросенсорных клеток через 8 недель после введения аллоксана. Ув. 4000.

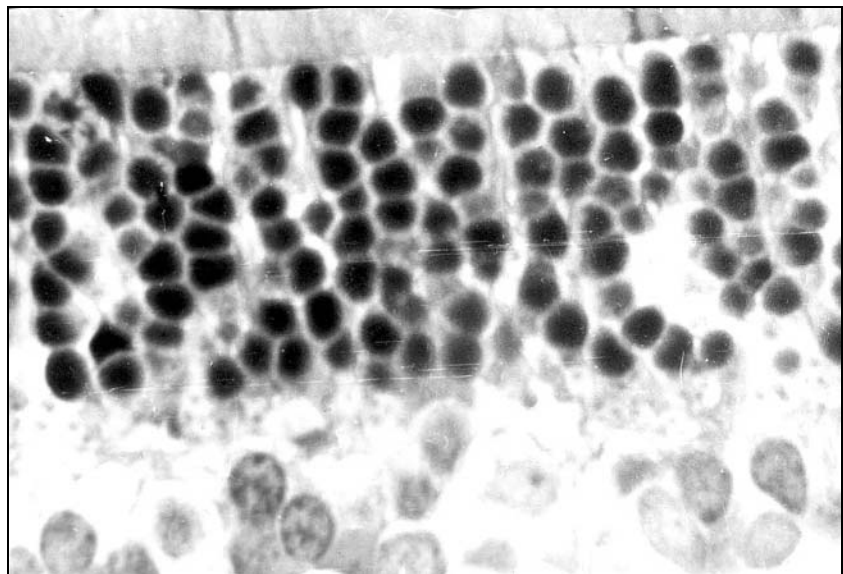


Рис. 13. Гипертрофия и отек отростков радиальной глии между нейросенсорными клетками через 5 недель после введения аллоксана. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

кариопикнозу (рис. 14). Вне очага изменения на уровне световой микроскопии не выявляются (рис.15).

На 14-30-е сутки происходит утилизация погибших НК макрофагами, глией и пигментоэпителиоцитами. Сохранившиеся клетки характеризуются уменьшением объема цитоплазмы, их ядра деформированы, уже не имеют обычной округлой формы, а выглядят как неправильные многоугольники. Отсутствует связь перикариона как с периферическими, так и с центральными отростками. Эти клетки опоясывают многослойные глиальные пластины (рис. 16, 17).

Содержание НК с кариопикнозом увеличивается через 8 недель после введения аллоксана до $2,66 \pm 0,19\%$ (контроль $2,00 \pm 0,28\%$; $p < 0,05$) (рис.18). На 1-е сутки после высокоинтенсивного светового воздействия возрастает количество НК с кариопикнозом до $7,48 \pm 1,72\%$, значимо по сравнению с контролем ($p < 0,05$) (рис.18). Необходимо отметить, что в контрольной группе животных при динамическом наблюдении статистически достоверных отличий не выявлено, что позволило нам использовать усредненные значения. Через 7 суток в очагах поражения количество деструктивных ядер резко увеличивается по сравнению с контролем и составляет $49,3 \pm 4,51\%$ ($p < 0,05$). На 14-е и 30-е сутки после облучения в очагах содержание НК с кариопикнозом резко снижается за счет их гибели с последующим фагоцитозом и достигает наименьших значений на 30-е сутки, составляя $5,36 \pm 0,47\%$ (рис. 19). Однако эти значения остаются выше контрольных в 2,7 раза.

Вне очага содержание НК с кариопикнозом достоверно выше контрольных значений и составляет на 7-е сутки $4,58 \pm 0,27\%$ (контроль; $p < 0,05$). В динамике происходит снижение данного показателя, и к 30-м суткам он достигает контрольных значений (рис. 18).

При воздействии на сетчатку высокоинтенсивного света на фоне аллоксанового диабета через сутки после облучения в 3,5 раза возрастает

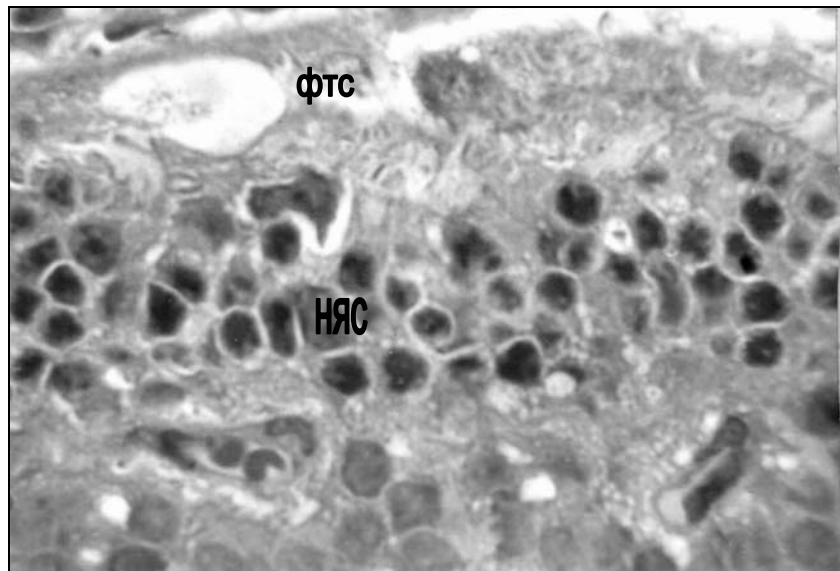


Рис. 14. Деструкция фотосенсорного и наружного ядерного слоев сетчатки через 7 суток после светового облучения в очаге поражения. ФТС – фотосенсорный слой; НЯС – наружный ядерный слой. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

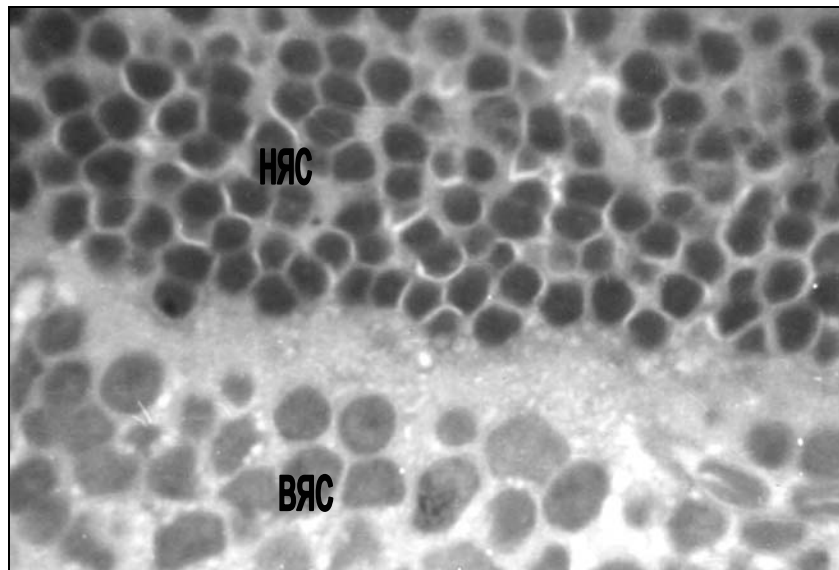


Рис. 15. Сетчатка крысы через 7 суток после светового облучения вне очага поражения. НЯС – наружный ядерный слой; ВЯС – внутренний ядерный слой. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

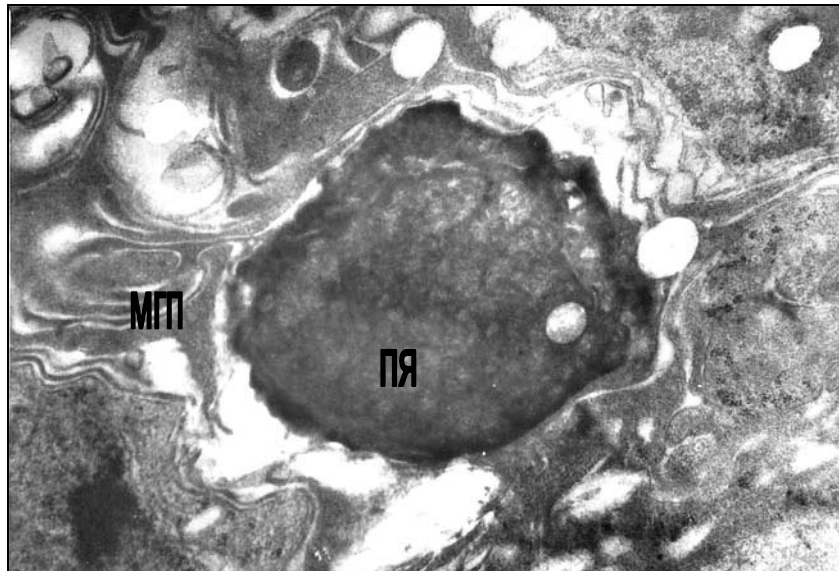


Рис. 16. Кариопикноз нейросенсорной клетки, окруженной многослойными глиальными пластинами через 14 суток после светового облучения на фоне аллоксанового диабета. ПЯ – пикнотичное ядро; МГП – многослойные глиальные пластины. Ув. 17000.

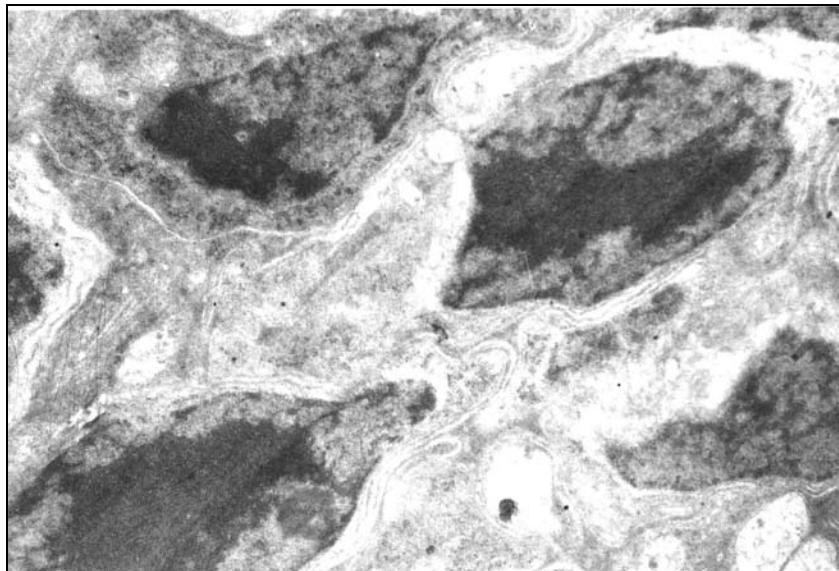


Рис. 17. Деформированные ядра нейросенсорных клеток, окруженные многослойными глиальными пластинами через 30 суток после светового облучения. Ув. 10000.

содержание НК с пикнозом ядра по сравнению с контролем. Достоверные отличия от данных при изолированном световом воздействии появляются в очагах поражения на 7-е сутки после облучения. Ядра наружного ядерного слоя немногочисленны и пикнотичны. Содержание клеток с кариопикнозом возрастает до $78,75 \pm 7,24\%$, значимо по сравнению с данными при изолированном световом воздействии ($p < 0,05$) (рис. 18). В динамике (через 14 и 30 суток после облучения) данный показатель снижается, но остается выше, чем при изолированном световом воздействии.

Вне очага на 7-е сутки содержание пикнотичных ядер выше, чем в контроле в 1,6 ($p < 0,05$). В дальнейшем этот показатель снижается и на 30-е сутки соответствует контролю (рис.18).

На 5-ой неделе после введения аллоксана снижается численная плотность ядер в НЯС до $3107 \pm 165,07$ (контроль $3491 \pm 67,12$; $p < 0,05$) в мм^2 среза, что происходит за счет гипертрофии и отека отростков радиальной глии (рис. 19). В последующие сроки эта тенденция сохраняется, достигая минимума на 6-ой неделе и составляет $3032 \pm 132,43$ в мм^2 среза (контроль; $p < 0,05$) (рис. 19). На 8-ой неделе этот показатель существенно не меняется.

После высокоинтенсивного светового воздействия снижается численная плотность ядер в НЯС и на 7-е сутки в очагах поражения она в 2,3 раза меньше контрольных значений. В динамике происходит дальнейшее снижение данного показателя, который достигает минимальных значений $1342 \pm 42,37$ в мм^2 среза через 30 дней после облучения вследствие гибели НК и замещения их глией (рис. 19).

Через 1 сутки после облучения светом на фоне аллоксанового диабета снижается плотность распределения ядер в НЯС до $3093 \pm 119,72$ в мм^2 среза (рис. 19). В последующие сроки данный показатель продолжает снижаться, достигая минимальных значений на 30-е сутки до $1104 \pm 62,94$ в мм^2 среза, что в 1,2 раза ниже, чем при изолированном световом воздействии ($p < 0,05$) (рис. 19). Это происходит как за счет их деструкции с последующим фагоцитозом

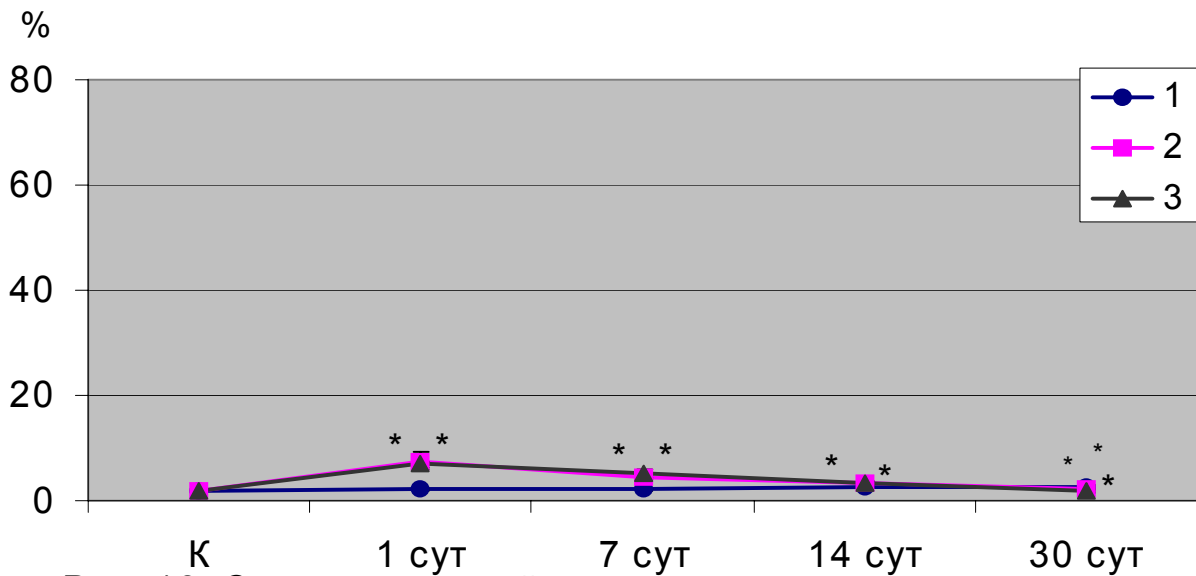
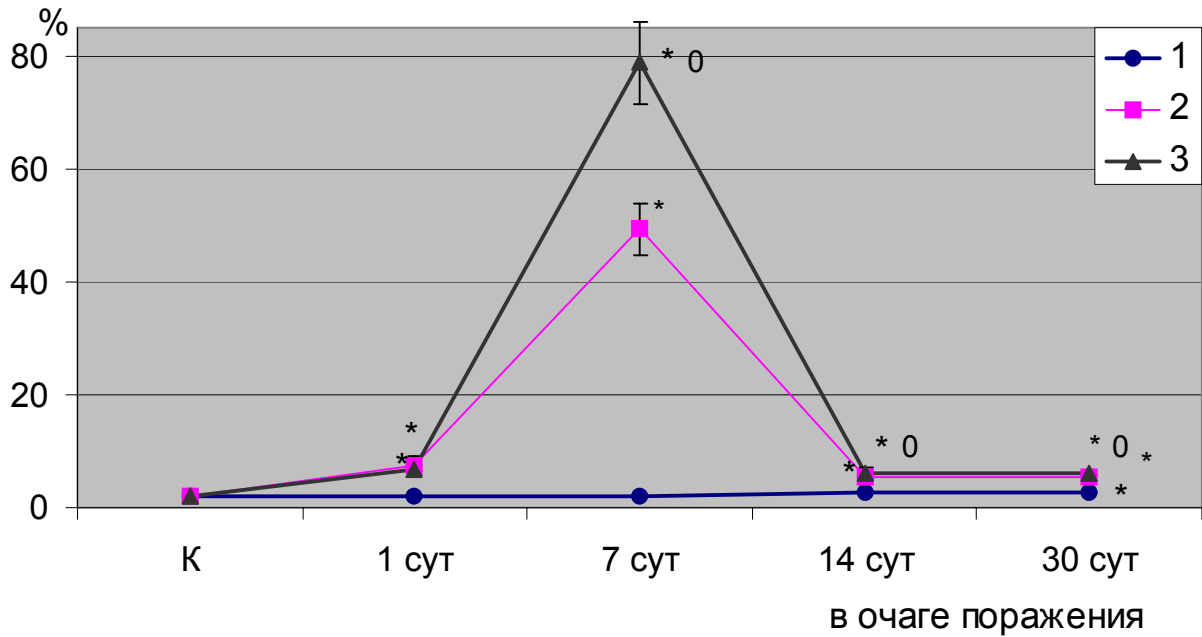


Рис. 18. Содержание нейросенсорных клеток с кариопикнозом при воздействии высокоинтенсивного света, на фоне аллоксанового диабета и при комбинации данных факторов

1 – аллоксановый диабет;

2 – высокоинтенсивное световое воздействие;

3 – световое облучение на фоне аллоксанового диабета;

Примечание: Статистически достоверные отличия ($p < 0.05$) отмечены* - при сравнении с контролем; 0- свет и диабет+свет. В последующих графиках обозначения аналогичны.

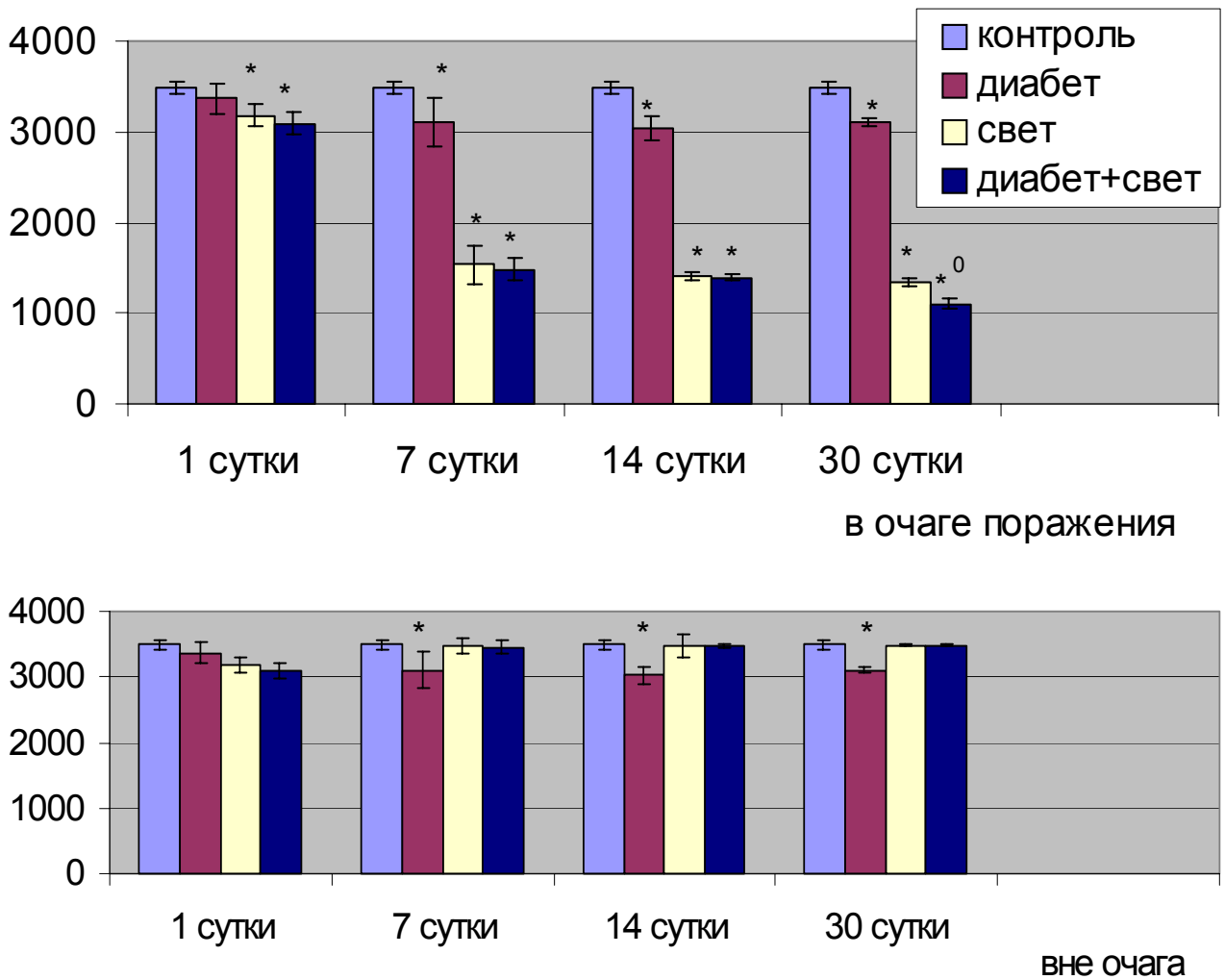


Рис. 19. Численная плотность ядер в 1 мм^2 среза наружного ядерного слоя при воздействии высокоинтенсивного света, на фоне сахарного диабета и при комбинации данных факторов

Примечание: Сроки забора материала при аллоксановом диабете соответствуют таковым после светового облучения. Например:

1 сутки – забор материала через сутки после месяца аллоксанового диабета.

7 сутки – забор материала через неделю после месяца аллоксанового диабета (или 5 недель) и т. д.

Аналогичные обозначения в последующих графиках

радиальной глией и макрофагами, так и вследствие глиальной пролиферации между перикарионами НК. Вне очага численная плотность ядер в различные сроки после облучения не выходит за пределы контроля (рис. 19).

Таким образом, высокоинтенсивное световое воздействие вызывает выраженные деструктивные изменения нейросенсорных клеток сетчатки, которые в дальнейшем приводят к их массовой гибели. На 7-е сутки после облучения происходит очаговое выпадение наружного ядерного слоя. В очагах поражения сахарный диабет усиливает фотодегенерацию сетчатки. В более поздние сроки (14-е и 30-е сутки) наблюдается снижение числа нейросенсорных клеток с кариопикнозом, что, вероятно, обусловлено их гибелью с последующим фагоцитозом пигментоэпителиоцитами, глией и макрофагами.

3.3. НЕЙРОНЫ ВНУТРЕННЕГО ЯДЕРНОГО СЛОЯ

Нейроны внутреннего ядерного слоя отличает низкое содержание тигроидного вещества и органелл. Поэтому хромотолиз не является критерием оценки поражения ассоциативных нейронов. В качестве анализа структурных изменений нейронов оценивали такие изменения как гиперхромия, сморщивание, вакуолизация перикарионов и ядер, повреждение митохондрий и эндоплазматической сети.

Через 4-5 недель после введения аллоксана изменения ассоциативных нейронов имеют в основном реактивный, обратимый характер. И характеризуются набуханием части митохондрий и цистерн эндоплазматической сети, усилением складчатости ядра (рис. 20).

На 1-е сутки после светового воздействия, а также облучения на фоне аллоксанового диабета наряду с усилением степени выраженности реактивных сдвигов отмечается увеличение содержания деструктивных нейронов (рис. 21). Необходимо отметить, что деструктивным изменениям подвергаются амакринные и биполярные нейроны, а горизонтальные нейроны, как правило, характеризуются реактивными изменениями.

На 7-е сутки после светового облучения изменения внутреннего ядерного слоя имеют очаговый характер. В очагах поражения повышается содержание пикноморфных нейронов. Ультрамикроскопически они характеризуются вакуолизацией цитоплазмы, деструкцией митохондрий, увеличением количества лизосом, набуханием агранулярной сети. Вне очага преобладают реактивные изменения, характеризующиеся складчатостью ядра, отеком митохондрий и расширением цистерн ЭПС (рис. 22).

На 14-е сутки в очагах поражения на уровне электронной микроскопии в перикарионах пикноморфных нейронов обнаруживаются мембранные комплексы, возрастает электронная плотность цитоплазматического матрикса и кариоплазмы. Перикарионы подвергаются вакуолизации и деструктивными изменениями большинства органелл (рис. 23).

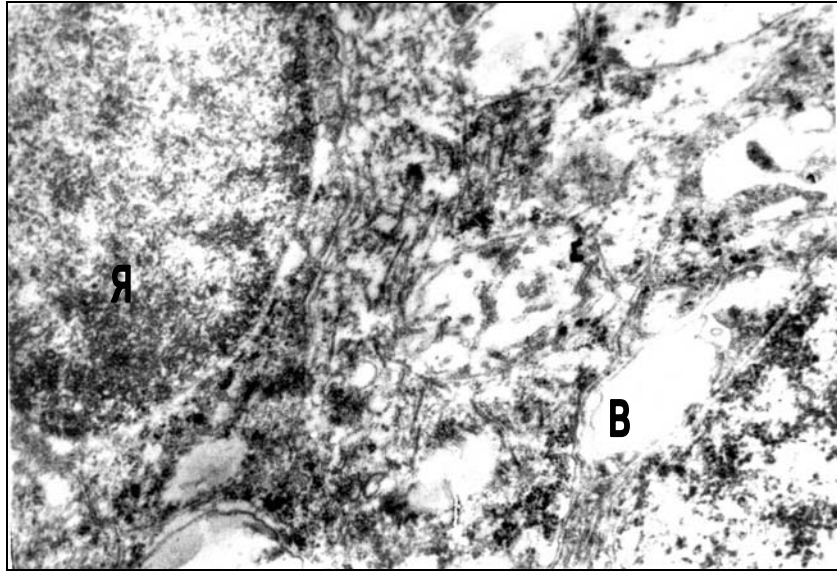


Рис. 20. Вакуолизация цистерн гранулярной ЭПС биполярного нейрона через 5 недель после введения аллоксана. Я – ядро биполярного нейрона; В – вакуоли. Ув. 6000.

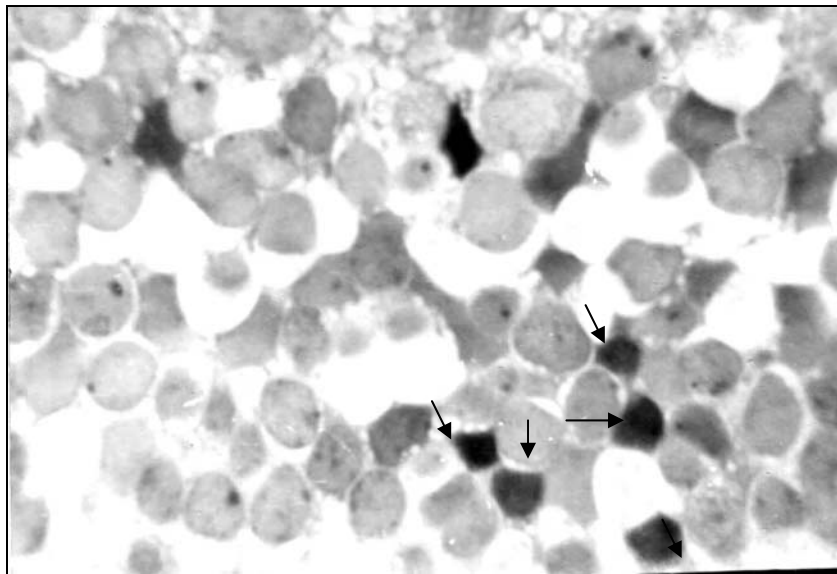


Рис. 21. Пикноморфные нейроны (стрелки) внутреннего ядерного слоя через сутки после светового воздействия на фоне аллоксанового диабета. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

На 30-е сутки после облучения в очагах поражения одновременно с реактивными и деструктивными процессами в нервных клетках выявляются морфологические признаки репаративных процессов, которые проявляются активацией ядрышка в виде повышения содержания гранулярного компонента, увеличением числа рибосом и гранулярной эндоплазматической сети в перикарионе.

Количественный анализ свидетельствует об изменении содержания пикноморфных нейронов в различные сроки эксперимента. Так, через 6 недель после введения аллоксана достоверно увеличивается содержание пикноморфных ассоциативных нейронов, максимум которого наблюдается через 8 недель и составляет $6,38 \pm 0,95\%$ (контроль $1,75 \pm 0,37\%$; $p < 0,05$) (рис. 24).

На 1-е сутки после светового воздействия наблюдается существенный рост процентного содержания гиперхромных пикноморфных нейронов и достигает $15,62 \pm 1,98\%$ (контроль; $p < 0,05$) (рис. 24). На 7-е сутки изменения внутреннего ядерного слоя имеют очаговый характер. В очаге повышается содержание пикноморфных нейронов до $19,87 \pm 2,04\%$ (контроль; $p < 0,05$). Вне очага процент нейронов с деструктивными изменениями ниже, чем в очаге, но в 7,2 раза выше, чем в контроле (рис. 24). На 14-е сутки после высокоинтенсивного светового воздействия наблюдается тенденция к снижению содержания деструктивно измененных нейронов, достигая минимальных значений на 30-е сутки до $8,38 \pm 1,92\%$, что выше контроля в 4,8 раза (рис. 24). Вероятно, это происходит за счет фагоцитоза погибших нейронов макрофагами и глией. Вне очага в динамике также наблюдается снижение данного показателя, минимальные значения которого отмечаются на 30-е сутки, достоверно превышая контроль в 4,2 раза.

Воздействие высокоинтенсивного света на фоне аллоксанового диабета дает более высокое содержание пикноморфных нейронов внутреннего ядерного слоя по сравнению с предыдущим экспериментом.

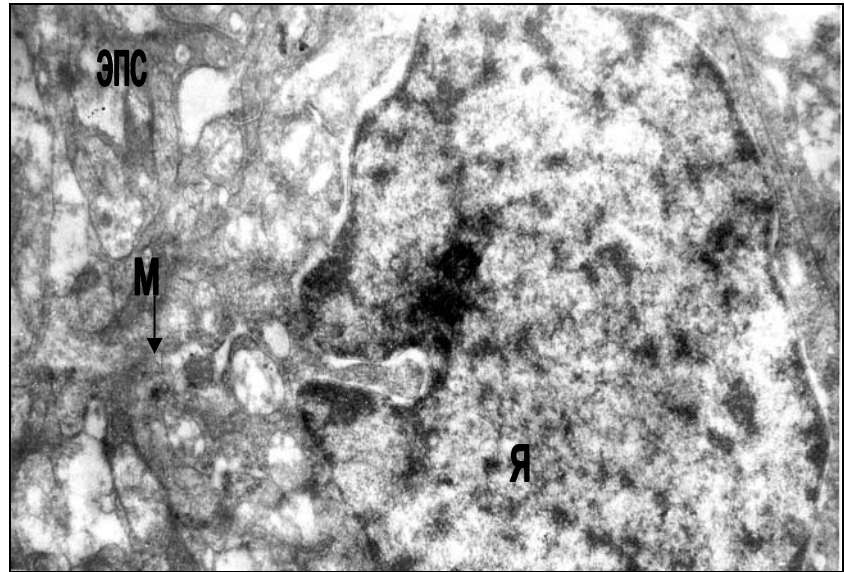


Рис. 22. Биполярный нейрон внутреннего ядерного слоя через 7 суток после светового облучения на фоне аллоксанового диабета вне очага поражения. Фестончатое ядро, отек митохондрий и расширение цистерн эндоплазматической сети. Я – ядро; М – митохондрия; ЭПС – эндоплазматическая сеть. Ув. 6000.

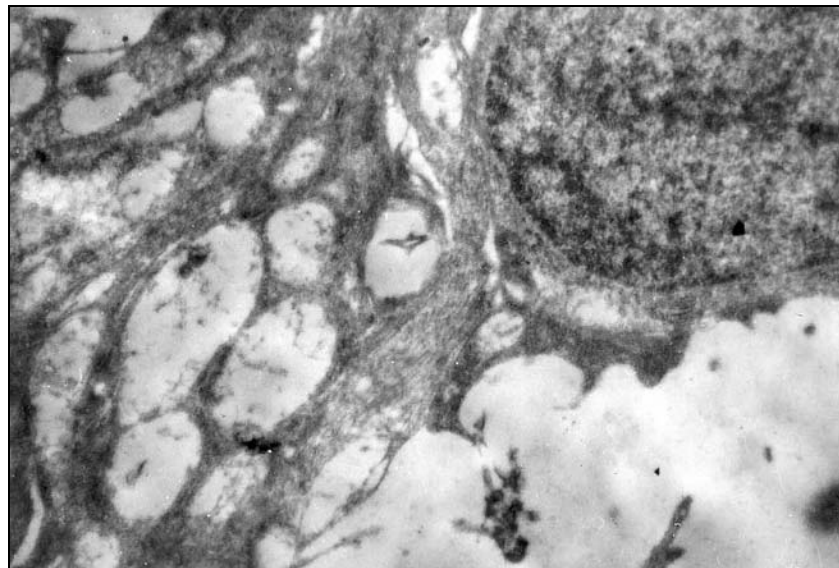


Рис. 23. Деструкция митохондрий, расширение цистерн эндоплазматической сети амакрийного нейрона через 14 суток после высокоинтенсивного светового облучения в очаге. Ув. 6000.

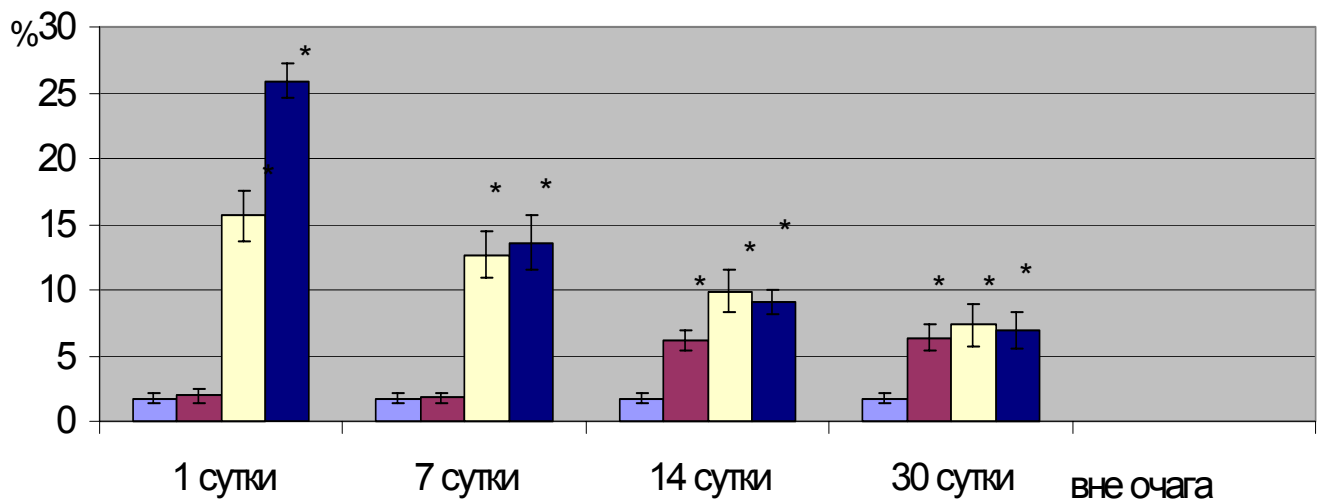
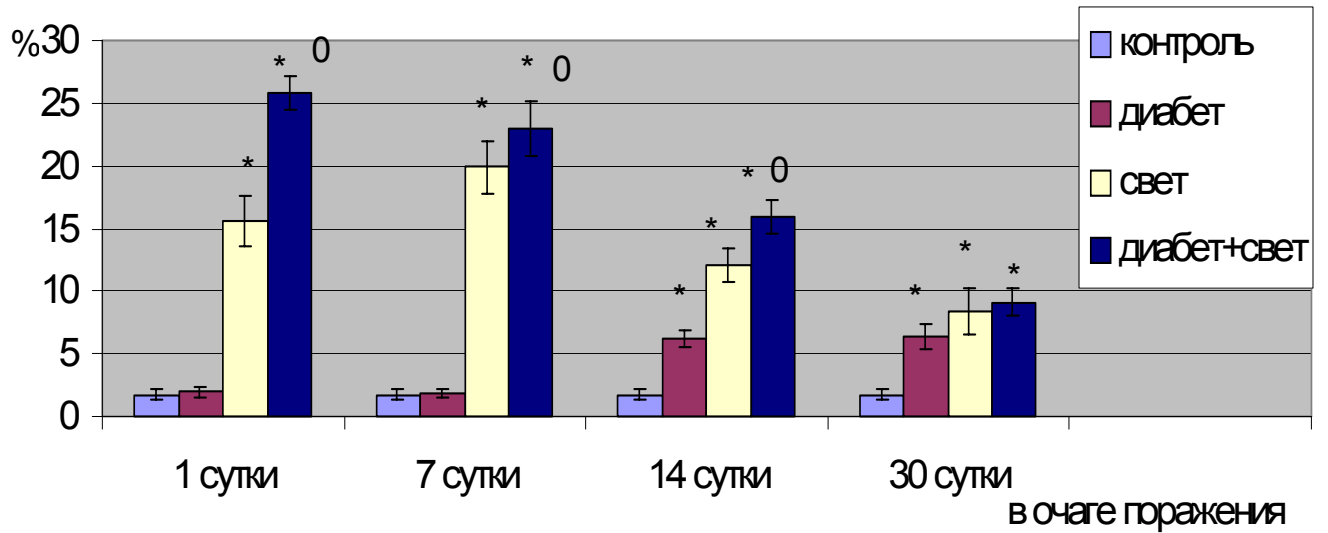


Рис. 24. Содержание гиперхромных пикноморфных нейронов внутреннего ядерного слоя сетчатки при воздействии высокоинтенсивного света, на фоне сахарного диабета и при комбинации данных факторов

Через сутки после воздействия их содержание составляет $25,88 \pm 1,33\%$, что достоверно превышает контрольный уровень почти в 15 раз (рис. 24).

В последующие сроки в динамике отмечается снижение данного показателя. Так, на 14-е сутки в очагах поражения содержание деструктивных ассоциативных нейронов составляет $15,93 \pm 1,31\%$, что достоверно выше данных при изолированном световом воздействии. По всей видимости, это происходит в результате фагоцитоза погибших нейронов глией. На 30-е сутки число пикноморфных нейронов снижается до $9,13 \pm 1,03\%$ (контроль; $p < 0,05$) и значимо не отличается от такового при изолированном облучении.

Вне очага на 7-е сутки содержание пикноморфных нейронов составляет $13,61 \pm 2,07\%$, что достоверно ($p < 0,05$) превышает контрольные значения. В последующие сроки отмечается снижение данного показателя и достигает минимума на 30-е сутки после облучения, что, однако выше контрольных цифр в 4 раза (рис. 24).

Таким образом, после светового воздействие, а также облучения на фоне аллоксанового диабета изменения внутреннего ядерного слоя носят очаговый характер, причем расположение очагов поражения соответствует таковому в наружном ядерном слое. Было также выявлено, что аллоксановый диабет усиливает фотодегенерацию ассоциативных нейронов. В поздние сроки наблюдается снижение содержания пикноморфных нейронов, но полной регенерации внутреннего ядерного слоя не наступает.

3.4. МУЛЬТИПОЛЯРНЫЕ НЕЙРОНЫ ГАНГЛИОНАРНОГО СЛОЯ

Изменения мультиполярных нейроцитов ганглионарного слоя после всех видов воздействий касаются содержания и характера распределения хроматофильного вещества в перикарионах, о чем свидетельствует увеличение процента клеток с очаговым и тотальным хроматолизом. Хроматолиз является показателем реактивных изменений нервных клеток, отражая нарушения обмена функциональных белков и РНК. В дальнейшем если хроматолиз продолжает нарастать, то в процесс вовлекаются структурные белки клеток (Боголепов Н.Н., 1979). Встречаются также мультиполярные нейроны, измененные по «темному типу», характеризующиеся повышением электронной плотности перикариона и пикнозом ядра.

В ранние сроки (4-5-я неделя) после введения аллоксана изменения ганглионарных нейронов характеризуется расширением цистерн эндоплазматической сети, набуханием митохондрий, уменьшением числа полисом. На 6-8-ой неделе увеличивается содержание нейронов, измененных по «темному типу» и с очаговым хроматолизом. Светооптически, при окраске по Нисслю в перикарионе нейронов с очаговым хроматолизом выявляются участки с измельченным тигроидом (рис. 25).

Изменения мультиполярных нейронов после высокоинтенсивного светового воздействия сходны с таковыми после облучения на фоне аллоксанового диабета. Через сутки после высокоинтенсивного светового воздействия увеличивается содержание пикноморфных мультиполярных нейронов. Ультрамикроскопически в них наблюдается деформация ядра, высокая степень осмиофилии кариоплазмы и перикариона, редукция органелл и выраженная вакуолизация цитоплазмы. Параллельно повышается содержание нейронов с очаговым хроматолизом. При электронно-микроскопическом исследовании в нервных клетках с периферическим очаговым хроматолизом обнаруживаются изменения почти всех органелл

(рис. 26), хотя гранулярная сеть является при этом наиболее ранимой. Как правило, уменьшается содержание ее цистерн, которые утрачивают характерную для нормы правильную параллельную ориентацию, изогнуты, нередко фрагментированы. Часть цистерн резко расширено, и они служат источником для образования вакуолей, так же как отечные, лишенные крист и внутренней мембраны митохондрии. Эндоплазматический ретикулум обычно остается более сохранным в области ядра. Большая же часть цитоплазмы лишена данной органеллы, как и свободных единичных рибосом и полисом. Существенные изменения происходят и в агранулярной сети: ее цистерны расширяются, вокруг них увеличивается число мелких округлых пузырьков.

К 7-м суткам в очагах поражения наблюдается увеличение числа дегенеративно измененных нейронов с тотальным хроматолизом, который проявляется измельчением и растворением глыбок хроматофильной субстанции равномерно по всему перикариону (рис. 27). Вне очага во все сроки эксперимента изменения нейронов ганглионарного слоя незначительны.

Через 14-30 суток после облучения в отдельных нейронах обнаруживаются компенсаторные процессы, к которым относится активация ядрышка, увеличение числа рибосом и элементов гранулярной сети в перинуклеарной области. Наряду с репаративными процессами в части клеток изменения нарастают, что характеризуется появлением крупных вакуолей, более грубой деструкцией митохондрий и образованием в цитоплазме мембранных комплексов и миелиноподобных тел.

Для объективной оценки реакции мультиполярных нейронов на проводимые экспериментальные воздействия использовалась количественная оценка динамики содержания клеток с хроматолизом различной степени выраженности и деструктивными изменениями по «темному типу».



Рис. 25. Мультиполярный нейрон ганглионарного слоя с очаговым хроматолизом через 8 недель после введения аллоксана. Окраска по Нислю. Ув. 900.

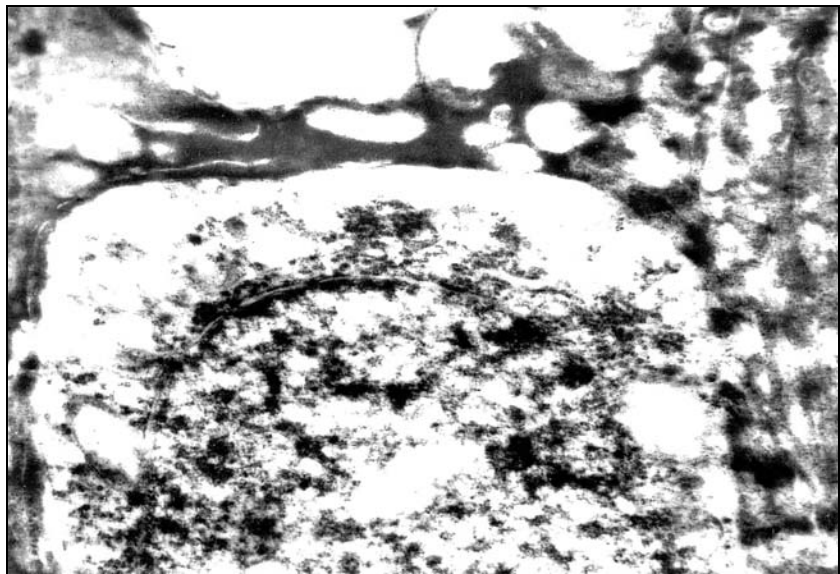


Рис. 26. Периферический очаговый хроматолиз через сутки после высокоинтенсивного светового воздействия. Ув. 10000.

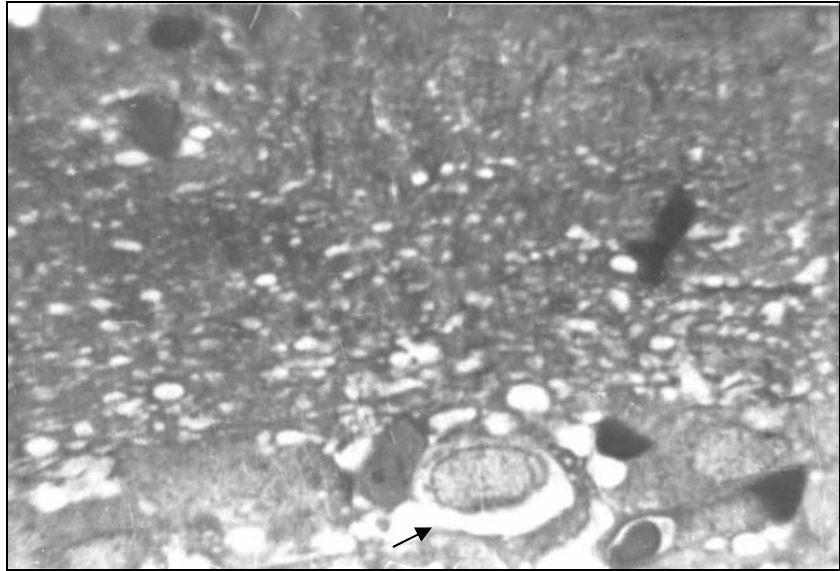


Рис. 27. Отек и тотальный хроматолиз ганглионарного нейрона через 7 суток после облучения на фоне аллоксанового диабета. Указано стрелкой. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

Так, через 6 недель после введения аллоксана увеличивается содержание нейронов, измененных по «темному типу» до $2,31 \pm 0,25\%$ против $2,06 \pm 0,72\%$ в контроле ($p < 0,05$) и существенно не изменяется на 8-ой неделе (рис. 28).

Через сутки после высокоинтенсивного светового воздействия этот показатель превышает контрольные значения почти в 3 раза. На 7-е сутки и в последующие сроки после светового облучения в очагах поражения отмечается тенденция к снижению содержания пикноморфно измененных мультиполярных нейронов, минимальные значения которого наблюдаются на 30-е сутки, но остаются выше контроля в 1,7 раза (рис. 28). Вне очага этот показатель не отличается от контрольных цифр.

Через сутки после светового облучения на фоне аллоксанового диабета возрастает количество нейронов измененных по «темному» типу до $5,94 \pm 0,83\%$ по сравнению с контролем ($p < 0,05$). На 7-е сутки в очагах поражения после облучения на фоне диабета отмечается снижение пикноморфных нейронов ганглионарного слоя. Данная динамика сохраняется и в последующие сроки после облучения и достигает своего минимума на 30-е сутки до $3,38 \pm 0,44\%$, что однако выше контрольных цифр в 1,6 раза (рис. 28). Вне очага во все сроки содержание мультиполярных нейронов измененных по «темному» типу не выходит за пределы контрольных значений.

Через два месяца после введения аллоксана возрастает содержание нейронов с очаговым хроматолизом до $4,07 \pm 0,13\%$ (контроль $3,21 \pm 0,57\%$; $p < 0,05$) (рис. 29). Количество нейронов с тотальным хроматолизом во все сроки аллоксанового диабета соответствует контрольным значениям.

После высокоинтенсивного светового воздействия увеличение содержания нейронов с очаговым хроматолизом наблюдается уже через сутки после облучения до $4,52 \pm 0,15\%$, что выше контроля в 1,4 раза (рис. 29).

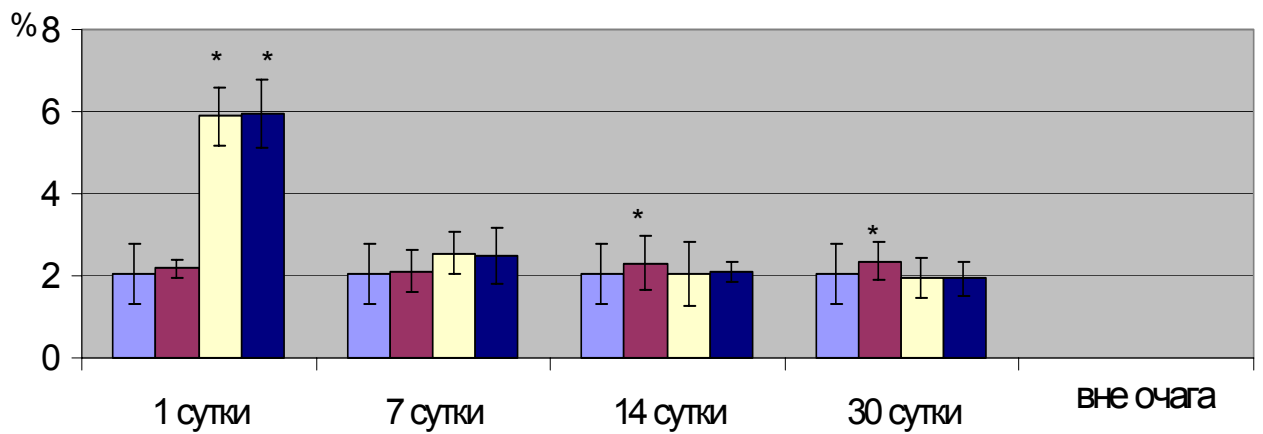
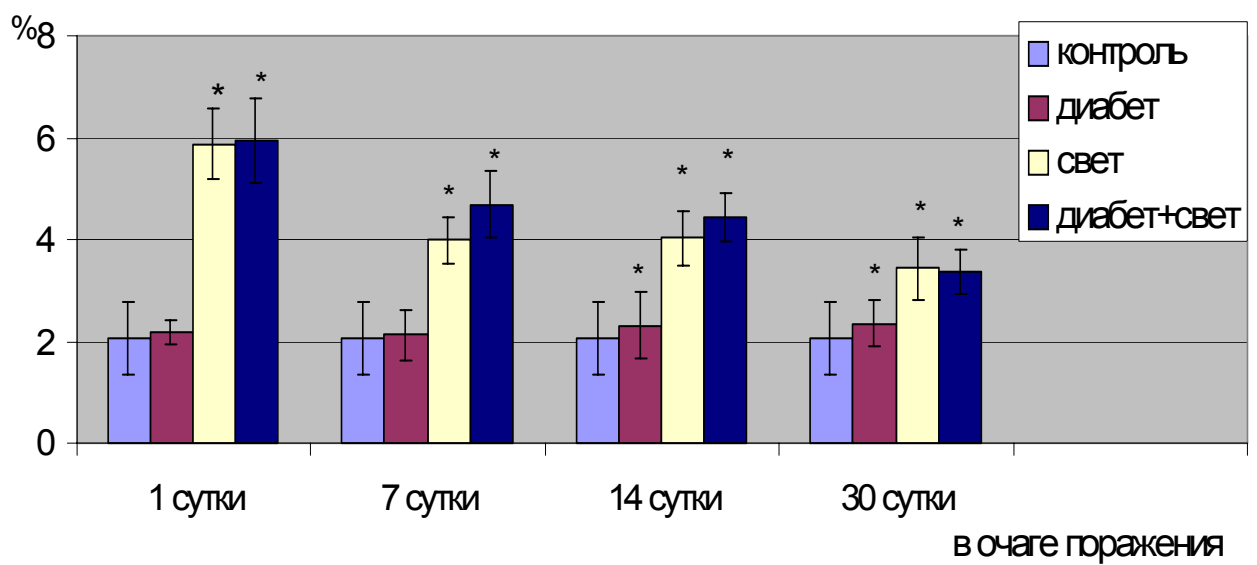


Рис.28. Содержание пикноморфных нейронов ганглионарного слоя после светового воздействия, на фоне сахарного диабета и при комбинации данных факторов



Кроме того, в 1,5 раза возрастает содержание нейронов с тотальным хроматолизом (рис. 30).

На 7-14-е сутки по сравнению с первыми сутками отмечается рост содержания нейронов с тотальным хроматолизом до $16,48 \pm 0,71\%$ - $19,15 \pm 1,01\%$ (контроль $2,74 \pm 0,18\%$; $p < 0,05$) (рис.30), а также параллельно повышается число нейронов с очаговым хроматолизом ($p < 0,05$) (рис. 29). На 30-е сутки по сравнению с таковым на 14-е сутки в 1,3 раза уменьшается содержание нервных клеток с тотальным хроматолизом и в 1,1 раза с очаговым хроматолизом. Вне очага, начиная, с 7-х суток, также отмечается тенденция к снижению данных показателей и на 30-е сутки они соответствуют контрольным значениям.

Через сутки после светового воздействия на фоне аллоксанового диабета почти в 1,5 раза увеличивается содержание нейронов как с очаговым, так и с тотальным хроматолизом (рис. 29-30). К 7-м суткам в очагах поражения наблюдается увеличение числа дегенеративно измененных нейронов с тотальным хроматолизом. Количество этих клеток возрастает до $17,28 \pm 0,63\%$ (контроль; $p < 0,05$). Одновременно наблюдается увеличение количества нейроцитов с явлениями очагового хроматолиза до $28,06 \pm 1,72\%$ (контроль; $p < 0,05$). Через 14 суток после светового облучения на фоне аллоксанового диабета содержание нейронов с хроматолитическими изменениями достигает своего максимума. Так, количество нейронов с тотальным хроматолизом составляет $22,72 \pm 0,26\%$, что выше контроля в 8,3 раза, а с очаговым – $41,01 \pm 1,82\%$, превышая контрольные значения почти в 13 раз (рис. 29-30).

На 30-е сутки после указанных воздействий наблюдается снижение содержания нейронов с тотальным хроматолизом до $14,87 \pm 0,33\%$, что по прежнему выше контроля в 5,4 раза (рис. 30). Параллельно отмечается снижение числа нейронов с очаговым хроматолизом до $31,72 \pm 1,15\%$, что почти в 10 раз выше контрольных значений (рис. 29). Данные значения не

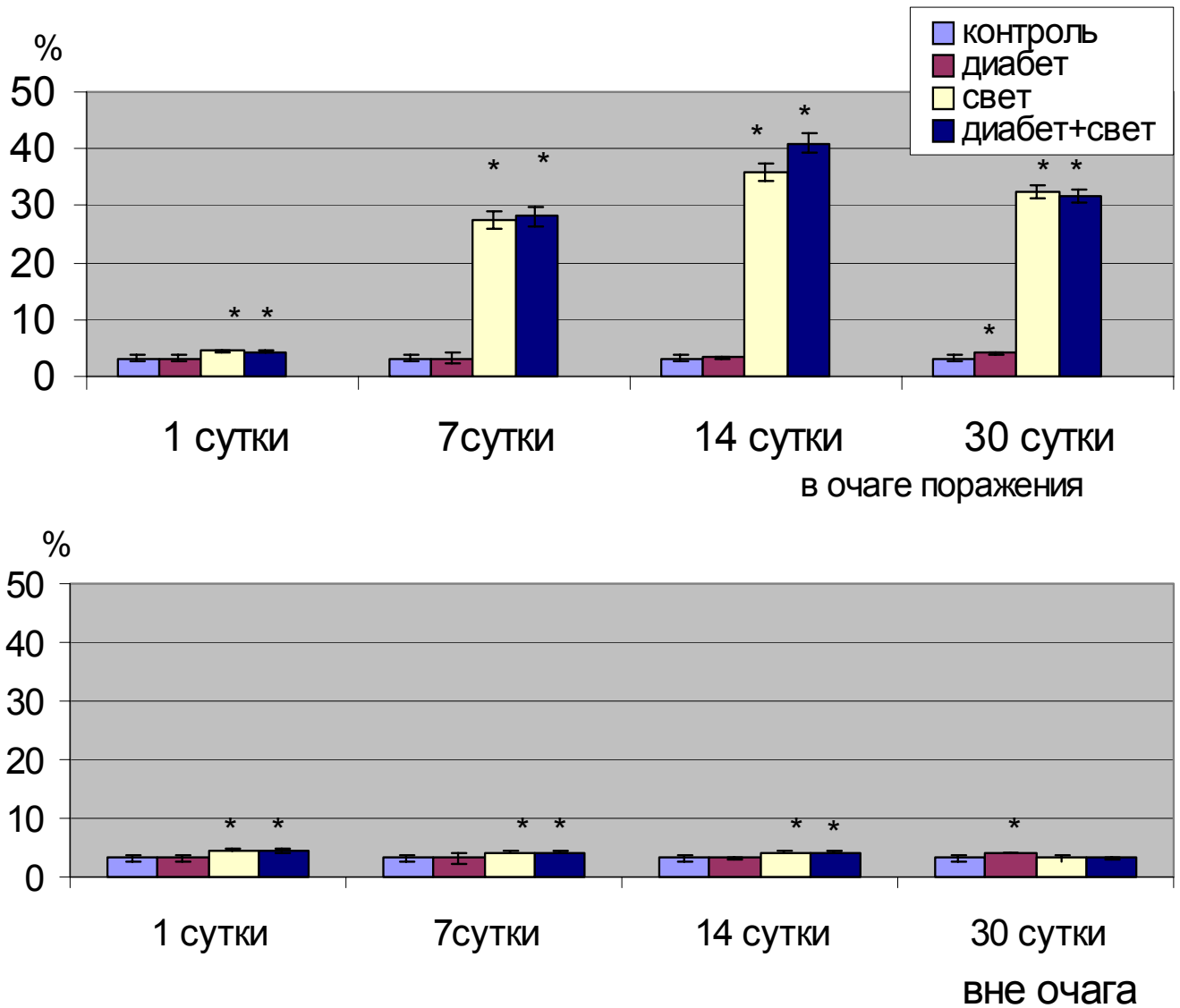


Рис. 29. Содержание мультиполярных нейронов с очаговым хроматолизом после светового воздействия, на фоне сахарного диабета и при комбинации данных факторов

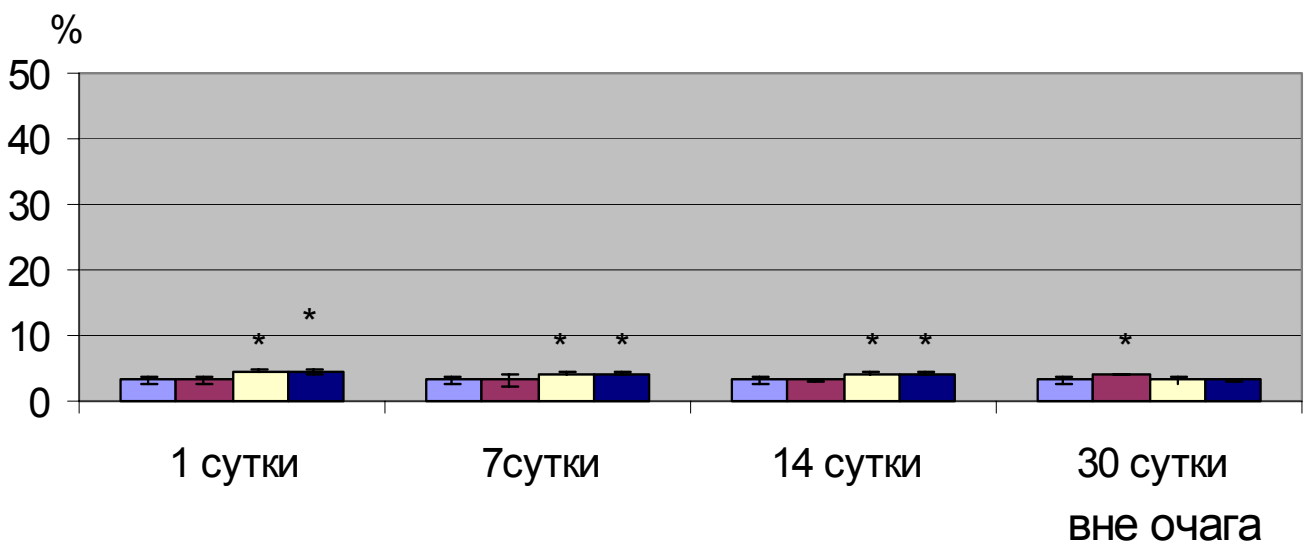
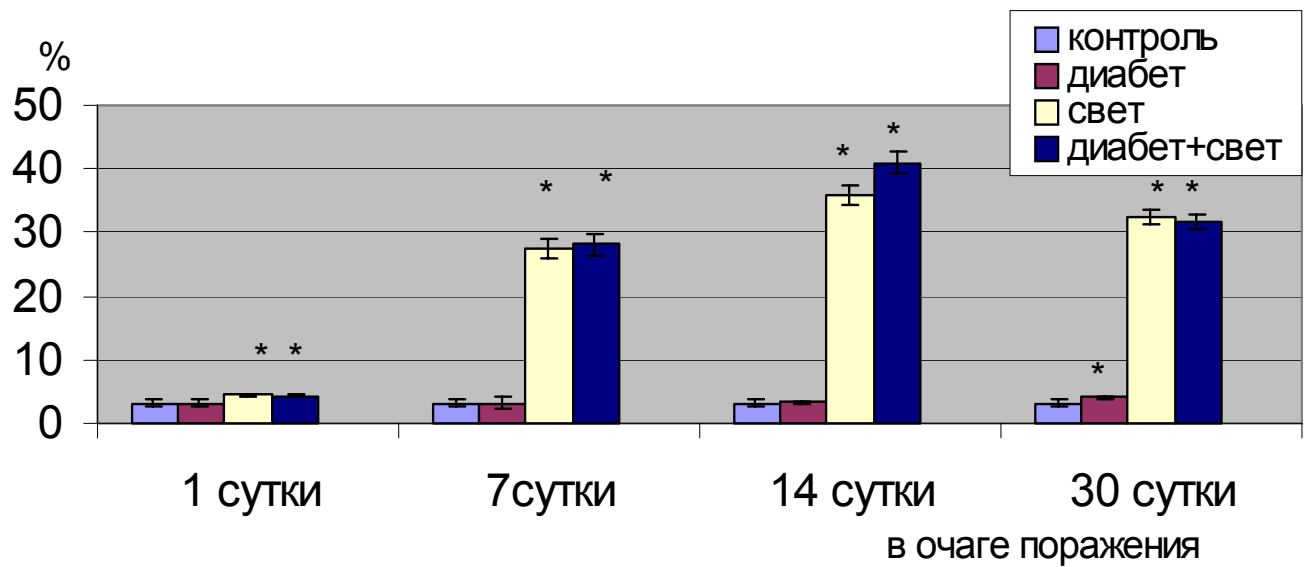


Рис. 30. Содержание мультиполярных нейронов с тотальным хроматолизом после светового воздействия, на фоне сахарного диабета и при комбинации данных факторов

отличаются от таковых при изолированном световом облучении. Вне очага на 7-е сутки наблюдается тенденция к снижению числа нейронов как с очаговым хроматолизом до $4,13 \pm 0,17\%$ (контроль; $p < 0,05$), так и с тотальным хроматолизом до $3,42 \pm 0,27\%$ (контроль; $p < 0,05$). В последующие сроки, данные показатели продолжают снижаться и на 30-е сутки достигают контрольных цифр (рис. 29-30).

Таким образом, использованные экспериментальные воздействия вызывают в мультиполярных нейронах как реактивные и деструктивные процессы в виде хроматолитических и пикноморфных изменений нейронов, так и морфологические признаки компенсаторно-восстановительных процессов. Изменения мультиполярных нейронов при аллоксановом диабете имеют в основном реактивный характер и характеризуются увеличением содержания нейронов с очаговым хроматолизом. Выраженность изменений после изолированного светового воздействия, а также светового облучения на фоне аллоксанового диабета сходна. Однако на 14-е сутки содержание нейронов с хроматолитическими изменениями при комбинированном воздействии выше такового при изолированном световом облучении. В поздние сроки отмечается снижение содержания деструктивных форм нейронов, однако полного восстановления в очагах поражения не наступает.

3.5. МЕЖНЕЙРОННЫЕ СИНАПСЫ

Проведенные экспериментальные воздействия вызывают существенные изменения ультраструктурной организации межнейронных синапсов плексиморфных слоев сетчатки.

Через 4-5 недель после введения аллоксана центральные отростки НК содержат отечные митохондрии с деструкцией крист и внутренней мембраны, а также крупные вакуоли, образованные вследствие разрушения митохондрий (рис. 31). Синаптические ленты, являющиеся разновидностью окончаний фоторецепторов отличаются размытостью контуров и утратой характерной трехламеллярной ультраструктуры. Изменения синапсов внутреннего сетчатого слоя носят в основном реактивный характер, касающийся величины и формы везикул, резким укрупнением части из них, а иногда и агглютинацией, отмечается также набухание и очаговая деструкция крист митохондрий пресинаптических отделов (рис. 32). Через 5 недель после введения аллоксана несколько уменьшается численная плотность синапсов, а также появляются синаптические контакты с дегенеративными нарушениями. При этом наиболее часто наблюдается дегенерация по «светлому» типу (Боголепов Н.Н., 1975). Данного типа нарушения заключаются в набухании пресинаптического отдела и снижении его электронной плотности, разрушении большинства синаптических везикул и резком снижении их количества, разрушении органелл в частности митохондрий, вакуолизации, появлении нитевидного и мелкозернистого неоформленного материала. Синаптическая щель в описываемых контактах нередко расширена. Шипиковый аппарат часто характеризуется расширением цистерн и их фрагментацией. Через 6-8 недель после введения аллоксана изменения те же, что и в предыдущие сроки, однако, увеличивается количество синапсов со «светлым» типом деструкции и появляются единичные синапсы с «темным» типом дегенерации.

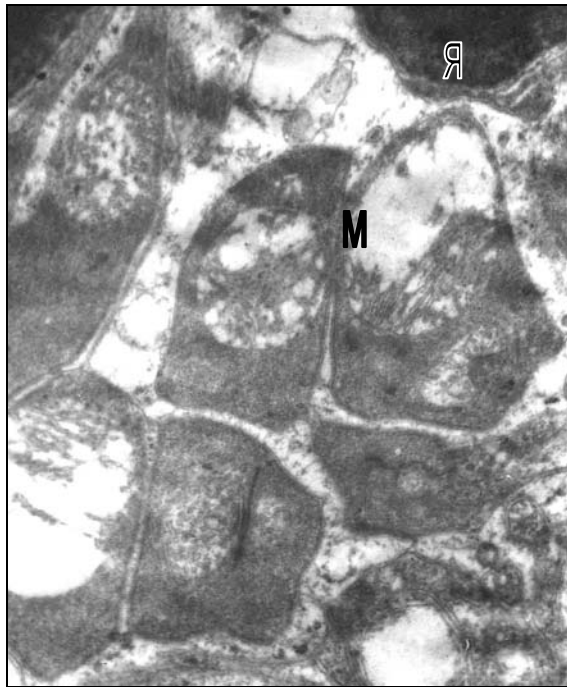


Рис. 31. Отек и деструкция митохондрий центральных отростков нейросенсорных клеток через 4 недели после введения аллоксана. Я – ядро нейросенсорной клетки; М – митохондрии. Ув. 5000.

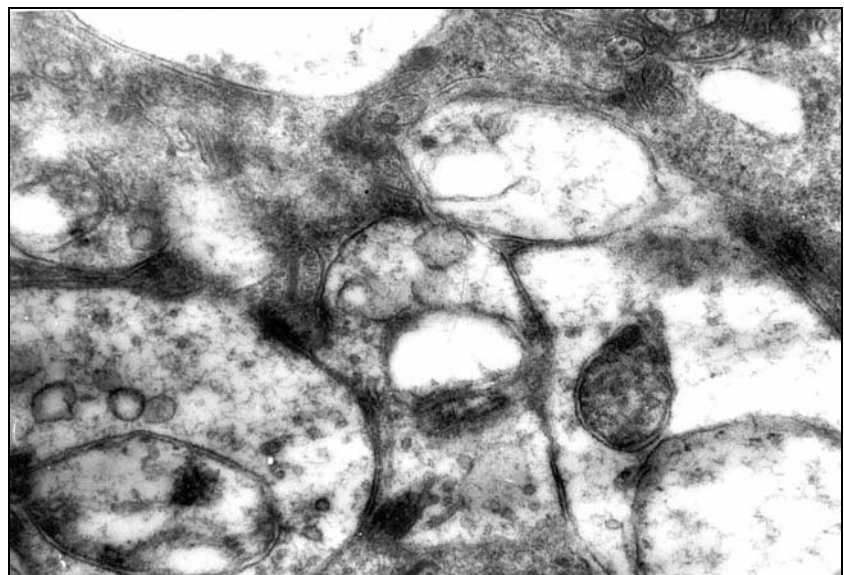


Рис. 32. Внутренний плексиформный слой сетчатки через 5 недель после введения аллоксана. Разнокалиберность, агглютинация синаптических везикул. Отек и деструкция митохондрий пресинаптических отделов. Ув. 20000.

Постсинаптическая часть синапса при данном типе воздействия сохраняет свою обычную структуру.

Через сутки после высокоинтенсивного светового воздействия изменения ультраструктуры ленточных синапсов в наружном плексиформном слое характеризуются выраженной дезагрегацией и разнокалиберностью синаптических везикул. Значительная часть обычных синапсов во внутреннем сетчатом слое изменена по «светлому» и «темному» типам. Последний проявляется резким увеличением осмиофилии пре- и постсинаптических отделов, наблюдается деструкция и агглютинация везикул, которые с трудом различимы на фоне электронно-плотной аксоплазмы. Синапсы с признаками дегенерации обычно окружены прослойками гипертрофированной радиальной глии.

Через 7 суток после светового облучения часть центральных отростков сетчатки изменена по темному типу. В очагах, представленных единичными НК вследствие деструкции НЯС, наружный сетчатый слой практически отсутствует и представлен редкими дегенеративно измененными синапсами. Во внутреннем сетчатом слое значительно уменьшается численная плотность синапсов и увеличивается количество контактов со «светлым» и «темным» типом деструкции (рис. 33).

Через 14-30 суток после облучения многие участки сетчатки лишены наружного сетчатого слоя. Вне очагов, где присутствуют слои, образованные НК наблюдается увеличение площади поперечного сечения нервных отростков за счет их набухания и снижение электронной плотности нейроплазмы. Одновременно происходит дегенерация межнейронных синаптических связей преимущественно по «светлому» типу (рис. 34). Во внутреннем плексиформном слое преобладают синапсы с «темным» типом деструкции. В них выявляются миелиноподобные и мультивезикулярные тельца.



Рис. 33. Внутренний плексиформный слой сетчатки через 7 суток после изолированного светового воздействия. Дегенерация синапсов по «светлому» (С) и «темному» (Т) типу. Ув. 20000.

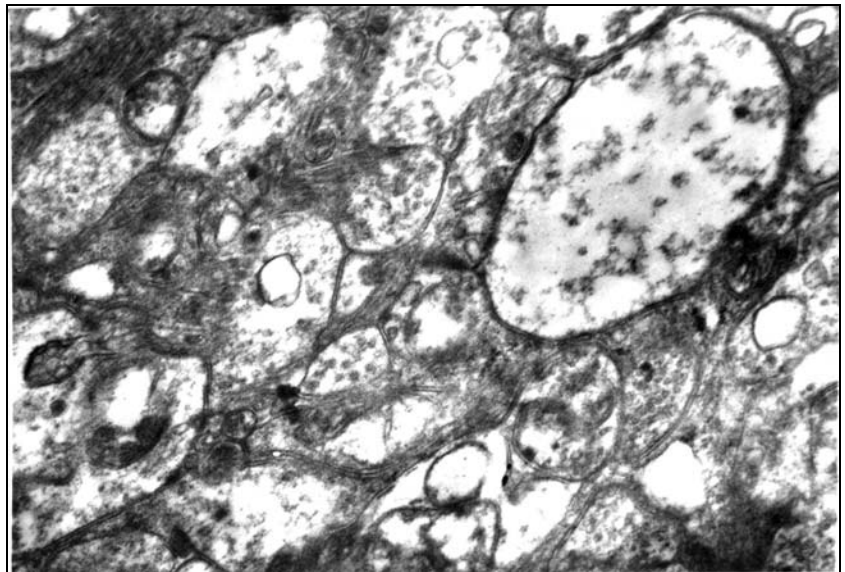


Рис. 34. Внутренний плексиформный слой сетчатки вне очага через 30 суток после светового облучения 6000 лк. Дегенерация синапсов по «светлому» (С) типу. Ув. 20000.

Через сутки после высокоинтенсивного светового воздействия на фоне аллоксанового диабета в наружном сетчатом слое ленточные синапсы характеризуются уменьшением длины активной зоны контакты, разнокалиберностью и агглютинацией синаптических везикул. Более выражена реакция обычных синапсов, часть из которых изменена по светлomu типу.

Через 7 суток после облучения появляются участки с полным отсутствием наружного плексиформного слоя, в связи с тотальной гибелью НК. В таких очагах лишь изредка встречаются дегенеративно измененные синапсы. Во внутреннем сетчатом слое снижается общая численная плотность синапсов, отмечается усиление дегенеративных процессов. Изменения появляются не только в пре-, но и в постсинаптических отделах. В пресинаптической части синапса наблюдается уменьшение числа и дезагрегация синаптических пузырьков, вакуольное перерождение митохондрий и цистерн эндоплазматической сети. В постсинаптических отделах отмечаются снижение электронной плотности и появление мембранных комплексов. В последующие сроки после комбинированного воздействия ультраструктурные изменения плексиформных слоев сетчатки подобны таковым при изолированном световом воздействии.

Изучение ультраструктуры парамембранных специализаций субсинаптических единиц с помощью контрастирования фосфорновольфрамовой кислотой (ФВК) позволяет проводить более тонкий анализ патологии синаптического пула сетчатки. Для сравнительной характеристики динамики изменений синапсов были выбраны два срока – 7 суток и 30 суток после облучения при изолированном световом воздействии и облучении на ранней стадии аллоксанового диабета (1 месяц), а также через 5 и 8 недель после введения аллоксана.

Через 5 недель после введения аллоксана отмечается снижение общей численной плотности синапсов в 1,2 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

за счет функционально зрелых асимметричных синапсов (табл. 3). Морфометрия активных зон контактов указывает на повреждение синапсов с длиной активной зоны 100-200 нм и 300-500 нм (рис.35). Также заметно уменьшается количество синапсов с высокими плотными проекциями - тип А (Dyson S.E., Jones D.G., 1976) (табл. 2). С точки зрения функциональной активности синапсов представляет интерес оценка степени их кривизны. Существует мнение, что плоские синапсы являются не активными, а искривленные активно функционирующими, причем положительно искривленные синапсы находятся в фазе экзоцитоза везикул (Семченко В.В., Боголепов Н.Н., Степанов С.С., 1995). В данном эксперименте снижалась численная плотность всех видов синапсов, но в большей степени изменения касались положительно искривленных синапсов, содержание которых снижалось от контрольных значений в 1,7 раза (табл. 3).

Через 8 недель после введения аллоксана в динамике наблюдается увеличение количества асимметричных контактов. Это, вероятно, происходит в результате созревания симметричных контактов, содержание которых снижается в 1,5 раза по сравнению с предыдущим сроком (табл. 3). Следует также отметить, что наряду с уменьшением количества мелких и средних синапсов, достоверно возрастает содержание контактов с длиной активной зоны 500-700нм, а также гипертрофированных синапсов с длиной АЗК > 700нм (рис. 35). Гипертрофия сохранившихся синапсов является проявлением пластичности и компенсаторно-приспособительной реакции при повреждении части из них и снижении численной плотности контактов.

Через 7 дней после изолированного светового воздействия наблюдается достоверное снижение в 1,6 раза по сравнению с контролем общей численной плотности синапсов за счет уменьшения количества симметричных и асимметричных контактов (табл. 3). Одновременно

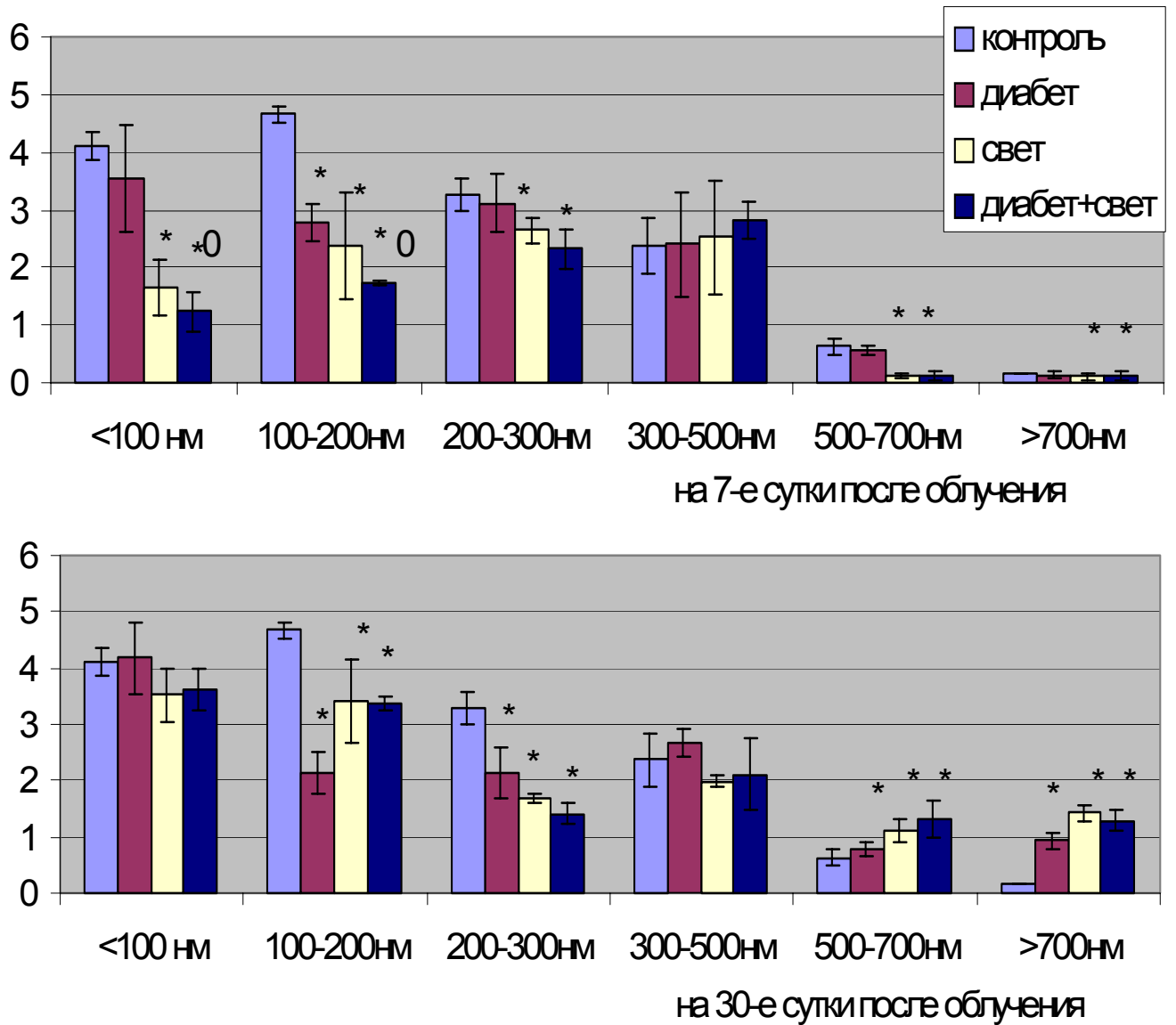


Рис. 35. Содержание синапсов внутреннего сетчатого слоя с различной длиной АЗК при воздействии высокоинтенсивного света, на фоне аллоксанового диабета и при комбинации указанных факторов

СОДЕРЖАНИЕ АСИММЕТРИЧНЫХ СИНАПСОВ ВНУТРЕННЕГО
ПЛЕКСИФОРМНОГО СЛОЯ С РАЗЛИЧНОЙ ВЫСОТОЙ ПЛОТНЫХ
ПРОЕКЦИЙ (НА 100 μm^2)

Время после воздействия	Высота плотных проекций		
	< 50 нм	50-60 нм	>60 нм
Контроль	3,40±0,23	3,53±0,43	3,82±0,78
Диабет 5 недель	2,67±0,55	3,11±0,95	2,3±0,07*
Свет 7сут	2,02±0,43*	3,5±0,91*	0,62±0,4*
Диабет+свет 7 сут	2,82±0,75* 0	3,46±0,27*	0,84±0,45* 0
Диабет 8 недель	2,07±0,37*	4,11±0,19	3,56±0,71
Свет 30 сут	3,86±0,37*	4,03±0,95	2,74±0,42*
Диабет+свет 30 сут	3,88±0,43*	3,71±0,88	2,64±0,26*

Примечание: Статистически достоверные отличия ($p < 0,05$) отмечены

*- при сравнении с контролем; 0 – свет и диабет+свет. В следующей таблице обозначения аналогичны.

Таблица 2.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФВК-ПОЗИТИВНЫХ СИНАПСОВ ВНУТРЕННЕГО СЕТЧАТОГО СЛОЯ СЕТЧАТКИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВЫСОКОИНТЕНСИВНОГО СВЕТА, НА ФОНЕ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА И ПРИ КОМБИНАЦИИ ДАННЫХ ФАКТОРОВ

Время после воздействия	Численная плотность синапсов	Симметричные синапсы	Асимметричные синапсы	Плоские синапсы	«+» изогнутые синапсы	«-» изогнутые синапсы
Контроль	15,23±0,87	4,49±0,17	10,75±1,05	8,38±0,55	4,51±0,18	2,34±0,47
Диабет 5 недель	12,53±1,96*	4,53±0,99	8,07±0,43*	8,23±0,82	2,63±0,98*	1,67±0,04*
Свет 7 сут	9,41±1,77*	3,27±0,42*	6,14±0,52*	5,89±0,94*	1,51±0,67*	2,01±0,97
Диабет+свет 7 сут	8,34±1,49* 0	2,22±0,97* 0	6,12±0,21*	5,12±0,26*	0,95±0,47* 0	2,27±0,29
Диабет 8 недель	12,83±0,94	3,11±0,85*	9,74±0,11	7,88±0,31	2,42±0,19*	2,53±0,25
Свет 30 сут	13,14±0,35*	2,51±0,69*	10,63±0,37	7,5±0,35	3,23±0,06*	2,41±0,94
Диабет+свет 30 сут	13,1±1,17	2,87±0,94*	10,23±0,32	7,47±1,07	3,02±0,54*	2,61±0,51

обнаруживается нечеткость, размытость контуров и неравномерность прокрашивания плотных проекций асимметричных синапсов, а также пресинаптических отделов симметричных синапсов. Заметно уменьшается высота плотных проекций, преобладает тип В и С синапсов с низкими и крайне редко удается встретить синапсы с высокими плотными проекциями – тип А (табл. 2). Уменьшается также численная плотность плоских и искривленных синапсов, но в большей степени это характерно для положительно искривленных синапсов, содержание которых снижалось почти в 3 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$) (табл. 3).

Через 30 суток после светового облучения возрастает в 1,4 раза по сравнению с предыдущим сроком общая численная плотность синапсов (табл. 3). Это происходит за счет образования новых синапсов с высотой плотных проекций < 50 нм и длиной АЗК < 100 нм (рис. 37). Наблюдается также, переход симметричных синапсов в асимметричные. В пользу этого свидетельствует рост числа асимметричных синапсов в 1,7 раза по сравнению данными через 7 суток после облучения за счет достоверного увеличения в 1,9 раза числа контактов с высотой плотных проекций < 50 нм (табл. 2,3). Одновременно отмечается гипертрофия сохранившихся контактов. На что указывает возрастание выше контрольных значений числа синапсов с длиной АЗК > 700 нм (рис. 35), а также увеличение количества синапсов, по сравнению с предыдущим сроком, с высотой плотных проекций > 60 нм (табл. 2).

Через 7 суток после комбинированного воздействия наблюдается достоверное снижение общей численной плотности синапсов за счет уменьшения количества симметричных синапсов с длиной АЗК < 100 нм и 100-200 нм по сравнению с данными после светового воздействия. Также после сочетанного с диабетом воздействия отмечается снижение количества положительно изогнутых синапсов в большей степени, чем при световом облучении.

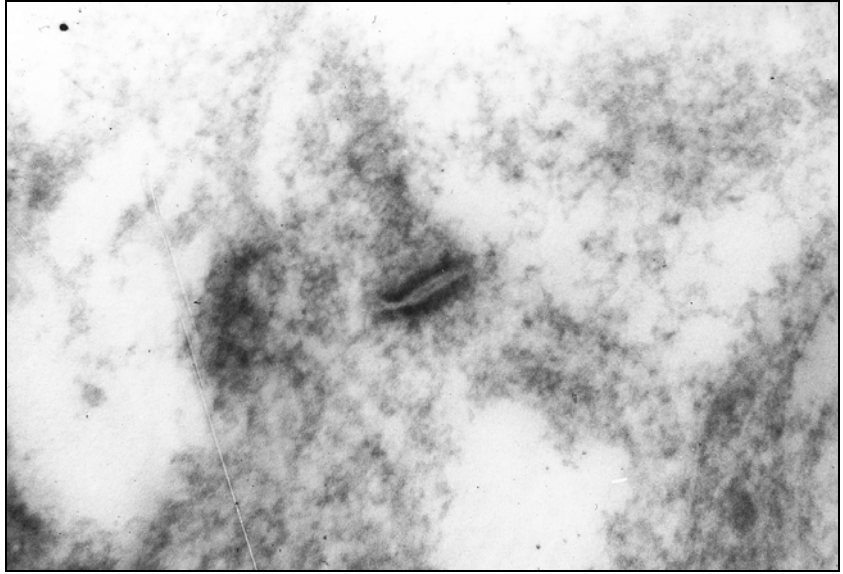


Рис. 36. Ультраструктура ФВК-позитивных контактов внутреннего сетчатого слоя. Симметричный синапс. Контроль. Ув. 36000.

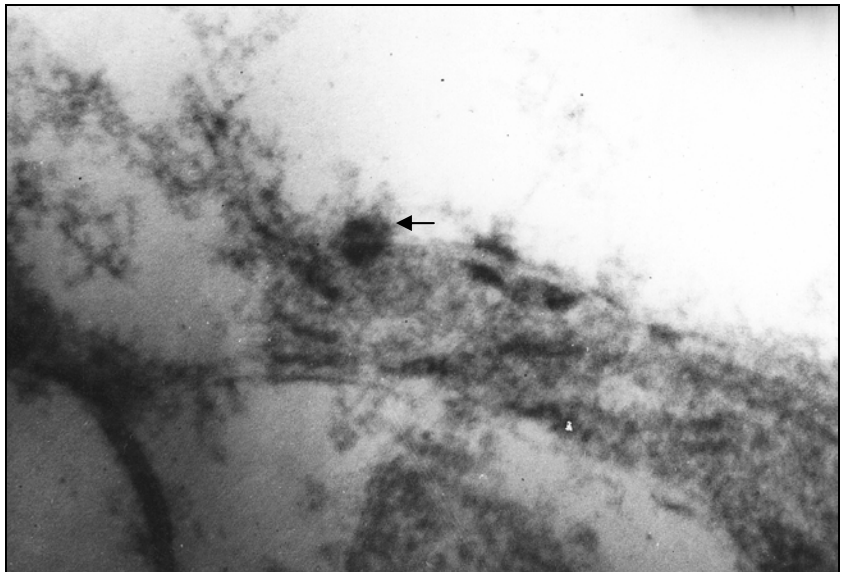


Рис. 37. Новообразованный асимметричный синапс через 30 суток после светового облучения (стрелка). Ув. 32000.

В поздние сроки (через 30 суток) после комбинированного воздействия увеличивается численная плотность синапсов в результате процесса неосинаптогенеза. Повышается содержание мелких синапсов с высотой плотных проекций $<50\text{нм}$ (табл. 2) и длиной АЗК $<100\text{нм}$ (рис. 35). Как и при изолированном световом воздействии увеличивается содержание гипертрофированных синапсов в 8,8 раза по сравнению с контрольными значениями (рис. 35). Эти процессы способствуют увеличению численной плотности синапсов и нормализации соотношения исследуемых структурных разновидностей их.

Таким образом, наиболее сильное повреждающее воздействие на межнейрональные синаптические связи оказывает световое воздействие и в большей степени облучение на фоне диабета. Аллоксановый диабет в ранней стадии своего развития вызывает преимущественно реактивные изменения, однако на 5 неделе после введения аллоксана появляются синапсы со «светлым» типом деструкции. Компенсаторно-приспособительные реакции развиваются на 8 неделе и выражаются преобразованием незрелых симметричных синапсов в функционально зрелые, а также гипертрофией сохранившихся синапсов. Очевидно, этого достаточно для компенсации синаптических повреждений на ранней стадии аллоксанового диабета. В ранний период после светового и комбинированного воздействия развиваются как реактивные, так и деструктивные процессы в синапсах. В поздние сроки, наряду с компенсаторной гипертрофией выступают явления неосинаптогенеза, проявляющиеся в образовании ювенильного типа контактов с короткой активной зоной.

3.6. ГЛИАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ

Изменения ультраструктуры нервных клеток сочетаются с закономерной реакцией со стороны глиальных клеток, которые проявляются после всех видов экспериментальных воздействий.

В ранние сроки через 4-5 недель после введения аллоксана изменения радиальных глиоцитов проявляются набуханием митохондрий и расширением цистерн эндоплазматической сети. На 5-ой неделе в наружном ядерном слое единичные склеральные отростки гипертрофированы и формируют очаги глиальной пролиферации, что выражается в снижении численной плотности ядер в наружном зернистом слое. На 6-8-ой неделе после инъекции аллоксана увеличивается содержание дегенеративно измененных радиальных глиоцитов. Витреальные отростки имеют обычное строение

Через сутки после высокоинтенсивного светового воздействия, а также облучения на фоне аллоксанового диабета возрастает содержание пикноморфных радиальных глиоцитов. Ультрамикроскопически они характеризуются повышением электронной плотности и вакуолизацией перикариона, гиперхромией ядра (рис. 38). Альтеративно измененные глиоциты локализуются преимущественно на границе внутреннего ядерного и сетчатого слоев.

Через 7 суток после светового и комбинированного воздействия склеральные отростки глиоцитов отечны, гипертрофированы и заполняют пространство между НК. Глиоплазма имеет низкую электронную плотность и содержит вакуоли, лизосомы, фагосомы с частицами фоторецепторных элементов. Митохондрии радиальных глиоцитов характеризуются набуханием с просветлением матрикса, очаговой деструкцией крист и внутренней мембраны. Наружная пограничная мембрана отличается утолщением и повышением электронной плотности. Местами наблюдается прорастание в субретиальное пространство гипертрофированных

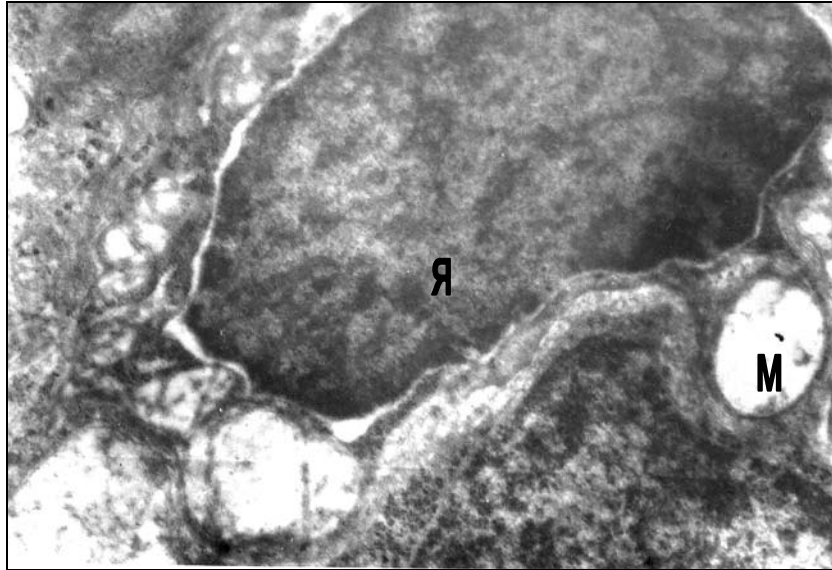


Рис. 38. Осмиофилия ядра и вакуолизация цитоплазмы радиального глиоцита через 1 сутки после светового облучения. Я – ядро радиального глиоцита; М – митохондрия. Ув. 14000.

глиальных микроворсин. Элементы глии проявляют повышенную фагоцитарную активность в отношении пикнотичных фоторецепторов. Отростки части глиоцитов, расположенные во внутреннем ядерном слое гипертрофированы и отечны.

Через 14-30 суток после облучения в очагах поражения обнаруживаются многослойные глиальные пластины, которые окружают деструктивно измененные фоторецепторы и вероятно участвуют в их фагоцитозе (рис. 39). Глиоплазма содержит осмиофильные гранулы, мембранные комплексы. Во внутреннем ядерном слое обнаруживаются глиоциты, цитоплазма которых содержит многочисленные вакуоли, образующиеся из митохондрий, цистерн агранулярной и гранулярной сети. Их ядра характеризуются неровностью контуров и повышением осмиофилии. В витреальных отростках отдельных глиоцитов обнаруживается осмиофилия глиоплазмы и деструкция части органелл. Внутренний глиальный пограничный слой сохраняет свое обычное строение.

Олигодендроглиоциты в слое нервных волокон и немногочисленные астроциты по ходу витреально расположенных кровеносных сосудов в ранние сроки после всех воздействий имеют сходный реактивный характер. Ультрамикроскопически на ранних сроках изменения проявляются набуханием митохондрий и расширением эндоплазматического ретикулума. В более поздние сроки обнаруживаются единичные глиоциты с дегенеративными изменениями. В астроцитах глиофибриллы подвергаются локальному набуханию и фрагментации. Глиоплазма с низкой электронной плотностью и невысоким содержанием органелл, содержит крупные митохондрии с частичной и полной деструкцией крист, многочисленные вакуоли, мембранные комплексы. В олигодендроглиоцитах наблюдается повышение осмиофилии карио- и цитоплазмы, очаговое исчезновение свободных рибосом, уменьшение количества цистерн гранулярной эндоплазматической сети, вакуолизация цитоплазмы и появление лизосом.

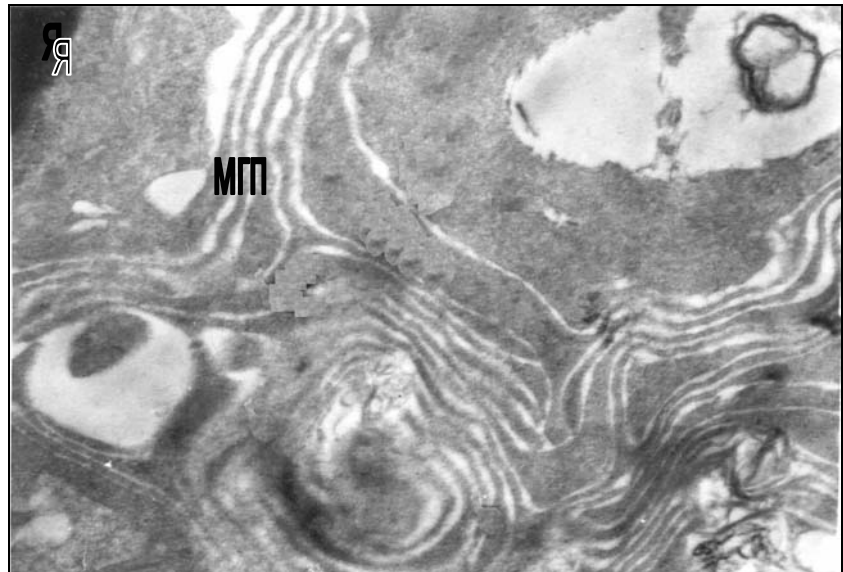


Рис. 39. Многослойные глиальные пластины вокруг нейросенсорной клетки через 14 дней после светового облучения. Я – ядро нейросенсорной клетки; МГП – многослойные глиальные пластины. Ув. 14000.

Редко обнаруживаются микроглиоциты. Они имеют округлую неправильную форму. Карио- и цитоплазма повышенной электронной плотности с большим содержанием в цитоплазме фагосом и вакуолей (рис. 40).

На 6-8-ой неделе после инъекции аллоксана увеличивается содержание гиперхромных пикноморфных радиальных глиоцитов до $10,31 \pm 2,65\%$ - $14,12 \pm 3,34\%$ против $2,69 \pm 0,46\%$ в контроле ($p < 0,05$) (рис.41).

Через 1 сутки после высокоинтенсивного светового воздействия резко возрастает по сравнению с контролем ($p < 0,05$) процент пикноморфных радиальных глиоцитов до $20,62 \pm 0,94\%$ (рис.41). Через 7 суток после облучения в очагах поражения наблюдается увеличение содержания пикноморфных радиальных глиоцитов до $29,75 \pm 2,61\%$, что в 11 раз превышает контрольные значения (рис. 41). Начиная с 14-х суток после светового облучения отмечается тенденция к снижению данного показателя, достигая минимальных значений на 30-е сутки до $17,44 \pm 1,61\%$, что выше контрольных значений в 6,5 раза.

Вне очага изменения менее значительны. Через 7 суток после облучения снижается количество деструктивных глиоцитов за счет их утилизации до $18,81 \pm 3,84\%$ (контроль; $p < 0,05$). Повторное усиление дегенеративных процессов наблюдается на 14 сутки после воздействия, превышая контрольные цифры в 7,3 раза (рис. 41). На 30-е сутки после облучения вновь отмечается снижение данного показателя до $15,06 \pm 2,19\%$, что однако выше контроля в 5,6 раза.

Через сутки после светового облучения на фоне аллоксанового диабета в 1,5 раза увеличивается содержание пикноморфных радиальных глиоцитов по сравнению с данными при изолированном световом воздействии. В последующие сроки отмечается тенденция к снижению данного показателя, минимальные значения которого наблюдаются на 30-е сутки и составляют: в очагах поражения – $18,31 \pm 1,69\%$, вне очагов – $14,88 \pm 1,62\%$, оставаясь достоверно выше контроля ($p < 0,05$) (рис. 41).

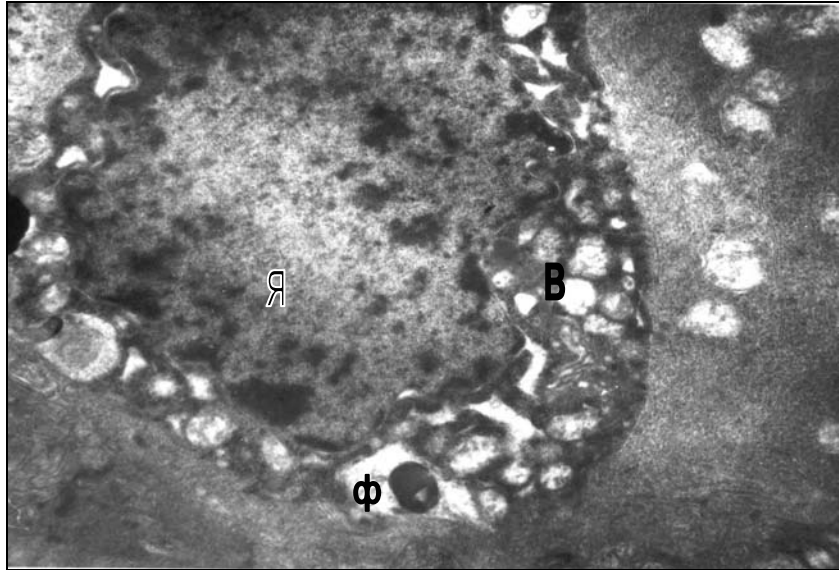


Рис. 40. Большое количество вакуолей и фагосом в цитоплазме микроглиоцита через 14 суток после светового облучения на фоне аллоксанового диабета. Я – ядро микроглиоцита; В – вакуоли; Ф - фагосомы. Ув. 4500.

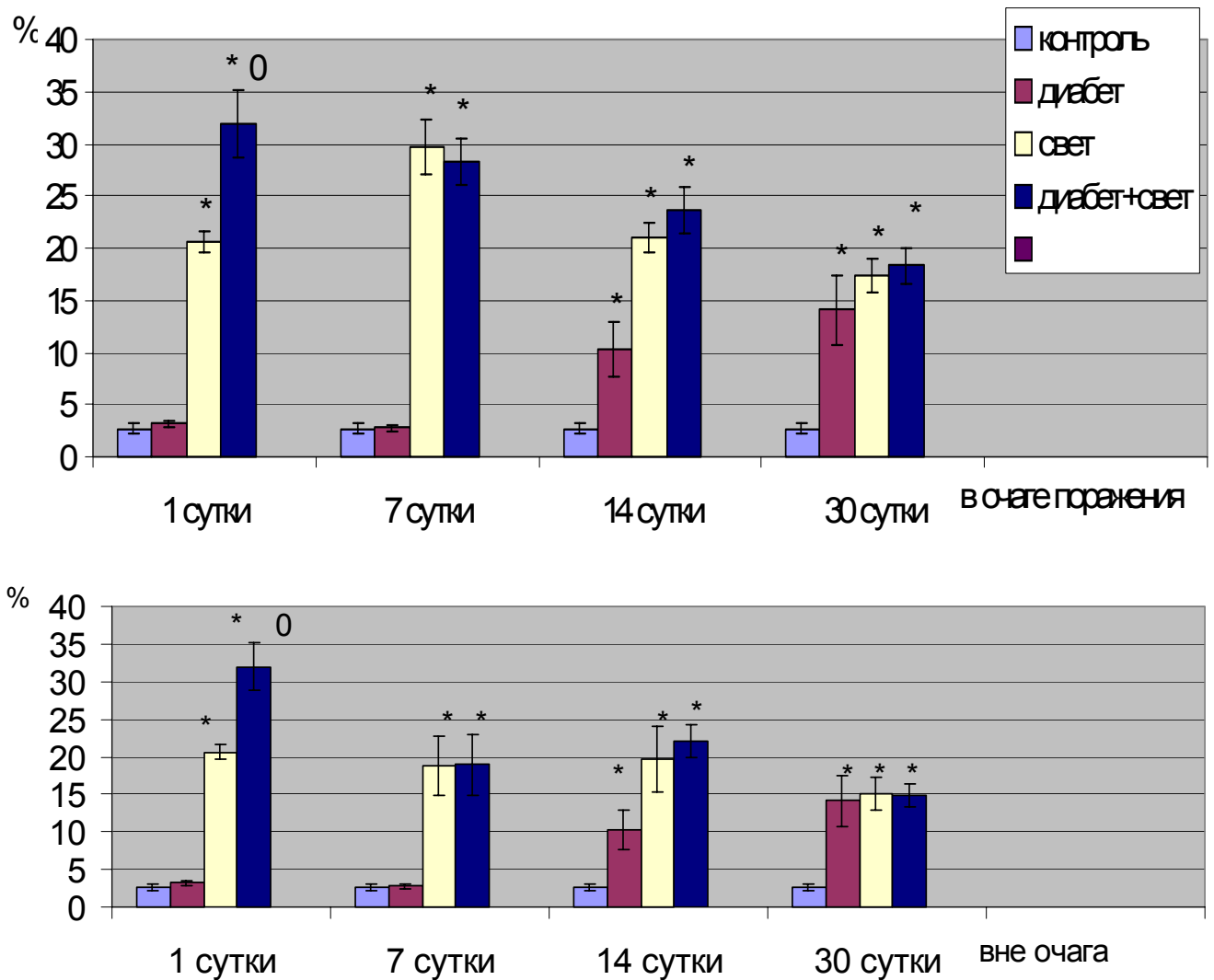


Рис. 41. Содержание пикноморфных радиальных глиоцитов после светового воздействия, на фоне сахарного диабета и при комбинации данных факторов

Таким образом, глиальные реакции после светового воздействия, а также облучения на фоне аллоксанового диабета в ранние сроки проявляются, как деструктивными изменениями, так и прогрессивными в виде повышения фагоцитарной активности. Деструкции в основном подвержены радиальные глиоциты, в которых наиболее чувствительными оказались склеральные отростки и ядросодержащие части. В поздние сроки наблюдается снижение содержания гиперхромных пикноморфных глиоцитов, а также пролиферация глиальных отростков, почти полностью заполняющих субретинальное пространство в очагах поражения.

3.7. СОСУДЫ И ГЕМАТОРЕТИНАЛЬНЫЙ БАРЬЕР

Кровоснабжение сетчатки глаза осуществляется из двух систем: сосудистой оболочки глаза и центральной артерии сетчатки. В состав гематоретинального барьера входят эндотелиоциты капилляров хориоидеи, базальный комплекс и пигментоэпителиоциты. В нейросетчатке ГРБ представлен эндотелием капилляров, их базальными мембранами и периваскулярными глиоцитами, контактирующими с интравитреальными сосудами. Изменения пигментного эпителия и глии были описаны в предыдущих разделах, поэтому в данной главе мы остановимся на реакции хориоидеи и интравитреальных сосудов.

Изменение микроциркуляторного русла сетчатки при экспериментальном сахарном диабете наблюдается через 5 недель после введения аллоксана. Отмечается сужение просвета интравитреальных сосудов и хориокапилляров за счет набухания ядросодержащей части. Цитоплазма эндотелиоцитов образует складки, выбухания, выступающие в просвет сосудов. Базальная мембрана выглядит утолщенной мелкозернистой. Также происходит утолщение и огрубение базального комплекса.

Через сутки после светового воздействия хориокапилляры и интравитреальные сосуды расширены (рис. 42). Просвет части капилляров сужен и не содержит форменных элементов. Одновременно с изменением просвета капилляров в них развиваются реактивные и деструктивные процессы. Их базальные мембраны неравномерной толщины, местами истончены, в других участках утолщены. В цитоплазме эндотелиоцитов наблюдается увеличение микровезикул, что свидетельствует об активизации транспортных процессов в клетке. Кроме того, в цитоплазме эндотелиоцитов и перицитов появляются крупные вакуоли, вероятно образовавшиеся в результате разрушения митохондрий (рис. 43). В них часто обнаруживается деструкция крист, внутренней мембраны, просветление матрикса.

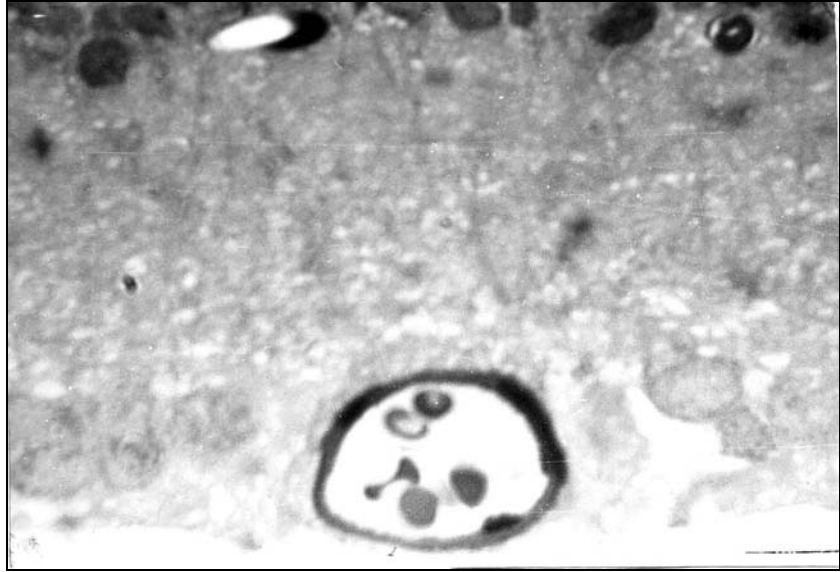


Рис. 42. Расширенный интратретиальный сосуд через сутки после светового облучения. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

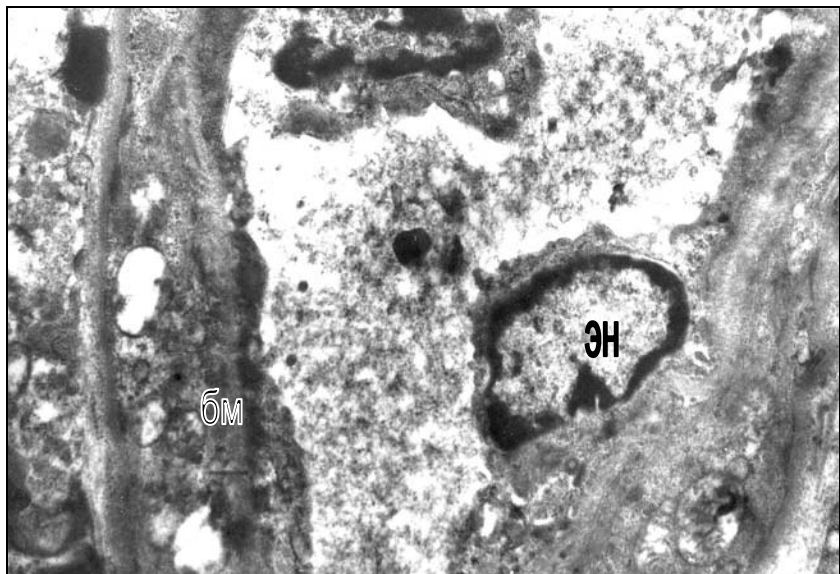


Рис. 43. Хориокапилляр через сутки после изолированного светового воздействия. Отек эндотелия. Вакуолизация цитоплазмы. Утолщение и расслоение базальной мембраны. Бм – базальная мембрана капилляра; Эн – эндотелиоцит. Ув. 3000.

Часть из них в виде полых мешочков, содержащих мелкогранулярный материал. Некоторые эндотелиоциты имеют гиперхромные ядра, остальные обычное строение хроматина.

Через 7 суток после светового облучения в очагах поражения наблюдается снижение содержания функционирующих сосудов. Просвет большинства капилляров резко сужен. Отдельные сосуды наоборот расширены. На светооптическом уровне обнаруживается утолщение и гомогенизация сосудистой стенки, которая образует складки выбухающие в просвет сосуда (рис. 44). Резко выражена вакуолизация эндотелия. При исследовании в электронном микроскопе обнаруживается неравномерное утолщение базального комплекса вследствие пролиферации волокнистого компонента. Эндотелиоциты, зачастую, набухшие, содержание органелл в них снижено по сравнению с контролем. Цитоплазматический матрикс обладает низкой электронной плотностью. Отмечается активизация процесса неоваскулогенеза. Базальная мембрана новообразованных сосудов неравномерной толщины, разволокнена и содержит крупные полости вследствие чего такие сосуды очень хрупки и легко кровоточат. Эндотелий фенестрирован, его карио- и цитоплазма повышенной электронной плотности и содержит различной величины вакуоли. При электронномикроскопическом исследовании сосудов сетчатки со стороны стекловидного тела на первый план выступают изменения перикапиллярных элементов радиальной глии. Отростки глиоцитов окружающие капилляр отечны, увеличены в объеме, обладают низкой электронной плотностью. Перикапиллярное пространство расширено. Базальная мембрана капилляров обладает повышенной электронной плотностью, неравномерной толщиной. Цитоплазма эндотелиоцитов умеренно осмиофильна, содержит пиноцитозные везикулы и крупные вакуоли. Вне очага изменения носят реактивный характер, проявляющийся расширением просвета капилляров, часть из которых полнокровны.

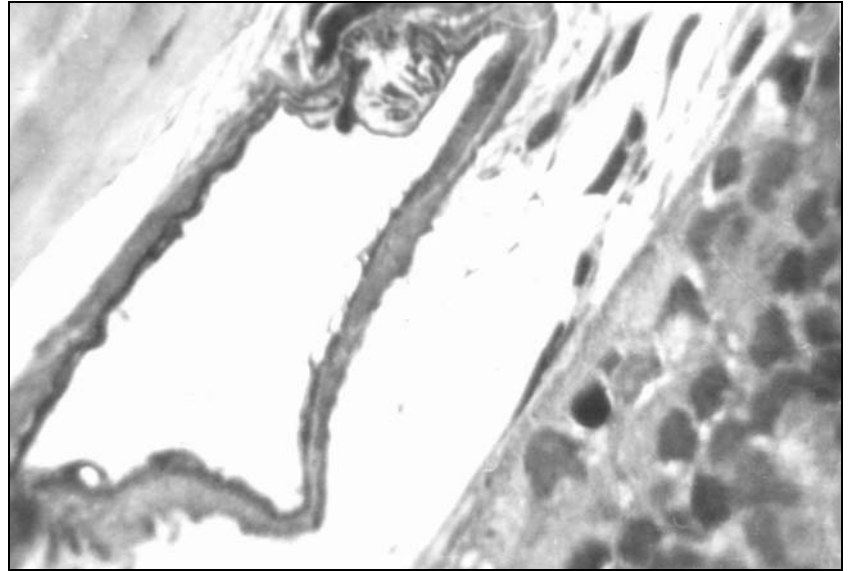


Рис. 44. Утолщение и гомогенизация и вакуолизация стенки сосуда хориоидеи через 7 суток после светового облучения. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

Базальный комплекс незначительно утолщен. Ультраструктурные изменения эндотелиоцитов и перицитов интравитальных и хориокапилляров характеризуются набуханием митохондрий и расширением цистерн эндоплазматической сети (рис. 45). В последующие сроки ультраструктура эндотелия капилляров имеет обычное строение.

Через 14 суток после облучения в очагах поражения некоторые сосуды сужены за счет утолщения стенки и полнокровны (рис. 46). В значительной части артериальных и венозных сосудов наблюдаются стаз и сдвиг форменных элементов. Ультраструктурные изменения характеризуются набуханием эндотелиоцитов. В них обнаруживаются вакуоли различных размеров: от структур напоминающих пиноцитозные пузырьки до более крупных, образующихся в результате деструкции митохондрий и эндоплазматического ретикулума. В эндотелиоцитах других капилляров вакуоли не образуются, но эти клетки теряют большую часть органелл в результате снижается электронная плотность цитоплазмы и она становится как бы «пустой». Изменяется базальная мембрана капилляров. Толщина ее становится неравномерной, кое-где видно разволокнение.

Через месяц после высокоинтенсивного светового воздействия наряду с изменениями в предыдущий срок в эндотелиоцитах и перицитах капилляров наблюдается повышение осмиофилии цитоплазмы, увеличение числа лизосом и появление фагосом.

Сосудистые изменения при облучении на фоне аллоксанового диабета имеют сходные черты с таковыми при изолированном световом воздействии. Так, на первые сутки после экспериментального воздействия гемодинамические расстройства характеризуются изменением просвета сосудов: часть из которых, расширены и полнокровны, остальные – сужены. Ультрамикроскопически ядра эндотелиоцитов гиперхромны, некоторые пикнотичны. Цитоплазма содержит вакуоли, набухшие митохондрии и расширенные цистерны эндоплазматической сети (рис. 47).

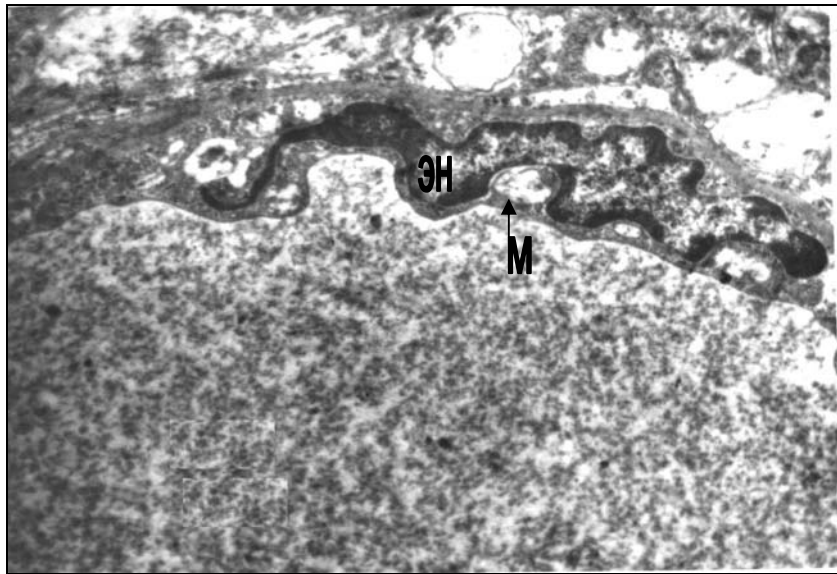


Рис. 45. Отек митохондрий и расширение цистерн эндоплазматической сети эндотелиоцита интратетинального сосуда через 7 суток после светового облучения. Эн – эндотелиоцит; М – митохондрия. Ув. 10000.

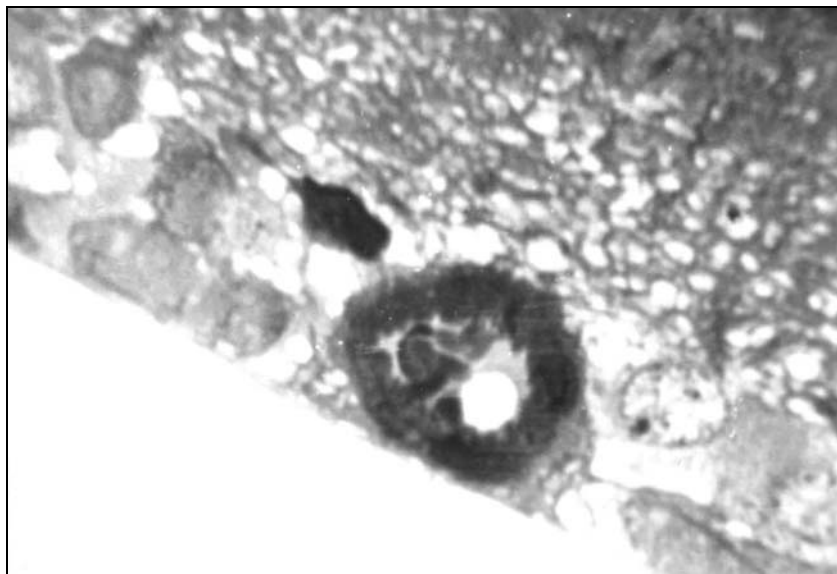


Рис. 46. Утолщение стенки интратетинального сосуда через 14 суток после светового облучения. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

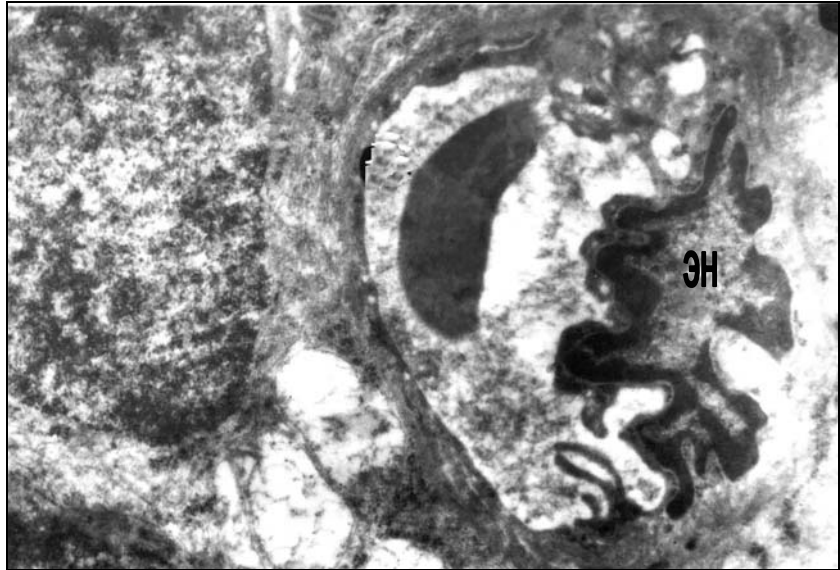


Рис. 47. Конденсация хроматина в ядре и вакуолизация цитоплазмы эндотелиоцита интратетинального капилляра через сутки после светового воздействия на фоне аллоксана. Эн – эндотелиоцит. Ув. 15000.

На 7-е сутки после данных воздействий в очагах поражения резко снижено количество функционирующих сосудов. В большинстве своем они сужены, в единичных артериях наблюдаются явления тромбоза. В местах отсутствия пигментного эпителия и нейросенсорных клеток в результате предшествующей деструкции базальный комплекс утолщен, расслоен. В области дефектов наблюдаются сосудистые почки и прорастание новообразованных сосудов хориоидеи в НЯС (рис. 48). Сужение интратретинальных капилляров происходит, как за счет набухания перикапиллярной глии, цитоплазма которой содержит вакуоли и мембранные комплексы, так и выбухания эндотелиоцитов в просвет сосуда. Это сочетается с изменением ультраструктуры эндотелиоцитов в виде повышения осмиофилии цитоплазмы, ее вакуолизации и появлении в околоядерной зоне миелиноподобных образований. Вне очага наблюдаются менее выраженные гемодинамические нарушения

В последующие сроки (14-30 сутки) после комбинированного воздействия в очагах сетчатки с полным отсутствием пигментного эпителия и нейросенсорных клеток сосудистая оболочка почти не содержит гемокапилляров, которые замещены клетками фибробластического ряда. Цитоплазма эндотелиоцитов и перицитов интратретинальных капилляров содержит большое количество лизосом и фагосом, что говорит о нарушении липопротеидных комплексов мембран и цитоплазмы клеток (Боголепов Н.Н., 1979).

Таким образом, реакции сосудистых элементов сетчатки наиболее выражены и имеют сходный характер после высокоинтенсивного светового воздействия на фоне аллоксанового диабета и после изолированного светового воздействия. Они проявляются гемодинамическими расстройствами, ультраструктурными нарушениями эндотелиоцитов, базальной мембраны капилляров, а в сочетании с дегенеративными изменениями базального комплекса и пигментоэпителиоцитов обуславливают нарушение целостности

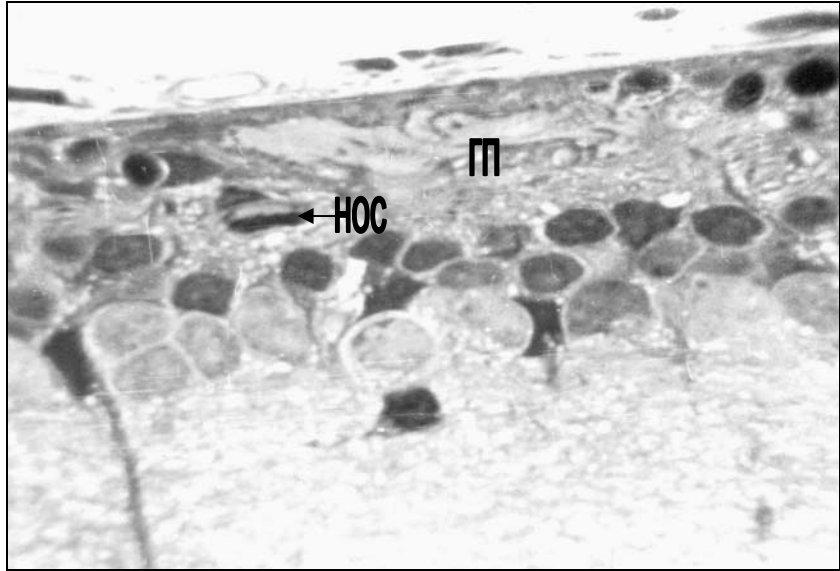


Рис. 48. Структурные изменения сетчатки через 30 суток после облучения на фоне аллоксанового диабета в очаге поражения. Глиальная пролиферация и новообразованный сосуд в наружном ядерном слое. ГП – глиальная пролиферация; НОС – новообразованный сосуд.

Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Ув. 900.

гематоретинального барьера.

При аллоксановом диабете продолжительностью (1-2мес) изменения в хорио- и интравитреальных сосудах менее значительны.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование нервного аппарата глаза на ранней стадии аллоксанового диабета, при воздействии света высокой интенсивности, а также при комбинации указанных факторов выявило ряд структурных изменений, имеющих различный характер и степень выраженности в зависимости от повреждающего фактора и продолжительности эксперимента.

Так, при сахарном диабете согласно литературным данным в первую очередь поражаются сосудистые элементы сетчатки (Лекишвили В.П., Скотт Д. Дж., 1968; Комаров Ф.И., 1982; Захаров Г.П., 1985; Garner A., 1993; Carlson E.C., 1994; Anderson H.R. et al., 1995).

Нами высказывается предположение, что первичными могут быть не изменения сосудов, а поражение комплекса: глиальных клеток, межклеточного вещества, эндотелиальных клеток сосудов и нейронов внутренних слоев сетчатки. Изложенное выше свидетельствует о следующей последовательности развития диабетической ретинопатии. В ее возникновении принимают участие различные факторы: метаболические, гормональные, иммунные, генетические, реологические, местные (Салтыков Б.Б., 1984). Все эти факторы вызывают развитие диффузной гипоксии сетчатки с последующим усилением процесса перекисного окисления липидов с образованием свободных радикалов. На основании собственных и литературных данных (Гаджиев Р.В., 1998; Век Т., 1994) мы предположили, что когда компенсаторные возможности сетчатки иссякнут, она не может справляться с возрастающей нагрузкой и оказавшиеся не нейтрализованными свободные радикалы проникают во внутренние слои сетчатки и поражают глиальные клетки. По нашим данным изменения Мюллеровых глиоцитов появляются на 4-5 неделе после введения аллоксана в виде набухания митохондрий и расширения цистерн эндоплазматической сети. Через 6 недель после введения аллоксана увеличивается содержание дегенеративно измененных радиальных глиоцитов, достигая максимальных

значений на 8-ой неделе, превышающих контроль в 5,2 раза. Одна из важных глиальных функций в сетчатке – это преобразование глутамата в амид α -аминоглутаровой кислоты. При диабете глутаматный обмен нарушается, глутамат накапливается в сетчатке, где может действовать, как токсин на ассоциативные и ганглионарные нейроны сетчатки (Lucas D.R. et al., 1957; Olney J.W., 1969; Vorwerk C.K. et al., 1996; Gamberino W.C., 1997; Lieth Alistair E.J. et al., 1998). По нашим данным, через 4-5 недель после введения аллоксана изменения ассоциативных нейронов проявляются набуханием части митохондрий и расширением цистерн эндоплазматической сети. Начиная с 6-ой недели после введения аллоксана в 3,5 раза увеличивается содержание пикноморфных ассоциативных нейронов и достигает максимума на 8-ой неделе. Наши данные согласуются с результатами ряда авторов, которые проводили гистологические и нейрофизиологические исследования сетчаток кроликов после шестимесячного дитизонового диабета (Гаджиев Р.В., 1998; Век Т., 1994; 1997). Так, Р.В. Гаджиевым (1998) обнаружено, что наибольшая выраженность осциляторных потенциалов, в генезе которых значительная роль принадлежит амакринным нейронам, позволяет предположить, что первоначальные нарушения возникают именно на их уровне. Изменения ганглионарных нейронов менее значительны, и появляются через два месяца после введения аллоксана в виде очагового хроматолиза.

Глиальные клетки участвуют в поддержании гематоретинального барьера (Gardner et al., 1997), так как являются одним из его компонентов. Таким образом, поражение глиальных клеток лишает капилляры сетчатки опорки, создавая благоприятные условия для их аневризматического выпячивания.

Поражение глиальных клеток приводит к нарушению соседствующего с ними внеклеточного пространства, заполненного межклеточным веществом. По мнению В.Н. Архангельского (1960) оно тождественно основному

веществу организма, но в отличие от последнего не переходит в волокнистую фазу. Своими работами он показал, что основной функцией межуточного вещества сетчатки и диска зрительного нерва является участие в обмене веществ. По данным Дж. Н. Антелава (1964), при диабете изменения межуточного вещества сетчатки раньше проявляются во внутренних слоях в виде его набухания. Изменения межуточного вещества наблюдались и при таких заболеваниях, как: глаукома, иридоциклиты, гипертоническая болезнь, злокачественные новообразования сосудистого тракта, при различных дозах облучения, при перевязке центральных сосудов сетчатки, лепре (Шмелева Т.П., 1957; И-Юй-Чжинь, 1958; Глотова Н.М., 1961). Этими авторами установлено, что морфологические изменения межуточного вещества приводят к необратимым изменениям клеточных структур.

В результате поражения экстрацеллюлярного матрикса возникает поражение эндотелиальных клеток и перицитов. Так, на 5-ой неделе после введения аллоксана отмечается сужение просвета интравитреальных сосудов и хориокапилляров за счет набухания ядросодержащей части эндотелия. Цитоплазма эндотелиоцитов образует складки, выбухания, выступающие в просвет сосудов. Базальная мембрана выглядит утолщенной мелкозернистой. Это согласуется с данными ряда авторов (Трутнева К.Н. и соавт., 1975; Чарный А.М. и соавт., 1975; Комаров Ф.И., 1982; Захаров Г.П., 1985; Спесивцева Г.П., 1985; Garner A., 1993; Carlson E.C., 1994; Anderson H.R. et al., 1995). Позднее дистрофические изменения эндотелиоцитов проявляются неравномерностью распределения свободных рибосом и полисом, набуханием митохондрий, гипертрофией комплекса Гольджи. Одновременно с эндотелием нарушения происходят в перицитах, которые гибнут в отдаленные сроки диабета (Кацнельсон Л.А. и соавт., 1990; Fuchs U. et al., 1985; Sharma N.K. et al., 1985; Wang M., Wang Y.H., 1989; Kern T.S., Engerman R.L., 1995; Yang Y. et al., 1997; Imesch P.D. et al., 1997). По данным некоторых исследователей (Gardiner T.A. et al., 1994) через 4 года после введения

аллоксана в сетчатках собак наблюдается исчезновение перицитов параллельно с гибелью гладкомышечных клеток в мелких артериолах центральной сетчатки. В результате деструкции эндотелия и перицитов происходит ослабление стенки капилляров и повышение их проницаемости для флюоресцеина (Салдан И.Р. и соавт. 1982; Сорокин Е.Л., Смолякова Г.П., 1997; Dorchy H. et al., 1980; Ishibashi T et al., 1981; Yamana Y. et al., 1983; Bek T., Lund-Andersen H., 1990; Gillies M.C. et al., 1997).

Следует отметить, что нейросенсорные клетки менее подвержены изменениям вследствие того, что их наружные сегменты погружены в пигментный эпителий сетчатки, который содержит мощную антиоксидантную систему, защищающую фоторецепторы. Таким образом, фоторецепторный слой остается относительно интактным, о чем свидетельствует сохранность «а» волны ЭРГ даже после шестимесячного дитизонового диабета (Гаджиев В.Г., 1998). Увеличение содержания пикнотичных нейросенсорных клеток наблюдается через 6 недель после введения аллоксана и существенно не изменяется через 8 недель.

В изученной литературе не найдено информации о реакции синаптического аппарата сетчатки при сахарном диабете. По нашим данным сахарный диабет в ранней стадии своего развития вызывает преимущественно реактивные изменения, однако на 5-ой неделе после введения аллоксана появляются синапсы со «светлым» типом деструкции. Компенсаторно-приспособительные реакции развиваются через 8 недель после введения аллоксана и выражаются преобразованием незрелых симметричных синапсов в функционально зрелые, а также гипертрофией сохранившихся синапсов. Очевидно, этого достаточно для компенсации синаптических повреждений на ранней стадии аллоксанового диабета.

При изолированном световом воздействии, а также облучении на фоне аллоксанового диабета можно выделить 2 механизма влияния на сетчатку. Это прямое и опосредованное (через сосудистые реакции). По результатам

нашего исследования наиболее ранимыми структурами сетчатки после этих видов воздействия являются НК, пигментоэпителиоциты и синапсы. В литературе нет единой точки зрения о первичности фотоповреждения. По мнению одних авторов изменения начинаются с пигментоэпителиоцитов, а затем развиваются в фоторецепторах (Зуева М.В., Иванина Т.А., 1980; Rowland S.L., Dawson W.W., 1986; Ando H., Noell W.K., 1993; Kozaki J., Takeushi M., Takahashi K., 1994,1995; Thumann G., Bartz-Schmidt K.U., Kociok N., Kayatz P., Heimann K., Schraermeyer U., 1999). Данные других исследователей свидетельствуют о первичности изменений в нейросенсорных клетках (Lee H.L., Yu D.Y., Tso M.O., 1990; Kozak Y., Tarraf M., 1991; Yamashita H., Horie K., Yamamota T., 1992; Rosner M., Lam T.T., Tso M.O., 1992; Chen E., 1993; Rapp L.M., Fisher R.L., Dhindesa H.S., 1994; Rapp L.M., Smith S.C., 1992; Unoki K., Ohba N., Arimura H., 1994; Wang H.M., Organisciak D.K., 1994; Koutz R., Wiegand R.D., Rapp K.M., Anderson K.A., 1995).

По нашим данным, в первую очередь возникают изменения в наружных сегментах НК, так как они являются первичными акцепторами световых квантов, характеризующиеся крайне высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот и белков. В основе прямого воздействия света на наружные сегменты лежат процессы фотосенсибилизированного свободно-радикального окисления. В сетчатке в качестве фотосенсибилизатора выступает ретиналь, который поглощая свет, способен не только изомеризоваться, но и инициировать окисление белков и липидов, что выражается в повреждении мембранных дисков наружных сегментов НК (Островский М.А., Донцов А.Е., Боултон М., 1991; Островский М.А., Федорович И.Б., 1994).

Кроме того установлено, что различные изомеры ретиналя являются эффективными фотогенераторами синглетного кислорода. В результате его химического тушения ретиналем и фосфоинозидами мембран

фоторецепторов образуются их гидроперикисные производные, способные индуцировать реакции свободно-радикального окисления липидов (Кулиев И.Я., Шведова А.А., 1982). Продукт восстановления ретиналя – ретинол разрушает лизосомальные мембраны, высвобождая ферменты, которые растворяют фоторецепторы (Ридинг Г.В., 1978). Авторами доказана роль этих органелл в развитии ряда патологических состояний сетчатки, сопровождающихся нарушением целостности лизосомальных мембран (Леус Н.Ф., Линник Л.А., 1989).

Следует отметить, что фоторецепторы гибнут не сразу, так как их отростки контактируют с пигментным эпителием, защищающим эти клетки. Во-первых: в процессе своего обновления наружные сегменты НК теряют свои диски, содержащие фотопигмент и таким образом устраняют компоненты, способные подвергаться фотохимическим превращениям (Young R.W., 1976). При этом клетки пигментного эпителия сетчатки утилизируют остатки наружных сегментов. Во-вторых: пигментоэпителиоциты содержат мощную антиоксидантную систему, включающую витамин Е, специализированные антиокислительные ферменты, органеллы, обладающие антирадикальной активностью (меланосомы). Так, в эксперименте пересадка пигментного эпителия в стареющую сетчатку предотвращала возрастные изменения фоторецепторов (Yamaguchi K. Et al., 1993). Также хорошие результаты дает трансплантация фоторецепторов от новорожденных белых крыс в сетчатки взрослых животных при неизменном пигментном эпителии (Silverman M.C. et al., 1989). При высокоинтенсивном световом воздействии разрушение наружных сегментов происходит гораздо быстрее их утилизации, наступает истощение ресурсов антиоксидантной системы, и оказавшиеся не нейтрализованными свободные радикалы разрушают НК и проникают во внутренние слои сетчатки.

Сразу после светового (6000 лк, 6ч.) и комбинированного воздействия в клетках пигментного эпителия возрастает фагоцитарная активность. Аналогичные данные приводятся в литературе и при других воздействиях (Ершов А.В., 1988; Логвинов С.В., 1993; Буймова Н.П., 1993; Потапов А.В., 1998; Малиновская И.С., 1998). Однако часть пигментоэпителиоцитов деструктивно изменена: исчезают микроворсинки, базальная складчатость, что затем приводит к гибели некоторых клеток. Деструкция пигментного эпителия носит очаговый характер, что вероятно связано с неодинаковым исходным состоянием клеток и хориокапилляров в данном участке сетчатки. Подобные изменения наблюдались при воздействии коротковолновым светом, диаминофеноксипентаном, комбинированным воздействием света и ионизирующей радиации (Логвинов С.В., Потапов А.В., 2000; Li J. Et al., 1993; Wang H.M. et al., 1994).

На 7-е сутки после высокоинтенсивного светового воздействия, а также облучения на фоне аллоксанового диабета в пигментоэпителиоцитах наступает срыв компенсаторных механизмов и происходит очаговая гибель пигментного эпителия. На таких участках фотосенсорный слой полностью разрушен. НЯС вплотную приближен к базальному комплексу, который утолщен и подвержен расслоению. В оставшихся пигментоэпителиоцитах ядра пикнотичны. В цитоплазме исчезает базальная складчатость, появляются мембранные комплексы и вакуоли с липофусциноподобным содержимым.

Существует два прямо противоположных мнения о роли липофусцина в генезе светового повреждения сетчатки. Одни авторы считают, что он образуется в результате неполной деградации фагоцитированных обломков наружных сегментов фоторецепторов и способен генерировать кислород при действии видимого света, таким образом проявляется его фотохимическая активность (Katz H.L. et al., 1989; Ko M.K. et al., 1991; Fite K.V. et al., 1993; Gaillard E.R. et al., 1995). М.А. Островский и соавторы (1991) считают, что

липофусциновые гранулы пигментного эпителия человека способны ингибировать перекисное окисление липидов, но эта способность невелика, так как меланосома оказывается в 5 раз более эффективным ингибитором.

В отдаленные сроки после светового и комбинированного воздействия в очагах повреждения сетчатки ядра большинства пигментоэпителиоцитов подвержены пикнозу. Цитоплазма клеток резко осмиофильна и содержит большое количество крупных вакуолей, мембранных комплексов. Вне очага часть клеток сохраняет свое обычное строение, а отдельные клетки гипертрофированы, в них активно идут процессы фагоцитоза. Подобные явления, отличающиеся от наших данных динамикой развития событий и выраженностью проявлений наблюдались после экспериментального воздействия йодной кислотой, облучения синим светом, фотокоагуляции, при возрастной макулопатии, комбинированном воздействии света и радиации (Логвинов С.В., Потапов А.В., 1997; 1998; Nasu K., 1990; Kishimoto N., Ohkuma H., Uyama M., 1991; Gottsch J.D., Fou S., Vynoe L.A., Rosen G.M., 1990; Dorey C.K., Delory C.F., Akeo K., 1990).

Наиболее ранние структурные изменения после светового и комбинированного воздействия наблюдаются в наружных сегментах НК. Они проявляются дезориентацией мембранных дисков и разрывом мембран. Данные изменения обнаружены и при таких экспериментальных воздействиях, как низкочастотный ультразвук, хроническая свинцовая интоксикация, под влиянием хлорохина и при дефиците витамина А (Артыгалиева Д.М., 1975; Иванина Т.А., Боровягин В.А., 1988; Афанасьев Ю.И., Никифоров С.А., 1990).

Репаративные процессы наружных сегментов находятся в зависимости от состояния внутренних сегментов НК (Baasinger S.F., Hoffman R.T., 1982; Moria M., Baker V.N., Williams T.D., 1986). По нашим данным изменения внутренних сегментов после светового воздействия и облучения через месяц после введения аллоксана характеризуются деструкцией митохондрий и

эндоплазматического ретикулума. В отдаленные сроки в некоторых участках сетчатки внутренние сегменты подвергаются фрагментации и теряют связь с перикарионом. В ранние сроки митохондрии увеличены и имеют электронно-прозрачный светлый матрикс. В эксперименте Е.Л. Даведовой и соавт. (1975) доказано, что на определенной стадии набухание митохондрий и даже их частичное разрушение могут быть связаны с временным увеличением метаболической активности. Так как возрастает выработка энергии вследствие увеличения энергообразующей поверхности. В последующем набухание митохондрий сочетается с выраженным снижением их ферментативной активности (Митин К.С., 1967). Изменения эндоплазматической сети проявляются снижением числа рибосом и полисом, что говорит об угнетении белоксинтезирующей функции клетки (Basinger S.F., Hoffman R.T., 1982; Moria M., Baker B.N., Williams T.D., 1986).

Одним из основных критериев обратимости нарушения НК является состояние ядерных структур. В первые сутки после светового облучения в 3,5 раза возрастает содержание НК с кариопикнозом по сравнению с контролем. На 7-е сутки наблюдается массовая гибель нейросенсорных клеток, при этом резко снижается численная плотность ядер в наружном ядерном слое. Изменения НЯС носят очаговый характер. Очаги представлены единичными ядрами нейросенсорных клеток, большинство из которых пикнотичны. Пространство между ними заполнено гипертрофированными отростками радиальной глии.

Необходимо отметить, что после светового воздействия на фоне аллоксанового диабета, начиная с 7-х суток, возникают достоверно более выраженные изменения НК по сравнению с таковыми после изолированного светового воздействия. Основная часть ядер фоторецепторов подвержена деструктивным изменениям в виде пикноза. Участки с тотальным отсутствием НК заполнены гипертрофированными отростками радиальной глии. Позднее, лишь единичные НК восстанавливают свое строение. В

литературе, подобные, но неодинаково выраженные изменения, обнаружены при воздействии света на фоне диабета (Johnson D.D., 1986), при пигментной абиотрофии сетчатки (Давыдова Г.А. и соавт., 1994), при воздействии ионизирующей радиации на фоне диабета (Stitt A.W., Anderson H.R., Gardiner T.A., 1994), при комбинированном воздействии света и ионизирующей радиации (Логвинов С.В., Потапов А.В., 1997; 1998; 2000), при воздействии света на фоне введения циклофосфана (Малиновская И.С., 1998).

На 14-30-е сутки процент пикнотичных ядер снижается, но остается достоверно выше после комбинированного воздействия по сравнению с данными после светового облучения. Снижение количества деструктивных ядер вероятно является результатом фагоцитарной деятельности пигментоэпителиоцитов, радиальных глиоцитов, а также фагоцитов, которые в виде моноклеаров выселяются в субретинальное пространство через сутки после облучения, а на 7-е сутки мигрируют в НЯС и дифференцируются в макрофаги. По мнению ряда авторов (Tso M.O., 1987; Li Z.L. et al., 1991; Fu J. et al., 1992) макрофаги, мигрировавшие из микроциркуляторного русла в сетчатку, помимо фагоцитарной функции генерируют супероксидные и гидроксильные радикалы, которые образуются в процессе фотооксидативной реакции. Данные субстраты атакуют НК и пигментоэпителиоциты.

Радиальные глиоциты на 14-е сутки после облучения образуют вокруг деструктивных ядер НК характерные многослойные глиальные пластины, которые изолируют их от окружающей ткани и впоследствии могут участвовать в фагоцитозе данных клеточных элементов.

Нейроны внутреннего ядерного слоя оказались более устойчивы к световому и комбинированному воздействию, чем нейросенсорные клетки. Их изменения имеют очаговый характер. Обращает на себя внимание совпадение очагов повреждения наружного и внутреннего ядерных слоев. На данных участках возрастает содержание пикноморфных ассоциативных

нейронов. Причем деструкции подвергаются амакринные и биполярные нейроны, а горизонтальные нейроны характеризуются реактивными изменениями. Это вероятно связано с низким содержанием мембранных органелл в этих нейронах, которые являются наиболее чувствительными к световому воздействию (Давыдова Т.В., 1984).

По данным С.В. Логвинова, А.В. Потапова (1997) при световом облучении чаще страдают амакринные нейроны, чем биполярные. Подобные результаты наблюдались после нейтронного воздействия, ионизирующей радиации, микроволнового облучения, при диабете (Логвинов С.В. и соавт. 1994; Логвинов С.В., 1998; Гаджиев Р.В., 1998). Учитывая тот факт, что в этом слое содержатся в большом количестве глиальные клетки, логично предположить причастность последних к механизму нарушения функции нейрональных элементов сетчатки, так как глия участвует в транспорте метаболитов, регулирует уровень нейромедиатора глутамата в сетчатке, который в высоких концентрациях губителен для нейронов, также внеклеточная ионная среда оптимизирована нейроглией для надлежащей электрофизиологической функции нейронов.

Максимальное содержание пикноморфных ассоциативных нейронов в очаге наблюдается на 7-е сутки. Причем необходимо отметить, что воздействие высокоинтенсивного света на фоне аллоксанового диабета дает достоверно более высокое содержание пикноморфных нейронов внутреннего ядерного слоя, по сравнению с таковым при изолированном световом воздействии. Очевидно происходит суммация эффектов этих двух повреждающих факторов. Начиная, с 14-х суток в очаге наблюдается тенденция к снижению данного показателя, минимум которого обнаруживается на 30-е сутки после облучения. Вероятно это происходит за счет фагоцитоза погибших нейронов макрофагами и глией.

На 14-е сутки в цитоплазме нейронов обнаруживаются мембранные комплексы. Причина и механизм появления этих образований обсуждается

многими исследователями. Одни авторы считают, что они являются результатом изменения мембранных компонентов цитоплазмы или видоизмененными остатками различных органелл клетки - митохондрий, гранулярной и агранулярной эндоплазматических сетей (Антипов В.В. и соавт. 1989; Moriya M. Et al., 1986). Другие авторы считают их следствием далеко зашедшего процесса деструкции клетки. Они появляются как один из этапов дезинтеграции липопротеидного остова цитоплазмы, локальной деструкции или даже секвестрации цитоплазмы (Боголепов Н.Н., 1979; Абдрахманов А.А., 1988).

Реакция мультиполярных нейронов ганглионарного слоя сетчатки на световое и комбинированное воздействие проявляется различной степени выраженности хроматолизом. Он является показателем реактивных изменений нервных клеток, отражая нарушение обмена функциональных белков. В дальнейшем при его нарастании в процесс вовлекаются структурные белки клеток. Эти изменения неспецифические и встречаются при гипоксии мозга (Пугаченко Н.В., 2000), после воздействия на сетчатку ионизирующей радиации (Логвинов С.В., 1998), микроволн (Логвинов С.В. и соавт. 1994), света (Потапов А.В., 1998). Изменяется также содержание пикноморфных нейронов. Содержание нейронов с хроматолизом на протяжении всего эксперимента после светового воздействия существенно не отличается от такового при комбинированном воздействии. Увеличение данного показателя наблюдается через сутки после светового облучения. В последующие сроки эта тенденция сохраняется и максимальные значения обнаруживаются на 14-е сутки после облучения. На 30-е сутки в динамике отмечается снижение содержания нейронов с хроматолизом. Очевидно, это связано с гибелью необратимо измененных нейронов, либо с восстановлением содержания гранулярного эндоплазматического ретикулаума в нейронах с очаговым хроматолизом.

В ходе эксперимента было установлено, что синапсы являются одной из самых чувствительных структур сетчатки глаза после комбинированного и светового воздействия. Это связано с особенностями их строения, так как все синаптические мембраны богаты полиненасыщенными жирными кислотами и повреждаются в результате активации перекисного окисления липидов сильнее, чем мембраны других участков нейрона (Razdan B. et al., 1993). Кроме того, синапсы являются местом наибольшего накопления ионов Са. Воздействие света увеличивает содержание Са в цитоплазме нервной клетки (Edwards D.F. et al., 1991; Li J. et al., 1993). Происходит дестабилизация синаптических мембран, а также активация протеолитических ферментов и Са-зависимой протеинкиназы, блокирующих работу энергетических и синтетических систем синапса (Razdan B. et al., 1993; Kristian T. et al., 1994).

В ранние сроки после облучения находили реактивные изменения синапсов, характеризующиеся увеличением количества набухших отростков, дезагрегацией везикул, отеком митохондрий. Данные изменения неспецифичны и наблюдались в синапсах мозга после острой экспериментальной гипоксии (Боголепов И.Н., 1972; 1975; 1979; Фельдман Н.Г., Вендило Н.Б., 1976; Абдрахманов А.А., 1986; 1987; Антипов В.В., 1987), под влиянием ионизирующей радиации и света высокой интенсивности на сетчатку (Потапов А.В., Логвинов С.В., 1999). Уже на первые сутки после комбинированного и светового воздействия нами были выявлены классические деструктивные изменения синапсов по светлому и темному типам, подробно описанные в литературе (Боголепов И.Н., 1979; Семченко В.В. и др. 1995).

Следует отметить, что деструкции по светлому типу подвергается большинство контактов после светового и комбинированного воздействия. Дегенерация по темному типу встречалась гораздо реже. Количественное исследование активных зон синапсов с помощью ФВК метода через 7 суток после светового и комбинированного воздействия свидетельствует о

значимом снижении общей численной плотности синапсов в условной единице площади нейропиля. При этом отмечается уменьшение содержания как симметричных, так и асимметричных синапсов, но последних в большей степени. Подобные изменения были обнаружены после облучения микроволнами, комбинированного воздействия света и ионизирующей радиации, светового воздействия на фоне введения циклофосфана (Логвинов С.В. и соавт. 1994; Потапов А.В., 1998; Малиновская И.С., 1998).

В наших экспериментах снижается плотность как искривленных, так и плоских синапсов, но в большей степени изменяются положительно искривленные контакты. Аналогичная динамика отмечена при ишемии мозга (Семченко В.В., Степанов С.С., Сергеева Е.Д., 1995; Логвинов С.В., Пугаченко Н.В. и соавт. 2001). По данным В.В. Семченко и соавт. (1995) плоские синапсы являются неактивными, а искривленные – активно функционирующими, причем положительно искривленные синапсы находятся в фазе экзоцитоза везикул.

Обнаружены выраженные нарушения ФВК-позитивных субсинаптических единиц. Уже через 7 дней после светового и комбинированного воздействия наблюдается нечеткость, размытость контуров и неравномерность прокрашивания плотных проекций асимметричных синапсов. Это свидетельствует о протеолитической деструкции данных филаментозных образований синапса. Подобные изменения нарушают синаптическую передачу при нормальной структуре синаптических везикул (Акерт К., 1972; Степанов С.С., 1986; Семченко В.В. и др., 1995). Усиливается вариабельность высоты плотных проекций в активной зоне. Уменьшается содержание контактов типа А (Dyson S., Jones D., 1976) с высотой более 60 нм, что вероятнее всего обусловлено начальными проявлениями повреждения микрофиламентозных образований субсинаптических единиц. Преобладающими становятся синапсы типа В и С с низкими и средней высоты плотными проекциями.

Современные представления о структурных механизмах пластичности синапсов основываются на положении, согласно которому различные формы межнейронных контактов в нормальном и патологически измененном мозге обладают возможностью взаимного перехода в живой ткани организма (Carverley R.K.S. et al., 1990). Отмечено, что реорганизации подвергаются только активно функционирующие синапсы. Это происходит потому, что активация посредством протеинкиназы систем синтеза белка осуществляется именно в зоне активных синаптических контактов (Ройтбак А.М., 1993). Так, в отдаленные сроки после комбинированного и светового воздействия в сетчатке наблюдается компенсаторная гипертрофия сохранившихся контактов, увеличение доли «высокоинформативных» синапсов с удлинённой активной зоной. Также идет преобразование незрелых синапсов в функционально зрелые. Это связано с тем, что в сетчатке высокое содержание симметричных синапсов, которые формируют своеобразное «синаптическое депо» и, таким образом, являются источником формирования активно функционирующих асимметричных контактов (Логвинов С.В., 1998).

Через 30 суток после светового и комбинированного воздействия наблюдаются процессы неосинаптогенеза. Новообразование синапсов сопровождается изменением состава межнейронных контактов. Наблюдается достоверное увеличение числа мелких синапсов с высотой плотных проекций <50 нм и длиной активной зоны контакта <100 нм по сравнению с контролем. Подобные проявления синаптической пластичности были обнаружены во внутреннем сетчатом слое сетчатки после тотального микроволнового и рентеновского излучений (Логвинов С.В., 1998), при комбинированном воздействии света и ионизирующей радиации (Потапов А.В., Логвинов С.В., 1999), при световом облучении на фоне введения циклофосфана (Малиновская И.С., 1998).

Мюллеровские глиоциты осуществляют активный транспорт метаболитов на разных уровнях сетчатки, участвуют в светоиндуцированном генерировании большей части электроретинограммы (Боровягин В.К., Франк Г.М., 1962; Давыдова Т.В., 1985; Дмитриев А.В., Быков К.А., Гаврилов К.Е., 1988). Кроме того, они входят в состав гематоретинального барьера, образуя наружную глиальную пограничную мембрану.

Деструктивные изменения радиальных глиоцитов идут параллельно с изменениями ассоциативных и ганглионарных нейронов. После светового воздействия на отдельных участках сетчатки резко возрастает процент пикноморфных глиоцитов, максимум которого наблюдается через 7 суток после облучения. В эти сроки в областях сетчатки, лишенных фоторецепторов вследствие их деструкции, наблюдается гипертрофия и усиление фагоцитарной активности радиальных глиоцитов. Но в их ядродержащих отделах увеличивается количество деструктивно измененных органелл, появляются мембранные комплексы. При разрушении фоторецепторных слоев в глиоцитах сетчатки повышается содержание фибриллярного кислого белка и регистрируется снижение синтеза глутаматсинтетазы вследствие гибели главного производителя глутамата – нейросенсорных клеток. Эти явления происходят как на фоне диабета (Bek T., 1997; Mizutani M., 1998), так и после светового воздействия (Groshe J. et al., 1995; de Raad S. et. al. 1996). В последующие сроки (14-30 сутки) происходит снижение содержания пикноморфных глиоцитов.

Через сутки после светового облучения на фоне аллоксанового диабета в 1,5 раза увеличивается содержание дегенеративных глиоцитов по сравнению с данными при изолированном световом воздействии. Очевидно, это происходит из-за потенцирующего действия диабета. В дальнейшем отмечается тенденция к снижению данного показателя, который достоверно не отличается от такового при изолированном световом воздействии. Вероятно, это снижение происходит из-за фагоцитоза погибших глиоцитов

макрофагами. Через 14 суток после светового и комбинированного воздействия в очагах, где практически полностью отсутствует наружный ядерный слой, обнаруживаются многослойные глиальные пластины, которые окружают деструктивно измененные фоторецепторы и вероятно участвуют в их фагоцитозе.

Помимо изменения тел глиоцитов при световом и комбинированном воздействии страдают и отростки глиоцитов. При электронно-микроскопическом исследовании интратретинальных сосудов на первый план выступают изменения перикапиллярных элементов радиальной глии. Отростки глиоцитов, окружающие капилляр, отечны, увеличены в объеме, обладают низкой электронной плотностью. Олигодендроглиоциты в слое нервных волокон и астроциты по ходу витреально расположенных кровеносных сосудов в ранние сроки после всех воздействий имеют реактивный характер. В более поздние сроки обнаруживаются единичные глиоциты с дегенеративными изменениями. Редко обнаруживаются микроглиоциты. S. Thanos et al. (1993) наблюдали миграцию этих клеток из внутренних слоев сетчатки к дегенеративно измененным нейросенсорным клеткам у крыс с наследственной дистрофией фоторецепторов сетчатки. Мы обнаруживали данные клеточные формы только во внутреннем ядерном и сетчатых слоях.

К структурным компонентам гематоретинального барьера относятся эндотелиоциты капилляров хориоидеи, базальный комплекс и пигментоэпителиоциты. После светового и комбинированного воздействия наблюдаются существенные нарушения гематоретинального барьера. Так в очагах имеются дефекты пигментного эпителия, в которых пигментоэпителиоциты отсутствуют, а ведь именно пигментный эпителий и плотные замыкающие контакты между клетками являются основным компонентом гематоретинального барьера. В этих же участках значительная часть хориокапилляров тромбирована, их эндотелиоциты гиперхромны и

пикноморфны. Базальный комплекс расслоен и коллагеновые волокна, входящие в его состав, теряют свою обычную исчерченность. В результате дефектов пигментного эпителия и базального комплекса наблюдается прорастание капилляров между пигментоэпителиоцитами в наружный ядерный слой. То есть отмечаются явления неоваскулогенеза. Подобные изменения наблюдали после лазерной фотокоагуляции (Lolley R.N. et al., 1994), при недостатке кровообращения сетчатки (Orzalezi N. et. al., 1994), при комбинированном воздействии светового и ионизирующего облучения (Потапов А.В., 1998), при световом облучении на фоне введения циклофосфана (Малиновская И.С., 1998). Новообразованные сосуды характеризуются наличием крупного фестончатого ядра и практически полным отсутствием базальной мембраны. Такие сосуды, по данным некоторых авторов (Ausprunk D.H., Folkman J., 1977) очень хрупки и легко кровоточат.

Таким образом, мы считаем, что аллоксановый диабет усиливает фотодегенерацию сетчатки. Вероятно, большую роль в данном синергистическом эффекте играет увеличение окислительного напряжения и срыв антиоксидантной защиты в сетчатке, как при световом воздействии, так и при сахарном диабете. На основании, вышеизложенного нам представляется следующая схема патоморфогенеза (рис. 49). По данным ряда авторов, как сахарный диабет ((Wolff S.P., 1987; Oberley L.W., 1988; Wolff S.P. et al., 1991; Baynes J.W., 1991; Kashiwagi A., Kikkawa R., 1991), так и световое воздействие (Островский М.А. и др., 1979; 1982; 1994) вызывают индукцию свободно-радикальных окислительных процессов. Этим можно объяснить механизм синергического эффекта при высокоинтенсивном облучении на фоне аллоксанового диабета. В патогенезе диабетической ретинопатии существенную роль отводят ретинальной гипоксии, которая вызывает образование ишемических неперфузируемых зон сетчатки с

последующей деструкцией клеточных элементов. При диабете в первую очередь подвергаются деструкции сосудистые элементы, а также клетки внутренних слоев сетчатки. Поражение радиальной глии влечет за собой нарушение глио-нейрональных взаимоотношений. В результате наблюдается деструкция нейронов внутреннего ядерного и ганглионарного слоев сетчатки. Поражение глиальных клеток приводит также к нарушению соседствующего с ними внеклеточного пространства, что лишает капилляры сетчатки опорки, создавая благоприятные условия для их аневризматического выпячивания. Осмотическое повреждение эндотелиальных клеток и перицитов, вызванное шунтированием глюкозы в полиоловом пути с накоплением сорбитола и фруктозы приводит к усилению сосудистой проницаемости. Утолщение базальной мембраны, обусловленное процессами неферментативного гликозилирования способствует увеличению ригидности стенки капилляров. Все эти изменения в дальнейшем приводят к нарушению гематоретинального барьера, что усугубляет гипоксию.

При высокоинтенсивном световом воздействии можно выделить 2 механизма влияния на сетчатку. Это прямое – через фотоокисление родопсина и фосфолипидов сетчатки и опосредованное воздействие – через сосудистые реакции. Прямой механизм приводит к дегенерации синапсов и нейросенсорных клеток, изменениям глии. Наиболее чувствительными к данному виду воздействия являются НК и синапсы. Это связано с содержанием в них большого количества мембранных структур: наружных сегментов, митохондрий, лизосом, синаптических везикул, пре- и постсинаптических мембран. Изменения глии и нарушение межнейрональных связей влекут за собой повреждение ассоциативных нейронов, что усугубляет изменения, предварительно вызванные аллоксановым диабетом. Немаловажную роль в опосредованном механизме повреждения сетчатки после светового облучения играют альтеративные изменения пигментоэпителиоцитов, а также сосудистые реакции в виде

тромбоза и облитерации сосудов хориоидеи, что в совокупности приводит к нарушению проницаемости гематоретинального барьера и развитию неоваскулогенеза, как и при диабете. Следствием чего является усиление дегенерации фоторецепторов, деструкции глии и нейронов внутренних слоев сетчатки, нарушения синаптических контактов.

ВЫВОДЫ

1. Аллоксановый диабет на ранней стадии своего развития усиливает фотодегенерацию сетчатки. Световое и комбинированное воздействие вызывают выраженные деструктивные изменения пигментоэпителиоцитов и нейросенсорных клеток с последующим очаговым выпадением соответствующих слоев сетчатки.
2. Ассоциативные нейроны внутреннего ядерного слоя и мультиполярные нейроны ганглионарного слоя более резистентны, чем нейросенсорные клетки к вышеперечисленным воздействиям, однако часть из них подвергается дегенерации после светового и сочетанного облучения.
3. Изменения синаптоархитектоники сетчатки после светового и в большей степени сочетанного с диабетом воздействия характеризуются снижением общей численной плотности контактов, в основном за счет асимметричных синапсов. Репарация синаптических образований осуществляется за счет неосинаптогенеза, созревания и гипертрофии контактов.
4. Реакция радиальной глии после светового воздействия, а также облучения на фоне аллоксанового диабета проявляется как деструктивными, так и прогрессивно-пролиферативными изменениями в виде повышения фагоцитарной активности и разрастания отростков, почти полностью заполняющих субретинальное пространство в очагах поражения.
5. На ранней стадии аллоксанового диабета выявляются неодинаковой выраженности реактивные ультраструктурные изменения всех слоев сетчатки, но наиболее ранимы при данной патологии сосуды

микроциркуляторного русла, радиальная глия и ассоциативные нейроны внутреннего ядерного слоя.

6. Изменения гематоретинального барьера характеризуются деструкцией его компонентов, что приводит к развитию процессов неоваскулогенеза, играющих ведущую роль в тканевых механизмах поражения сетчатки в поздний период после светового и сочетанного с диабетом воздействий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдрахманов А.А. Динамика ультраструктурных изменений коры головного мозга крысы в раннем периоде острой лучевой болезни, вызванной облучением нейтронами. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1986. – Т. 101., № 5. – С. 622-624.
2. Абдрахманов А.А. Ранние изменения ультраструктуры аксодендритических синапсов сенсомоторной коры крысы после общего облучения быстрыми нейтронами в высокой дозе. // Бюл. эксперим. биологии и медицины – 1987. – Т. 104., № 12. – С. 734-736.
3. Абдрахманов А.А. Влияние гамма радиации в сверх высокой дозе на кору большого мозга крысы (ультраструктурные аспекты) // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии – 1988 – Т. 94. - № 6. – С. 25-29.
4. Акерт К. Ультраструктура синапсов. // Архив анатомии. – 1972. – Т. 62., вып. 5. – С. 5-8.
5. Анестиади В.Х., Нагорнев В.А. Морфогенез атеросклероза. // Кишенев, «Штиинца», 1982. – 323 с.
6. Антелава Дж.Н. Материалы по изучению морфо-функциональных особенностей межуточного вещества сетчатки в норме и при нарушении кровообращения. // Изд-во «Сабчота Сакартвело», Тбилиси, 1964. – 151 с.
7. Антипов В.В., Федоров В.П., Ушаков И.Б., Давыдов Б.И. Изменение синапсов при γ -облучении головы крыс. // Радиобиология. – 1987. – Т. 27., вып. 5. – С. 644-650.
8. Антипов В.В., Федоров В.П., Ушаков И.Б., Давыдов Б.И. // Проблемы космической биологии. – Л.: Наука. – 1989. – Т. 66. – 328 с.
9. Артыгалиева Д.М. Морфологические изменения в сетчатке глаза у экспериментальных животных при хронической свинцовой интоксикации. // Автореф. дисс... канд. мед. наук. – Актюбинск, 1975. – 26 с.
10. Архангельский В.Н. Морфологические основы офтальмоскопической диагностики. // Медгиз – 1960. – 112 с.

11. Архипова М.М., Нероев В.В., Баратова Л.А., Лысенко В.С. L-аргинин в слезной жидкости больных с диабетической ретинопатией и возможная роль оксида азота в патогенезе ишемии сетчатки. // Вестник офтальмологии – 2000. – Т. 116., № 2. – С. 23-25.
12. Афанасьев Ю.И., Никифоров С.А. Ультраструктурные изменения палочковых нейросенсорных клеток при постепенном истощении запасов витамина А в организме. // Акт. вопр. морф.: Тез. док. 3 съезда анатомов, гистологов, эмбриологов и топографоанатомов. Укр.ССР. – Черновцы. – 1990. – С. 17-18.
13. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета. // Проблемы эндокринологии – 2000. – Т.46., № 6. – С. 29-34.
14. Балаболкин М.И., Гаврилюк Л.И. Сахарный диабет. // Кишенев, 1983. – 213 с.
15. Балашова Л.М., Зайцева И.С., Теплинская Л.Е., Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Образцова Е.Н., Аронскинд М.С. Антитела к коллагену II и IV типов, фактор некроза опухоли и циркулирующие иммунные комплексы в слезе и сыворотке крови у больных с различными стадиями диабетической ангиоретинопатии. // Вестник офтальмологии – 2000. – Т. 116., № 3. – С. 31-35.
16. Бахритбинова Ф.А. Гемореологические нарушения у больных с диабетической ретинопатией. // Вестник офтальмологии. – 1996. – Т. 112., № 2. – С. 33-35.
17. Беляева М.И., Шестаков В.А. Агрегация эритроцитов у больных с диабетической ретинопатией. // Вестник офтальмологии. – 1977. - № 6. – С. 57-60.
18. Беляева М.И. Роль агрегации эритроцитов в патогенезе микроциркуляторных изменений сетчатой оболочки у больных сахарным диабетом. // Вестник офтальмологии. – 1988. - Т. 104., № 1. – С. 66-71.

19. Берман А.Л., Рычкова М.Л. Тепловая денатурация оксина теплокровных как возможный механизм светового поражения сетчатки. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1984. –Т. 98., № 10. – С. 396-398.
20. Боголепов Н.Н. Патоморфологические изменения межнейрональных контактов при экспериментальной гипоксии // Журнал невропатологии и психиатрии им. С.С. Корсакова – 1972. – Т. 72., № 11. – С. 1653-1655.
21. Боголепов Н.Н. Ультраструктура синапсов в норме и патологии. М.: Медицина, 1975. – 96 с.
22. Боголепов Н.Н. Ультраструктура мозга при гипоксии. // М.: Медицина, 1979. – 168 с.
23. Боровягин В.Л., Франк Г.М. Субмикроскопическая организация и функциональные особенности мюллеровских клеток сетчатки. //Биофизика. – 1962. – Т. 7., № 1. – С. 42-50.
24. Буймова Н.П. Структурные нарушения сетчатки глаза при нейтронном облучении. // Структурно-функциональные единицы и их компоненты в органах висцеральной системы в норме и патологии: Тез. док. Харьков, - 1993. – С. 36.
25. Булатова О.С., Кондратьева Я.Ю., Миленьякая Т.М., Балаболкин М.И., Мамаева Г.Г., Чистяков Д.А., Туракулов Р.И., Носиков В.В., Дедов И.И. Окислительный стресс: Клинико-метаболические показатели и полиморфный маркер гена каталазы при развитии ретинопатии у больных сахарным диабетом второго типа. // Проблемы эндокринологии – 1999. – Т. 45, № 4. – С. 3-8.
26. Бутман А.Б., Маслаков О.А. Влияние длительного освещения сетчатки глаза кролика монохроматическим светом на ее функциональное состояние. //Гигиена труда. Профессиональные заболевания. – 1983. – № 1. – С. 38-40.
27. Вецвагарс Ю.Я., Ханина Е.В. Показатели липидного обмена на ранних

- стадиях диабета. // Проблемы эндокринологии. – 1978. - № 4. - С. 20-22.
28. Втюрин Б.В., Калашников М.М. К вопросу о функциональной морфологии ядерной оболочки и ее пор. // Архив патологии – 1972. - № 7. – С. 31-37.
29. Гаджиев Р.В. Роль стекловидного тела и состояние сетчатки в патогенезе диабетической ретинопатии. // Автореф. дисс. док. мед. наук. – Баку, 1998. – 26 с.
30. Глотова Н.М. Клиника и морфология помутнений сетчатки. // Автореф. дисс... канд. мед. наук. – Волгоград, 1961. – 18 с.
31. Глуходед С.В., Пивоваров Н.Н., Симонова К.К. Роль гемодинамики сетчатки в патогенезе пролиферативной диабетической ретинопатии. // Вестник офтальмологии – 1981. - № 4. – С. 71-73.
32. Гогина И.Ф., Плешанов Е.В., Гордий П.Д. Состояние энергетического обмена при диабетической ангиоретинопатии. // Офтальмологический журнал. – 1989. - № 2. – С. 96-99.
33. Гогина И.Ф., Плешанов Е.В., Ковалишин В.И. О патогенетических механизмах развития ангиоретинопатии при сахарном диабете. // Вестник офтальмологии. – 1987. – Т. 103., № 5. – С. 51-56.
34. Гурина О.Ю., Куприянов В.В., Миронов А.А. Механизмы неоваскулогенеза и его регуляция во взрослом организме. // Архив анатомии. – 1985. - № 1. – С. 9-24.
35. Давыдова Т.В. Состав и синаптическая организация внутреннего слоя сенсорной оболочки глазного яблока у черепах. // Архив анатомии гистологии и эмбриологии – 1984. - № 4. – С. 21-27.
36. Давыдова Т.В. Особенности ультраструктуры мюллеровских клеток в сетчатке водных и наземных черепах. // Цитология – 1985. – Т. 27., № 6. – С. 647-651.

37. Давыдова Г.А., Кацнельсон Л.А., Елисеева Р.Ф. Сосудистые изменения при пигментной абнотрофии сетчатки. // Вест. офтальмол. – 1994. – Т. 110., № 2. – С. 36-38.
38. Дегтяренко Т.В. Особенности иммунологического состояния организма и сенсбилизация к антигенам глаза и инсулину у больных с пролиферативной диабетической ретинопатией. // Офтальмологический журнал. – 1981. - № 2. – С. 95-98.
39. Дмитриев А.В., Быков К.А., Гавриков К.Е. Светоиндуцированная гиперполяризация глиальных мюллеровских клеток сетчатки лягушки. // Сенсорные системы. Л., 1988. – Т. 2., № 1 – С.27-30.
40. Доведова Е.Л., Боголепов Н.Н., Герштейн Л.М. Влияние экспериментальной гипоксии на некоторые стороны энергетического и белкового обмена в сопоставлении с изменениями ультраструктуры нейронов. – В кн.: Биохимия гипоксии / под ред. Е.М. Хватовой. – Горький, 1975. – С. 83-87.
41. Евграфов В.Ю., Алябьева Ж.Ю. Внутриглазные кровоизлияния диабетического генеза: современные представления о патогенезе ферментотерапии. // Вестник офтальмологии. – 1995. – Т. 111., № 4. – С. 35-37.
42. Егорова Э.В., Бабижаев М.А., Иванина Т.А., Зуева М.В., Иошин И.Э. Спектральные характеристики интраокулярных линз и повреждение сетчатки видимым светом. // Биофизика – 1988. – Т. 33., № 6. – С. 1035-1040.
43. Ершов А.В. Определение способности пигментного эпителия сетчатки новорожденных крыс к фагоцитозу наружных сегментов палочек. // Докл. АН СССР. –1988. – Т. 103., № 4. – С. 986-988.
44. Ефимов А.С. Диабетические ангиопатии. // М., Медицина, 1989. – 287 с.
45. Ефимов А.С., Германюк Я.Л., Генес С.Г. Сахарный диабет. // Киев, «Здоровье», 1983. – 224 с.

46. Жернокова С.А. Поражение глаз при наблюдении солнечного затмения. // Офтальмологический журнал – 1962. – № 4. – С. 248-249.
47. Зайцева Н.С., Слепова О.С., Ли Л.С., Дудникова Л.К. Иммунодиагностика диабетической ретинопатии. // Вестник офтальмологии. – 1990. - № 1. – С. 46-49.
48. Захаров Г.П. Изменение микроциркуляторного русла сетчатки крыс при экспериментальном аллоксановом диабете. // VI Всесоюзный съезд офтальмологов. Тезисы докладов. М., 1985. – С. 84-86.
49. Зербино Д.Д. Васкулиты и ангиопатии. // Киев, «Здоровье», 1977. – 104 с.
50. Зуева М.В., Иванина Т.А. Повреждающее действие видимого света на сетчатку в эксперименте (электрофизиологические и электронномикроскопические исследования). // Вестник офтальмологии. – 1980. – № 4. – с. 48-51.
51. Зуева М.В., Кармолин А.В., Федорович И.Б., Островский М.А. Механизмы фотоповреждения сетчатки // Патоморфология и биохимия глаза. – 1987. – С. 38-42.
52. Иванина Т.А., Боровягин В.Л. Изучение механизма повреждающего действия хлорохина на фоторецепторные мембраны сетчатки. // Биол. мембр. – 1988. – Т. 5., № 8. – С. 822-829.
53. Каган В.Е., Барыбина Г.В., Новиков К.Н. Перекисное окисление липидов и дегенерация фоторецепторов в сетчатке крыс при Е-авитаминозе. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 1977. – № 4. – С. 411-413.
54. Каган В.Е., Кулиев И.Я., Спиричев В.Б., Шведова А.А., Козлов Ю.П. Накопление продуктов перекисного окисления липидов и подавление электрической активности сетчатки Е-авитаминозных крыс при действии света высокой интенсивности. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 1981. – № 2. – С. 165-167.

55. Каган В.Е., Шведова А.А., Новиков К.Н. Об участии фосфолипаз в «регенерации» фоторецепторных мембран, подвергшихся перекисному окислению. // Биофизика – 1978. – Т. 23, № 2. – С. 279-283.
56. Кацнельсон Л.А., Форовонова Т.И., Бунин А.Я. Сосудистые заболевания глаза. // М., Медицина., 1990. – 272 с.
57. Кашинцева Л.Т., Салдан И.Р., Артемов А.В., Дегтяренко Т.В. Патогенетические особенности простой и пролиферативной диабетической ретинопатии. // Офтальмологический журнал. – 1988. – № 4. – С. 193-197.
58. Козлов М.П. Сульфгидрильная активность крови при экспериментальном диабете. Москва; 1977. – 11 с./ Рукопись депонирована во ВНИИМИ МЗ СССР №1354-77/.
59. Комаров Ф.И. Патология органа зрения при общих заболеваниях. // М., 1982. – 282 с.
60. Кондратьев Я.Ю., Носиков В.В., Дедов И.И. Полиморфные генетические маркеры и сосудистые осложнения сахарного диабета. // Проблемы эндокринологии. – 1998. – Т.44., №1. – С.43-52.
61. Кудряшов Б.А. Естественный диабетогенный фактор. // Советская медицина – 1989. - № 7. – С. 51-54.
62. Кулиев И.Я., Шведова А.А., Каган В.Е. Повреждающее действие света на сетчатку: участие сиглетного кислорода и перекисей липидов. // Доклады АН СССР. – 1982. – Т. 263., № 4. – С. 1005-1009.
63. Куприянов В.В. Сосудистый эндотелий. //Киев, «Здоровье», 1986. – 247 с.
64. Лейтес С.М. Патогенез нарушений обмена липидов у больных сахарным диабетом. // Терапевтический архив – 1972. – Т. 44., вып. 5. – С. 16-22.
65. Лекишвили В.П., Скотт Д.Дж. Диабетическая ретинопатия. // М., Медицина, 1968. – 112 с.
66. Леус Н.Т., Метелицына И.П., Линник Л.А. К механизму действия низких энергий монохроматического когерентного света на состояние лизосом

- сетчатой оболочки. // Офтальмологический журнал – 1989. – № 4. – С. 238-241.
67. Логвинов С.В. Закономерности поражения и репарации зрительного анализатора при воздействии микроволн и ионизирующей радиации. // Автореф. дисс... док. мед. наук. – Томск, 1993. – 43 с.
68. Логвинов С.В., Зуев В.Г., Ушаков И.Б., Тютрин И.И. Очерки неионизирующей радионейробиологии: структурно-функциональный анализ. – Томск: Изд-во Том.ун-та, 1994. – 208 с.
69. Логвинов С.В., Потапов А.В., Малиновская И.С. Изменение нейронов внутреннего ядерного слоя при комбинированном световом и рентгеновском облучении // Материалы юбилейной конференции «Медико-биологические аспекты нейрогуморальной регуляции», посвященной 35 - летию ЦНИЛ: Тезисы докладов. - Томск, 1997. – С. 37.
70. Логвинов С.В. Радиация и зрительный анализатор: нейроморфологические аспекты. – Томск: Изд-во НТЛ, 1998. – 138 с.
71. Логвинов С.В., Потапов А.В. Структурные изменения сетчатки при комбинированном воздействии света и рентгеновских лучей // Морфология. -2000.– Т. 117, вып. 1. – С. 19-23.
72. Логвинов С.В., Потапов А.В. Фотоповреждение нейросенсорных клеток сетчатки после предварительного рентгеновского облучения. //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 2000. – Т. 130, № 8. – С. 237-240.
73. Логвинов С.В., Пугаченко Н.В., Потапов А.В. и др. Изменения синаптоархитектоники коры большого мозга при ишемии и их коррекция асковертином и экстрактом левзеи. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2001. - № 10. – С. 473-476.
74. Мазовецкий А.Г., Великов В.К. Сахарный диабет. // М., Медицина, 1987. – 284 с.

75. Малиновская И.С. Структурные изменения нервных элементов глаза при комбинированном воздействии света и циклофосфана. // Автореф. дисс... канд. мед. наук. – Томск, 1998. – 20 с.
76. Манукян М. Течение экспериментального сахарного диабета, осложненного острой лучевой болезнью. // Автореф. дисс... канд. мед. наук, Ереван, 1966. – 16 с.
77. Марголис М.Г. Сахарный диабет и заболевания глаз. // // М., Медицина, 1966. – 174 с.
78. Махмудова В.М., Остапенко И.А. Изменение активности фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов и содержание зрительного пигмента в сетчатке при длительном освещении. // Украинский биохимический журнал. – 1981. – Т. 53., № 3. – С. 50-54.
79. Митин К.С. Структура митохондрий в норме и патологии. – В кн.: Митохондрии. Биохимия и морфология. – М.: Наука, 1967. – С. 98-106.
80. Можеренков В.П., Калинин А.П., Прокофьева Г.Л. Диабетическая ретинопатия. // Советская медицина. – 1989. - № 7. – С. 39-42.
81. Можеренков В.П., Калинин А.П. Диабетические поражения органа зрения. // Офтальмологический журнал. – 1991. - № 1. – С. 54-58.
82. Нелаева А.А., Бышевский А.Ш., Трошина И.А., Журавлева Т.О. Перекисное окисление липидов и гемостаз у больных инсулинзависимым сахарным диабетом. // Проблемы эндокринологии – 1998. - № 5. – С. 10-14.
83. Нероев В.В. Новые аспекты проблемы патологии сетчатки и зрительного нерва. // Вестник офтальмологии – 2000. – Т. 116., № 5. – С. 14-16.
84. Нестеров А.П. Роль местных факторов в патогенезе диабетической ретинопатии. // Вестник офтальмологии. – 1994. – Т. 110., № 4. – С. 7-9.
85. Нестеров А.П. Диабетические нарушения органа зрения. // Проблемы эндокринологии. – 1997. – Т. 43., № 3. – С. 16-19.

86. Островский М.А., Федорович И.Б. Механизмы повреждающего действия света на фоторецепторы сетчатки глаза. // Физиология человека. – 1982. – Т. 8., № 4. – С. 572-577.
87. Островский М.А., Федорович И.Б. Ретиналь как сенсibilизатор фотоповреждения ретинальсодержащих белков сетчатки глаза. // Биофизика – 1994. – Т. 39., вып. 1. – С. 13-15.
88. Островский М.А., Донцов А.Е., Боултон М. Исследование про- и антиоксидантных свойств липорусциновых гранул из клеток ретинального пигментного эпителия глаза человека. // Биологические мембраны – 1991. – Т. 8, № 11. – С. 1198-1200.
89. Островский М.А., Богословский А.И., Зуева М.В. Исследования механизмов повреждающего действия видимого света на здоровую сетчатку животных. // Вестник АМН СССР. – 1979. – № 12. – С. 57-61.
90. Плешанов Е.В., Гогина И.Ф. Морфологические основы патогенеза микроциркуляторных нарушений при различных стадиях диабетической ангиоретинопатии. // Офтальмологический журнал – 1985. - № 4. – С. 211-214.
91. Погожева И.Д., Федорович И.Б., Эммануэль Н.М., Островский М.А. Фотоповреждение молекулы родопсина при окислении SH-групп. // Биофизика. – 1981. – Т. 26, № 3. – С. 398-403.
92. Погожева И.Д., Кузнецов В.А., Федорович И.Б., Лившиц В.А., Островский М.А., Меношкина Н.М. Агрегация молекул родопсина при повреждающем действии света на фоторецепторные мембраны. // Биофизика. – 1981. – Т. 26., № 4. – С. 692-700.
93. Потапов А.В., Логвинов С.В., Малиновская И.С. Дегенеративные изменения сетчатки глаза белых крыс при воздействии высокоинтенсивного света. // Тезисы докладов IV Конгресса Международной ассоциации морфологов. Морфология – 1998. -Т. 113., № 3. – С. 97.

94. Потапов А.В. Структурные изменения сетчатки при комбинированном воздействии света высокой интенсивности и ионизирующей радиации. // Автореф. дисс... канд. мед. наук. – Томск, 1998. – 23 с.
95. Потапов А.В., Логвинов С.В. Изменения синапсов внутреннего плексиморфного слоя сетчатой оболочки глаза при комбинированном воздействии ионизирующей радиации и света высокой интенсивности // Морфологические науки практике здравоохранения и ветеринарии. Омск, 1999. – С. 44-45.
96. Преображенский Л.В., Шостак В.И., Балашевич Л.И. Световые повреждения глаз. Л., 1986.- 200 с.
97. Пугаченко Н.В. Структурные изменения коры большого мозга при ишемии и их коррекция препаратами растительного происхождения. // Автореф. дисс... канд. мед. наук – Томск, 2000. – 19 с.
98. Реутов В.П., Сорокина Е.Г. Физиологическая роль цикла окиси азота в организме человека и животных. // Физиология человека. – 1994. – Т. 20., № 3. – С. 165-167.
99. Ридинг Г. В. Лизосомы, циклические нуклеотиды и дегенерация сетчатки // Вестник Академии медицинских наук СССР. –1978. - № 10. - С. 8-12.
100. Ройтбак А.И. Глия и ее роль в нервной деятельности. – СПб., 1993. – 352 с.
101. Ромейс Б. Микроскопическая техника. М.: изд-во иностр. Лит-ры, 1953. – 719 с.
102. Салдан И.Р., Козина Л.В., Бакулева Н.В., Драченко К.Г. Кровоснабжение и гемомикроциркуляция глаза при различных формах и стадиях диабетической ретинопатии. // Офтальмологический журнал. – 1982. - № 8. – С. 473-477.
103. Салдан И.Р., Артемов А.В. Клинико-морфологическая характеристика изменений сетчатки у больных сахарным диабетом. // Офтальмологический журнал. – 1985. - № 6. – С. 364-367.

104. Салтыков Б.Б. Патогенетические механизмы диабетической микроангиопатии. // Архив патологии. – 1984. – Т. XLVI, № 8. – С. 78-83.
105. Семенова Г.С. О патогенетических механизмах развития ангиоретинопатии при сахарном диабете. // Вестник офтальмологии. – 1987. – Т. 103., № 5. – С. 51-55.
106. Семченко В.В., Боголепов Н.Н., Степанов С.С. Синаптоархитектоника коры большого мозга. – Омск, 1995. – 167 с.
107. Семченко В.В., Степанов С.С., Сергеева Е.Д. Структурные основы изменения кривизны синаптических контактов сенсомоторной коры и коры мозжечка в норме и при острой ишемии. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1995. – Т. 119., № 4. – С. 443-445.
108. Солдатова А.М., Усов Н.И., Плевинский В.П. Гистологические и гистохимические изменения сетчатой оболочки животных при воздействии различных источников света.// Структурно-функциональные единицы и их компоненты в органах висцеральной системы в норме и патологии: Тезисы доклада. Харьков, 1991. – 245 с.
109. Сорокин Е.Л., Смолякова Г.П. Структурно-функциональные особенности нарушения транскапиллярного обмена сетчатки у больных диабетической ретинопатией. // Вестник офтальмологии – 1997. – Т. 113., № 2. – С. 16-19.
110. Сорокин Е.Л. Значение симпатико-адреналовой системы и коры надпочечников в развитии диабетических микроангиопатий сетчатки. // Проблемы эндокринологии – 1998. – Т. 44., № 6. – С. 6-9.
111. Спесивцева В.Г. Состояние внутренних органов при сахарном диабете. // Ташкент, “Медицина”, 1985. – 216 с.
112. Степанов С.С. Синаптоархитектоника коры большого мозга в восстановительном периоде после кратковременной тотальной ишемии. // Автореф. дисс... канд. мед. наук - Новосибирск, 1986. – 16 с.

113. Туманов В.П. Падалогия синапсов центральной нервной системы. //Архив патологии. – 1984. - № 9. – С. 32-40.
114. Трутнева К.В., Зарецкая Р.Б., Михайлова Н.А. О кислородном балансе у больных с диабетической ретинопатией. // Вестник офтальмологии. – 1972. - № 6. – С. 25-30.
115. Узбекова Н.Д., Белованова И.М., Старосельцева Л.К. Раннее развитие диабетической микроангиопатии у больных с впервые выявленным сахарным диабетом молодого возраста. // Проблемы эндокринологии – 1992. – Т. 38., № 1. – С. 27-29.
116. Фельдман Н.Г., Вендило М.Б. Ультраструктура сетчатки глаза кролика в норме и при воздействии некоторых токсических веществ. // Функционально-структурные основы системной деятельности и механизмы пластичности мозга. – 1976. – вып. 5. – С. 154-157.
117. Ховряков А.В., Шиханов Н.П., Сосунов С.А., Иванов Н.М., Сосунов А.А. Апоптоз нейронов головного мозга белых крыс при стрессе. // Морфология – 2000. - № 3. – С. 128.
118. Чарный А.М., Зефирова Г.С., Рыбакова Л.М., Давитинидзе Л.М. Патоморфология диабетической микроангиопатии. // «Диабетическая ретинопатия» Тезисы докладов конференции, М., 1975. – С. 79-83.
119. Черкасов И.С., Усов Н.И., Солдатова А.М., Ковальчук Л.Л. Морфологические изменения сетчатой оболочки, вызванные различными источниками света в эксперименте (люминисцентные лампы и лампы накаливания). // Офтальмол. журнал – 1988. - № 6. – С. 362-364.
120. Чернух А.М. Микроциркуляция. // М., Медицина, 1984. – 429 с.
121. Чжинь И-Юй. Изменение межуточного вещества сетчатки под влиянием лучистой энергии. // Автореф. дис... канд. мед. наук. – Москва, 1959. – 11 с.
122. Шведова А.А. Роль процессов перекисного окисления липидов в повреждении мембранных структур сетчатки и использование

- антиоксидантов как средств химической профилактики и лечения глаз. // Автореф. дисс... док. биол. наук, Томск - 1986. – 48 с.
123. Шмелева Т.П. Межуточное вещество сетчатки и диска зрительного нерва при различных патологических процессах. // Автореф. дисс... канд. мед. наук, Москва - 1957. – 20 с.
124. Эггардт В.Ф., Тарасова Л.Н., Теплова С.Н., Алехина Т.В. Системный и местный иммунитет у больных с диабетической ретинопатией. // Вестник офтальмологии. – 1998. – Т. 114., № 1. – С. 46-47.
125. Adamis A.P., D'Amato R.J. Shedding light on diabetic retinopathy. // *Ophthalmology* – 1995. – Vol. 102, № 8. – P. 1127-1128.
126. Aello L.P., Avery R.L., Arigg P.G. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. // *Engl. J. Med* – 1994. – Vol. 331. – P. 1480-1487.
127. Alzaid A.A., Dinnen S.F., Melton L.J., Rizza R.A. The role of growth hormone in the development of diabetic retinopathy. // *Diabetes Care* – 1994. – Vol. 17., № 6. – P. 531-534.
128. Ambati S., Chalam K.V., Chalwa D.K., D'Angio C.T., Guillet E.G., Rose S.J., Vonderlinde R.E., Ambeti B.K. Elevated gamma-aminobutyric acid, glutamate and vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. // *Arch Ophthalmol* – 1997. – Vol. 115. – P. 1161-1166.
129. Amin R.H., Frank R.N., Kennedy A., Elliot D., Puklin J.E., Abrams G.W. Vascular endothelial growth factor is present in glial cells of the retina and optic nerve of human subjects with nonproliferative diabetic retinopathy. // *Investigative Ophthalmology&Visual Science* – 1997. – Vol. 38. – P. 36-47.
130. Amoaku W.M.K., Archer D.B. Cephalic radiation and retinal vasculopathy. // *Eye* – 1990. – Vol. 4. – P. 195-203.
131. Anderson H.R., Stitt A. W., Gardiner T. A., Archer D. B. Diabetic retinopathy : morphometric analysis of basement membrane within arterial and

- venous environments. // Br. J. Ophthalmol. – 1995. – Vol. 79., № 12. – P.1120-1123.
132. Anderson H.R., Stitt A. W., Gardiner T. A., Archer D. B. Diabetic retinopathy: quantitative variation in capillary basement membrane thickening in arterial on venous environments. // Br. J. Ophthalmol. – 1994. – Vol. 78., № 2. – P. 133-137.
133. Anderson H.R., Stitt A. W., Gardiner T. A., Archer D. B. Selective loss of vascular smooth muscle cells in the retinal microcirculation of diabetic dogs. // Br. J. Ophthalmol. – 1994. – Vol. 78., № 1. – P. 54-60.
134. Anderson J.M., Van Itallie C.M. Tight junctions and the molecular basis for regulation of paracellular permeability. // Am. J. Physiol. – 1995. – Vol. 269., № 13. – P. 467-476.
135. Ando H., Noell W.K. In vivo response of the rat's retinal pigment epithelium to azide: changes induced by light damage. // Jpn. J. Physiol. – 1993. – Vol. 43., № 3. – P. 311-322.
136. Antonetti Alistiar D.J., Barber Sonny Khin, Erich Lieth et al. Vascular permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occludin content : vascular endothelial growth factor decreases occludin in retinal endothelial cells. // Diabetes. – 1998. – Vol. 47., № 12. – P. 1953-1959.
137. Aonuma H., Koide K., Masuda K., Watanabe I. Retinal light damage: protective effect of alpha-tocopherol. // Jpn. J. Ophthalmol. – 1997. – Vol. 41., № 3. – P. 160-167.
138. Arafat A.F., Dutton G.N., Wykes W.N. Subclinical operating microscope retinopathy : the use of static perimetry in its detection. // Eye . – 1994. – № 8. – P. 467-472.
139. Attawia M. A., Nayak R. C. Circulating antipericyte autoantibodies in diabetic retinopathy. // Retina. – 1999. – Vol. 19., № 5. - P. 390-400.

140. Ausprunk D.H., Folkman J. Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. // *Microvasc. Res.* – 1977. – V. 14., № 1. – P. 53-65.
141. Azzolini C., Brancato R., Ventury G., Bandello F., Pece A., Santoro P.
142. Updating on intraoperative light-induced retinal injury. // *Int. Ophthalmol*95. – 1994. – Vol. 18., № 5. – P. 269-276.
143. Barbe M.F., Tytell M., Gower D.Y., Welch W.Y. Hypertermia protects against light damage in the rat retina. // *Science.* – 1988. – Vol. 241., № 4874. – P. 1817-1820.
144. Basinger S.F., Hoffman R.T. Regulation of rod shedding. // *Exp. Eye Res.* – 1982. – Vol. 34., № 3. – P. 75-84.
145. Baynes J.W., Thorpe S.R. Role of oxidative stress in diabetic complications : a new perspective on an old paradigm. // *Diabetes.* – 1999. – Vol. 48, № 1. – P. 1-9.
146. Baynes J.W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. // *Diabetes.* – 1991. – Vol. 40., № 4. – P. 405-412.
147. Bek T., Lund-Andersen H. Localised blood-retinal barrier leakage and retinal light sensivity in diabetic retinopathy. // *Br. J. Ophthalmol.* – 1990. – Vol. 77., № 7. – P. 388-392.
148. Bek T., Ledet T. Vascular occlusion in diabetic retinopathy . A qualitative and quantitative histopathological study. // *Acta Ophthalmol. Scand.* – 1996. – Vol. 74., № 1. – P. 36-40.
149. Bek T. Glial cell involvement in vascular occlusion of diabetic retinopathy. // *Acta Ophthalmol. Scand.* – 1997. – Vol. 75., № 3. – P. 239-243.
150. Bek T. Transretinal histopathological changes in capillary-free areas of diabetic retinopathy. Mizutini M., Kern T.S., Lorenzi M. Accelerated death of retinal microvascular cells in human and experimental diabetic retinopathy. // *Am. J. Ophthalmol.* – 1994. – Vol. 122., № 3. – P. 393-403.

151. Bek T. Immunohistochemical characterization of retinal glial cell changes in areas of vascular occlusion secondary to diabetic retinopathy. // *Acta Ophthalmol.Scand* – 1997. – Vol. 75., № 4. – P. 388-392.
152. van Best J.A., Putting B.J., Oosterhuis J.A., Zweypfenning R.C., Vrensen G.F. Function and morphology of the retinal pigment epithelium after light-induced damage. // ***Microsc. Res. Tech.* – 1997. – Vol. 36., № 2. – P. 77-88.**
153. Borsje R.A., Vrensen G.F., van Best Y.A., Oosterhuis Y.A. Fluorophotometric assessment of blood-retinal barrier function after white light exposure in the rabbit eye. // *Exp.Eye Res.* – 1990. – Vol. 50., № 3. – P. 297-304.
154. Bradham M.S., Montgomery D.M., Moseley H., Dutton G.N. Quatitative assessment of the blue-light hazard during indirect ophthalmoscopy and the increase in the “sefe” operating period achieved using a yellow lens. . // *Ophthalmology.* – 1995. – Vol. 102., № 5. – P. 799-804.
155. Brandstatter J.H., Shaw S.R., Mainertzhagen I.A. Terminal degeneration and synaptic disassembly following receptor photoablation in the retina of fly’s compound eye. // *J. Neurosci.* – 1991. – Vol. 11., № 7. – P. 1930-1941.
156. Brennan D.H. Ocular assessment of light induced problems // *Hazards light: myth and realities. Eye and skinproc 1-st int.Simp. North. Eye inst., Manchester July 1985-1986* – P. 285-293.
157. Brigss T.P., Parker C., Miller R.A., Phillips P.M., Dean F.M., Davey C.C. Blue light emission from urological equipment . Can it damage the eyes? // *Br. J. Optic nerve section on retinal light damage in rats //Exp Eye Res.* – 1992. – Vol. 52., № 2. – P. 139-153.
158. Brod R. D., Olsen K. R., Ball S. F., Packer A. J. The site of operating microscope light-induced injury on the human retina // *Am. J. Ophthalmol.* - 1989.- V. 107., № 4. - P. 390-397.

159. Brown G.C., Shields J.A., Sanborn G., Augsburger J.J., Savino P.J., Schatz N.J. Radiation retinopathy. // *Ophthalmol.* – 1982. – Vol. 89. – P. 1494-1501.
160. Burns M.S., Robles M. Muller cell GFAP expression exhibits gradient from focus of photoreceptor light damage. // *Curr. Eye Res.* – 1990. – Vol. 9., № 5. – P. 479-486.
161. Bynoe L.A., Gottsch Y.D., Satta S.R., Panton R.W., Maller E.M., Gleason C.A. An elevated hematogenous photosensitizer in the preterm neonate. // *Invest.Ophthalmol. Vis Sci* – 1993. – Vol. 34., № 10. – P. 2878-2880.
162. Calkins J.L., Hochheimer B.F., D'Anna S.A. Potential hazards from specific ophthalmic devices. // *Vision. Res.* – 1980. – Vol. 20., № 12. – P. 1039-1053.
163. Calkins J.L., Hochheimer B.F. Light-induced damage to the eye. // *Arch.Ophthalmol.* – 1979. – Vol. 97 – P. 2363.
164. Carlson E. C. Scanning and transmission electron microscopic studies of normal and diabetic acellular glomerular and retinal microvessel basement membranes.// *Microsc. Res. Tech.* – 1994. – Vol. 15., № 28(3). – P. 165-177.
165. Carverley R.K.S., Jones D.G. Contribution of dendritic spines and perforated synapses to synaptic plasticity. // *Brain Res. Rev.* – 1990. – Vol. 15. – P. 215-249.
166. Ceriello A. Hyperglycemia : the bridge between non-enzymatic glycation and oxidative stress in the pathogenesis of diabetic complications. // *Diabetes Nutr.Metabs.* – 1999. – Vol. 12., № 1. – P. 42-46.
167. Ceriello A., Bortolotti N., Motz E., Pieri C., Marra M., Tonutti L., Lizzio S., Feletto F., Catone B., Taboga C. Meal-induced oxidative stress and low-density lipoprotein oxidation in diabetes : the possible role of hyperglycemia. // *Metabolism.* – 1999. – Vol. 48., № 12. – P. 1503-1508.
168. Ceriello A., dello Russo P., Amstad P., Cerutti P. High glucose induced antioxidant enzymes in human endothelial cells in culture. Evidence linking hyperglycemia and oxidative stress. // *Diabetes.* – 1996. – Vol. 45., № 4. – P. 471-477.

169. Ceriello A.. The emerging role of post-prandial hyperglycaemic spekes in the pathogenesis of diabetic complications. // Diabet.Med. – 1998. –Vol. 15., № 3. – P.188-193.
170. Chang C.J., Abler A.S., Ful J., Tso M.O., Lam T.T. Photic injury triggers apoptosis of photoreceptor cells. // Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol. – 1996. – Vol. 92., № 2. – P. 177-189.
171. Chen E. Inhibition on enzymes by short-wave optical radiation and its effect on the retina. // Acta.Ophthalmol.Suppl. – 1993. – № 208. – P. 1-50.
172. Chen W.H., Zhang H.R. Determination of retinal illumination from operating microscopes and assessment of risk. . // Chung Hua Ko Tsa Chin – 1993. – Vol. 29., № 2. – P. 100-102.
173. Chen Y., Merzdorf C., Paul D.L., Goodenough D.A. CooH terminus of occludin is required for tight junction barrier function in early Xenopus embryos. // J. Cell Biol. – 1997. – Vol. 138.– P. 891-899.
174. Cogan D.G., Martin S.F., Kimura S.S. Ophthalmology survey of Atomic Bomb Survivors in Japan // Trans. Am. Ophthalm. Soc. - 1950. - V. 48. - P. 62-67.
175. Collier R.J., Waldron W.R., Zigman S. Temporal sequence of changes to the gray squirrel retina after near-UV exposure. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1989. – Vol. 30., № 4. – P. 631-637.
176. Colwell J.A. Platelets and diabetic retinopathy. // In “Diabetic Retinopathy” Thieme-Stratton Inc. New York. – 1983. – P. 119-124.
177. Dawson W.W. Blue light hazard in rat. // Invest. Ophthalmol. – 1976. – Vol. 15., № 8. – P. 795.
178. Dawson W.W., Herron W.L. Retinal photic injury in rat. // Invest. Ophthalmol. – 1970. – Vol. 9. – P. 89-96.
179. de Raad S., Szczesny P.J., Munz K., Reme C.E. Light damage in the rat retina: glial fibrillary acidic protein accumulates in Muller cells in correlation

- with photoreceptor damage. // *Ophthalmic. Res.* – 1996. – Vol. 28., № 2. – P. 99-107.
180. Dhir S.P., Joshi A.V., Banerjee A.K. Radiation retinopathy in diabetes mellitus. // *Acta Radiol. Oncol.* – 1982. – Vol. 21 – P. 111-113.
181. Dorchy H., Riedl C. Glycosylated haemoglobin and diabetes control. // *Acta Pediatr. Belg.* – 1980. – Vol. 33., № 3. – P. 195-196.
181. Dorey C.K., Delori F.C., Akeo K. Growth of cultured RPE and endothelial cells is inhibited by blue light but not green or red light. // *Curr. Eye Res.* – 1990. – Vol. 9., № 6. – P. 549-559.
182. Dunn J., McLetchie N., Sheehan H. Necrosis of islets of langerhans produced experimentally. // *Lancet.* – 1943. – Vol. 244., № 6242. – P. 484-487.
183. Dyson S.E., Jones D.G. Protective effect of mild hypothermia on brain ischemia. // *Brain Res.* – 1976. – Vol. 114., № 3. – P. 365-378.
184. Edwards D.F., Lam T.T., Shahinfar S., Li J., Tso M.O. Amelioration of Light-induced-retinal degeneration by a calcium overload blocker. Flunarizine. // *Arch. Ophthalmol.* – 1991. – Vol. 109., № 4. – P. 554-562.
185. Engerman R.L., Kern T.S. Retinopathy in animal models of diabetes. // *Diabetes Metab. Rev.* – 1995. – Vol. 11., № 2. – P. 109-120.
186. Fite K.V., Bengston L., Donaghey B. Experimental light damage increases lipofuscin in the retinal pigment epithelium of Japanese quail (*Coturnix japonice*). // *Exp Eye Res.* – 1993. – Vol. 57., № 4. – P. 448-453.
187. Frank R.N., Amin R.H., Elliott D., Puklin J.E., Abrams G.W. Kresge. Basic fibroblast growth factor are present in epiretinal and choroidal neovascular membrans. // *Am. J. Ophthalmol.* – 1996. – Vol. 122., № 3. – P. 393-403.
188. Fu M.X., Wells-Knecht K.J., Blackledge J.A., Lyons T.Y., Thorpe S.R., Baynes J.W. Glycation, glycooxidation and cross-linking of collagen by glucose. Kinetics, mechanisms and inhibition of late stages of Waillard reaction. // *Diabetes.* – 1994. – Vol. 43., № 5. – P. 676-683.

189. Fu J., Lam T.T., Tso M.O. Dexamethazone ameliorates retinal photic injury in albino rats. // *Exp. Eye Res.* – 1992. – Vol. 54., № 4. – P. 583-594.
190. Fuchs U., Tirius W., Vom Scheidt J., Reichenbech A. Morphometric analysis of retinal blood vessels in retinopathia diabetica. // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1985. – Vol. 223., № 2. – P. 83-87.
191. Fuchs U., Tirius W., Gonschorek S., vom Scheidt J. Increased capillary vulnerability in diabetic retinopathy. // *Klin Monatsbl Angenheilkd* – 1988. – Vol. 192., № 3. – P. 234-236.
192. Fuller D., Macheimer R., Knighton R.W. Injuries induced by diffuse phodynamic action in retina and choroid of albini rats. // *Vis.Res.* – 1980. – Vol. 20 – P. 1055-1072.
193. Furuse M., Hirase T., Ith M., Nagafuchi A., Yonemura S., Tsukita S. Occludin: a novel integral protein localizing at light junctions. // *J.Cell Biol.* – 1993. – Vol. 123. – P. 1777-1788.
194. Gaillard E.R., Atherton S.J., Elderred G., Dillan J. Photophysical studies on human retinal lipofuscin. // *Photochem. Photobiol.* – 1995. – Vol. 61., № 5. – P. 448-453.
195. Gall M.A., Rossing P., Skott P., Damsbo P., Vaag A., Bech K. Prevalence of micro and macroalbuminuria arterial hypertension, retinopathy and large vessel disease in European type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. // *Diabetologia.* – 1991. – Vol. 34., № 9. – P. 471-477.
196. Gardiner T.A., Stitt A.W., Anderson H.R., Archer D.B. Selective loss of vascular smooth muscle cells in the retinal microcirculation of diabetic dogs. // *Br. J. Ophthalmol.* – 1994. – Vol. 78., № 1. – P. 54-60.
197. Gardiner T.A., Amoaku W.M.K., Archer D.B. The combined effect of diabetes and ionising radiation on the retinal vasculature of the rat. // *Current Eye Res.* – 1993. – Vol. 12., № 11. – P. 1009-1014.
198. Garner A. Histopathology of diabetic retinopathy in man. // *Eye.* – 1993. – Vol. 7., № 2. – P. 250-253.

199. Gardner T.W., Lieth E., Khin S.A., Barber A.S., Bonsall D.J., Leshner T., Rice K., Brennen W. A. Astrocytes increase barrier function and ZO-1 protein expression in cultured retinal capillary endothelial cells. // *Invest. Ophthalmol Vis Sci.* – 1997. – Vol. 38. – P. 2423-2427.
- 200. Gargini C., Belfiore MS., Bisti S., Cervetto L., Valter K., Stone J. The impact of basic fibroblast growth factor on photoreceptor function and morphology. // *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1999. – Vol. 40., № 9. – P. 2088-2099.**
201. Gamberino W.C., Berkich D.A., Lynch C.S., Xu B., La Noue K.F. Role of pyruvate carboxylase in facilitation of synthesis of glutamate and glutamine in cultured astrocytes. // *Jn. Rochem* – 1997. – Vol. 69. – P. 2312-2375.
202. Gillies M.C., Su T., Stayt J., Simpson J. M., Naideo D., Salonikas C.
203. Effects of high glucose on permeability of retinal capillary endothelium in vitro. // *Invest. Ophthalmol Vis Sci.* – 1997. – Vol. 38., № 3. – P. 635-642.
204. Giugliano D., Ceriello A., Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. // *Diabetes Care.* – 1996. – Vol. 19., № 3. – P. 257-267.
205. Gorgels T.G., van Norren D. Ultraviolet and green light cause different types of damage in rat retina. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1995. – Vol. 36., № 5. – P. 851-863.
206. Gottsch J.D., Pou S., Bynoe L.A., Rosen G.M. Hematogenous photosensitization. A mechanism for the development of age-related macular degeneration. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1990. – Vol. 31., № 9. – P. 1674-1682.
207. Grosche J., Harting W., Reinchenbach A. Expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP), glutamine synthetase (GS), and Bcl-2 protooncogene protein by Miller (glial) cells in retinal light damage of rats. // *Neurosci Lett.* – 1995. – Vol. 185., № 2. – P. 119-122.

208. Grosche J., Grimm D., Clemens N., Reichenbach A. Retinal light damage vs. normal aging of rats: altered morphology, intermediate filament expression, and nuclear organization of Muller cells. // J. Hirnforsch. – 1997. – Vol. 38., № 4. – P. 459-470.
209. Ham W.T., Mueller H.A., Wolbarsht M. L., Sliney D.H. Evaluation of retinal exposure from repetitively pulsed and scanning lasers. // Health.Phys. – 1988. – Vol. 54., № 3. – P. 337-344.
210. Ham W.T. Actions spectrum for retinal injury from nearultraviolet radiation in the aphakic monkey.// Ophthalmol. – 1982. – Vol. 93. – P. 299-306.
211. Ham W., Mueller H.A., Ruffolo J.J., Millen J.E., Cleary S.F., Guerry R.K. Basic mechanisms underlying the production of photochemical lesions in the mammalian retina. // Curr.Eye.Res. – 1984. – Vol. 3. – P. 165-174.
212. Henry M.M., Henry L.M. A possible cause of chronic cystic maculopathy. // Ann.Ophthalmol – 1977. – Vol. 9., № 4. – P. 455-457.
213. Hansson H.A. Ultrastructure studies on rat retinal damage by visible light. // Virchows Archive – 1970. – Vol. 6. – 247 p.
214. Heath H., Brigden W.D., Canever J.V., Pollock J., Hunter P.R., Kelsey J., Bloom S. Platelet adhesiveness and aggregation in relation to diabetic retinopathy. // Diabetologia. – 1971. - № 7. – P. 308-315.
215. Heeke D.S., White M.P., Mele G.D., Hanifin J.P., Brainard G.C., Rollag M.D., Winget C.M., Holley D.C. Light-emitting diodes and cool white fluorescent light similarly suppress pineal gland melatonin and maintain retinal function and morphology in the rat. // Lab. Anim. Sci. – 1999. –Vol. 49., № 3. – P. 297-304.
216. Hietanen M.T., Hoikkala M.J. Ultraviolet radiation and blue light from photofloods in television studios and theaters. // Health. Phys. – 1990. – Vol. 59., № 2. – P. 93-198.

217. Hoppeler T., Hendrickson P., Dietrich C., Reme C. Morphology and time-course of defined photochemical lesions in the rabbits retina. // *Curr Eye Res.* – 1988. – Vol. 7., № 39. – P. 849-860.
218. Huxlin K.R., Dreher Z., Schulz H., Dreher B. Glial reactivity in the retina of adult rats. // *Glia* – 1995. – Vol. 15. – P. 105-118.
219. Hori S., Nishida T., Mukai N. Ultrastructural studies on lysosomes in retinal Muller cells of streptozotocin-diabetic rats. // *Invest Ophthalmol Vis Sci* – 1980. – Vol. 19., № 11. – P. 1295-1300.
220. Imesch P. D., Bindley C. D., Wallow I. H. Clinicopathology correlation of intraretinal microvascular abnormalities. // *Retina.* – 1997. – Vol. 17., № 4. – P. 321-329.
221. Ishibashi T., Inomata H. Ultrastructural of retinal vessels in diabetic patients. // *Br. J. Ophthalmol* – 1993. – Vol. 77., № 9. – P. 574-578.
222. Ishibashi T., Murata T., Kohno T., Ohnishi Y., Inomada H. Peripheral choriovitreal neovascularization in proliferative diabetic retinopathy : histopathologic and ultrastructural study. // *Ophthalmologica.* – 1999. – Vol. 213., № 3. – P. 154-158.
223. Ishibashi T. Cell Biology of intraocular vascular diseases. // *Jpn J. Ophthalmol* – 2000. – Vol. 44., № 3. – P. 323-324.
224. Ishibashi T., Tanaka K., Taniguchi Y. Platelet aggregation and coagulation in the pathogenesis of diabetic retinopathy in rats. // *Diabetes* – 1981. – Vol. 30., № 7. – P. 601-606.
225. Ishikawa A., Ishiguro S., Tamai H. Accumulation of gamma- aminobutyric acid in diabetic rat retinal Muller cells evidenced by electron microscopic immunocyto chemistry. // *Curr Eye Res.* – 1996. – Vol. 15., № 9. – P. 958-964.
226. Jacobs H. Hypoglycemic action of alloxan. // *Proc.Soc.Exper.Biol.Med.* – 1937. – Vol. 37., № 2. – P. 407-409.

227. Jiangmei W.U., Seregard S., Spanberg B., Oskarsson M., Enping Chen. Blue light induced apoptosis in rat retina. // The Royal College of Ophthalmologists of London Publications- Eye 13-4. – 1999. – V. 13., № 4. – P. 15-17.
228. Johnson D.D., O’Steen W.K., Duncan T.E. Photically-induced retinal damage in diabetic rats. // Curr. Eye Res. – 1986. – Vol. 5., № 1. – P. 1-7.
229. Kapusta N.V., Zak B.Y. Deterioration of action of oxygen in easy damage retina in white rats. // Biull. Eksp. Biol. Med. – 1987. – Vol. 104., № 7. – P. 102-104.
230. Karren K.A., Kroll S.M., Char D.H., Castro J.R. Diabetic radiation morbidity. // Br.J. Ophthalmol. – 1992. – Vol. 76. – P. 61-62.
231. Kashiwagi A., Kikkawa R. Abnormaj glutatione redox cycle in cultured human endothelial cells forthe pathogenesis of diabetic vascular complications. // In “Diabetes 1991, Proc. 14th Int. Diabetes Fed. Congress” Excerpta Medica, Amsterdam, 1991. – P. 679-682.
232. Katz H.L., Eldred G.E. retinal light damage reduced autofluorescent pigment deposition in the retinal pigment epithelium. // Invest. Ophthalmol. Vis Sci – 1989. – Vol. 30., № 1. – P. 37-43.
233. Kern T.S., Engerman R.L. Vascular lesions in diabetes are distributed non-uniformly within retina. // Exp. Eye Res – 1995. – Vol. 60., № 5. – P. 545-49.
234. Kishi S., Numaga T., Yamazeki S. Structure of the inner retinal surface in simple diabetic retinopathy. // Jpn. J. Ophtalmol – 1982. – Vol. 26., № 2. – P. 141-149.
235. Kishimoto N., Ohkuma H., Uyama M. Detection of destruction of anionic sites in the outer blood-retinal barrier and damage caused by iron. // Nippon. Ganka. Gakkai. Zasshi. – 1990. – Vol. 94., № 7. – P. 645-653.
236. Ko M.K., Lee W.R., McKechnie N.M., Hall-Parker B. Post-traumatic hyperlipofuscinosis in the human retinal pigment epithelium. // Br.J. Ophthalmol. Vis Sci – 1991. – Vol. 75., № 1. – P. 54-60.

237. Koutz C.A., Wiegand R.D., Rapp L.M., Anderson R/E/ Effect of dietary fat on the response of the rat retina to chronic and acute light stress. // *Exp.Eye.Res.* – 1995. – Vol. 60., № 3. – P. 307-316.
238. Kozak Y., Tarraf M., Mirshahi M., Thillaye B., Faure J.P. Light-induced changes in S-antigen (arrestin) localization in retinal photoreceptors: differences between rods and cones and defective process in RCS rat retinal dystrophy. // *Eur. J. Cell. Biol.* – 1994. – Vol. 63., № 1. – P. 61-67.
239. Kozaki J., Takeuchi M., Takehashi K., Yamagishi K., Ohkuma H., Uyama M. Protective effect of alpha-tocopherol in retinal light damage of pigmented rabbits- evaluation by nitro blue tetrazolium staining. // *Nippon.Ganka Gakkai Zasshi.* – 1995. – Vol. 99., № 2. – P. 161-165.
240. Kozaki J., Takeuchi M., Takehashi K., Yamagishi K., Ohkuma H., Uyama M. Light-induced retinal damage in pigmented rabbits-1. Histopathological observations of the retinal course of healing. // *Nippon.Ganka Gakkai Zasshi.* – 1994. – Vol. 98., № 8. – P. 738-748.
241. Kozaki J., Takeuchi M., Takehashi K., Yamagishi K., Ohkuma H., Uyama M. Light-induced retinal damage in pigmented rabbit. Effect of alpha-tocopherol. // *Nippon.Ganka Gakkai Zasshi.* – 1994. – Vol. 98., № 10. – P. 948-954.
242. Kristian T., Katsura K., Gido G., Siesjo B.K. The influence of PH on cellular calcium influx during ischemia. // *Brain Res.* – 1994. – V. 641., № 2. – P. 295-302.
243. Kwaan H.C., Colwell J.A., Cruz S., Suwanwela N., Dobbie J.G. Increased platelet aggregation in diabetes mellitus. // *J. Lab. Clin. Med.* – 1972. - Vol.80. – P. 236-246.
244. Lazarow A. Experimental diabetes. Oxford,1954.- 215 p.
245. Lazarow A. Protective effect glutathione and cysteine aganist alloxan diabetes in the rat. // *Proc.Soc.Exper. Biol. Med.* – 1946. – Vol. 61., № 4. – P. 441-447.
246. Lee F.L, Yu D.Y, Tso M.O. Effect of continuous versus multiple intermittent light exposures on retina. // *Curr.Eye.Res.* –1990. – Vol. 49., № 2-3. –

- P. 104-111.
247. Li J., Edward D.P., Lam T.T., Tso M.O. Amelioration of retinal photic injury by a combination of flunarizine and dimethylthiourea. // *Exp. Eye Res.* – 1993. – Vol. 56., № 1. – P. 71-78.
248. Li S., Chang C.J., Abler A.S., Fu J., Tso M.O., Lam T.T. A comparison of continuous versus intermittent light exposure on apoptosis. // *Curr. Eye Res.* – 1996. – Vol. 15., № 9. – P. 914-922.
249. Li W., Yanoff M., Liu X., Ye X. Retinal capillary pericyte apoptosis in early human diabetic retinopathy. // *Chin Med J. (Engl)* – 1997. – Vol. 110., № 9. – P. 659-663.
250. Li Z.L., Lam S., Tso M.O. Desferrioxamine ameliorates retinal photic injury in albino rats. // *Curr. Eye Res.* – 1991. – Vol. 10., № 2. – P. 133-144.
251. Linsemeier R.A., Padnick-Silver L. Metabolic dependence of photoreceptors on the choroid in the normal and detached retina. // *Ophthalmol Vis Sci* – 2000. – Vol. 41., № 10. – P. 317-323.
252. Lieth Alistair E.S., Barber Beiyang Xu Chelsea Diceet. Glial Reactivity and Impaired Glutamate Metabolism in Short –Term Experimental Diabetic Retinopathy Diabetes. // New York, - 1998. - Vol. 47., № 5. – P. 815-823.
253. Little H.L. Role of blood elements in the pathogenesis of diabetic retinopathy. // In “Diabetic Retinopathy” Thieme-Stratton Inc. New York. – 1983. – P. 136-147.
254. Ljubimov A.W., Burgenson R.E., Butkowski R.J., Couchman J.R., Zardi L., Ninomiya Y., Sado Y., Huang Z.S., Nesbum A.B., Kenney M.C. Basement membrane abnormalities in human eyes with diabetic retinopathy. // *J. Histochem. Cytochem.* – 1996. – Vol. 44., № 12. – P. 1469-1479.
255. Lolley R.N., Rong H., Craft C.M. Linkage of photoreceptor degeneration by apoptosis with inherited defect in phototransduction. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1994. – V. 35., № 2. – P. 358-362.

256. Lucas D.R., Newhouse S.P. The toxic effect of sodium-glutamate on the inner layers of the retina. // Am. Med. Assoc. Arch Ophthalmol – 1957. – Vol. 58. – P. 193-201.
257. Malecaze F., Clamens S., Sinore-Pinatel V. Detection of endothelial growth factor messenger RNA and vascular endothelial growth factor-like activity in proliferative diabetic retinopathy. // Arch. Ophthalmol – 1994. – Vol. 112. – P. 1476-1482.
258. Maske H. Role of zinc in insulin secretion in diabetes. /Ed by R.H. Williams 1960. - P. 46-51.
- 259. Masuda K., Watanabe I., Unoki K., Ohba N., Muramatsu T. Functional rescue of photoreceptors from the damaging effects of constant light by survival-promoting factors in the rat. // Invest Ophthalmol. Vis. Sci. – 1995. – Vol. 36., № 10. – P. 2142-2146.**
260. Mathews M.K., Merges C., McLeod D.S., Luty G.A., Wilmer. Vascular endothelial growth factor and vascular permeability changes in human diabetic retinopathy. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1997. – Vol. 38., № 13. – P. 2729-2741.
261. McDonald H.R., Irvine A.R. Light-induced maculopathy from the operation microscope in extracapsular cataract extraction and intraocular lens implantation. // Ophthalmol – 1983. – Vol. 90. – P. 945-951.
262. McMillan D.E. Plasma, protein changes , blood viscosity and diabetic microangiopathy. // Diabetes. – 1976. – Vol. 25. – P. 858-864.
263. Moriya M., Barker B.N., Williams T.P. Progression and reversibility of early light-induced alterations in rat retinal rods. // Cell and tissue Res. – 1986. – Vol. 246., № 3. – P. 607-621.
264. Michels M., Sternberg P.Jr. Operating microscope-induced retinal phototoxicity : pathophysiology, chemical manifestations and revention. // Surv. Ophthalmol. – 1990. – Vol. 34., № 4. – P. 237-252.

265. Michels M., Lewis H., Abrams G.W., Han D.P., Mieller W.F., Neitz J. Macular phototoxicity caused by fiberoptic endoillumination during pars plane vitrectomy. // *Am.J. Ophthalmol.* – 1992. – Vol. 14., № 3. – P. 287-296.
266. Miller J.W., Walsh A.W., Kramer M., hasan T., Michand N., Flotte T.J., Haimovici R., Gragoudas E.S. Photodynamic therapy of experimental choroidal neovascularization using lipoprotein-delivered benzoporphyrin. // *Arch Ophthalmol* – 1995. – Vol. 113., № 6. – P. 810-818.
267. Miller J.W., Adamis A.P., Shima D.T. vascular endothelial growth-factor/vascular permeability factor is temporally and spatially correlated with ocular angiogenesis in primate model. // *Am. J. Pathol* – 1994. – Vol. 145. – P. 574-584.
268. Mizutani M., Kern T.S., Lorenzi M. Accelerated death of retinal microvascular cells in human and experimental diabetic retinopathy. // *J. Clin Invest* – 1996. – Vol. 97., № 12. – P. 2883-2890.
269. Mizutani M., Gerharolinger C., Lorenzi M. Muller cells changes in human diabetic retinopathy. // *Diabetes* – 1998. – Vol. 47., № 3. – P. 445-449.
270. Mori K., Yoneya S., Iida T., Hayashi N., Abe T. Retinal damage induced by visible blue and near-infrared light of an operating microscope. // *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* – 1992. – Vol. 96., № 9. – P. 1112-1119.
271. Murata T., Ishibashi T., Khalil A., hata Y., Yoshikawa H., Inomata H. Vascular endothelial growth factor plays a role in hyperpermeability of diabetic retinal vessels. // *Ophthalmic Res.* – 1995. – Vol. 27., № 1. – P. 48-52.
272. Nasu K. Choroidal blood flow in chronic stage of selective retinal damage after moniodoacetic acid injection. // *Nippon. Ganka. Gakkai. Zasshi.* – 1990. – Vol. 94., № 2. – P. 152-159.
273. Nelson L. Boquist-factors affecting the inhibition by alloxan and effect of streptozotocin on phosphate transport in isolated mouse mitochondria. // *Acta diabetol. latina* – 1982. – Vol. 19., № 4. – P. 319-329.

274. Newman E., Reichenbach A. The Muller cell: a functional elements of the retina. // *Ti'S* – 1996. – P. 307-311.
275. Noell W.K., Walker U.S., Kang B.S., Berman S. Retinal damage by light in rats. // *Invest.Ophthalmol. Vis Sci* – 1966. – Vol. 5. – P. 450-473.
276. van Norren D., Schellekens P. Blue light hazard in rat. // *Vision Res.* - 1990. – Vol. 30., № 10. – P. 1517-1520.
277. Oberley L.W. Free radicals and diabetes. // *Free Radic. Biol. Med.* – 1988. – Vol. 5., № 2. – P. 113-124.
278. O'Callaghan J.P. Quantification of glial fibrillary acidic protein : comparison of slot-immunofinding assays with a novel sandwich. // *ELISA Neurotox. Zeal Terabol* – 1991 – Vol. 13 – P. 270-281.
279. O'Steen W.K., Bare D.J., Tytell M., Morris M., Gower D.J. Water deprivation, protects photoreceptors aganist light damage. // *Brain Res.* – 1990. – Vol. 534., № 1-2. – P. 99-105.
280. Ogura Y. In vivo evaluation of leucocyte dynamics in the retinal and choroidal circulation. // *Jpn. J. Ophthalmol* – 2000. – Vol. 44., № 3. – P. 322-323.
281. Olney S.W. Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice : electron microscopy of the acutely evolving lesion. // *J. Neuropathol Exp Neurol* – 1969. – Vol. 28. – P. 455-474.
282. Organisciak D.T., Jiang Y.L., Wang H.M., Pickford M., Blanks J.C. Retinal light damage in rats exposed to intermittent light. Comparison with continuous light exposure. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1989. – Vol. 30., № 5. – P. 795-805.
283. Organisciak D.T., Darrow R.M., Yiang Y.I., Marak G.E., Blanks Y.C. Protection by dimethylthiourea against retinal light damage in rats. // *Invest.Ophthalmol. Vis Sci* – 1992. – Vol. 33., № 5. – P. 1599-1609.
284. Organisciak D.T., Darrow R.M., Noell W.K., Blanks Y.C. Hypertermia accelerates retinal light damage in rats. // *Invest.Ophthalmol. Vis Sci* – 1995. – Vol. 36., № 6. – P. 997-1008.

285. Orzalesi N. Exposure to the light of an operating microscope. // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 1993. – Vol. 231., № 11. – P. 674-679.
286. Orzalesi N., Migliavacca L., Miglior S. Subretinal neovascularisation after naphthalene damage to the rabbit retina. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1994. – Vol. 35., № 2. – P. 696-705.
287. Ostrovskii M.A., Sakina N.L., Dontsov A.E. System of protection of an eye structures from damage of a photo. Screening pigments in vertebrates - melanosomes as inhibitors of a photo-oxidation processes. // Zh. Evol. Biokhim. Fiziol. – 1987. – Vol. 23., № 5. – P. 575-581.
288. Parver L.M., Mitchard R., Ham W.T. Sensitivity to retinal light damage and surgical blood oxygen levels. // Ann. Ophthalmol. – 1989. – Vol. 21., № 10. – P. 386-391.
289. Pauter E.L., Morita M., Beezley D. Hemoproteins mediate blue light damage in the retinal pigment epithelium. // Photochem. Photobiol. – 1990. – Vol. 51., № 5. – P. 599-605.
290. Penn Y.S., Baker B.N., Howard A.G., Williams T.P. retinal light-damage in albino rats : lysosomal enzymes , rhodopsin and age. // Exp.Eye Res. – 1985. – Vol. 41., № 3. – P. 275-284.
291. Pollack A., Korte G.E. Repair of retinal pigment epithelium and choriocapillaries after laser photocoagulation: correlations between scanning electron, transmission electron and light microscopy. // Ophthalmic Res. – 1997. – Vol. 27., № 6. – P. 393-404.
292. Power W. J., Travers S. P., Mooney D. J. Welding arc maculopathy and fluphenazine // Br. J. Ophthalmol. -1991.- V. 75., № 7. - P. 433-435.
293. Putting B.Y., van Best Y.A., Vrensen G.F., Oosterhuis Y.A. Blue-light-induced dysfunction of the blood-retinal barrier at the pigment epithelium in albino versus pigmented rabbits. // Exp Eye Res. – 1994. – Vol. 58., № 1. – P. 31-40.

294. Putting B.Y., Zurypfenning R.C., van Best Y.A., Vrensen G.F., Oosterhuis Y.A. Dysfunction and repair of the blood-retinal barrier following white light exposure: a fluorophotometric and histologic study. // *Exp Eye Res.* – 1992. – Vol. 54., № 1. – P. 133-141.
295. Putting B.Y., van Best Y.A., Zurypfenning R.C., van Best Y.A., Vrensen G.F., Oosterhuis Y.A. Spectral sensibility of the blood-retinal barrier at the pigment epithelium for blue light in the 400-500 nm range. // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* – 1993. – Vol. 231., № 10. – P. 600-606.
296. Rapp L.M., Tolman B.L., Dhindsa H.S. Separate mechanisms for retinal damage by ultraviolet-A and mid-visible light. // *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1990. – Vol. 31., № 6. – P. 1186-1190.
297. Rapp L.M., Fisher P.L., Dhindsa H.S. Reduced rate of rod outer segment disk synthesis in photoreceptor cells recovering from UVA light damage. // *Invest. Ophthalmol. Vis Sci* – 1994. – Vol. 35., № 9. – P. 3540-3548.
298. Rapp L.M., Smith S.C. Evidence against melanin as the mediator of retinal phototoxicity by short-wavelength light. // *Exp. Eye Res.* – 1992. – Vol. 54., № 1. – P. 55-62.
299. Razdan B., Marro P.J., Tamella O., Goel R., Mishra O.P., Delivoria-Papadopoulos M. Selectivity of cinaptocomal membrane function to cerebral cortical hypoxia in newborn piglets. // *Brain Res.* – 1993. – V. 600., № 3. – P. 308-314.
300. Reme C.E., Braschler U.F., Roberts J., Dillon J. Light damage in the rat retina: effect of a radioprotective agent (WR-77913) on acute rod outer segment disk disruptions. // *Photochem. Photobiol.* – 1991. – Vol. 54., № 1. – P. 137-142.
301. Romano C., Price M.T., Olney S.W. Delayed excitotoxic neurodegeneration induced by excitatory amino acid agonists in isolated retina. // *J. Neurochem* – 1995. – Vol. 65. – P. 59-67.

302. Rosner M., Lam T.T., Tso M.O. Therapeutic parameters of methylprednisalone treatment for retinal photic injury in a rat model. // Res.Comm.Chem. Pathol.Pharmacol. – 1992. – Vol. 77., № 3. – P. 299-311.
303. Ross W.H. Light-induced maculopathy. // Am. J. Ophthalmol – 1984. – Vol. 98., № 4. – P. 488-493.
304. Roque R.S., Caldwell R.B. Isolation and culture of retinal microglia. //Curr.Eye.Res. – 1993. – Vol. 12., № 3. – P. 285-290.
305. Roufail E., Soulis T., Boel E., Cooper M.E., Rees S. Depletion of nitric oxide synthase-containing neurons in the diabetic retina: reversal by aminoguanidine. // Diabetologia. – 1998. – Vol. 41., № 12. – P. 1419-1425.
306. Rowland S.L., Dawson W.W. Injuring retinal threshold of cyclic light for all rats. // Curr.Eye.Res. – 1986. – Vol. 2. – P. 137-147.
307. Sakaki V., Nakamura H., Shimada T., Kibamura H., Nakatsuka K. Retinopathy in diabetic (KKA gamma) mice: diabetic microvascurar changes to the retina in KKA gamma mice revealed by light and electron microscopy. // Jpn. J. Ophthalmol. – 1996. – Vol. 40., № 3. – P. 317-328.
308. Sample-Rowland S.L., Dawson W.W. Retinal cyclic light damage threshold for albino rats. // Lab.Anim. Sci – 1987. – Vol. 37., № 93. - P. 289-298.
309. Sanyal S., Zeilmaker G.H. Retinal damage by the constant light in chimaeric "mouses ": values for defensive dug melanin. // Exp. Eye Res. – 1988. – Vol. 46., № 5. – P. 731-743.
310. Shahinfart S., Edward D.P., Tso M.O. A pathologic study of photoreceptor cell death in retinal photic injury. // Curr.Eye.Res. – 1991. – Vol. 10., № 1. – P. 47-59.
311. Sharma N.K., Gardiner T.A., Archer D.B. A morphologic and autoradiographic study of cell death and regeneration in the retinal microvasculature of normal and diabetic rats. // Am. J. Ophthalmol – 1995. – Vol. 100., № 1. – P. 51-60.

312. Shima D.T., Adamis A.P., Ferrara N. Hypoxic induction of endothelial-cell growth factor in retinal cells-identification and characterization of vascular endothelial growth-factor (VEGF) as the mitogen. // *Molecular Medicine* – 1995. – Vol. 1. – P. 182-193.
313. Schellini S.A., Gregorio E.A., Spadello C.T., Machado S.L., De-Moraes-Silva M.A. Muller cells and diabetic retinopathy. // *Braz.J.Mrd. Biol Res* – 1995. – Vol. 28., № 9. – P. 977-980.
314. Schmidt R. Der Alloxandiabetes Morphologie, Chemismus und Literatur. // *Harausg.K.Mothes.* – Leipzig, 1967. – Bd. 1. - 142 s.
315. Silverman M.S., Hughes S.E. Трансплантация фоторецепторов к измененной светом ретине. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1989. – Vol. 30., № 8. – P. 1684-1690.
316. Sliney D., Wolbarsht H. Safety with lasers and other optical sources.// *A comprehensive handbook.* New York;London: Plenum Press.1980. - P. 1035.
317. Smith D., Lee E.K., Saloupis P., Davis S.K., Hatchell D.L. Role of neutrophils in breakdown of the blood-retinal barrier following intravitreal injection of platelet-activating factor. // *Exp. Eye Res* – 1994. – Vol. 59., № 4. – P. 425-432.
318. Srinivasan V., Weiss J.F. Radioprotection by vitamin E: injectable vitamin E administered alone or with WR-3689 enhances survival of irradiated mice. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* – 1992. – Vol. 23. – P. 841-845.
319. Stiller H., Rassow B. Possible damage to the eye caused by light from ophthalmologic equipment. // *Klin.Monatsbl.Augenheilkd.* – 1991. – Vol. 199., № 1. – P. 62-66.
320. Stitt A.W., Anderson H.R., Gardiner T.A., McIntyre I., Archer D.B. The combined effects of diabetes and ionising radiation on the rat retina: an ultrastructural study. // *Curr. Eye Res.* – 1994. – Vol. 13., № 1. – P. 79-86.
321. Takahashi K., Itagaki T., Yamagishi K., Ohkuma H., Uyama M. The role of retinal pigment epithelium in the early stage of development of subretinal

- neovascularization. // Nippon. Ganka. Gakkai.Zasshi – 1990. – Vol. 94., № 1. – P. 3-17.
322. Terrien F. De trouble visuel provoqué par l'électricité // Arch. Ophthalmol. – 1902. – Vol. 22. – P. 692-696.
323. Thanos S., Richer W. The migratory potential of vitally labelled microglial cells within the retina of rats with hereditary photoreceptor dystrophy. // Int.J. Dev Neurosci. – 1993. – Vol. 11., № 5. – P. 671-680.
324. Thumann G., Bartz-Schmidt K.U., Kociok N., Kayatz P., Heimann K., Schraermeyer U. Retinal damage by light in the golden hamster: an ultrastructural study in the retinal pigment epithelium and Bruch's membrane. // J. Photochem. Photobiol. – 1999. – Vol. 49., № (2-3). – P. 104-111.
325. Tso M.O. Retinal photic injury on normal and scorbutic primates. // Am. J. Ophthalmol. – 1987. – Vol. 85. – P. 498-556.
326. Tyler N.K., Burns M.S. Alterations in glial cell morphology and glial fibrillary acidic protein expression in urethane-induced retinopathy. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1991. – Vol. 32., № 2. – P. 246-256.
327. Unoki K., Ohba N., Arimura H., Muramatsu H., Muramatsu T. Rescue of photoreceptors from the damaging effects of constant light by midkine, a retinoic acid-responsive gene product. // Invest. Ophthalmol Vis Sci – 1994. – Vol. 35., № 12. – P. 4063-4068.
328. Van Itallie C.M., Anderson J.M. Occludin confers adhesiveness when expressed fibroblasts. // J. Cell Sci. – 1997. – Vol. 110. – P. 1113-1121.
329. Viebahn M., Barricks M.E., Osterloh M.D. Synergism between diabetic and radiation retinopathy: a case report and review. // Br.J. Ophthalmol. – 1991. – Vol. 75. – P. 629-632.
330. Vorverk C.K., Lipton S.A., Zurakowski D., Human B.T., Sabel B.A., Dreyer E.B. Chronic lan-closet glutamate is toxic to retinal ganglion cells: toxicity blocked by memantine. // Invest Ophthalmol Vis Sci – 1996. – Vol. 37. – P. 1618-1624.

331. Wang H.M., Hull B.E., Organisciak D.T. Long term effect of diaminophenoxypentane in the rat retina : protection aganist light damage. // *Curr.Eye.Res.* – 1994. – Vol. 13., № 9. – P. 655-660.
332. Wang M., Wang Y.H. A morphological study of the retinal vessels in experimental diabetic rats. // *Chung Hua Yen Ko Tsa Chih* – 1989. – Vol. 25., № 8. – P. 31-34.
333. Watkins D., Cooperstein S., Lazarow A. Effect of sulfhydryl-binding reagents on islet tissue permeability: protection and reversal by thiol compounds. // *J. Pharmacol. Exper. Ther.* – 1971. – Vol. 176., № 1-3. – P. 42-51.
334. Williams R.A., Howard A.G., Williams T.P. Retinal injury on pigmented and albino rats exposed to low intensive cyclic light after unique mydriatic influence. // *Curr.Eye.Res.* – 1985. – Vol. 4., № 2. – P. 97-102.
335. Wolff S.P., Jiang Z.Y., Hunt J.V. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. // *Free Radic. Biol. Med.* – 1991. – Vol. 10., № 5. – P. 339-352.
336. Wolff S.P. The potential role of oxidative stress in diabetes and its complications: novel implications for theory and therapy. // “In Diabetic complications”, (Ed. Crabbe, M.J.C.), Churchill Livingstone, Edinburgh, 1987 – P. 167-220.
337. Wu S., Seregent S., Spangberg B., Oskarsson M., Chen E. Blue light induced apopbosis in rat retina. // *Eye* – 1999. – Vol. 13. – P. 577-583.
338. Yamaguchi K., Gaur V.P., Turner J.E. Retinal pigment epithelial cell transplantation into aging retina: a possible approach to delay age related cell deatch. // *Jpn. J. Ophthalmol.* – 1993. – Vol. 37., № 1. – P. 16-27.
339. Yamaguchi K., Gaur V.P., Turner J.E. Effect of neonatal retinal pigment cell transplantation on aged retinas. // *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* – 1993. – Vol. 97., № 1. – P. 165-174.
340. Yamana Y., Ohnishi Y., Taniguchi Y., Ikeda M. Early sings of diabetic retinopathy by fluorescein angiography. // *Jpn. J. Ophthalmol.* – 1983. –

Vol. 27., № 1. – P. 218-227.

341. Yamashita H., Horie K., Yamamoto T., Negano T., Murano T. Light-induced retinal damage in mice. Hydrogen peroxide production and superoxide dismutase activity in retina. // *Retina*. – 1992. – Vol. 12., № 1. – P. 59-66.
342. Yang Y., He S., Liy Y. An observation on early morphological changes in retinal microvascular vessels in diabetic rabs. // *Chung Hua Yen Ko Tsa Chin*. – 1997. – Vol. 33., № 3.- P. 230-232.
343. Young K.W. Visual cells and the concept of renewal. // *Invest Ophthalmol Vis Sci* – 1976. – Vol. 15., № 9. – P. 700-725.