

*На правах рукописи*

**Аникина Елена Юрьевна**

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ  
СЕТЧАТКИ ПРИ ЛАЗЕРНОМ  
ВОЗДЕЙСТВИИ ПОРОГОВОЙ  
ИНТЕНСИВНОСТИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ  
ДИПЕПТИДОМ  
(экспериментальное исследование)**

03.03.04 –клеточная биология, цитология,  
гистология

14.00.16 – патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Томск – 2010

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (г. Томск) и Государственном научно-испытательном институте военной медицины Министерства обороны Российской Федерации (г. Москва)

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор Логвинов Сергей Валентинович  
доктор медицинских наук, профессор Бухтияров Игорь Валентинович

**Официальные оппоненты:**

**Ведущая организация:**

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2010 г. в часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно – медицинской библиотеке ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного совета Герасимов А.В.

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **АКТУАЛЬНОСТЬ.**

В современной офтальмологии лазерное излучение используется для лечения заболеваний, связанных с патологией сосудов глазного дна и отслойкой сетчатки [Пасечникова Н.В., 2007]. Соседние с коагулируемыми лазером участки сетчатки подвергаются воздействию с меньшей интенсивностью, приводящему к осложнениям и снижению зрительной функции [Гундорова Р.А., Нероев В.В., Кашников В.В., 2009]. Экспериментально было показано, что высокоинтенсивное лазерное воздействие вызывает деструкцию всех структурных компонентов сетчатки с выпадением ее слоев. Наблюдается повреждение пигментного эпителия, нейросенсорных клеток сетчатки с их последующей гибелью, значительная деструкция внутренних слоев и глиального компонента [Song Q., Risco R., 2008; Framme C., Walter A., 2009; Tackenberg M.A., Tucker B.A., 2009; Krohne. T.U., Hunt S., Holz FG., 2009]. Отмечается повреждение гематоретинального барьера и гемодинамические нарушения [Ахмедьянова З.У., 1982; Glaser B.M., Campochiaro P.A., Davis J.L. et al., 1985; Glaser B.M., 1988]. При низкоинтенсивном воздействии наблюдается стимулирующий эффект на сохранную область сетчатки, что немаловажно при лечении некоторых дистрофических заболеваний [Сотникова Е.В., Исманкулов О.А., 2002]. Влияние

пороговых интенсивностей лазерного излучения на структурные компоненты сетчатки на сегодняшний день мало изучено.

В последние годы все больший интерес вызывают препараты из группы регуляторных белков или цитомединов [Кузник Б.И., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., 1998; Дьяконов М.М., 2005; Морозов В.Г., Рыжак Г.А., Малинин В.В. и др., 2006]. Наиболее распространенным в офтальмологии является ретиналамин. Он, обладая выраженным протекторным действием в отношении сосудистого эндотелия и коллагеновых волокон периваскулярной соединительной ткани, способствует восстановлению нарушенных структур сосудистой стенки. Пептидные биорегуляторы увеличивают фагоцитарный показатель, фагоцитарный индекс и степень завершенности фагоцитоза [Кузник Б.И., Будажабон Г.Б., Хавинсон В.Х. и др., 1989; Лысенко А.В., Арутюнян А.В., Козина Л.С., 2005; Коркушко О.В., Хавинсон В.Х., Шатило В.Б., 2006]. Это обуславливает широкое применение ретиналамина в офтальмологии при различных заболеваниях сетчатки. Синтетический дипептид АВ-17 является одной из последних разработок ученых Санкт-Петербургского института биорегуляции и геронтологии РАМН. Это синтетический аналог ретиналамина относящийся к новому классу пептидных биорегуляторов – синтетических пептидов (цитогенов) и

обладающий соответствующими ретинопротекторными свойствами.

Влияние синтетического дипептида АВ-17 на изменения сетчатки при воздействии лазерного излучения пороговых интенсивностей не изучено.

**ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ.** Изучить морфофункциональные изменения сетчатой оболочки глаза и патогенетические механизмы их развития при воздействии пороговых интенсивностей лазерного излучения с длиной волны 535 нм и 450 нм, оценить возможность коррекции структурных нарушений синтетическим дипептидом АВ-17.

#### **ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ.**

1. Изучить характер и динамику изменений нейронов сетчатки при воздействии лазерным излучением пороговых интенсивностей и на фоне коррекции синтетическим дипептидом АВ-17.
2. Выявить изменения синаптоархитектоники сетчатки на фоне вышеуказанных воздействий.
3. Оценить реакцию глиального компонента при воздействии лазерным излучением пороговых интенсивностей и на фоне коррекции синтетическим дипептидом АВ-17.
4. Изучить характер и динамику изменений сосудов и гематоретинального барьера при воздействии указанных факторов.

5. Установить характер реакций структурных компонентов и их последовательность при воздействии указанных факторов для выявления механизмов повреждения и репарации.

### **НАУЧНАЯ НОВИЗНА.**

С помощью гистологических и электронномикроскопических методов впервые изучено влияние лазерного излучения пороговой интенсивности на все слои сетчатки. Доказано, что наиболее чувствительными к указанному воздействию являются нейросенсорные клетки, пигментный эпителий и синаптический аппарат сетчатки. Лазер вызывает увеличение количества пикнотичных клеток и уменьшение численной плотности ядер в наружном ядерном слое. Пигментный эпителий характеризуется деструкцией органелл и вакуолизацией цитоплазмы, отмечается повреждение и снижение количества синапсов. Во внутренних слоях сетчатки возрастает количество пикноморфных нейронов. В ассоциативных и ганглионарных нейронах отмечено снижение удельной площади органелл. Установлено, что лазерное излучение пороговой интенсивности вызывает повреждение гематоретинального барьера и глиального компонента сетчатки. Излучение с длиной волны 450 нм вызывает больший деструктивный эффект, чем воздействие с длиной волны 535 нм, что проявляется более

выраженным повреждением компонентов сетчатки. К 14 суткам отмечается нарастание патологических изменений. Синтетический дипептид АВ-17 впервые был применен в качестве ретинопротектора при воздействии лазера на область сетчатки. Доказано модифицирующее защитное влияние препарата на сетчатку, выражающееся в снижении деструктивных изменений ее структурных компонентов во все сроки эксперимента.

### **ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ.**

Получены новые фундаментальные знания о морфофункциональных изменениях структурных компонентов сетчатки при воздействии лазерным излучением пороговых интенсивностей и возможности их коррекции синтетическим дипептидом АВ-17. Результаты могут быть использованы для разработки новых подходов к комплексному лечению лазерных ожогов сетчатки и осложнений лазерной терапии. 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».

### **ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ.**

1. Лазерное воздействие пороговых интенсивностей вызывает повреждение всех слоев сетчатки, в механизмах которого важную роль играют нарушения гематоретинального барьера. Наиболее чувствительны к данному фактору нейросенсорные клетки.
2. Под влиянием лазера нейроны внутреннего ядерного и ганглионарного слоев подвергаются пикноморфным и хроматолитическим изменениям. Существенную роль в данных процессах играет повреждение радиальной глии сетчатки. Поражение синапсов влечет снижение их численной плотности и нарушение межнейронных связей. Деструкция компонентов сетчатки более выражена при длине волны 450 нм, чем при 535 нм.
3. Синтетический дипептид АВ-17 снижает повреждающий эффект лазерного воздействия пороговой интенсивности.

**АПРОБАЦИЯ.** Материалы диссертации доложены на IX конгрессе Международной ассоциации морфологов (г. Бухара, 2008) и VI всероссийском съезде анатомов, гистологов и эмбриологов (г. Саратов, 2009).

**ПУБЛИКАЦИИ.** По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 1 статья в журнале, рекомендованном ВАК РФ для



опубликования основных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата наук.

### **ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ.**

Диссертация изложена на 171 странице и состоит из введения, четырех глав, выводов и библиографического списка. Работа иллюстрирована 4 таблицами, 64 рисунками (20 микрофотографий, 31 электронограммы, 12 графиков и 1 схема). Библиографический указатель включает 227 источников, из них 135 на русском и 92 на иностранных языках.

### **СОБСТВЕННЫЕ НАБЛЮДЕНИЯ**

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.**

Эксперимент проведен на базе Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации (г. Москва) на 60 половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла с массой 900-1200 грамм. Перед экспериментом всех животных выдерживали на протяжении двухнедельного карантинного срока в условиях вивария на обычном пищевом рационе. Начало экспериментальных воздействий и взятие материала осуществляли в одно и то же время суток – в 10-12 часов. Животных содержали в стандартных условиях вивария при световом режиме 12 часов день и 12 часов ночь с искусственным дневным освещением средней интенсивности (100 лк).

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

Воздействие проводили на центральную область сетчатой оболочки глаза транспупиллярно. Для расширения зрачка использовали 1% раствор атропина. Животных фиксировали с помощью садков, изготовленных из дерева. Для фиксации верхнего и нижнего века использовали векорасширители. На каждой сетчатке получено 5-6 коагулятов.

Восемнадцати кроликам в течение 7 суток до облучения лазером и на протяжении всего эксперимента проводили пероральное введение синтетического дипептида АВ-17 в дозе 10 мг/кг массы тела 1 раз в сутки. Суточная доза препарата на одно животное составляла 100 мг. Четырём животным вводили синтетический дипептид АВ-17 по вышеуказанной схеме без воздействия лазером.

#### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГОВЫХ УРОВНЕЙ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ.

Опытам на животных предшествовала относительная тарировка измерительного комплекса, целью которой было определение коэффициентов пересчета. После этого на место фотометра помещали глаз лабораторного животного (кролика) и проводили облучение со следующими параметрами: длина волны излучения – 450, 535 нм; длительность импульса –

10 нс; режим работы – моноимпульсный; расходимость лазерного пучка – 19,2 угл. мин.

При каждом облучении контроль энергии на облучаемой поверхности осуществляли вторым измерительным комплексом. Величину энергии подбирали с помощью калиброванных светофильтров. При каждом фиксированном значении энергии (вариации энергии в каждом случае были только за счет нестабильности работы установки) проводилась серия облучений.

Эксперименты начинали при таких значениях плотности энергии, при которых достигали гарантированное поражение глазного дна. Затем энергетические параметры снижали, добиваясь полного отсутствия очагов на сетчатке глаза кроликов.

Значения пороговых уровней энергии определяли исходя из построенных зависимостей размера очага от плотности энергии.

Наблюдение очагов осуществляли с помощью цифровой фундус-камеры с возможностью фотографировать глазное дно с 20-40 кратным увеличением, позволяющим регистрировать очаги поражения размером от 50-100 мкм. Измерение очагов производили на экране монитора компьютера в относительных «экранных» единицах путем анализа изображений при помощи специально разработанного программного обеспечения (программа «Image Analyzer»). Относительные «экранные» единицы выражались формулой:

$$D_{\text{очага}} / D_{\text{изображения}} = \text{отн. единица.}$$

Перевод полученных относительных значений в абсолютные производили следующим образом: методом сравнительной оценки данных из различных источников был выведен коэффициент пересчета ( $k$  пересчета), который составил величину равную 6383 [Линник Л.А., 1973; Симоненкова В.А., Мясников А.П., 1986; Преображенский П.В., 1986]. Например, перевод относительной единицы, полученной при анализе компьютерного изображения, в абсолютные (в микрометрах, мкм) осуществляли путем умножения данной относительной величины на коэффициент пересчета ( $k$  пересчета). Измерение каждого очага осуществляли трехкратно в относительных единицах ( $D_1, D_2, D_3$ ), затем определяли среднее значение ( $D_{\text{среднее}}$ ) по формуле:

$$(D_1 + D_2 + D_3) / 3 = D_{\text{среднее}}$$

которое и использовали в дальнейших расчетах. Затем, относительные значения, переводили в абсолютные (в мкм), как описано выше.

Взятие материала производили через 1 и 14 суток после облучения. Для морфологического исследования забирали оба глаза каждого кролика после выведения животных из эксперимента посредством декапитации под эфирным наркозом. Контрольным материалом служили сетчатые оболочки кроликов ( $n=5$ ), которых содержали в идентичных условиях вивария с экспериментальными животными.

Таблица 1. Распределение животных по сериям эксперимента.

Серия эксперимента	Количество животных	Количество сетчаток	Сроки взятия материала
Лазерное воздействие 0,1 сек, 0,08 мДж/см <sup>2</sup> , 450 нм	9	18	1,14 сут
Лазерное воздействие 0,1 сек, 0,08 мДж/см <sup>2</sup> , 450 нм на фоне введения синтетического дипептида АВ-17	9	18	1,14 сут
Лазерное воздействие 0,1 сек, 0,08 мДж/см <sup>2</sup> , 535 нм	9	18	1,14 сут
Лазерное воздействие 0,1 сек, 0,08 мДж/см <sup>2</sup> , 535 нм на фоне введения синтетического дипептида АВ-17	9	18	1,14 сут
Введение синтетического дипептида АВ-17	4	8	1,14 сут
Контроль	5	10	1,14 сут
Определение порогов поражения сетчатки	15	30	1 сут

## МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Глазные яблоки после энуклеации фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в парафин. Готовили отвесные срезы задней стенки глаза толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином [Ромейс Б. 1954]; крезилowym фиолетовым по Нисслю для выявления хроматофильного вещества в перикарионах нейронов.

Для изучения ультраструктурных изменений сетчатки заднюю стенку глаза фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида на кокадилатном буфере (pH=7,4). Материал постфиксировали в 2% растворе четырехокси осмия в течение трех часов на холоду, дегидратировали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон.

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. На ультратоме ЛКВ-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 ядер в наружном ядерном слое. Определяли процентное содержание пикноморфных глиоцитов, нейронов внутреннего

ядерного слоя и ганглионарных нейронов на 200 клеток с каждой сетчатки. Измеряли с помощью окулярной линейки высоту пигментоэпителиоцитов. Ультратонкие срезы помещали на медные сетки. Осмированные препараты, докрашенные уранилацетатом и цитратом свинца [Reynolds P., 1963], изучали в электронном микроскопе JEM-7A. На ультратонких срезах определяли удельную площадь органелл в клетках внутреннего ядерного и ганглионарного слоев.

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 при помощи фотоувеличителя, определяли количество межнейронных контактов (площадь поля зрения – 50 мкм<sup>2</sup>) и высчитывали численную плотность синапсов на 100 мкм<sup>2</sup> нейропиля.

Выявленные на электронограммах ФВК-позитивные контакты в зависимости от плоскости среза подразделяли на ряд категорий. 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

электронноплотный материал пресинаптической зоны не организован в отдельные филаментозные образования. Ассиметричные контакты по степени выраженности ПП дифференцировали на типы: А, В, С [Семченко В.В., Степанов С.С., 1987]. 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 был обработан методами вариационной статистики [Автандилов Г.Г., 1990]. Для оценки достоверности различий при сравнении средних величин использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Статистическая обработка проводилась с помощью программы Statistica for Windows Release 6.0.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОРОГОВ ПОРАЖЕНИЯ СЕТЧАТКИ**

Фотокоагулят на глазном дне после лазерного воздействия представлял собой круглый или овальный очаг, цвет которого варьировал, в зависимости от энергетической экспозиции, от серовато-розового до интенсивно серого. В центре



очага при больших энергетических экспозициях наблюдали истечение крови в виде «растекающегося пятна» из центральной части лазерного ожога. Обычно, через 24 часа после лазерного воздействия, каких-либо изменений в очаге повреждения отметить не удавалось, за исключением более отчетливых границ фотоккоагулята.

По своему характеру изменения оболочек глаза, вызванные воздействием импульсного наносекундного лазера, могут быть разделены на два основных типа:

- 1) хориоретинальные ожоги без заметных механических изменений сетчатки;
- 2) хориоретинальные ожоги с механическими повреждениями оболочек глазного дна, сопровождающиеся интравитреальным или преретинальным кровоизлиянием, а также выбросом крови в стекловидное тело (гемофтальм).

Некоторые ретинальные кровоизлияния имели радиальную исчерченность, которая свидетельствует о наличии крови в слое нервных волокон.

При воздействии на сетчатку кроликов импульсного лазерного излучения в видимом диапазоне с длительностью импульса  $10^{-9}$ с и энергетическими экспозициями 0,13-0,23 мДж/см<sup>2</sup>

наблюдалось комбинированное поражение глазного дна, - механическое повреждение

оболочек глаза с ожогом и геморрагическими изменениями (интратретинальное, субретинальное, преретинальное кровоизлияние, а также - кровоизлияние в стекловидное тело). При увеличении энергии лазерного излучения, наблюдалось увеличение размеров очагов повреждения сетчатки до 800 - 1300 мкм. Эти повреждения всегда сопровождалось геморрагическими осложнениями. Картина повреждений на глазном дне в целом укладывается в представления о механизме поражающего действия лазерного излучения с наносекундной длительностью импульсов [Краснов М. М., 1980]. Наносекундный импульс вызывает поражения, относящиеся к фотомеханическому типу, проявляющиеся в виде повреждений только тонкого поверхностного слоя материала при сравнительно меньших плотностях энергии, обусловленных отсутствием влияния теплопроводности.

При высокой плотности мощности в пятне облучения и при очень малой длительности воздействия фотомеханические повреждения в виде отрыва наружных и внутренних элементов фоторецепторов, разброса клеток пигментного эпителия могут наблюдаться при воздействии излучения во всем диапазоне видимого спектра.

В этом случае разрыв тканей связан с гидродинамическим ударом, вызванным акустической волной, вследствие ионизации в тканях и развития электрического пробоя.

Анализ зависимостей размеров очагов от плотности энергии воздействующего излучения показал, что при изменении энергетической экспозиции в среднем на 30 % (в диапазоне 0,13 – 0,23 мДж/см<sup>2</sup>) размеры очагов изменяются в среднем на 18%.

Таким образом, для последующих экспериментов с оценкой морфофункциональных изменений сетчатки было выбрано лазерное излучение с мощностью 0,08 мДж/см<sup>2</sup>, являющееся пороговым по критерию повреждения. Размер очагов составил 200-300 мкм, коагулят имел серовато-розовую окраску и характеризовался отсутствием кровоизлияний.

### МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕТЧАТКИ ПРИ ЛАЗЕРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ Пороговой интенсивности

Настоящее исследование показало, что при воздействии лазерного излучения с длиной волны 535 нм максимум повреждающего влияния приходится на сосудистую оболочку, пигментный эпителий и фотосенсорный слой. При лазерном воздействии с длиной волны 450 нм наблюдается выраженное повреждение всех слоев сетчатки. При этом деструкция внутреннего ядерного слоя и слоя ганглионарных нейронов значительно более выражена, чем при длине волны 535 нм.

Ранее были изучены морфологические изменения сетчатки после подпорогового и надпорогового воздействия лазерного излучения нескольких длин волн [L'Esperance F. A., 1969; 1972; 1985]. Было замечено, что отдельные слои подвергаются различной степени повреждающего влияния лазерного излучения при изменении длины его волны. Авторы связывают данный факт с наличием в сетчатке хромофоров, к которым относятся зрительные пигменты, ферментные системы, флавопротеиды и другие вещества. Они содержатся в слоях сетчатки в неодинаковых концентрациях и по-разному поглощают свет. Также было отмечено, что глубина проникновения лазерного излучения находится в прямой зависимости от длины волны. Чем больше длина волны, тем на большую глубину сетчатка подвергается повреждающему воздействию [Измайлов А.С., 1993; Geeraets W., 1977; Sliney D.H., 1988; L'Esperance F. A., 1989]. Световая энергия лазера преобразуется в тепловую на пигментосодержащих структурах и вызывает деструктивный эффект. К естественным пигментам относятся меланин, липофусцин, гемоглобин. Все они очень активно поглощают свет с длинами волн, соответствующим синезеленой области спектра [Зиширова Г. Г., Ахмедьянова З.У., Переверзина О. К. и др., 1981; Ахмедьянова З. У., 1982; Волков В. В., 1989; Измайлов А.С., 1993; Waidelich W., 1977; Bahr F.,

1986; Puliafito C.A., Deutsch T.F., Boll J., 1987; L'Esperance F. A., 1989]. Это обуславливает селективность в поражении слоев сетчатки и разную глубину повреждений при использовании длин волн 535 и 450 нм.

Механизм повреждения сетчатки лазерным излучением сложен и включает в себя 3 основных компонента: термический, механический и фотохимический [Ахмедьянова З.У., 1982; Преображенский П.В., Шостак В.И., Балашевич Л.И., 1986; Pollack A., Heriot W.J., Henkind P., 1986; Корочкин И.М., Бабенко Е.В., 1990].

При пороговых интенсивностях наиболее значимым является фотохимический механизм повреждения. Он основан на фотосенсибилизированном свободнорадикальном окислении мембранных структур клеток, которое происходит в результате образования синглетного кислорода. В обычных условиях антиокислительная система в сочетании с процессами биосинтеза создают необходимый уровень репарации поврежденных компонентов. В экстремальных условиях данные системы не могут полноценно функционировать на достаточном уровне и в полном объеме и обеспечивать адекватную защиту от свободнорадикального окисления. Большинство природных фотосенсибилизаторов локализуется в мембранах клеток, что объясняет их первичное повреждение при воздействии лазером. Все это вызывает нарушение гомеостаза клетки и ее

мембраносвязанных функций, что приводит к деструкции и возможной гибели [Зуева М.В., Иванина Т.А., 1980; Островский М.А., Федорович И.Б., 1982; 1994; Красновский А.А., 1988; Черницкий Е.А., Воробей А.В., 1988; Островский М.А., 1991; Kriechbaum K., Bolz M., Deak G.G. et al., 1995].

По данным нашего исследования наиболее чувствительными к воздействию лазерного излучения являются нейросенсорные клетки. Повреждения наружных сегментов в очагах лазерной коагуляции нейросенсорных клеток проявляются на вторые сутки и нарастают к четырнадцатым суткам при всех длинах волн. Выраженность их меняется в зависимости от спектральных характеристик излучения. Синий свет обладает более высокой фототоксичностью и вызывает значительную деструкцию мембран. На 14-е сутки отмечается нарушение связей наружных сегментов с пигментоэпителиоцитами, что является дополнительным фактором, снижающим степень эффективного функционирования защитных систем фоторецепторов и вызывающим их дегенеративные изменения в виде разрыва мембран, их лизиса и вакуольного перерождения. Данные повреждения не являются специфическими для воздействия лазерным излучением. Указания на наличие подобных деструктивных проявлений имеются у авторов, изучающих влияние на сетчатку

высокоинтенсивного света, сахарного диабета, ионизирующей радиации, интоксикации солями тяжелых металлов и др. [Артыгалиева Д.М., 1975; Логвинов С.В., 1996, 1998; Логвинов С.В., Потапов А.В., 1998; 2000; Варакута Е.Ю., 2003; Дробатулина Д.А., 2004; Жданкина А.А., 2006].

Внутренние сегменты по данным настоящего исследования подвергаются изменениям в виде отека и набухания митохондрий и цистерн эндоплазматической сети, а также последующей деструкции. К 14-м суткам после лазерного воздействия выявляются внутренние сегменты, полностью лишённые органелл. Это свидетельствует о нарушении энергообразующей и синтетической функции в фоторецепторах и их последующей гибели. Повреждение митохондрий и эндоплазматической сети, вероятно, является следствием фотоокислительных процессов в их мембранах и обусловлено снижением защитных функций антиокислительной системы. Это приводит к гибели фотосенсорных клеток, которая проявляется пикнозом ядра, кариорексисом и кариолизисом. Через сутки после воздействия лазерного излучения количество пикнотичных нейронов значительно увеличивается в 7 раз при длине волны 450 нм и в 5 раз при длине волны 535 нм по сравнению с контрольным значением  $0,4 \pm 0,01\%$  ( $p < 0,05$ ). Гибель клеток также обуславливает снижение количества рядов ядер нейросенсорных

клеток в наружном ядерном слое до 2-3 и 4-3 соответственно (контроль 7-8 рядов). Через 14 суток нарастают деструктивные изменения нейросенсорных клеток, что сопровождается увеличением процента пикнотичных клеток до  $3,82 \pm 0,3\%$  при длине волны 535 нм и до  $5,88 \pm 0,43\%$  при длине волны 450 нм. Количество пикнотичных клеток во все сроки достоверно выше при воздействии с длиной волны 450 нм. Повышенная чувствительность нейросенсорных клеток к лазерному облучению объясняется, помимо прямого фототоксического влияния лазерного излучения, также повреждением пигментного эпителия.

Пигментоэпителиоциты выполняют защитную функцию за счет наличия веществ с мощными антиоксидантными свойствами: меланина, пероксидазы, каталазы [Hoppelaar T., Hendrikson P., 1988; Kozak J., 1992; 1995]. Вместе с тем, фагоцитоз разрушенных наружных сегментов нейросенсорных клеток способствует накоплению в цитоплазме пигментоэпителиоцитов большого количества ненасыщенных жирных кислот и ретиналя, что в совокупности с наличием большого количества молекул кислорода потенцирует процессы фотоокисления и снижает активность ферментов антиоксидантной системы. Таким образом, происходит повреждение мембранных структур клеток пигментного эпителия, что влечет за собой дальнейшее усиление деструктивных изменений



нейросенсорных клеток в связи с нарушением компенсаторно-приспособительных механизмов.

По данным настоящего исследования через сутки после воздействия лазером в очагах коагуляции отмечается преобладание реактивных процессов, что проявляется увеличением высоты пигментоэпителиоцитов и выбуханием их в субретинальное пространство. Микроворсинки захватывают разрушенные мембраны дисков наружных сегментов нейросенсорных клеток. Через 14 суток высота клеток снижается и отмечается вакуолизация цитоплазмы, обусловленная разрушением органелл, что свидетельствует в пользу преобладания деструкции над реактивными изменениями. Ядра большинства пигментоэпителиоцитов характеризуются гиперхромией. Вне очагов лазерного воздействия отмечается компенсаторная умеренная гипертрофия клеток пигментного эпителия.

В нейронах внутреннего ядерного слоя наибольшие изменения наблюдаются при воздействии с длиной волны 450 нм. Проявляется деструкция с снижением удельной площади органелл и их значительной деформацией, а также появлением пикноморфных нейронов с гиперконденсированным хроматином в ядре и повышенной осмиофилией цитоплазмы. Через одни сутки процент пикноморфных клеток при воздействии с длиной волны 535 нм составил  $3,53 \pm 0,09$  %, что достоверно ниже значения при

воздействии с длиной волны 450 нм, составляющем  $4,5 \pm 0,09\%$  при контрольном показателе  $1,4 \pm 0,06\%$  ( $p < 0,05$ ). Через 14 суток отмечается нарастание деструктивных изменений при всех длинах волн. Увеличивается количество пикноморфных нейронов до  $6,39 \pm 0,5\%$  при воздействии с длиной волны 535 нм и до  $7,07 \pm 0,6\%$  при 450 нм.

Данные изучения удельной площади органелл в биполярных нейронах через одни сутки после воздействия лазерным излучением с длиной волны 535 нм свидетельствуют о снижении удельной площади комплекса Гольджи до  $1,8 \pm 0,2\%$  и митохондрий до  $6,6 \pm 0,4\%$  по сравнению с контрольными значениями  $3,1 \pm 0,2\%$  и  $15,6 \pm 0,5\%$  соответственно, а эндоплазматической сети до  $20,0 \pm 0,5\%$  при контрольном значении  $41,3 \pm 0,7\%$  ( $p < 0,05$ ). В амакринных нейронах удельная площадь комплекса Гольджи снижается до  $1,9 \pm 0,1\%$ , митохондрий до  $10,6 \pm 0,3\%$ , а эндоплазматической сети до  $20,5 \pm 0,4\%$  при контрольных значениях  $2,9 \pm 0,1\%$ ,  $15,4 \pm 0,4\%$  и  $39,9 \pm 0,4\%$  соответственно ( $p < 0,05$ ).

При воздействии лазерным излучением с длиной волны 450 нм в биполярных нейронах отмечается снижение удельной площади комплекса Гольджи по сравнению с контрольными значениями до  $0,8 \pm 0,1\%$ , митохондрий до  $4,6 \pm 0,3\%$  и эндоплазматической сети до  $6,0 \pm 0,3\%$  ( $p < 0,05$ ). В амакринных нейронах снижение

происходит до  $0,6 \pm 0,09\%$ ,  $7,1 \pm 0,2\%$  и  $12,4 \pm 0,3\%$  соответственно ( $p < 0,05$ ). В горизонтальных нейронах площадь комплекса Гольджи и митохондрий уменьшается по сравнению с контрольными показателями до  $1,4 \pm 0,3\%$  и  $8,1 \pm 0,5\%$ , а эндоплазматической сети до  $26,1 \pm 0,8\%$  ( $p < 0,05$ ).

Через 14 суток после воздействия лазерным излучением с длиной волны 535 нм при сравнении с контролем отмечается снижение удельной площади комплекса Гольджи в биполярных нейронах в 3 раза, митохондрий и эндоплазматической сети – в 2 раза ( $p < 0,05$ ). В амакринных нейронах данные показатели снижаются в 1,9; 1,6 и 2,6 раза соответственно по сравнению с контрольными ( $p < 0,05$ ). В горизонтальных нейронах наблюдается снижение удельной площади всех органелл в 1,3 раза по сравнению с контрольными показателями ( $p < 0,05$ ).

Через 14 суток воздействие лазером с длиной волны 450 нм вызывает в биполярных нейронах снижение площади комплекса Гольджи и эндоплазматической сети на 77 и 86% , а митохондрий – на 80% по сравнению с контрольными данными ( $p < 0,05$ ). В амакринных нейронах эти показатели снижаются на 79, 70 и 60% соответственно ( $p < 0,05$ ). В горизонтальных нейронах на 50 и 36% происходит уменьшение площади комплекса Гольджи и митохондрий, а эндоплазматической сети – на 34% ( $p < 0,05$ ).

Во все сроки и во всех типах нейронов снижение удельной площади органелл более выражено при воздействии с длиной волны 450 нм, чем при воздействии с длиной волны 535 нм ( $p < 0,05$ ).

Поражение нейронов внутреннего ядерного слоя при воздействии патологических факторов, по мнению некоторых авторов, обусловлено также нарушением синаптических связей с нейросенсорными и ганглионарными клетками [Wasowicz M., 2002].

По мнению ряда авторов, немаловажным является факт деструкции глиального компонента сетчатки, который принимает участие в транспорте веществ, а также регулирует уровень глутамата, способного оказывать нейротоксическое действие. Радиальная глия формирует наружную и внутреннюю пограничные мембраны, а также осуществляет активный транспорт метаболитов на всех уровнях сетчатки [Давыдова Т.В., 1985]. Через сутки после воздействия лазерным излучением с длиной волны 535 нм отмечается увеличение пикноморфных глиоцитов в 4 раза, а при воздействии с длиной волны 450 нм – в 4,4 раза по сравнению с контролем, составляющим  $2,8 \pm 0,3\%$  ( $p < 0,05$ ). Через 14 суток количество пикноморфных клеток в 3 раза выше контрольных значений при воздействии с обеими длинами волн ( $p < 0,05$ ). Изменения органелл способствуют вакуольному

перерождению цитоплазмы и последующей гибели глиоцитов.

Изменения ганглионарных нейронов проявляются преимущественно снижением содержания и перераспределением хроматофильной субстанции, представленной цистернами гранулярной эндоплазматической сети. Через одни сутки после лазерного воздействия в очагах коагуляции наблюдалось возрастание процента нейронов с явлениями очагового и тотального хроматолиза. Количество нейронов с явлениями тотального хроматолиза составило  $20,5 \pm 0,8\%$  при длине волны 450 нм и  $17,0 \pm 1,5\%$  при длине волны 535 нм при контрольном значении  $7,1 \pm 0,5\%$ , ( $p < 0,05$ ). Число нейронов с очаговым хроматолизом составило  $52,0 \pm 2,9\%$  и  $41,9 \pm 2,2\%$  соответственно при контрольном значении  $16,3 \pm 1,0\%$ , ( $p < 0,05$ ). Помимо этого, увеличивалось количество пикноморфных клеток до  $5,6 \pm 0,3\%$  и  $3,8 \pm 0,23\%$  соответственно при контроле  $3,1 \pm 0,1\%$  ( $p < 0,05$ ).

Данные процессы прогрессируют и к 14-м суткам процент ганглионарных нейронов с явлениями очагового хроматолиза возрастает по сравнению с контрольными значениями в 3 и 3,2 раза соответственно при длине волны 535 и 450 нм ( $p < 0,05$ ). Увеличивается количество пикноморфных клеток. Количество пикноморфных нейронов при воздействии с длиной волны 450 нм во все сроки достоверно выше, чем при воздействии с длиной волны 535

нм. В сохранных нейронах и клетках с очаговым хроматолизом отмечается наличие приспособительных компенсаторных реакций, которые проявляются увеличением ядрышка и глубокими многочисленными инвагинациями кариолеммы.

Анализ изменения удельной площади органелл свидетельствует, что лазерное излучение с длиной волны 450 нм через 1 сутки вызывает снижение площади комплекса Гольджи в 1,8 раза, митохондрий в 1,7 раза, эндоплазматической сети в 1,3 раза по сравнению с контрольными значениями ( $p < 0,05$ ).

Через 14 суток после аппликации лазерной энергии с длиной волны 450 нм снижается площадь комплекса Гольджи и эндоплазматической сети по сравнению с контрольными значениями в 1,5 и 1,6 раза соответственно ( $p < 0,05$ ).

Воздействие лазерного излучения с длиной волны 535 нм во все сроки эксперимента не вызывает изменений показателей удельной площади комплекса Гольджи и митохондрий, значимо отличающихся от контроля. Удельная площадь эндоплазматической сети снижается во все сроки по сравнению с контрольными значениями в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ).

Во все сроки снижение удельной площади органелл более выражено при воздействии с длиной волны 450 нм, чем при воздействии с длиной волны 535 нм ( $p < 0,05$ ).

Немаловажное влияние на развитие деструктивных изменений на фоне воздействия лазерным излучением оказывает повреждение синаптического аппарата сетчатки. Так как синапсы представлены мембранными образованиями, то, очевидно, что они являются основной мишенью перекисного окисления и воздействия свободных радикалов. Также происходит дестабилизация синаптических мембран и активация протеолитических ферментов в синаптических отростках. Это приводит к блокаде энергетической системы синапсов. Через одни сутки после лазерного воздействия при обеих длинах волн наблюдались неспецифические изменения синапсов в виде набухания отростков, дезагрегации везикул и отека митохондрий.

Через 14 суток в очагах аппликации лазерной энергии нарастают деструктивные изменения синапсов и появляются контакты, измененные по темному типу, что проявляется повышенной осмиофилией отростков. Подобная картина наблюдается не только при воздействии лазером, но и на фоне облучения высокоинтенсивным светом, гипоксии, ионизирующей радиации, а также при введении различных токсических веществ [Фельдман Н.Г., Вендило М.В., 1976; Боголепов Н.Н., 1979; Абдрахманов А.А., 1987; Потапов А.В., Логвинов С.В., 1999; Пугаченко Н.В., 2000, Варакута Е.Ю., 2003; Жданкина А.А., 2006].

Через сутки после воздействия отмечается значительное снижение численной плотности контактов в 2 и 3 раза соответственно при длине волны 535 и 450 нм (контроль  $16,6 \pm 0,23$  на  $100 \text{ мкм}^2$ ,  $p < 0,05$ ). В большей степени это связано с резким снижением количества симметричных синапсов до  $1,2 \pm 0,19$  при длине волны лазера 535 нм и до  $1,3 \pm 0,22$  при длине волны 450 нм (контроль  $4,2 \pm 0,59$ ,  $p < 0,05$ ). Система субсинаптических единиц характеризуется снижением высоты плотных проекций, размытостью их контуров и неравномерным прокрашиванием. Это приводит к нарушению нормальной передачи импульса и межклеточных взаимодействий. Данная реакция не является специфической и наблюдается при воздействии других патологических факторов, в частности, высокоинтенсивного света [Акерт К., 1972; Степанов С.С., 1986; Семченко В.В., Боголепов Н.Н., Степанов С.С., 1995]. На фоне лазерного воздействия по нашим данным снижается количество синапсов типов А и С. Также увеличивается длина активной зоны контакта, что является компенсаторной реакцией синапсов на повреждение.

Через 14 суток после воздействия лазерным излучением с длиной волны 535 и 450 нм не отмечается возрастания общей численности контактов по сравнению с показателями первых суток, но увеличивается количество симметричных синапсов в 3 и 2 раза



соответственно, что связано с процессами неосинаптогенеза. При воздействии с длиной волны 535 нм по сравнению с показателями первых суток возрастает число зрелых асимметричных положительно изогнутых синапсов с высотой плотных проекций  $>60$  нм и синапсов с АЗК  $<100$  нм. При воздействии лазером с длиной волны 450 нм значительно увеличивается количество синапсов с АЗК  $<100$  нм, 500-700 нм и  $>700$  нм, что связано с неосинаптогенезом и гипертрофией сохранных синапсов. По сравнению с показателями первых суток возрастает число асимметричных синапсов типа А с высотой плотных проекций  $<50$  нм.

Характер патологических изменений клеточных элементов сетчатки при лазерном воздействии во многом зависит от степени повреждения сосудов хориоидеи и интратретинальных сосудов, а также от состояния кровотока в них. Через сутки после воздействия лазером отмечается вакуолизация цитоплазмы эндотелиоцитов и увеличение процента сосудов хориоидеи с явлениями стаза и тромбоза до  $21,4 \pm 0,07\%$  при длине волны 450 нм и до  $30,2 \pm 0,7\%$  при длине волны 535 нм при контрольном значении  $0,9 \pm 0,08\%$ , ( $p < 0,05$ ). Данные изменения не являются специфичными для лазерного воздействия и встречаются при многих патологических состояниях [Давыдов Г.А., Ушаков И.Б., 1987; Логвинов С.В., 1993; Буймова Н.П., 1993].

Через 14 суток при всех длинах волн возрастает количество тромбированных сосудов до  $23,1 \pm 0,8\%$  и  $34,3 \pm 0,8\%$  ( $p < 0,05$ ) соответственно, что влечет за собой нарушение гемоциркуляции и ишемические изменения структурных компонентов сетчатки. При лазерном воздействии с длиной волны 535 нм процент сосудов с явлениями стаза и тромбоза во все сроки выше, чем при длине волны 450 нм ( $p < 0,05$ ).

### РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО ДИПЕПТИДА ПРИ ЛАЗЕРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

При лазерном воздействии на фоне введения синтетического дипептида АВ-17 нами было отмечено снижение повреждающего воздействия последнего на фотосенсорные клетки, что проявляется большей сохранностью мембран дисков и полудисков наружных сегментов, менее выраженными деструктивными изменениями внутренних сегментов и снижением количества клеток с явлениями кариопикноза. Количество пикнотичных нейронов через одни сутки значимо в 1,3 раза меньше, чем в группах без коррекции при обеих длинах волн ( $p < 0,05$ ). К 14-м суткам эти показатели ниже, чем аналогичные в группе без применения препарата в 1,6 раза при обеих длинах волн.

Немаловажным является улучшение функционального взаимодействия наружных сегментов нейронов и пигментоэпителиоцитов. В результате этого происходит активизация

защитных функций пигментного эпителия. На фоне введения синтетического дипептида АВ-17 увеличивается высота клеток пигментного эпителия, что свидетельствует о реактивной гипертрофии и фагоцитарной активности, а также снижается степень деструкции органелл. За счет этого эпителиоциты содержат меньшее количество вакуолей. Микроворсинки гипертрофированы и активно участвуют в захвате разрушенных наружных сегментов. Сохранность пигментного эпителия обеспечивает меньшую деструкцию нейросенсорных клеток и подлежащих слоев сетчатки.

На фоне введения синтетического дипептида АВ-17 отмечается снижение повреждений в ассоциативных нейронах. Это проявляется уменьшением количества пикноморфных нейронов во все сроки и при обеих длинах волн, а также увеличением удельной площади органелл в них по сравнению с группой без коррекции. При воздействии лазером с длиной волны 535 нм через одни сутки отмечается достоверное увеличение площади комплекса Гольджи, митохондрий и эндоплазматической сети в цитоплазме биполярных нейронов по сравнению со значениями в группе без коррекции до  $2,4 \pm 0,1\%$ ,  $16,8 \pm 0,5\%$  и  $36,4 \pm 0,7\%$ . Через 14 суток в биполярных нейронах отмечается увеличение площади митохондрий и эндоплазматической сети в 2 раза по сравнению со значениями в группе без коррекции, а в амакринных в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ). В

горизонтальных нейронах не происходит достоверных изменений.

Через 1 сутки после воздействия с длиной волны 450 нм введение препарата вызывает увеличение данных показателей в биполярных нейронах в 1,8; 1,4; 1,5 раза соответственно по сравнению со значениями в группе без коррекции ( $p < 0,05$ ). В амакринных – в 1,7; 1,3; 1,5 раза соответственно ( $p < 0,05$ ). В горизонтальных нейронах достоверно увеличивается удельная площадь эндоплазматической сети в 3,4 раза ( $p < 0,05$ ).

Через 14 суток происходит увеличение площади органелл в биполярных нейронах. В 1,3 раза повышается данный показатель для митохондрий и эндоплазматической сети, в 1,6 – для комплекса Гольджи ( $p < 0,05$ ). В амакринных нейронах прирост удельной площади органелл идет в 1,6; 1,4 и 1,5 раза соответственно ( $p < 0,05$ ). В горизонтальных нейронах наблюдается увеличение только площади эндоплазматической сети в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ).

В данном исследовании также отмечалось снижение повреждающего влияния лазерного излучения на глиоциты на фоне введения в качестве ретинопротектора синтетического дипептида АВ-17, что проявлялось снижением количество пикноморфных клеток в 1,4 раза при обеих длинах волн и во все сроки эксперимента при сравнении с группами без коррекции ( $p < 0,05$ ). Вероятно, это связано с мембранопротекторным

действием препарата и, следовательно, с большей сохранностью органелл глиоцитов. Это способствует нормализации их функциональной активности, что приводит к повышению сохранности нейронов внутреннего ядерного слоя.

Слой ганглионарных нейронов на фоне введения препарата характеризуется появлением в кариолемме нейронов глубоких многочисленных складок. Данное явление может быть расценено как компенсаторно-приспособительная реакция клеток на патологическое воздействие и способствует репаративным процессам. Помимо этого, во все сроки отмечается достоверное снижение количества пикноморфных нейронов и клеток с явлениями очагового и тотального хроматолиза по сравнению с группами без введения синтетического дипептида. Все это приводит к большей сохранности ганглионарных нейронов и их оптимальной функциональной активности в патологических условиях. Через 1 сутки после воздействия лазером с длиной волны 450 нм на фоне введения препарата отмечается увеличение площади комплекса Гольджи в цитоплазме ганглионарных нейронов в 1,3 раза, митохондрий в 1,4 раза и эндоплазматической сети в 1,7 раза по сравнению с предыдущей серией эксперимента ( $p < 0,05$ ).

Через 14 суток происходит возрастание по сравнению с показателями в группе без коррекции удельной площади комплекса Гольджи в 1,3 и эндоплазматической сети в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ).

Эффективность препарата по данным определения удельной площади органелл выше при лазерном воздействии с длиной волны 450 нм, чем при 535 нм ( $p < 0,05$ ).

Со стороны синаптического аппарата сетчатки при введении синтетического дипептида АВ-17 на фоне воздействия лазерным излучением с длинами волн 450 и 535 нм через сутки отмечается увеличение количества симметричных синапсов по сравнению с данными в группах без коррекции в 3 раза.

На 14-е сутки показатель численности симметричных синапсов продолжает возрастать и увеличивается в 2 и 3 раза соответственно по сравнению с показателями первых суток. Так как симметричные синапсы являются незрелыми, функционально неполноценными и, в дальнейшем, при созревании переходят в асимметричные, то наиболее вероятным в данной ситуации является наличие процессов синаптогенеза. Данные процессы обеспечивают восстановление межклеточных контактов. Помимо этого, отмечается большая сохранность зрелых асимметричных синапсов, среди которых преобладают положительно изогнутые синапсы с высотой плотных проекций 50-60 нм и синапсы с большей длиной активной зоны контакта. Появление гипертрофированных синапсов происходит в результате выполнением ими большого объема функции, вследствие гибели части контактов. Данная реакция является

компенсаторно-приспособительной и встречается при многих видах патологических воздействий на сетчатку [Майоров В.Н., 1977; Степанов С.С., 1986; Логвинов С.В., 1993; Логвинов С.В., 1998; Малиновская И.С., 1998].

Таким образом, наиболее вероятной представляется следующая схема патоморфогенеза сетчатки при воздействии лазерным излучением пороговых интенсивностей и на фоне коррекции синтетическим дипептидом (рис.1). Имеется три механизма повреждения структурных компонентов сетчатки: фотохимический, термический механизмы и повреждение ударной волной. Учитывая параметры воздействия, наиболее значимым является фотохимический механизм. Происходит повреждение всех слоев сетчатки. Пигментный эпителий подвергается деструкции и утрачивает свои защитные свойства, в результате чего нарастает повреждение фоторецепторных клеток. Поражается синаптический аппарат сетчатки. Количество синапсов снижается, и они подвергаются дегенеративным изменениям. Данные процессы приводят к нарушению межклеточных контактов и усиливают деструктивные процессы в клетках наружного и внутреннего ядерных слоев, а также в гангионарных нейронах. Не менее важным оказывается поражение глиального компонента, выполняющего трофическую, защитную и метаболическую функции. В результате гибели глиоцитов происходит нарушение глионейральных

отношении и нарастание повреждения нейронов. Увеличивается количество пикноморфных ассоциативных клеток. Ганглионарные нейроны подвергаются очаговому и тотальному хроматолизу. Часть клеток гибнет. Большую роль в развитии патологических изменений структурных компонентов сетчатки играет гипоксия, развивающаяся вследствие стаза и тромбоза в капиллярах хориоидеи и интратретинальных сосудах. Причиной данных изменений служат нарушение реологических свойств крови и деструктивные изменения эндотелиоцитов. Синтетический дипептид обладает протекторным действием в отношении клеточных мембран, что снижает деструкцию нейросенсорных клеток. Пигментный эпителий сохраняет в большем объеме свои защитные функции. Синаптический аппарат характеризуется большей сохранностью и обеспечивает межклеточные взаимодействия. Глионейральные отношения нарушаются в меньшей степени, и глиоциты выполняют свои функции, необходимые для обеспечения нормальных процессов жизнедеятельности нейронов. Синтетический дипептид и препараты из группы нейропептидов способны оказывать влияние на гемостаз и фибринолитическую активность крови, за счет чего нормализуются реологические показатели, и сохраняется адекватная перфузия всех слоев сетчатки. Это способствует снижению



деструктивных изменений структурных компонентов сетчатки.

## **ВЫВОДЫ**

1. Лазерное воздействие пороговой интенсивности повреждает все клеточные элементы сетчатки в разной степени. Наиболее выражена деструкция нейросенсорных клеток. В механизмах повреждения важную роль играют нарушения гематоретинального барьера.
2. Влияние лазерного излучения на нейроны внутреннего ядерного и ганглионарного слоев влечет выраженные пикноморфные и хроматолитические изменения, приводит к ультраструктурным нарушениям и снижению удельной площади гранулярного эндоплазматического ретикулума, митохондрий и комплекса Гольджи, степень которых варьирует в зависимости от типа нейронов. Существенным звеном в механизмах лазерного поражения нейронов сетчатки являются структурные изменения радиальной глии и глионейральных взаимоотношений.
3. Лазер поражает синапсы сетчатки, что приводит к снижению их численной плотности с преимущественным уменьшением количества асимметричных активно функционирующих контактов.
4. Агрессивное действие лазера пороговых интенсивностей на сетчатку более выражено при длине волны 450 нм, чем при 535 нм.

Структурные нарушения нарастают в течение двух недель после воздействия.

5. Синтетический дипептид АВ-17 снижает повреждающее влияние лазерного излучения на структурные компоненты сетчатки, что проявляется уменьшением деструктивных изменений пигментного эпителия, нейросенсорных клеток, гематоретинального барьера, синаптического аппарата и клеток внутренних слоев сетчатки.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Структурные изменения сетчатки при комбинированном воздействии ионизирующей радиации и яркого света /С.В. Логвинов, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута, Д.А. Дробатулина, Е.П. Михуля, И.С. Малиновская, А.А. Жданкина, Е.Ю. Аникина // Морфология. — 2004. — Том 126, N 4 . — С. 69.
2. Изменения сетчатки и зрительного нерва при комбинированном воздействии ионизирующей радиации и света /С. В. Логвинов, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута, Е.П. Михуля, А.А. Жданкина, Е.Ю. Аникина // Морфология. — 2006. — Том 129, N 4 . — С. 76.
3. Изменения синапсов сетчатки глаза при комбинированном воздействии ионизирующей радиации и постоянного

- низкоинтенсивного света /А.В. Потапов, С.В. Логвинов, Е.Ю. Варакута, Е.П. Михуля, А.А. Жданкина, Е.Ю. Аникина // Морфология. — 2006. — Том 130, N 5 . — С. 72.
4. Морфологические изменения сетчатки глаза при воздействии лазерным излучением пороговой интенсивности и их коррекция синтетическим дипептидом АВ-17 /С.В. Логвинов, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута, Е.Ю.Аникина, Е.П. Михуля, А.А. Жданкина, И.В. Бухтияров, Ю.Ю. Кисляков, А.Б. Прокофьев, Е.А. Каменкова // Морфология. — 2008. — Том 134, N 5 . — С. 51.
  5. Общие закономерности поражения сетчатки и зрительного нерва при комбинированном воздействии ионизирующей радиации и света /А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута, А.А. Жданкина, Е.П. Михуля, Е.Ю. Аникина // Морфология. — 2008. — Том 133, N 3 . — С. 92.
  6. Морфологические изменения сетчатки при воздействии лазерным излучением пороговых интенсивностей с длиной волны 450 нм и их коррекция синтетическим дипептидом / Е.Ю. Аникина, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута и др.// Бюллетень Сибирской медицины. — 2009. — Том 8, N 2 . — С. 5-9.
  7. Изменения синапсов сетчатки при воздействии лазерного излучения пороговой интенсивности и их коррекция синтетическим

дипептидом / Е.Ю. Аникина, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута, И.В. Бухтияров, Ю.Ю. Кисляков, А.Б. Прокофьев, Е.А. Каменкова, С.В. Логвинов // "Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем в норме и при патологии": Материалы научной конференции, посвященной 120-летию кафедры нормальной физиологии СибГМУ (ТМИ) и кафедры физиологии ТГУ. – Томск: СибГМУ, 2009. – С. 111-112.

8. Морфофункциональные изменения пигментного эпителия и нейросенсорных клеток сетчатки при воздействии лазерного излучения пороговой интенсивности и их коррекция синтетическим дипептидом/ Е.Ю. Аникина, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута, И.В. Бухтияров, Ю.Ю. Кисляков, А.Б. Прокофьев, Е.А. Каменкова, С.В. Логвинов // "Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных органов и систем в норме и при патологии": Материалы научной конференции, посвященной 120-летию кафедры нормальной физиологии СибГМУ (ТМИ) и кафедры физиологии ТГУ. – Томск: СибГМУ, 2009. – С. 113-114.

## **СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

АЗК – активная зона контакта

нм – нанометр

ПП – плотные проекции

сут – сутки

ФВК – фосфорно-вольфрамовая кислота

ССЕ – субсинаптическая единица

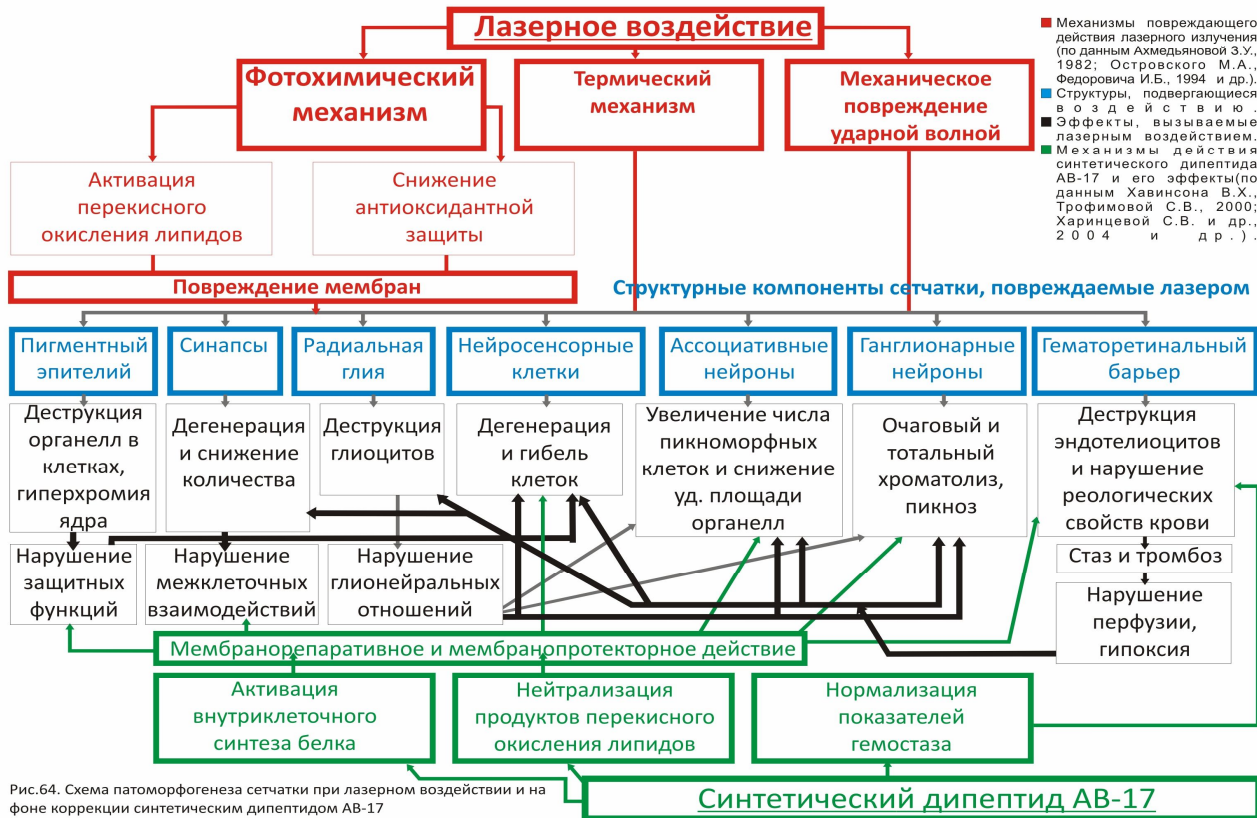


Рис.64. Схема патоморфогенеза сетчатки при лазерном воздействии и на фоне коррекции синтетическим дипептидом АВ-17

