

На правах рукописи

Жданкина Анна Александровна

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗА ПРИ  
ФОТОПОВРЕЖДЕНИИ НА ФОНЕ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА И ИХ  
КОРРЕКЦИЯ АСКОВЕРТИНОМ  
(экспериментальное исследование)

03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология

14.00.16 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Томск 2006

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научные руководители: доктор медицинских наук, профессор  
Логвинов Сергей Валентинович

кандидат медицинских наук  
Варакута Елена Юрьевна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор  
Красноженов Евгений Павлович

доктор медицинских наук, профессор  
Удут Владимир Васильевич

Ведущая организация: ГОУ ВПО Новосибирский государственный  
медицинский университет Росздрава

Защита диссертации состоится «\_\_\_»\_\_\_\_\_2006 г. в «\_\_\_» час  
на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при ГОУ ВПО СибГМУ  
Росздрава, по адресу 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГОУ  
ВПО СибГМУ Росздрава (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан «\_\_\_»\_\_\_\_\_2006 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Герасимов А.В.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** С каждым годом растет нагрузка на зрительный анализатор людей всех возрастных групп, что связано, в первую очередь, с развитием науки и техники, внедрением в производство и медицинскую практику мощных источников света [Michels M. et al., 1990; Arafat A.F. et al., 1994; Bradham M.S. et al., 1995; Смирнов Е.Б., Пучков В.Ф., 2003]. Яркий видимый свет способен оказывать выраженное повреждающее действие на глаза, особенно подверженные заболеванию. Экспериментальное высокоинтенсивное световое облучение животных вызывает деструктивные нарушения всех элементов сетчатки глаза - пигментоэпителиоцитов и нейросенсорных клеток, приводит к дегенерации части ассоциативных нейронов внутреннего ядерного слоя и мультиполярных нейронов ганглионарного слоя, изменению синаптоархитектоники сетчатки, деструкции глии. Наблюдаются гемодинамические расстройства, ультраструктурные нарушения эндотелиоцитов, базальной мембраны капилляров, что приводит к нарушению целостности гематоретинального барьера [Варакута Е.Ю., 2002; Дробатулина Д.А., 2004; Потапов А.В., 2004].

Ведущее место среди системных заболеваний, приводящих к слепоте уже в трудоспособном возрасте, занимает сахарный диабет [Балаболкин М.И., Гаврилюк Л.И., 1983; Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., 2000; Галстян Г.Р., 2002]. Морфофункциональные изменения при стойкой гипергликемии касаются практически всех звеньев зрительного анализатора, однако поражение сетчатки является основной причиной потери зрения [Можеренков В.П., Калинин А.П., 1991; Жабоедов Г.Д. и др., 2000; Нестеров А.П., 2000]. Начальные проявления диабетической ретинопатии возникают уже на ранних стадиях сахарного диабета, что подтверждается электронно-микроскопическими исследованиями базальной мембраны капилляров сетчатки [Anderson H.R. et al., 1995; Ljubimow A.W. et al., 1996; Li Q. et al., 2002]. Экспериментально показано, что они выражаются в большей степени структурными изменениями сосудов микроциркуляторного русла сетчатки – сужением интратретинальных сосудов и хориокапилляров, деструктивными нарушениями радиальной глии. Также в некоторой степени страдают ассоциативные нейроны внутреннего ядерного слоя – наблюдается усиление складчатости ядра, набухание митохондрий и цистерн эндоплазматической сети, растет содержание пикноморфных ассоциативных нейронов [Bensaoula T., Ottlecz A., 2001; Li Q. et al., 2002; Варакута Е.Ю., 2002; Варакута Е.Ю., Потапов А.В., 2005].

Аллоксановый диабет усиливает фотодегенерацию сетчатки, приводя к деструкции компонентов гематоретинального барьера и развитию процессов неоваскулогенеза [Варакута Е.Ю., 2002]. Большую роль в данном синергическом эффекте играет увеличение окислительного напряжения и срыв антиоксидантной защиты в сетчатке, как при сахарном диабете, так и при световом воздействии [Noell W.K. et al., 1966; Островский М.А., Федорович И.Б., 1982; Nam W. et al., 1984; Зуева М.В. и др., 1987;

Сапержинский И.И., 1992; Varinapa M., 1995; Можеренков В.П., Калинин А.П., 1991; Кондратьев Я.Ю. и др., 1998; Булатова О.С. и др., 1999].

В последнее время значительный интерес в качестве перспективных протекторов повреждения клеток при патологиях, сопровождающихся появлением активных форм кислорода, представляют флавоноидсодержащие растительные препараты. Это связано в первую очередь с выраженными антиоксидантными свойствами биофлавоноидов [Кондакова Н.В. и др., 1996; Теселкин Ю.О., 2003; Плотников М.Б. и др., 2005]. В Томском НИИ фармакологии СО РАМН создан препарат асковертин - смесь диквертина с аскорбиновой кислотой (патент РФ № 2150282, приоритет от 06.11.1998 г.). Диквертин (дигидрокверцетин, таксифолин, 3,3,3,4,5,7-пентагидроксифлавоноид) относится к флавоноидам растительного происхождения [Плотников М.Б. и др., 2000; Плотников М.Б. и др., 2005]. В литературе имеются сведения о выраженных церебропротекторных свойствах асковертина. Он обладает антиоксидантным и антигипоксическим действием, влияет на тонус сосудов, нормализует мозговую гемодинамику, улучшает реологические свойства крови [Маслов М.Ю. и др., 1998; Плотников М.Б. и др., 2005]. Имеются сведения, что флавоноиды диквертин и танакан повышают активность ферментов антиоксидантной защиты - супероксиддисмутазы и каталазы, тем самым, способствуя замедлению прогрессирования пролиферативной диабетической ретинопатии и улучшению электрофизиологических показателей сетчатки [Бобырева Л.Е., 1998; Балаболкин М.И. и др., 2003]. Известно также, что витамин С способен усиливать антиоксидантные свойства флавоноидов, в частности, диквертина [Middleton E., Kandaswami S., 1992; Бобырева Л.Е., 1998; Плотников М.Б. и др., 2005].

Таким образом, можно предположить возможность использования асковертина для патогенетической коррекции морфологических изменений сетчатки, возникающих на фоне начальной стадии сахарного диабета при воздействии высокоинтенсивного света в эксперименте.

**Цель исследования.** Изучить морфологические изменения сетчатки при фотопоражении на фоне аллоксанового диабета и оценить характер влияния асковертина на состояние ее структурных компонентов при указанных экспериментальных воздействиях.

**Задачи исследования:**

1. Изучить характер и динамику изменений нейрональной популяции сетчатки при воздействии света высокой интенсивности на фоне аллоксанового диабета при введении асковертина.
2. Выявить ультраструктурные изменения синапсов сетчатки при воздействии указанных факторов.
3. Оценить реакцию глиальных элементов сетчатки при воздействии указанных факторов.
4. Определить характер и динамику изменений сосудов сетчатки и гематоретинального барьера при воздействии указанных факторов.

5. Установить характер и последовательность реакций структурных компонентов сетчатки при воздействии указанных факторов для выявления их роли в механизмах поражения и репарации.

**Научная новизна.** Впервые проведено детальное исследование влияния асковертина на морфофункциональное состояние различных элементов сетчатки при воздействии света высокой интенсивности (6000 лк) на фоне аллоксанового диабета. Проанализирована динамика изменений состава органелл в биполярных и ганглионарных нейронах. Дана сравнительная характеристика полученных результатов. Впервые показана эффективность применения асковертина в качестве ретинопротектора. Обнаружено, что высокоинтенсивное световое воздействие и облучение на фоне аллоксанового диабета вызывают очаговые изменения сетчатки животных со значительной деструкцией в очагах поражения нейросенсорных клеток и пигментноэпителиоцитов, в группах с гипергликемией изменения носят более выраженный характер. Установлено, что курсовое введение асковертина приводит к снижению удельной площади очагов поражения, что связано с ростом удельной площади открытых сосудов, увеличением функциональной активности пигментного эпителия, большей сохранностью нейросенсорных клеток в обеих экспериментальных группах благодаря выраженным антиоксидантным и гемореологическим свойствам препарата. Выявлено, что асковертин улучшает глионейральные и межнейрональные взаимодействия, способствуя снижению деструкции и увеличению регенераторного потенциала радиальной глии, повышая устойчивость нейронов внутренних слоев сетчатки к повреждению и приводя к большей сохранности асимметричных функционально активных синапсов.

**Практическая значимость работы.** Получены новые знания о закономерности морфофункциональных изменений структурных компонентов сетчатки при высокоинтенсивном световом воздействии, облучении при аллоксановом диабете с использованием биофлавоноида асковертина. Представленные в диссертации данные о протективном эффекте асковертина на сетчатку глаза при воздействии света на фоне аллоксанового диабета могут быть использованы для разработки новых подходов профилактики и патогенетического лечения одного из осложнений сахарного диабета - ретинопатии.

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".

Работа 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. Световое воздействие и облучение на фоне аллоксанового диабета вызывают значительную деструкцию нейросенсорных клеток, приводя к их очаговому выпадению, что связано с нарушением микроциркуляции и

деструкцией пигментного эпителия. Асковертин увеличивает функциональную активность пигментного эпителия, повышает содержание открытых сосудов, приводя к снижению дегенерации нейросенсорных клеток, и сокращению площади очагов поражения.

2. Деструкция радиальной глии, компонентов гематоретинального барьера ведут к повреждению нейронов внутренних слоев сетчатки. Введение асковертина стимулирует пролиферацию радиальной глии, снижает дегенеративные изменения структур гематоретинального барьера, что приводит к высокой сохранности ассоциативных и ганглионарных нейронов и препятствует нарастанию вторичных альтеративных изменений сетчатки в отдаленные сроки после облучения.

3. Высокоинтенсивное световое воздействие и облучение на фоне аллоксанового диабета приводят к выраженным нарушениям синаптоархитектоники сетчатки. Репарация синаптических образований осуществляется путем неосинаптогенеза. Введение асковертина снижает деструкцию функционально активных асимметричных контактов, улучшая межнейрональные взаимодействия.

**Апробация.** Материалы диссертации доложены на научном совещании гистологов на тему “Актуальные проблемы учения о тканях” (Санкт-Петербург, 2006), V съезде по радиационным исследованиям (радиобиология, радиоэкология, радиационная безопасность) (Москва, 2006).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 179 страницах и состоит из введения, 4 глав, выводов и библиографического списка. Работа иллюстрирована 4 таблицами, 69 рисунками (20 микрофотографий, 32 электронограммы, 16 графиков и 1 схема). Библиографический указатель включает 261 источник, из них 94 на русском и 167 на иностранных языках.

## **СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Эксперименты проведены на 100 самках беспородных белых крыс с первоначальной массой 150-200 г., полученных из вивария СибГМУ. Работа соответствует положениям Федерального Закона «О защите животных от жестокого обращения», введенным в действие 01.01.1997 г.

Животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-ти часовом световом дневном режиме с искусственным освещением низкой интенсивности (25 лк). Дозиметрический контроль освещенности проводили с помощью объективного люксметра.

Материалом исследования служили сетчатки крыс, изъятые сразу после их умерщвления декапитацией под эфирным наркозом. Забой экспериментальных животных производился одновременно с контрольной группой.

В первой серии эксперимента животных ( $n=20$ ) помещали в специальную установку из прямоугольных рефлекторов с вмонтированными в них люминесцентными лампами ЛБ-40 с максимумом облучения в желто-зеленой области спектра, освещающая клетку с 5-ти сторон. Освещенность животных составила 6000 лк, длительность воздействия 6 часов. Перед облучением проводили атропинизацию и дикаинизацию глаз животных. Через 1, 7, 14 и 30 суток после облучения крыс выводили из эксперимента описанным ранее методом и проводили энуклеацию глаз.

Во второй серии облучение в указанных параметрах производили на фоне введения животным ( $n=20$ ) внутрижелудочно асковертина из расчета 70 мг/кг в сутки в течение 5-ти суток. Первое введение препарата осуществляли за двое суток до воздействия фактора. Взятие материала через 1, 7, 14 и 30 суток после облучения.

В третьей серии эксперимента моделировали сахарный диабет. Для этого животным ( $n=20$ ) после 24-х часового голодания вводили аллоксан в дозе 15 мг/100г внутрибрюшинно однократно. Критерием тяжести заболевания служили концентрация глюкозы в крови, взятой из хвостовой вены животных ( $>15$  ммоль/л), выраженность полиурии и полифагии, вялость, потеря массы тела. Средняя концентрация глюкозы составляла 20,7 ммоль/л. Через 1 месяц после введения аллоксана животных облучали люминесцентными лампами ЛБ-40 с освещенностью 6000 лк в течение 6 часов. Животных выводили из эксперимента через 1, 7, 14 и 30 суток после облучения.

Животным четвертой серии ( $n=20$ ) после суточного голодания вводили аллоксан в дозе 15 мг/100г внутрибрюшинно. Через 1 месяц после введения аллоксана их облучали люминесцентными лампами ЛБ-40 с освещенностью 6000 лк в течение 6-ти часов. Облучение животных проводили на фоне внутрижелудочного введения асковертина в дозе 70 мг/кг в течение 5 суток. Первое введение препарата производили за двое суток до светового воздействия. Взятие материала осуществляли через 1, 7, 14 и 30 суток после облучения.

Контрольной группой животных ( $n=20$ ) служили интактные крысы, которых содержали с экспериментальными животными в идентичных условиях вивария. Световой режим 12 ч – день, 12 ч – ночь, дневная освещенность – 25 лк.

### **Микроскопическое исследование**

Заднюю стенку глаз фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в парафин. Готовили отвесные срезы задней стенки глаза толщиной 5-7 мкм. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином; крезильным фиолетовым по Нислю; с помощью постановки ШИК-реакции.

На препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, определяли удельную площадь очагов поражения сетчатки с использованием окулярной сетки Автандилова.

С целью проведения иммуногистохимического исследования материал фиксировали в 12% нейтральном формалине и заливали в парафин

[Эллиниди В.Н. и др., 2002]. На парафиновых срезах проводили двухэтапные реакции для выявления белков-маркеров апоптоза – p 53 и bcl-2. На первом этапе депарафинированные срезы подвергали высокотемпературной обработке и инкубации с первыми (специфичными) антителами. На втором этапе проводили инкубацию со вторыми антителами, авидин-биотин-пероксидазным комплексом с последующим выявлением пероксидазы хрена диаминобензидином. Готовые срезы докрашивали квасцовым гематоксилином и заключали в канадский бальзам. Подсчет p-53- и bcl-2-положительных нейронов производили методом на 200 клеток с каждой сетчатки при увеличении 10x90.

### **Электронно-микроскопическое исследование**

Для проведения ультраструктурного анализа заднюю стенку глаз фиксировали в растворе, содержащем смесь параформальдегида (4%) и глутаральдегида (0,5%), приготовленном на основе 0,2 М какодилатного буфера (pH 7,4) (Vaughn J.E., Peters A., 1966). Материал постфиксировали в 2% растворе четырехоксида осмия и заливали в эпон (Боголепов Н.Н., 1976).

Просмотр и фотографирование полутонких срезов производили на световом микроскопе “Люмам И1”.

На полутонких срезах, окрашенных толуидиновым синим, определяли удельную площадь слоев сетчатки, количество слоев и плотность распределения ядер в наружном ядерном слое, глионейрональный индекс во внутреннем ядерном слое. Производили подсчет нейросенсорных клеток с пикнозом ядра на 1000 фоторецепторов с каждой сетчатки, пикноморфных радиальных глиоцитов, нейронов внутреннего ядерного и ганглионарного слоев на 200 клеток с каждой сетчатки.

Ультратонкие серебристые и бледно-золотистые срезы помещали на медные сетки, докрашивали уранилацетатом и цитратом свинца, изучали и фотографировали в электронном микроскопе JEM-7A. На ультратонких срезах производили подсчет удельной площади митохондрий, гранулярной эндоплазматической сети (гр.ЭПС) и комплекса Гольджи (КГ) в биполярных и ганглионарных нейронах при увеличении 8500 на 100 клеток каждой сетчатки при помощи сетки Автандилова.

Для количественного изучения синаптического пула на этапе дегидратации без предварительного осмирования, задние стенки глаз в течение 3-х часов контрастировали в 5% растворе фосфорно-вольфрамовой кислоты (ФВК).

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

Подсчитывали количество определенных контактов с асимметричной и симметричной организацией субсинаптических единиц. Асимметричные



контакты по степени выраженности плотных проекций (ПП) пресинаптической решетки дифференцировали на типы: А (высота ПП больше 60 нм), В (высота ПП 50-60 нм), С (высота ПП меньше 50 нм) (Семченко В.В. и соавт., 1987). Длину активной зоны контакта (АЗК), 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).

Статистическая обработка результатов проведена при помощи программы STATISTICA 6.0 методами вариационной статистики. Для оценки достоверности различий при сравнении средних величин использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$  (Автандилов Г.Г. и др., 1990).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Структурные изменения сетчатки глаза при световом воздействии, облучении на фоне аллоксанового диабета и их коррекции асковертином**

#### **Пигментный эпителий**

Через сутки после светового воздействия во всех исследуемых группах наблюдается активация фагоцитарной активности пигментноэпителиоцитов (ПЭ), что выражается в повышении количества фагосом и увеличении в размерах апикальных микроворсинок. Аналогичная реакция пигментного эпителия отмечена в ранние сроки после микроволнового излучения и ионизирующей радиации (Логвинов С.В., 1993), света высокой интенсивности и ионизирующего излучения (Потапов А.В., 1998; Дробатулина Д.А., 2004), а также светового облучения на фоне введения циклофосфана (Малиновская И.С., 1998).

Изменения удельной площади пигментного эпителия в срезе сетчатки на 1-е сутки после облучения наблюдались только в группе со световым воздействием на фоне аллоксанового диабета, в которой данный показатель снижался до  $3,90 \pm 0,34\%$  и был достоверно ниже как значений контрольной группы ( $5,43 \pm 0,09\%$ ,  $p < 0,05$ ) так и аналогичной группы с коррекцией асковертином ( $5,91 \pm 0,36\%$ ,  $p < 0,05$ ).

На 7-е сутки после облучения во всех группах изменения носят очаговый характер, что, вероятно, связано с исходным состоянием хориокапилляров, а также со срывом защитных и компенсаторно-приспособительных механизмов пигментного эпителия. В группе со световым воздействием удельная площадь очагов достигает  $26,8 \pm 1,72\%$ , и значимо отличается от соответствующего показателя группы с облучением на фоне аллоксанового диабета, где он составляет  $56,1 \pm 1,81\%$  ( $p < 0,05$ ). Курсовое введение асковертина уменьшает деструкцию в обеих исследуемых группах, что выражается в достоверном снижении удельной площади очагов до  $16,05 \pm 0,62\%$  ( $p < 0,05$ ) после светового

воздействия и до  $36,1 \pm 1,9\%$  после облучения на фоне аллоксанового диабета ( $p < 0,05$ ).

В очагах повреждения групп без использования антиоксидантной терапии на 7-е сутки после облучения часть ПЭ уплощается. При этом удельная площадь пигментного эпителия в срезе сетчатки значимо не отличается от контрольных значений. Большинство ПЭ групп с коррекцией подвергаются гипертрофии, что приводит к увеличению удельной площади пигментного эпителия по отношению к контролю в 1,3 ( $p < 0,05$ ) при световом воздействии и 1,6 ( $p < 0,05$ ) облучении на фоне гипергликемии. Вне очагов изменения показателя менее выражены.

На 14-е и 30-е сутки после облучения в очагах поражения групп без использования аскорвтина ПЭ подвержены значительной деструкции, что сопровождается снижением удельной площади пигментного эпителия до  $3,19 \pm 0,31\%$  ( $p < 0,05$ ) группе со световым воздействием и  $2,99 \pm 0,13\%$  ( $p < 0,05$ ) в группе с облучением на фоне аллоксанового диабета. В группах с коррекцией часть ПЭ подвержена пикнозу, отдельные клетки характеризуются большими размерами ядра, набуханием митохондрий, появлением множества мелких вакуолей и микровезикул, увеличением базальной складчатости, гипертрофией апикальных микроворсинок, при этом значения удельной площади пигментного эпителия в срезе сетчатки не отличаются от значений контроля.

### **Нейросенсорные клетки**

Как при высокоинтенсивном световом воздействии, так и при облучении на фоне гипергликемии, первоначальные изменения возникают в наружных сегментах нейросенсорных клеток в виде расслоения, фрагментации, вакуольной дегенерации мембран, что сочетается с мнением многих исследователей [Chen E., 1993; Chen W.H., Zhang H.R. 1993; Rapp L.M. et al., 1992, 1994; Unoki K. et al., 1994; Koutz R. et al., 1995]. Во внутренних сегментах наблюдаются набухание и отек митохондрий, деструкция крист, снижение количества рибосом в эндоплазматической сети, что свидетельствует об угнетении белоксинтезирующей и энергообразующей функций клеток (Morgia M et al., 1986).

Удельная площадь фотосенсорного слоя сетчатки крыс на первые сутки после облучения в группах со световым воздействием и облучением на фоне гипергликемии значимо снижается по отношению к контрольным значениям до  $18,26 \pm 0,65\%$  и  $12,31 \pm 0,59\%$  соответственно (контроль  $24,60 \pm 0,37\%$ ,  $p < 0,05$ ). В группах с коррекцией значения данного показателя не отличаются от контроля.

На 7-е сутки после облучения в очагах поражения в субретинальном пространстве обнаруживаются фрагменты наружных сегментов, мембранные комплексы, внутренние сегменты подвергаются разрыву и лизису. Наблюдается снижение удельной площади фотосенсорного слоя на срезе сетчатки по отношению к контролю до  $6,19 \pm 0,33\%$  (контроль,  $p < 0,05$ ) в группе со световым воздействием и  $4,62 \pm 0,25\%$  (контроль,  $p < 0,05$ ) в группе с облучением на фоне аллоксанового диабета. В группах с коррекцией данный показатель составляет

8,63±0,67% и 6,98±0,60% соответственно, что значимо ( $p<0,05$ ) выше значений групп без использования асковертина.

На 14-е и -30-е сутки после светового воздействия во всех группах в участках, соответствующих очагам, фотосенсорный слой практически отсутствует. Это, вероятно, обусловлено тем, что при слишком ярком или длительном облучении обесцвеченный ретиналь выступает в качестве фотосенсибилизатора процессов свободнорадикального окисления, играя ведущую роль в развитии повреждения мембран наружных сегментов фоторецепторов (Островский М.А. и др., 1991; Островский М.А., Федорович И.Б., 1982, 1994). Вне очагов в отдаленные сроки после облучения во всех группах большинство наружных и внутренних сегментов восстанавливает нормальное строение.

Ультраструктурные изменения ядросодержащей части нейросенсорных клеток во всех экспериментальных группах носят деструктивный характер, причем выраженность изменений после светового воздействия и облучения на фоне аллоксанового диабета существенно превосходит таковую в группах с коррекцией.

На первые сутки после светового облучения во всех группах значительно увеличивается содержание пикнотичных ядер нейросенсорных клеток (НК), встречаются клетки с выраженным отеком цитоплазмы. В группах с коррекцией между ядрами располагаются гипертрофированные и отечные склеральные отростки радиальной глии. Подобные изменения НК были описаны в литературе при использовании других интенсивностей видимого света – 500 лк, 800 лк, 10000 лк, 20000 лк (Зуева М.В., Иванина Т.А., 1980; Shahinfart S., Edward D.F., Tso M.O., 1991; Reme C.E. et al., 1991, 1994; Wasowicz M. et al., 2002), а также при других видах экспериментальных воздействий – микроволн, ионизирующей радиации, ионизирующей радиации на фоне диабета, комбинированном воздействии света и ионизирующей радиации, при воздействии света на фоне введения циклофосфана (Логвинов С.В., 1993; Малиновская И.С., 1998; Логвинов С.В., Потапов А.В., 1998; 2000; Дробатулина Д.А., 2004; Stitt A.W., Anderson H.R. et al., 1995).

Максимум деструктивных изменений ядерных структур НК во всех сериях эксперимента наблюдается в очагах поражения на 7-е сутки после облучения. В группах без коррекции наружный ядерный слой (НЯС) состоит преимущественно из 1-2 рядов ядер (контроль, 12-13 рядов), большая часть из которых подвержена кариопикнозу – 49,01±0,47% в группе с изолированным световым воздействием и 77,92±1,31% при аллоксановом диабете после облучения. После курсового введения асковертина сохранность клеток значительно повышается. Количество пикнотично измененных ядер в группе со световым воздействием на фоне коррекции составляет 4,98±0,09%, при аллоксановом диабете – 7,93±0,39%, значимо ( $p<0,05$ ) отличаясь между собой. Количество рядов при этом составляет 2-4, встречаются клетки с пикнозом ядра, а также клетки, вероятно, подвергающиеся апоптотической гибели с конденсацией и маргинацией хроматина в ядре. Численная плотность ядер во всех группах значительно снижается, причем различия между группами без

введения асковертина и на фоне коррекции недостоверны. Вероятно, это связано с активацией пролиферативной способности глии под влиянием асковертина, а именно выраженной пролиферацией склеральных отростков радиальной глии, которые располагаются между ядрами нейросенсорных клеток и подвергаются гипертрофии и отеку.

К 30-м суткам во всех сериях эксперимента в участках сетчатки, соответствующих очагам погибает в среднем 81% популяции нейросенсорных клеток, что связано с фагоцитозом деструктивных нейронов пигментоэпителиоцитами, радиальными глиоцитами и макрофагами, мигрирующими из микроциркуляторного русла в сетчатку. Между сохранившимися ядрами располагаются гипертрофированные отростки радиальной глии, вокруг деструктивных ядер НК радиальные глиоциты образуют пластины, которые изолируют их от окружающей ткани. Вне очагов большинство НК восстанавливают нормальное строение.

### **Нейроны внутреннего ядерного слоя**

На 1-е сутки после облучения изменения ассоциативных нейронов выражаются отеком цитоплазмы, деструкцией митохондрий и расширением цистерн ЭПС. Наблюдается рост процентного содержания гиперхромных пикноморфных нейронов внутреннего ядерного слоя до  $15,45 \pm 0,62\%$  (контроль  $1,85 \pm 0,13$ ,  $p < 0,05$ ), а также снижение удельной площади митохондрий по сравнению с контролем в 1,5 раз, гр. ЭПС в 3,7 раза и КГ в 1,4 раза (контроль  $15,58 \pm 2,08\%$ ;  $42,79 \pm 3,71$ ;  $2,71 \pm 0,13$  соответственно;  $p < 0,05$ ) в цитоплазме биполярных нейронов. Курсовое введение асковертина способствует снижению деструкции ассоциативных нейронов до контрольных значений во многом благодаря большей сохранности мембранных органелл. Показатели удельной площади гр. ЭПС и митохондрий значимо выше аналогичных значений группы без использования асковертина и составляют  $15,44 \pm 1,55\%$ , ( $p < 0,05$ ), и  $10,1 \pm 1,1\%$  ( $p < 0,05$ ) соответственно.

Сочетание светового облучения с аллоксановым диабетом приводит к увеличению содержания гиперхромных пикноморфных ассоциативных нейронов по отношению к контролю на 20,1% ( $p < 0,05$ ). Удельная площадь митохондрий и гр. ЭПС снижается в 2,1 и 5,1 раза соответственно (контроль,  $p < 0,05$ ). Введение асковертина приводит к достоверному снижению процента гиперхромных пикноморфных ассоциативных нейронов в 6,5 раза ( $p < 0,05$ ), что сочетается с возрастанием удельной площади митохондрий и гр. ЭПС до  $10,76 \pm 0,99\%$  ( $p < 0,05$ ) и  $12,11 \pm 0,24\%$  ( $p < 0,05$ ) соответственно, однако контрольных значений исследуемые показатели не достигают.

На 7-е сутки после светового облучения в очагах повреждения деструктивные изменения нейронов нарастают. Наибольшей деструкции подвергаются ассоциативные нейроны внутреннего ядерного слоя крыс с аллоксановым диабетом на фоне облучения. Их количество достигает  $24,7 \pm 0,96\%$ , что значимо отличается как от контрольной группы ( $p < 0,05$ ), так и от аналогичной группы с коррекцией ( $8,75 \pm 1,16\%$ ,  $p < 0,05$ ). При изолированном световом воздействии количество нейронов с деструкцией возрастает до

21,0±1,29% и также достоверно отличается от контроля ( $p<0,05$ ) и группы сравнения (9,5±0,53%,  $p<0,05$ ). Вне очагов изменения нейронов носят преимущественно реактивный характер.

На 14-е и 30-е сутки после облучения в очагах поражения всех групп большинство деструктивных нейронов окружены отеочной и пикноморфной радиальной глией, в сохранившихся клетках наблюдается активация репаративных процессов. Количественный анализ свидетельствует о снижении содержания деструктивно измененных нейронов, как в очагах, так и вне очагов поражения, однако к 30-м суткам после облучения степень поражения ассоциативных нейронов сетчаток леченых асковертином крыс в среднем в 4 раза ниже, чем у животных без коррекции.

### **Мультиполярные нейроны ганглионарного слоя**

Ганглионарные нейроны в меньшей степени подвержены деструктивным изменениям, вызванным высокоинтенсивным световым воздействием и облучением на фоне аллоксанового диабета, что, исходя из полученных нами данных, вероятно, объясняется изначально высокой активностью антиапоптотического белка bcl-2. Это, по-видимому, наряду с высоким содержанием в клетке органелл синтеза, способствует увеличению порога развития дегенеративных нарушений в ответ на действие патологических факторов.

Через сутки после светового воздействия, а также облучения на фоне аллоксанового диабета наблюдаются максимальные значения показателя процентного содержания пикноморфных ганглионарных нейронов - 6,15±0,36% и 6,1±0,28% соответственно (контроль 1,55±0,17%,  $p<0,05$ ). У животных с коррекцией степень изменений показателя значительно ниже, причем в группе со световым воздействием его значения достоверно не отличаются от контроля, а в группе животных с аллоксановым диабетом составляют 2,95±0,35% (контроль,  $p<0,05$ ). Также наблюдается увеличение процентного содержания ганглионарных нейронов с очаговым хроматолизом по сравнению с контрольными значениями (контроль 3,4±0,19%,  $p<0,05$ ) в 1,8 раза при изолированном световом воздействии и в 3,2 при облучении на фоне гипергликемии. Курсовое введение асковертина приводит к снижению данных показателей до контрольных значений.

К 14-м суткам после облучения в очагах поражения групп без коррекции содержание нейронов с очаговым и тотальным хроматолизом достигает максимальных значений – 20,2±1,39% и 9,5±0,78% соответственно в группе со световым воздействием; и 23,45±0,86% и 15,28±0,88% соответственно в группе с облучением на фоне гипергликемии. К 30-м суткам происходит снижение обоих показателей. В сохранившихся нейронах с очаговым хроматолизом отмечаются активация ядрышка, усиление складчатости ядерной мембраны, а также увеличение удельной площади гр.ЭПС и митохондрий. Вне очагов изменения ганглионарных нейронов во всех группах незначительны.

Применение асковертина приводит к значительному снижению процентного содержания нейронов с очаговым и тотальным хроматолизом, а

также пикнозом ядра, что в первую очередь связано с увеличением по сравнению с сериями без коррекции удельной площади гр.ЭПС и митохондрий, и как следствие улучшению белоксинтезирующей и энергетической функций клеток, а также в некоторой степени может быть связано с увеличением активности антиапоптотического белка bcl-2, которая в несколько раз превышает активность проапоптотического белка гена p-53.

### **Межнейронные синапсы**

Синапсы являются одними из наиболее повреждаемых структурных компонентов сетчатки, так как известно, что мембраны пре- и постсинаптических отростков при активации в них перекисного окисления липидов повреждаются сильнее, чем мембраны других участков нейронов (Razdan B. et al., 1993).

Спустя сутки после светового воздействия во всех группах изменения ультраструктуры ленточных синапсов наружного сетчатого слоя характеризуются дезагрегацией и агглютинацией синаптических везикул, появлением мультивезикулярных телец, изменением структуры митохондрий. Реакция синапсов внутреннего сетчатого слоя выражается в виде набухания отростков, дезагрегации синаптических везикул, отека митохондрий, т.е. реакции контактов по светлому типу (Боголепов Н.Н., 1979; Семченко В.В. и др., 1995; Семченко В.В. и др., 1995).

Через 7 суток после высокоинтенсивного светового облучения во всех исследуемых группах в очагах поражения из-за выраженной деструкции наружного ядерного слоя, наружный сетчатый слой практически отсутствует и представлен редкими дегенеративно измененными синапсами. Вне очагов обращает на себя внимание некоторое удлинение синаптических лент. Во внутреннем сетчатом слое наблюдается снижение численной плотности синапсов, нарастают признаки дегенерации как пре-, так и постсинаптических отделов, растет число деструктивно измененных контактов по “светлому” и “темному” типу.

На 14-е и 30-е сутки после светового воздействия, облучения на фоне аллоксанового диабета и их коррекции в очагах поражения наружный сетчатый слой полностью отсутствует. Вне очагов наблюдается увеличение площади поперечного сечения нервных отростков за счет их гипертрофии. Во внутреннем сетчатом слое в очагах поражения большая часть синапсов изменена по “темному” типу с уменьшением их диаметра, повышением осмиофилии, появлением миелоноподобных и мультивезикулярных телец.

Количественные исследования активных зон синапсов с помощью контрастирования ФВК через 7 суток после светового воздействия и облучения на фоне аллоксанового диабета, как в группах без использования асковертина, так и в группах с коррекцией, свидетельствует о значительном снижении общей численной плотности контактов в условной единице площади нейропиля в основном за счет деструкции асимметричных положительно и отрицательно изогнутых синапсов, т.е. зрелых активно функционирующих контактов (Семченко В.В. и др., 1995).

В группе со световым воздействием численная плотность синапсов спустя 7 суток после облучения снижается в 1,8 раза (контроль  $19,4 \pm 0,88$ ;  $p < 0,05$ ), количество асимметричных синапсов при этом уменьшается в 2,1 раза (контроль  $13,97 \pm 0,58$ ;  $p < 0,05$ ).

Аллоксановый диабет усиливает световое повреждение, при этом численная плотность синапсов по сравнению с контролем падает в 2,6 раза ( $p < 0,05$ ), число асимметричных синапсов при этом становится равным  $4,65 \pm 0,36$  (контроль,  $p < 0,05$ ).

Курсовое введение асковертина не приводит к улучшению синаптического пула на 7-е сутки после светового воздействия и облучения на фоне гипергликемии. Его изменения аналогичны описываемым выше в группах без коррекции.

Весьма существенным оказывается изменение системы субсинаптических единиц – снижение высоты, размытость контуров и неравномерность прокрашивания плотных проекций. Это свидетельствует о протеолитической деструкции данных филаментозных образований и нарушении синаптической передачи при нормальной структуре синаптических везикул (Акерт К., 1972; Степанов С.С., 1986; Семченко В.В. и др., 1995; Семченко В.В. и др., 1995).

Во всех группах на 7-е сутки после облучения количество синапсов типа А с высотой плотных проекций  $> 60$  нм и С с высотой плотных проекций  $< 50$  нм значительно уменьшается по отношению к контрольной группе. У животных со световым воздействием на фоне коррекции асковертином наблюдаются максимальные значения численной плотности синапсов с высотой плотных проекций 50-60 нм.

Длина активной зоны контакта является отражением его функциональной активности и может меняться (Carverley R.K.S. et al., 1990), что свидетельствует о пластичности синаптического аппарата.

На 7-е сутки после высокоинтенсивного облучения во всех группах преобладают синапсы с длиной АЗК 300-500 мкм.

Репарация синаптической популяции возможна двумя путями – гипертрофией синапсов и их новообразованием (Боголепов Н.Н., 1979). К 30-м суткам после облучения заметно увеличивается количество мелких новообразованных синапсов с АЗК менее 100 мкм и 100-200 мкм. В группе со световым облучением на фоне введения асковертина увеличивается численная плотность асимметричных синапсов за счет плоских неактивных контактов, что, вероятно, происходит из-за созревания симметричных синапсов, поэтому общая численная плотность синапсов меняется незначительно. Здесь же наблюдается значимое увеличение синапсов с высотой плотных проекций  $< 50$  нм. Вероятно, асковертин, проявляя свои антиоксидантные свойства, оказывает мембраностабилизирующий эффект, что способствует повышению пластичности синаптического пула, восстановлению структуры и функции синапсов.

### Глиальные реакции

Глия играет важнейшую роль в обеспечении нервных клеток кислородом и удалении продуктов обмена (Боголепов Н.Н., 1979). В сетчатке глиальная популяция клеток представлена разнообразно, однако наши исследования показали, что астроглиоциты, располагающиеся по ходу кровеносных сосудов и олигодендроциты слоя нервных волокон в меньшей степени подвержены изменениям при действии изучаемых факторов.

Доказано, что существенную роль в развитии дегенеративных и репаративных процессов сетчатки играет радиальная глиа [Gardner T.W. et al, 1997]. Необратимые деструктивные изменения радиальных глиоцитов вызывают снижение репаративных процессов со стороны нейронов сетчатки [Gardner T.W. et al, 1997].

На 1-е сутки после светового воздействия, и особенно облучения на фоне аллоксанового диабета, наблюдаются как реактивные, так и деструктивные изменения радиальных глиоцитов, выражающиеся значительным повышением электронной плотности цитоплазмы и ядра, деструкцией органелл.

К 7-м суткам после облучения наблюдаются максимальные значения показателя гиперхромных пикноморфных радиальных глиоцитов –  $29,50 \pm 0,51\%$  в группе со световым воздействием (контроль  $2,65 \pm 0,13\%$ ;  $p < 0,05$ ), причем у животных с коррекцией данный показатель в 3,3 раза ниже ( $p < 0,05$ ); аналогичная динамика прослеживается в группах с аллоксановым диабетом.

Предполагают, что при гибели радиальных глиоцитов, которые метаболизируют медиатор глутамат, развивается глутаматная токсичность, способствующая повреждению нейронов сетчатки. Эти явления наблюдаются как после светового облучения (de Raad S. et al., 1996; Wasowicz M. et al., 2002), так и при сахарном диабете (Lieth-Alistair E.J. et al., 1998; Mizutani M., 1996; Борисова С.А., Коломойцева Е.М., 2003).

На 14-е сутки после облучения в очагах поражения исследуемых групп обнаруживаются многослойные глиальные пластины, которые в большом количестве окружают погибшие нейросенсорные клетки и ассоциативные нейроны и вероятно участвуют в их фагоцитозе. Количество гиперхромных пикноморфных глиоцитов снижается.

К 30-м суткам отмечается повышение пролиферативной активности глии, что выражается в повышении показателя глионейронального отношения, особенно в группе с изолированным световым облучением на фоне коррекции асковертином. Процентное содержание гиперхромных пикноморфных радиальных глиоцитов снижается в результате их утилизации, однако остается выше значений контроля, как в очаге, так и вне очага. Применение асковертина в группе со световым воздействием снижает степень деструкции радиальных глиоцитов в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ). Данный факт, вероятно, объясняется антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами препарата, что препятствует деструктивным изменениям органелл и сохраняет метаболическую и пролиферативную активность радиальных глиоцитов.



### **Сосуды и гематоретинальный барьер**

От степени повреждения сосудов хориоидеи, состояния кровотока в них при изучаемых нами экспериментальных воздействиях напрямую зависят характер патологических изменений структурных элементов сетчатки и процессы их репарации. В ранний период после светового воздействия, а также облучения на фоне гипергликемии эндотелиоциты капилляров подвергаются отеку цитоплазмы, вакуолизации большинства органелл. Описанные нами ультраструктурные изменения сосудов сетчатки неспецифичны и наблюдаются также при других видах экспериментальных воздействий: микроволн, гамма- и нейтронном облучении (Давыдов Г.А., Ушаков И.Б., 1987; Логвинов С.В., 1993).

На 7-е сутки после светового воздействия во всех исследуемых группах изменения сосудов носят очаговый характер. В очагах поражения происходит резкое снижение удельной площади открытых сосудов и значительный рост удельной площади сосудов хориоидеи со сладжем эритроцитов и тромбозом, в последующие сроки в очагах происходит дальнейшее увеличение исследуемого показателя. На 30-е сутки после облучения в группах животных с аллоксановым диабетом наблюдается максимальное число тромбированных сосудов и минимальное число открытых сосудов. Однако использование асковертина приводит к снижению площади тромбированных и увеличению открытых сосудов хориоидеи. Вне очагов сетчатки хориокапилляры несколько расширены, местами полнокровны. Удельная площадь открытых сосудов в группах с коррекцией значимо выше показателей групп без введения асковертина и при изолированном световом воздействии не отличается от контрольных значений, число тромбированных сосудов во всех исследуемых группах по сравнению с очагами возрастает незначительно и не изменяется в отдаленные сроки эксперимента. Ангиоспазм, являющийся неспецифической реакцией сосудов на любое стрессорное воздействие, в том числе и на высокоинтенсивное световое облучение, вызывает повреждение ультраструктуры сосудов, что влечет за собой ишемию сетчатки и поражение ее структурных компонентов. Изменение поверхности сосудистой стенки, замедление кровотока приводит к патологическому тромбообразованию, о чем свидетельствует увеличение площади тромбированных сосудов в хориоидее после облучения во всех исследуемых группах, что еще больше усугубляет гипоксию и нейродегенерацию.

Дисфункция микроциркуляторного русла, ишемия, деструкция пигментного эпителия и базального комплекса при высокоинтенсивном световом воздействии приводят к нарушению гематоретинального барьера и развитию процессов неоваскулогенеза к 30-м суткам после светового облучения. В группе животных с облучением на фоне аллоксанового диабета новообразование сосудов отмечаются уже на 7-е сутки после высокоинтенсивного светового воздействия, что связано с лежащей в основе диабетической ретинопатии микроангиопатии. Асковертин, оказывая выраженное влияние на показатели клеточной реологии, состояние

микроциркуляции, проявляя антиоксидантные свойства, улучшает сосудистый кровоток в сетчатке, способствуя снижению дегенеративных процессов.

На основании вышеизложенного, нам представляется следующая схема патоморфогенеза сетчатки при высокоинтенсивном световом облучении на фоне аллоксанового диабета при введении асковертина (рис. 1).

Обращает на себя внимание общность механизмов повреждения сетчатки при высокоинтенсивном световом воздействии и аллоксановом диабете, что, вероятно, приводит к синергическому эффекту при их комбинации. Это, во-первых, активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) и, во-вторых, гипоксия сетчатки, связанная с патологическими изменениями микроциркуляторного русла, лежащие в основе повреждения сетчатки высокоинтенсивным светом и диабетом, вероятно, обладают синергизмом при их комбинации,

Активация ПОЛ, образование большого количества агрессивных радикалов приводит к разрушению мембранных структур, главным образом, мембранных дисков фоторецепторов и синаптических образований, а также деструкции пигментного эпителия, радиальной глии и микрососудистым нарушениям. Антирадикальная активность асковертина способствует снижению указанных выше деструктивных изменений. Однако более выраженный протективный эффект препарата в отношении данных структур отмечен именно в группе с одиночным световым воздействием, что, вероятно, связано с различием в механизмах, ведущих к образованию высокоактивных радикалов при световом воздействии и аллоксановом диабете. Свет непосредственно запускает механизмы фотоокислации, а гипергликемия приводит к снижению активности антиоксидантных систем, растормаживая выработку свободных радикалов (Островский М.А., Федорович И.Б., 1982; Зуева М.В. и др., 1987; Сапержинский И.И., 1992; Varinara M., 1995; Можеренков В.П., Калинин А.П., 1991; Кондратьев Я.Ю. и др., 1998; Булатова О.С. и др., 1999).

Существенным в защите сетчатки от повреждения при использовании асковертина, оказалась высокая сохранность пигментного эпителия – важного звена в антирадикальной и антигипоксической защите сетчатки, что способствует меньшему повреждению нейросенсорных клеток, сохранению межнейронных связей, защите ассоциативных и ганглионарных нейронов, а также препятствует структурно-функциональным нарушениям гематоретинального барьера и процессам неоваскулогенеза.

Образование ишемических неперфузируемых зон хориоидеи играет существенную роль в очаговом поражении структурных компонентов сетчатки, как при одиночном высокоинтенсивном световом воздействии, так и облучении на фоне аллоксанового диабета. Механизмы развития сосудистых нарушений при данных экспериментальных воздействиях на начальных этапах своего развития различны, однако все они рано или поздно приводят к тромбозу и облитерации сосудов хориоидеи, стойкой гипоксии сетчатки, нарушению проницаемости гематоретинального барьера, развитию процессов неоваскулогенеза, следствием чего является усиление дегенерации

фоторецепторов, нарушение межнейронных связей, дегенеративные изменения мюллеровских глиоцитов и нейронов внутренних слоев. Высокоинтенсивное световое воздействие вызывает спазм одних сосудов хориоидеи и расширение других, что приводит к неодинаковому кровоснабжению отдельных зон сетчатки и ее очаговому поражению. В дальнейшем происходит поражение эндотелиальной выстилки спазмированных сосудов, что способствует нарушению реологических свойств крови, тромбообразованию. Деструктивные изменения пигментноэпителиоцитов, накладывающиеся на вышеописанные сосудистые нарушения приводят к нарушению проницаемости гематоретинального барьера и процессам неоваскулогенеза.

Микроангиопатия является главным звеном в патогенезе диабетической ретинопатии. Нарастающая гипоксия сетчатки влечет за собой дегенеративные изменения радиальных глиоцитов, что приводит к нарушению глионейронных взаимодействий и поражению внутренних нейронов сетчатки, главным образом ассоциативных клеток, а также к нарушению соседствующего с ними внеклеточного пространства, что лишает капилляры сетчатки опорки, создавая благоприятные условия для их аневризматического выпячивания. Полиоловый путь метаболизма глюкозы приводит к накоплению сорбитола, который, во-первых, повреждает эндотелиальные клетки и перициты, что вызывает изменение реологических свойств крови, во-вторых, способствует развитию апоптоза в нейронах внутреннего ядерного и ганглионарного слоев сетчатки. Процессы неферментативного гликозилирования также ведут к развитию эндотелиальной дисфункции, утолщению базальной мембраны и повреждению гематоретинального барьера. Немаловажным оказывается тот факт, что развитие окислительного стресса при сахарном диабете нарушает вязкоэластические свойства эритроцитов, повышая вязкость крови, что усугубляет гипоксию сетчатки и способствует развитию дегенеративных изменений нейронов.

Асковертин оказывает положительное влияние на показатели клеточной реологии, улучшая вязкоэластические свойства крови, оказывая антиагрегационное и капилляропротекторное действие, а также ограничивает свободно-радикальные процессы и ингибирует альдозоредуктазу, что приводит к улучшению состояния микроциркуляции, снижению гипоксии. Применение препарата уменьшает альтерацию глии, что выражается в снижении процента пикноморфных гиперхромных радиальных глиоцитов во всех исследуемых группах, способствует ее пролиферации и приводит к сохранности нейронов внутренних слоев сетчатки и восстановлению межнейронных связей.



## ВЫВОДЫ

1. Высокоинтенсивное световое воздействие и освещение на фоне аллоксанового диабета вызывают очаговое поражение сетчатки белых крыс. Наиболее подвержены фотодегенерации нейросенсорные клетки и пигментный эпителий. Аллоксановый диабет потенцирует эффект светового облучения, усиливая повреждение структурных компонентов сетчатки. Асковертин оказывает ретинопротекторное действие, снижая степень деструкции при указанных воздействиях.

2. Применение асковертина при световом воздействии и освещении на фоне аллоксанового диабета активизирует функциональную активность пигментного эпителия и уменьшает дегенерацию нейросенсорных клеток, что, наряду с увеличением удельной площади открытых сосудов хориоидеи, приводит к снижению площади очагов поражения.

3. Нейроны внутренних слоев сетчатки при исследуемых воздействиях подвергаются реактивным и деструктивным изменениям, ганглионарные нейроны менее поражаемы, чем ассоциативные. Введение асковертина повышает устойчивость нейронов к повреждению и активизирует внутриклеточную репарацию.

4. Изучаемые воздействия вызывают деструкцию синапсов и уменьшение общей численной плотности за счет асимметричных контактов. В механизмах репарации ведущую роль играют процессы неосинаптогенеза. Введение асковертина снижает дегенерацию функционально зрелых асимметричных синапсов.

5. Радиальная глия после светового воздействия и освещения на фоне аллоксанового диабета подвергается как дегенеративным, так и прогрессивно-пролиферативным изменениям. Введение асковертина снижает деструкцию радиальных глиоцитов и увеличивает их регенераторную активность.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Поражения сетчатки глаза при низкоинтенсивном световом воздействии // Материалы VII Конгресса Международной ассоциации морфологов, Казань 2004 г., Морфология. - 2004. – Т. 126. - № 4. - С. 27. / Соавт.: Е.Ю. Варакута, Е.П. Михуля, А.В. Потапов, С.В. Логвинов, И.С. Малиновская, Д.А. Дробатулина, Е.Ю. Аникина.

2. Структурные изменения сетчатки при комбинированном воздействии ионизирующей радиации и яркого света // Морфология. - 2004. – Т. 126. - № 4. - С. 69. / Соавт.: С.В. Логвинов, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута, Е.П. Михуля, И.С. Малиновская, Д.А. Дробатулина, Е.Ю. Аникина.

3. Морфологические изменения нейросенсорных клеток сетчатки при низкоинтенсивном световом воздействии // Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии, Томск, 2004. - Т. 3. - № 4. - С. 6. / Соавт.: С.В. Логвинов, Е.П. Михуля, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута.

4. Изменения сетчатки и зрительного нерва при комбинированном воздействии ионизирующей радиации и высокоинтенсивного света // Вятский медицинский вестник Кировской медицинской академии, Киров, 2005. - С. 56. / Соавт.: Е.Ю. Аникина, А.В. Потапов, Е.Ю. Варакута, Е.П. Михуля, Н.В. Васильев.

5. Влияние асковертина на морфологические изменения сетчатки крыс при воздействии высокоинтенсивного света // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины - 2005. – Т. 140. - № 11. – С. 591-594. / Соавт.: С.В. Логвинов, М.Б. Плотников, Е.Ю. Варакута, А.В. Потапов, Е.П. Михуля.

6. Структурные изменения пигментного эпителия и нейросенсорных клеток сетчатки глаза при воздействии высоко- и низкоинтенсивного света // Материалы V съезда по радиационным исследованиям, Москва, 10-14 апреля - 2006. – Т. 3. - С. 115. / Соавт.: С.В. Логвинов, Е.Ю. Варакута, А.В. Потапов, Е.П. Михуля.

7. Реакция радиальных глиоцитов крыс при фотоповреждении на фоне коррекции асковертином как показатель репарационных механизмов сетчатки // Актуальные проблемы учения о тканях, Санкт-Петербург, 2006. - С. 58-59. / Соавт.: С.В. Логвинов, Е.Ю. Варакута, А.В. Потапов, Е.П. Михуля, Е.Ю. Аникина.

8. Морфологические изменения клеточных элементов сетчатки глаза при длительном низкоинтенсивном световом воздействии // Бюллетень сибирской медицины – 2006. - № 3. - С. 31-36. / Соавт.: С.В. Логвинов, Е.Ю. Варакута, А.В. Потапов, Е.П. Михуля.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

- АЗК – активная зона контакта  
ВЯС – внутренний ядерный слой  
ГНИ – глионейрональный индекс  
гр. ЭПС – гранулярная эндоплазматическая сеть  
КГ – комплекс Гольджи  
лк – люкс  
НК – нейросенсорная клетка  
НЯС – наружный ядерный слой  
ПОЛ – перекисное окисление липидов  
ПП – плотные проекции  
ПЭ – пигментоэпителиоцит  
сут – сутки  
ФВК – фосфорно-вольфрамовая кислота