

РЕАКЦИИ СИНАПТИЧЕСКОГО АППАРАТА СЕТЧАТКИ НА КОМБИНИРОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ РЕНТГЕНОВСКИХ ЛУЧЕЙ И СВЕТА РАЗЛИЧНОЙ ЭКСПОЗИЦИИ

¹Потапов А.В., ¹Герасимов А.В., ¹Варакута Е.Ю., ¹Логвинов С.В., ¹Аникина Е.Ю.

¹ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Томск, Россия (634050, Томск, ул. Московский тракт, 2), e-mail: potalex@mail.ru

С помощью методов электронной микроскопии изучены изменения синаптического аппарата сетчатки у белых беспородных крыс-самцов (n=75) при комбинированном воздействии ионизирующей радиации в дозе 5 Гр и света различной интенсивности (200, 3500 лк) в динамике после 2, 7 и 30 суток воздействия. Исследования показали, что в ранний период (2-7 сут) после низкоинтенсивного светового воздействия (200 лк) изменения в синаптическом аппарате наблюдается уменьшение числа и размеров везикул, количества органелл и деструкция синаптической щели. В поздний период (30 сут) низкоинтенсивное световое (200 лк) воздействие приводит к уменьшению численной плотности синапсов преимущественно за счет асимметричных контактов. Эффекты высокоинтенсивного светового (3500 лк) и комбинированных облучений (5 Гр, 200, 3500 лк) возникают в более ранний период и проявляются уменьшением числа как симметричных, так и асимметричных синапсов. В поздний период эксперимента (30 сут) при комбинированных (5 Гр, 200, 3500 лк) облучениях хорошо заметна тенденция созревания средних синапсов из неактивных и гипертрофия сохранившихся контактов.

Ключевые слова: свет, рентген, синаптические контакты, синаптоархитектоника, сетчатая оболочка

REACTION SYNAPTIC APPARATUS RETINAL COMBINED EFFECTS OF X-RAYS AND LIGHT OF DIFFERENT EXPOSURE

¹Gerasimov A.V., ¹Potapov A.V., ¹Varakuta E.J., ¹Logvinov S.V., ¹Anikina E.J.

¹Siberian State Medical University, Tomsk, Russia (634050, Tomsk, street Moskowski tract, 2), e-mail: potalex@mail.ru

Using the methods of electron microscopy study the changes in synaptic apparatus of the retina in albino male rats (n = 75) for the combined effect of ionizing radiation at a dose of 5 Gy and light of varying intensity (200, 3500 lux) in the dynamics after 2, 7 and 30 days of exposure. Studies have shown that in the early period (2-7 days) after exposure to low-intensity light (200 lux) changes in the synaptic apparatus of a decrease in the number and size of the vesicles, organelles and the destruction of a synoptic crack is observed. In the later period (30 days) low-intensity light (200 lux) exposure leads to a decrease in the number density of synapses, mainly due to the asymmetric contacts. The effects of high-intensity light (3500 lux) and combined irradiation (5 Gy, 200, 3500 lux) appear in the earlier period and are shown by reduction of number of both symmetrical and asymmetrical synapses. In the later period of the experiment (30 days) at the combined (5 Gy, 200, 3500 lux) exposures clearly visible trend of maturing of average synapses out inactive and a hypertrophy of the remained contacts is well noticeable.

Keywords: light, x-rays, synaptic contacts, synaptoarchitectonics, retina

Чувствительность нейронов и их способность воспринимать нервные импульсы не постоянны и меняются под влиянием ряда факторов, среди которых важное место принадлежит структуре межнейральных контактов [3, 6]. Изменение строения одного из компонентов синапсов неизбежно ведет к нарушению синаптической передачи. Особенности приспособительных изменений синаптического аппарата изучали на разных экспериментальных моделях (гипоксия, воздействие рентгеновского и светового облучения, экспериментального сахарного диабета) [[1, 2, 4, 5]. Однако на современном этапе развития радионейробиологии до сих пор крайне мало сведений о реакции и количественной оценке

изменений синапсов сетчатки на световое и комбинированное облучения рентгеновских лучей и света.

Цель настоящей работы - установить характер модифицирующего влияния ионизирующей радиации на повреждения синаптического аппарата сетчатки, вызываемые светом различной интенсивности.

Материал и методы

Эксперименты проведены на 75 беспородных половозрелых белых крысах обоего пола массой 180-200 гр. В первой и второй серии опытов (n=30) животных в течение 2, 7, 30 сут подвергали равномерному облучению люминесцентными лампами ЛБ-40. Освещенность крыс в каждой группе составила 200 и 3500 лк соответственно. Животных третьей и четвертой групп (n=30) подвергали комбинированному тотальному воздействию рентгеновского излучения в дозе 5 Гр с помощью аппарата РУМ-17, и света (200, 3500 лк) с интервалом в один час. Количество животных на каждую экспериментальную точку - 5. В качестве контроля (n=15) использовали интактных крыс, содержавшихся в условиях искусственного светового режима 12 ч день, 12 ч ночь с интенсивностью дневного освещения 25 лк. Взятие материала осуществляли после умерщвления животных декапитацией сразу после окончания экспериментального воздействия. Центральные участки задней стенки глаза фиксировали в 2,5% глютаральдегиде на какодилатном буфере (РН 7,4), постфиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия и заливали в эпон. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе JEM -100 СХ-II. Для количественного изучения синаптического пула на этапе дегидратации без предварительного осмирования сетчатки контрастировали в 5% растворе фосфорно-вольфрамовой кислоты. Вычисляли общую численную плотность и количество симметричных и асимметричных контактов. Асимметричные синапсы делили на плоские, положительно «+» и отрицательно «-» искривленные. По протяженности активной зоны контакта (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). Для оценки достоверности различий при сравнении средних величин использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты исследования

Ультраструктурный анализ плексиморфных слоев сетчатки указывает на высокую чувствительность их структурных компонентов к изучаемым воздействиям. После 2 сут низкоинтенсивного (200 лк) светового облучения в наружном и внутреннем сетчатых слоях изменения синаптических контактов в основном проявляются снижением числа органелл, отеком митохондрий. В ленточных синапсах отмечается агглютинация синаптических

пузырьков и уменьшение длины активной зоны контакта. После 7 сут облучения низкоинтенсивного (200 лк) пресинаптические отростки увеличены в размерах, видна неровность контура мембраны. Количество синаптических пузырьков в них резко снижено, и некоторые из них теряют четкость очертания. После 30 сут пре- и постсинаптические отделы характеризуются просветлением цитоплазмы, в которой содержатся единичные гранулы и набухшие митохондрии. Синаптические пузырьки у пресинаптической мембраны в части контактов не выявляются.

После 2 сут высокоинтенсивного (3500 лк) светового облучения на большинстве участков сетчатки наружный сетчатый слой практически отсутствует. В сохранившихся синапсах наблюдается набухание и просветление нейроплазмы пресинаптического отдела с уменьшением числа, дезагрегацией и разнокалиберностью синаптических пузырьков, уменьшение содержания органелл. Митохондрии в них в большей массе разрушены, а сохранившиеся лишены крист и порой их трудно отличить от крупных вакуолей. После 7 сут светового воздействия (3500 лк) во внутреннем сетчатом слое увеличивается число синапсов в пресинаптических отростках которых, появляются мелкогранулярный матрикс, вакуоли разного размера, мультивезикулярные тельца, а синаптические пузырьки подвергаются агглютинации. После 30-х сут светового облучения (3500 лк) синапсы внутреннего сетчатого слоя характеризуются появлением в пресинаптическом отделе единичных разнокалиберных везикул, отсутствием содержания органелл и расширением синаптической щели.

После 2 сут комбинированного облучения (5 Гр, 200 лк) ленточные синапсы в подавляющем большинстве гипертрофированы, отмечается появление в их пресинаптических отростках осмиофильного, мелкогранулярного матрикса. Во внутреннем сетчатом слое наблюдается набухание и снижение электронной плотности нейроплазмы отростков. Изменения носят в основном реактивный характер, в синаптических контактах также отмечается набухание и очаговая деструкция крист митохондрий пресинаптических отделов. В аналогичный срок после комбинированного воздействия ионизирующей радиации в дозе 5 Гр и высокоинтенсивного света изменения синаптического аппарата носят неоднородный характер. На участках сетчатки с массовой гибелью нейросенсорных клеток синаптические контакты, образующие наружный сетчатый слой, практически отсутствуют. Во внутреннем сетчатом слое резко увеличивается число ленточных синапсов с деструктивными изменениями. Большинство обычных синапсов также вовлечено в дегенеративные процессы. На участках сетчатой оболочки, где сохранены слои, образованные нейросенсорными клетками, центральные отростки данных клеток содержат митохондрии с деструкцией крист и крупные вакуоли. Наблюдается выраженный отек синаптических отростков, а их везикулы характеризуются разнокалиберностью и

значительным снижением количества.

После 7 сут комбинированного облучения (5 Гр, 200 лк) часть синапсов внутреннего сетчатого слоя характеризуется отсутствием в пресинаптическом отделе везикул и органелл и расширением синаптической щели. В аналогичный срок после комбинированного облучения воздействия ионизирующей радиации в дозе 5 Гр и высокоинтенсивного света изменения затрагивают как пре-, так и постсинаптические структуры. В пресинаптических отделах отмечается деструкция большинства органелл, в том числе и синаптических пузырьков. Постсинаптические части характеризуются гипоосмиофилией цитоплазмы, появлением мембранных комплексов. После 30 сут комбинированного облучения (5 Гр, 200, 3500Лк) изменения синаптических контактов не отличаются от таковых в серии с одним световым воздействием.

Динамика изменений общей численной плотности контактов с помощью ФВК контрастирования свидетельствует о том, что после 2 - 7 сут низкоинтенсивного (200 лк) светового воздействия она достоверно не отличается от таковой в контроле. После 30 сут светового облучения происходит уменьшение в 1,5 раза общей численной плотности контактов по сравнению с контрольными значениями в основном за счет «+» и «-» изогнутых асимметричных контактов. По сравнению с таковым в контроле наблюдается значительное уменьшение числа синапсов с длиной АЗК 200-500 нм (табл. 1). После 2 сут высокоинтенсивного (3500 лк) светового облучения происходит снижение в 1,8 раза данного показателя по сравнению с контрольными значениями, в большей степени за счет симметричных контактов (табл. 2). Снижение асимметричных контактов в основном происходит за счет плоских – неактивных синапсов и в меньшей степени за счет "+" изогнутых – активно функционирующих. В 2,5 раза, по сравнению с таковым в контроле, наблюдается уменьшение числа синапсов с длиной АЗК 300-500 нм и полное исчезновение контактов с длиной АЗК > 700 нм. Данное явление следует считать результатом деструкции синапсов. На 7-е сут светового (3500 лк) облучения происходит уменьшение численной плотности синапсов за счет асимметричных контактов и этот показатель становится в 1,6 раза меньше такового в контроле ($p < 0,05$). Среди данных синапсов в 2,3 раза уменьшается количество плоских и «+» изогнутых, практически полностью исчезают «-» изогнутые. После 30 сут светового (3500 лк) облучения достоверных отличий в содержании общего числа синаптических контактов по сравнению с предыдущим сроком наблюдения не выявлено, только полностью исчезают синаптические контакты с длиной АЗК > 500 нм.

Таблица 1

Содержание синапсов внутреннего сетчатого слоя сетчатки с различной длиной АЗК после светового облучения различной интенсивности (на 100 мкм²)

Время воздействия	< 100 нм	100-200 нм	200-300 нм	300-500 нм	500-700 нм	> 700 нм
Контроль	4,34±0,5	4,88±0,4	3,66±1,4	2,68±0,4	0,18±0,1	0,68±0,6
Свет 200 лк, 2 сут	3,56±0,9	3,72±0,8	3,27±0,5	2,58±0,9	0,54±0,3	0,49±0,3
Свет 200 лк, 7 сут	1,66±1*	6,64±1,4	2,65±0,7	2,99±0,8	0,33±0,3	0
Свет 200 лк, 30 сут	3,04±1,1	4,43±0,7	1,66±0,1*	0,55±0,4*	0,28±0,1	0
Комбин. (5 гр, 200 лк), 2 сут	15,92±0,5	4,54±1,3	11,2±1,58	4,54±0,93	4,36±0,65	2,28±0,56■
Комбин. (5 гр, 200 лк), 7 сут	12,73±0,8*■	8,85±1,1*	3,88±0,4*■	3,32±0,4*■	0,28±0,3*	0,28±0,3*
Комбин. (5 гр, 200 лк), 30 сут	16,04±0,4■	11,9±0,7*■	4,14±0,6*	2,76±0,6*■	1,38±0,5*	0,02±0,1
Свет 3500 лк, 2 сут	2,7±0,8	2,6±0,52*	2,16±1,4	0,7±0,24*+	0,18±0,1	0
Свет 3500 лк, 7 сут	3,4±0,37	2,89±0,3*+	1,2±0,2*+	1,44±0,3+	0,23±0,1	0,47±0,2
Свет 3500 лк, 30 сут	2,17±0,35*	5,1±0,37	3,1±0,45+	0,71±0,3*	0	0
Комбин. (5 гр, 3500 лк), 2 сут	3,02±0,5	4,08±0,4	1,6±0,3*	1,32±0,3*	0,28±0,1	0
Комбин. (5 гр, 3500 лк), 7 сут	3,87±0,68	2,66±0,4*	2,17±0,4	0,23±0,1*■	0	0,23±0,1
Комбин. (5 гр, 3500 лк), 30 сут	1,41±0,47*	3,1±0,3*■	1,7±0,25*■	0,2±0,16*	0,24±0,1	0,85±0,2

Примечание:* - значимые (p<0,05) различия с контролем,

+ значимые (p<0,05) различия показателей после освещения 200 и 3500 лк в аналогичные сроки

■ значимые (p<0,05) различия показателей после светового и комбинированного облучения в аналогичные сроки

Таблица 2

Количественная характеристика ФВК позитивных синапсов внутреннего сетчатого слоя сетчатки после светового облучения различной интенсивности (на 100 мкм²)

Время воздействия	Числен-ная плотность синапсов	Симмет-ричные синапсы	Асимметричные синапсы			
			Общее число	Плоские синапсы	«+» изогнутые синапсы	«-» изогнутые синапсы
Контроль	15,92±0,5	4,06±2,8	12,2±0,5	5,38±0,5	4,51±0,2	2,34±0,4
Свет 200 лк, 2 сут	15,9±0,5	3,56±2,8	12,49±1,6	5,84±1,5	4,04±0,5	2,56±0,8
Свет 200 лк, 7 сут	15,6±0,6	7,96±0,3*	7,64±0,6*	6,31±1,2	0,99±0,7*	0,33±0,3*
Свет 200 лк, 30 сут	10,79±0,4*	5,81±1,4	4,98±1,3*	4,15±0,9	0,55±0,5*	0,28±0,2*
Комбин. (5 гр, 200 лк), 2 сут	15,92±0,5	4,54±1,3	11,2±1,6	4,54±0,9	4,36±0,6	2,28±0,6■

Комбин. (5 гр, 200 лк), 7 сут	12,73±0,8* ■	8,85±1,1*	3,88±0,4*■	3,32±0,4*■	0,28±0,23*	0,28±0,3*
Комбин. (5 гр, 200 лк), 30 сут	16,04±0,4■	11,9±0,7* ■	4,14±0,6*	2,76±0,5*■	1,38±0,5*	0,02±0,01
Свет 3500 лк, 2 сут	8,58±0,6*+	1,6±1,8*	7,16±0,7*+	2,74±0,3*+	2,96±1,6	1,37±1,03
Свет 3500 лк, 7 сут	9,7±0,4*+	6,3±0,4	3,14±0,1*+	2,3±0,3*+	0,71±0,2*	0,06±0,02* +
Свет 3500 лк, 30 сут	11,56±0,1*	6,8±0,4	4,7±0,4*	4±0,6	0,71±0,2*	0,053±0,3* +
Комбин. (5 гр, 3500 лк), 2 сут	8,94±0,7*	0,84±1,2*	8±0,6*	4,73±1,2	2,61±1,4	0,6±1,1*
Комбин. (5 гр, 3500 лк), 7 сут	9,69±0,4*	5,78±0,5	3,74±0,3*	3,7±0,2*	0,06±0,05	0,01±0,03
Комбин. (5 гр, 3500 лк), 30 сут	7,9±0,42*■	4,5±0,4	3,4±0,2*	3,4±0,3*	0,07±0,03	0,07±0,02

После 7 сут комбинированного облучения ионизирующей радиацией в дозе 5 Гр и низкоинтенсивным светом общая численная плотность синапсов в 1,2 раза меньше таковой после светового воздействия (200 лк) в аналогичный срок. Уменьшение данного показателя происходит в основном за счет асимметричных контактов. После 30 сут комбинированного облучения (5 Гр, 200 лк) общая численная плотность синапсов в 1,6 раза больше таковой после светового воздействия в аналогичный срок и достигает контрольных значений. Увеличение количества происходит за счет симметричных контактов с длиной АЗК 100-200 нм.

После 2 сут комбинированного облучения ионизирующей радиацией в дозе 5 Гр и высокоинтенсивным светом отмечается уменьшение числа синапсов с длиной АЗК 200-500 нм и практически полное исчезновение их с длиной АЗК >700 нм. После 7 сут комбинированного облучения (5 Гр, 3500 лк) общая численная плотность синаптических контактов достоверно не отличается от таковой в серии с изолированным световым облучением, но в 6,2 раза по сравнению со значениями в световой серии уменьшается число межнейральных связей с длиной АЗК 300-500 нм. После 30 сут общее число синаптических связей уменьшается в 1,46 раза по сравнению с таковым в световой (3500 лк) серии эксперимента. Уменьшение контактов происходит в основном за счет симметричных синапсов ($p < 0,05$). В 1,7 раза по сравнению с таковым после изолированного облучения светом уменьшается содержание синаптических контактов с длиной АЗК 100-300 нм, появляются гипертрофированные синапсы с длиной АЗК >500 нм.

Заключение

Таким образом, в ранний период (2-7 сут) после низкоинтенсивного светового воздействия изменения синаптического аппарата сетчатки характеризуются уменьшением

числа и размеров везикул, количества органелл и деструкцией синаптической щели. В поздний период (30 сут) низкоинтенсивное световое воздействие приводит к уменьшению численной плотности синапсов преимущественно за счет асимметричных контактов. Эффекты высокоинтенсивного светового (3500 лк) и комбинированных облучений (5 Гр, 200, 3500 лк) возникают в более ранний период и проявляются уменьшением числа как симметричных, так и асимметричных синапсов. Необходимо отметить, что в поздний период эксперимента (30 сут) при комбинированных (5 Гр, 200, 3500 лк) облучениях хорошо заметна тенденция созревания средних синапсов из неактивных и гипертрофия сохранившихся контактов.

Список литературы

1. Жданкина А. А., Варакута Е. Ю., Логвинов С. В., Свердева Ю. О., Потапов А. В., Герасимов А. В., Аникина Е. Ю. Роль глиальных элементов в раннем ремоделировании сетчатки при стрептозотоциновом диабете // *Фундаментальные исследования*. - 2013. - № 12-3. - С. 475-478.
2. Логвинов С. В. Радиация и зрительный анализатор: нейроморфологические аспекты // С. В. Логвинов. Томск, 1998. - 138 с.
3. Пащенко П.С., Рисман Б.В. Морфологические аспекты изменения серого вещества спинного мозга при воздействии перегрузок в эксперименте // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. - 2015. - Т. 49. № 3. - С. 51–55.
4. Шушпанова Т. В., Солонский А. В. Синаптогенез и формирование бензодиазепиновых рецепторов мозга человека в условиях пренатальной алкоголизации // *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. - 2012. – Т. 112, № 1. - С 60-67.
5. Logvinov S.V., Varakuta E.Yu., Zhdankina A.A., Potapov A.V., Plotnikov M.B Changes in the synaptoarchitectonics of the retina after light-induced damage and their correction with antioxidants of plant origin // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2009. Vol. 39. № 2. P. 217-221.
6. Lukasiewicz P. D. Synaptic mechanisms that shape visual signaling at the inner retina // *Progress in Brain Research*. 2005. №. 147. P 205-218.

Рецензенты:

Солонский А.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии ФГБУ «Научно-исследовательский институт психического здоровья» СО РАМН, г. Томск;

Мустафина Л.Р., д.м.н., профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ
ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск.