

Дирк ван Норрен (Dirk van Norren) | Тео Горджелз (Theo G. M. F. Gorgels)

# Спектр действия фотохимического повреждения сетчатки.

Обзор данных по монохроматическому порогу

**Фотохимическое повреждение сетчатки происходит в течение длительного воздействия интенсивного света. Существуют два спектра действия, ответственные за это явление. Так, было установлено, что у крыс спектр действия соответствует спектру поглощения родопсина. У макак восприимчивость к фотохимическому повреждению постоянно уменьшалась в диапазоне от УФ до длинноволнового видимого излучения. Позже такой спектр был обнаружен и у крыс. В поисках критических параметров, определяющих форму спектра, мы собрали все имеющиеся данные по пороговой (повреждающей) дозе для монохроматического излучения, полученные в экспериментальных условиях. Спектр действия родопсина был обнаружен у двух источников излучения; другие 16 источников относились к коротковолновым спектрам излучения. Сравнивая экспериментальные условия, мы сделали заключение, что критические параметры для генерации любого спектра действия остаются неизвестными. Поэтому были проведены исследования, позволяющие решить этот вопрос и заполнить несколько пробелов в наших знаниях.**

## Введение

До первой половины XX века было общезвестно, что свет может повредить сетчатку только через действие теплового механизма. Небольшое противоречие в этой области появилось в 1962 году, когда Вос (Vos) [1] подсчитал, что длительный взгляд на солнце (вид светового повреждения, известный с древних времен) вызывал локальное повышение температуры всего на 2 °С. Поэтому он ввел понятие нового механизма — «метаболическое отравление». Прорыв произошел несколько лет спустя, когда Ноэль (Noell) и коллеги опубликовали обширное исследование о том явлении, которое сейчас известно как фотохимическое повреждение сетчатки [2]. Так, например, свободно перемещающиеся крысы, подвергавшиеся воздействию зеленого света (прошедшего через светофильтр) в течение периодов до двух дней, получили обширные функциональные и гистологические повреждения на уровнях, слишком низких, чтобы вызвать значительное повышение температуры сетчатки. Часть этих исследований была посвящена спектру действия, вызывающему повреждение. Было установлено, что этот спектр действия аналогичен спектру поглощения родопсина (СПР, RAS). Десять лет спустя Хэм (Ham) описал совершенно иной спектр действия у макак. Применительно к видимому свету [3], а затем и к УФ-излучению

[4] было установлено, что восприимчивость монотонно уменьшалась в диапазоне от коротких до длинных волн (коротковолновый спектр действия, КСД, SAS). Номенклатура применительно к такому роду повреждений тоже включает такие понятия, как «опасность синего света», «актинические повреждения» и «световые повреждения».

Различные спектры действия были сначала отнесены к разным видам животных, то есть крысы сравнивались с макаками, но в последнее десятилетие XX века ряд работ показал, что крысы, исследуемые в тех же условиях, что и макаки, также обнаруживали спектр действия с уменьшением пороговой дозы по направлению к коротковолновой области [5–8]. Спектр действия Хэма служил базой для международных стандартов для защиты от повреждения сетчатки лазером и другими источниками света [9–12]. Спектр же Ноэля не был включен в этот состав, потому что считалось, что он относится исключительно к грызунам. Однако при исследовании световых повреждений роли поменялись ввиду того, что спектр Ноэля часто считается единственным применимым из-за крайне важной роли родопсина в механизме светового повреждения, и в этой области исследований преобладают животные модели грызунов [13].

Спектр действия определяется как эффективность, с которой электромагнитное

излучение производит фотохимическую реакцию, построенную на графике как функция длины волны излучения. При исследовании сетчатки эффективность фотохимической реакции оперативно определялась различными способами, такими, например, как обозначенные потери в амплитуде электро-ретинограммы а- или b-волны; как лишь видимые изменения глазного дна; просто как видимые микроскопические или электронно-микроскопические изменения в конкретной структуре сетчатки.

Несколько попыток было сделано для определения критических условий применительно для каждого спектра действия [14–19], иногда определяемых как класс 1 и класс 2. Так, ранее казалось, что спектр поглощения родопсина (СПР) действителен для свободно перемещающихся грызунов при длительных (>24 ч) экспозициях с относительно небольшими уровнями облученности сетчатки (<1 мВт×см<sup>2</sup>), в то время как КСД в целом ассоциировался с высокими уровнями излучения, с ограниченными сроками экспозиции (до нескольких часов) у анестезированных животных. Одна из основных проблем, однако, у такой схемы состоит в том, что Ноэль и соавторы [2] фактически измеряли их спектр действия у анестезированных животных, экспонируемых монохроматическим светом только в течение 1,5 часа.

Знание спектра действия имеет большое значение для разработки руководящих принципов обеспечения безопасных уровней света в обычной повседневной жизни, а также для офтальмологической практики. Межвидовые сравнения необходимы, чтобы перевести экспериментальные данные исследований на животных в сферу человеческой жизни. Данная работа является новой попыткой определить важнейшие параметры для двух спектров действия. Для этой цели мы попытались собрать все доступные монохроматические данные о пороговой (повреждающей) дозе в зависимости от длины волны и тем самым существенно расширить диапазон более ранних попыток исследования [15, 17, 20].

## Выбор и представление данных

Мы провели поиск в научной литературе монохроматических данных *in vivo*, включая данные по лазерам и некогерентному свету с полосой пропускания до 10 нм. Критерии повреждения включали ретинальные, или функциональные изменения сетчатки. Чтобы разрешить использование отдельных точек данных, необходимо, чтобы была предоставлена доза на сетчатке (ретинальная доза) либо она могла быть рассчитана из произведения облученности сетчатки на время экспозиции. В некоторых случаях облученность роговицы ( $E_{cor}$ ) превращали в облученность сетчатки ( $E_{ret}$ ), если были предоставлены данные по диаметру зрачка и площади экспонируемой сетчатки:

$$E_{ret} = E_{cor} \times (\pi D^2/4) \times \tau / A_{ret} \quad (1)$$

где  $D$  представляет собой диаметр зрачка,  $A_{ret}$  — площадь облученной сетчатки, и  $\tau$  —

показатель пропускания оптических сред глаза. Последнее значение является весьма актуальным, поскольку некоторые виды животных, такие, например, как приматы, имеют в хрусталике УФ-фильтр [21], в то время как мыши и крысы не имеют подобного фильтра [22, 23]. Показатель пропускания глазных оптических сред был преобразован в [22] в некоторых ранних исследованиях, где спектральное пропускание глазных оптических сред у крыс при  $\lambda < 450$  нм считалось схожим с данным показателем у приматов. Когда была использована методика Ганцфельда применительно к глазу крысы (то есть использовалась половина шара с фокусным расстоянием  $f$ , принятым в качестве диаметра), то площадь сетчатки была принята как  $A_{ret} = 2\pi f^2$ . Чтобы свести к минимуму вмешательство теплового воздействия, были отобраны продолжительности экспозиции по крайней мере в 100 с. Фотохимическое повреждение выражается в единицах мВт $\times$ см<sup>2</sup>. Предполагалось, что

доза энергии излучения, то есть произведение облученности на время экспозиции, устанавливает порог повреждения, выраженный как энергетическая экспозиция в Дж $\times$ см<sup>2</sup>.

## Данные по дозам

Исследования обсуждаются в хронологическом порядке, но данные, полученные из одной и той же лаборатории и опубликованные в течение нескольких лет, сгруппированы. В таблице приведены условия проведения экспозиции и ожидаемые результаты по состоянию сетчатки.

Ноэль и соавторы [2] представили данные двух экспериментов с монохроматическим излучением. Первый эксперимент проводился с экспозицией продолжительностью 1,5 ч (эксперимент 1), второй эксперимент проводился с экспозицией продолжительностью 3 ч (эксперимент 2). Авторами даны только относительные уровни облученности, но они могут быть преобразованы

**Таблица.** Обобщенные результаты данных, полученных из опубликованных научных источников по спектральным фотохимическим порогам. Последовательность изложения материала согласуется с последовательностью изложения текста в параграфе «Данные по дозам»

Ссылка	Первый автор, год издания	Виды животных, условия эксперимента	Продолжительность экспозиции, площадь сетчатки	Конечные критерии оценки повреждения сетчатки. Время наблюдения
[2]	Ноэль (Noell) 1966	Крысы-альбиносы, температура тела 40 °С. ТА: >24 ч	Продолжительность: 1,5 ч, луч падает на роговицу и рассеивается сетчаткой	Необратимое снижение а-волны до 50%. После нескольких дней наблюдения
			Продолжительность: 3 ч, луч падает на матовый пластик вблизи роговицы	Необратимое снижение а-волны до 50%. После нескольких дней наблюдения
[24]	Лоувилль (Lawwill) 1973	Кролик голландский опоясанный	Продолжительность: 4 ч. Площадь сетчатки: 3,5 см <sup>2</sup>	Сочетание ФВП, гистопатологических изменений и сокращения ЭРГ; порог по шкале 0–4 наблюдений с 1 дня; гистология по прошествии 1–4 месяцев
[26]	Лоувилль (Lawwill) 1982	Макак-резус	Продолжительность: 4 ч. Площадь сетчатки: от 1,5 до 2,5 см <sup>2</sup>	Сочетание ФВП, гистопатологических изменений и сокращения ЭРГ; порог по шкале 0–4 наблюдений с 1 дня; гистология по прошествии 1–4 месяцев
[3]	Хэм (Ham) 1976	Макак-резус	Продолжительность: 1–1000 с. Площадь сетчатки: 500 мкм	ФВП по прошествии 24 ч
[4]	Хэм (Ham) 1982	Макак-резус с афакическими глазами	Продолжительность: 100–1000 с. Площадь сетчатки: 500 мкм	ФВП сразу после экспозиции
[28]	Уильямс (Williams) 1983	Крыса-альбинос Спрага-Доули. ТА: 1 ч	Продолжительность: 6 ч. Большая площадь сетчатки	Исследование толщины НЯС (как часть контроля) в чувствительных местах, интегрированного по вертикальному меридиану по прошествии 4 дней
[30]	Коллиер (Collier) 1989	Белка американская серая с афакическими глазами	Продолжительность неизвестна. Площадь сетчатки: 30° в диаметре, верхневисочное прилегание к оптическому нерву	Минимальные гистологические изменения по прошествии 24 ч
[5]	Ван Норрен (Van Norren) 1990	Пигментированная крыса, WEK/U	Продолжительность: 10 с – 1 ч. Площадь сетчатки: 5° в диаметре	ФВП по прошествии 2–4 дней
[8]	Горджелз (Gorgels) 1995	Крысы Лонг-Эванс	Продолжительность: 8 мин. – 5 ч. Площадь сетчатки: 4 «очажка» 6 $\times$ 7° в поле 18 $\times$ 13° в верхней части сетчатки	ФВП и минимальные морфологические изменения через 3 дня.
[32]	Горджелз (Gorgels) 1998	Крыса-альбинос Вистар	Продолжительность: 8 мин. – 5 ч. Площадь сетчатки: 4 «очажка» 6 $\times$ 7° в поле. 18 $\times$ 13° в верхней части сетчатки	ФВП и минимальные морфологические изменения через 3 дня
[31]	Буш (Busch) 1999	Крысы Лонг-Эванс	Продолжительность: 6–90 мин. Площадь сетчатки: 4 «очажка» 6 $\times$ 7° в поле 18 $\times$ 13° в верхней части сетчатки	ФВП и минимальные морфологические изменения через 1 час – 63 дня
[33]	Путтинг (Putting) 1993	Кролик, шиншилла серый	Продолжительность: 0,5–5 ч. Площадь сетчатки: 0,031 см <sup>2</sup>	ФВП по прошествии 2 дней
[34], [35]	Чен (Chen) 1993	Крыса-альбинос Спрага-Доули. СА: 600 люкс >2 ч	Продолжительность неизвестна. Площадь сетчатки: 1,2 мм в диаметре, расположена назально к зрительному нерву	ФВП, изменение активности цитохром оксидазы, морфологические изменения. Сразу же после экспозиции и по прошествии 1, 2, 3 дней
[36]	Гримм (Grimm) 2001	Крыса-альбинос Спрага-Доули. ТА: 16 ч	Продолжительность: 30 мин. (403), 120 мин (550). Площадь сетчатки: полусфера Ганцфельда	Везикуляция внешних сегментов в 200-мкм сегменте нижней половины центральной части сетчатки. Через 24 ч после экспозиции
[37]	Доусон (Dawson) 2001	Макак-резус	Продолжительность: 10–120 мин. Площадь сетчатки: 3 мм в диаметре, один диаметр диска центральной ямки сетчатки	ФВП и люминесцентные ангиограммы. После 2 дней и 30 дней
[38]	Лунд (Lund) 2006	Макак-резус	Продолжительность: 0,1–100 с. Площадь сетчатки: 327 мкм в диаметре	ФВП через 1 час и через 48 часов после экспозиции
[39]	Морган (Morgan) 2009	Макак-крабоед и свиноголовый макак	Продолжительность: 15 мин. Площадь сетчатки: 0,5 и 2°	Долгосрочные изменения в автофлуоресценции. Сразу же и вплоть до 165 дней после экспозиции
[42]	Хантер (Hunter) 2009	Макак-крабоед и свиноголовый макак	Продолжительность: 15 мин. Площадь сетчатки: 0,5 и 2°	Долгосрочные изменения в автофлуоресценции. Сразу же и вплоть до 165 дней после экспозиции
[43]	Кайдзю (Kaidzu) 2010		Продолжительность неизвестна. Площадь сетчатки неизвестна	50%-ное снижение амплитуды ЭРГ. После 7 дней

**Примечания.** ТА – темновая адаптация; СА – световая адаптация; ФВП – фундоскопия видимого поражения глазного дна; ЭРГ – электроретинограмма; НЯС – наружный ядерный слой.

в абсолютные уровни с помощью инструкции: «...минимально эффективный уровень облученности сетчатки в течение нескольких часов, по оценкам, составляет около 1 мкВт на квадратный сантиметр при длине волны 5000 Å». Минимально эффективным, скорее всего, было постоянное снижение а-волны примерно на 10%. Применительно к спектру действия использован критерий 50% изменения состояния а-волны. Переход от 10 до 50% изменений потребовал увеличения интенсивности (в логарифмическом масштабе) повреждающего света с уровня 0,5 в 3 раза. «Несколько часов» в данном контексте означало 3–4 часа. Длина волны 5000 Å взята по аналогии с  $\lambda = 495$  нм, используемой в спектре действия. Таким образом, мы получили ретинальную дозу (дозу на сетчатке), равную  $10^{-6} \times (3,5 \times 3600) \times 3 = 0,038$  Дж/см<sup>2</sup> при 495 нм. Следует отметить, что эти эксперименты проводились при повышенной температуре тела, из-за которой уменьшалось время экспозиции (пороговая доза) в 25 раз. Пороговые данные для экспериментов 1а и 2 совпали и были построены с одним символом на рисунок (а), который имеют все данные по грызунам.

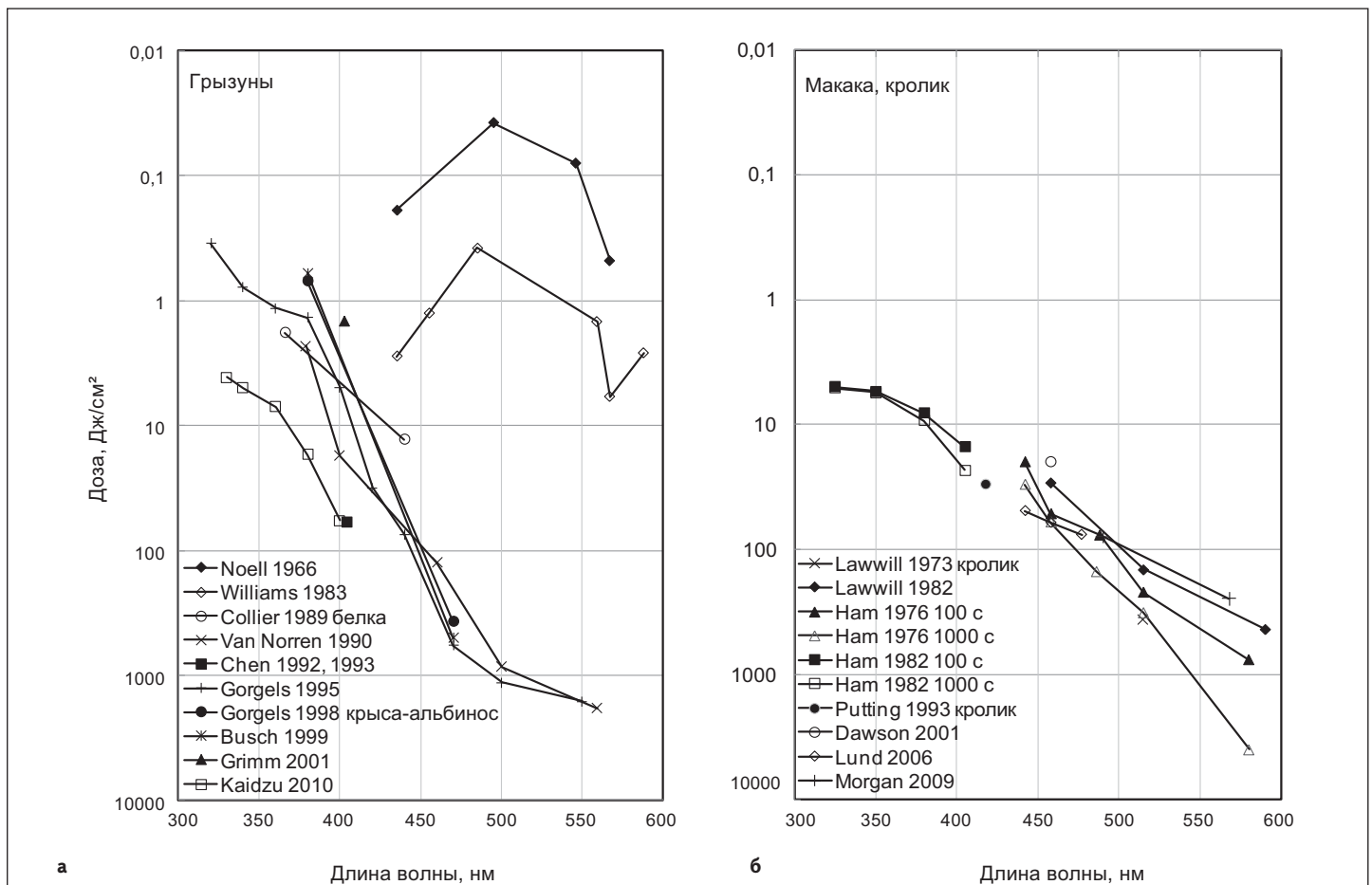
Лоувиль (Lawwill) и соавторы [24] сообщили, что у кроликов при 514,5 нм «резкое изменение кривой «доза/ответ» находится между зна-

чениями 0,02 и 0,03 Вт×см<sup>2</sup>». При 4-часовой экспозиции это приводит к пороговой дозе  $4 \times 3600 \times 0,025 = 360$  Дж/см<sup>2</sup>. Точки данных (экспериментальные точки) построены на графике на рисунок (б), где собраны все данные по негрызунам. Последующие исследования на макаках с длинами волн в диапазоне 450–600 нм были опубликованы в 1977 году [25]. Пороги у синего света (458 нм) были найдены ниже, чем у зеленого. Данные показывают довольно большой разброс экспериментальных точек, с диапазоном от минимального до максимального повреждения, составляющим иногда более трех логарифмических единиц. Гистологические пороги, полученные в работе 1982 года [26] на основе тех же экспериментов, выглядели несколько иначе. Нами были получены наиболее свежие интерпретации.

В 1976 году Хэм и соавторы [3] опубликовали исследование спектральных фотохимических повреждений сетчатки приматов. Они подсчитали локальные температуры сетчатки и показали, что в границах области длин волн короче 514 нм и при времени экспозиции больше, чем 100 с, повышение данных температур не превышает 4 °С. Таким образом, можно провести различие, имеющееся между фотохимическими и термическими повреждениями. Пороговая доза

монотонно увеличивалась с 441,5 до 1064 нм. Данные для продолжительности экспозиции в 100 и 1000 с приведены на рисунке (б). При 580 нм пороги, возможно, были снижены посредством температурного повышения. В 1982 году Хэм и коллеги [4] расширили диапазон длин волн до 325 нм, исследуя три афакических глаза (глаза без хрусталика) макака. В УФ-диапазоне повреждения были видны сразу. Различные длины волн вызывали различные типы повреждений [4; 27]. Так, в УФ-диапазоне повреждения фоторецепторов (ФР) были обширными и депигментация происходила в пигментном эпителии сетчатки (ПЭС). В видимом диапазоне лишь несколько ФР показали повреждения, но ПЭС распух со множественными включениями.

Уильямс и Хоуэлл (Williams и Howell) [28] подвергли крыс-альбиносов экспозиции в течение 6 часов рядом узкополосных излучений (10 нм) на длинах волн в диапазоне 440–590 нм, каждая с постоянным потоком фотонов на роговице  $2 \times 10^{15}$  фотонов в  $\text{с}^{-1} \cdot \text{см}^{-2}$ . Для 485 нм данный поток фотонов преобразуется в 0,82 мВт/см<sup>2</sup>. При 6 ч экспозиции доза на роговице варьировалась от 19 Дж/см<sup>2</sup> (при самой короткой длине волны) до 14 Дж/см<sup>2</sup> (при самой длинной длине волны). Чтобы



**Рисунок.** На графиках показаны дозы излучения, вызывающие повреждения сетчатки в зависимости от длины волны: а) представлены данные для крыс, кроме случаев, когда указан иной вид животного; б) представлены данные для макак, кроме случаев, когда указан иной вид животного. (Также на графиках даны ссылки на научный источник — имя первого автора и год публикации; перевернутая шкала облегчает чтение абсолютной дозы и позволяет сравнить значения на графике с большинством литературных научных данных, где предусмотрены чувствительность или восприимчивость (1/доза))



сэкономить время, авторы, прежде всего, измерили потери толщины (по сравнению с таковой в контрольном глазу) наружного ядерного слоя (НЯС) в чувствительной области 1,88 мм, стоящего выше зрительного нерва. Когда «ни одного подходящего спектра не было получено», они вернулись к более сложному критерию, интегрируя толщину НЯС по всему вертикальному меридиану. Причина такого изменения в столь чувствительной области не была проанализирована, и размер погрешности эксперимента также не был дан. Чтобы получить спектр действия для сетчатки (ретиальный спектр действия), мы задали размер зрачка 5 мм в диаметре (как в работе [5]) и поле сетчатки диаметром 8 мм; тогда соотношение между облученностью роговицы и облученностью сетчатки стало равно 0,4. Далее мы взяли дозу  $14,8 \times 0,4 = 5,92$  Дж/см<sup>2</sup> при 567 нм в качестве отправной точки, поскольку это вызывало минимальные потери в толщине НЯС. Затем потери в толщине НЯС на других длинах волн были преобразованы в изменение интенсивности в логарифмическом масштабе по отношению к 567 нм с помощью кривой зависимости реакции от дозы. Результат преобразования данных, полученных от Уильямса и Хауэлла, представлен на рисунке (а).

К двум результатам по точкам данных для белок с афакическими глазами [29], опубликованным Коллиером (Collier) и соавторами в 1989 году, следует относиться с некоторой осторожностью, поскольку в другой публикации, написанной по тому же материалу и напечатанной в 1989 году, они пишут, что «световые измерения проводились для определения уровня энергии, падающей на роговицу» [30], но через несколько страниц они сравнивают полученную ими дозу с дозой, полученной Хэмом для сетчатки [4]. Гистопатология как функция длины волны напоминала ту, что была получена у макака [4, 27].

В 1990-х годах две группы [5–7] подвергли находящихся под наркозом крыс воздействию ультрафиолетового, а также видимого излучения, и обе группы установили высокую восприимчивость на самых коротких волнах. Монохроматические данные [5] приведены на рисунке (а), с поправкой на надлежащую передачу [22]. Дополнительные данные были позже измерены с помощью различных настроек и другого штамма пигментированных крыс [8; 31], а также крыс-альбиносов [32]. Только данные по крысам-альбиносам, взятые из последней публикации, были построены, так как они почти совпадали с данными по пигментированным крысам. Гистологические данные [8] показали два разных спектральных типа, один в диапазоне 320–440 нм, а другой в диапазоне 470–550 нм, снова напоминающие данные по макаку [4; 27].

Восприимчивость к недостаточности гематоэнцефалического барьера к синему свету изучали на кроликах Путтинг (Putting) и соавторы [33], получив дозу около 30 Дж/см<sup>2</sup> для порогового изменения глазного дна в ходе фундоскопического обследования через 2 дня после экспозиции 418 нм. Чен [34, 35] подвергал крыс воздействию света до 404 нм. Доза 11 Дж/см<sup>2</sup>

привела к временным изменениям в активности цитохромоксидазы, но была подпороговой для изменений глазного дна или для морфологических изменений, в то время как доза 38 Дж/см<sup>2</sup> была явно сверхпороговой для изменений глазного дна. Мы взяли значение 20 Дж/см<sup>2</sup> в качестве порога для фундоскопически видимых повреждений глазного дна, но получили 60 Дж/см<sup>2</sup>, что с поправкой намного выше (0,6), чем предполагалось (0,2) для пропускания глазных сред [22]. Гримм (Grimm) и коллеги [36] подвергали находящуюся под наркозом крысу воздействию освещения Ганцфельда при 403 и 550 нм, при облученности роговицы 3,1 и 8,7 мВт/см<sup>2</sup> соответственно. Мы рассчитывали соответствующие уровни облученности сетчатки по формуле 1 и параметрам: диаметр зрачка 5 мм,  $f = 0,525$  см,  $\tau = 0,58$  (403 нм) и 0,88 (550 нм) и  $A_{ret} =$  половина сферы. При 30-мин. экспозиции при 403 нм был установлен порог повреждений в виде везикуляции внешних сегментов (доза на сетчатке 1,47 Дж/см<sup>2</sup>). В то же время экспозиция в течение 120 мин. при 550 нм не привела к возникновению повреждения (доза 23,3 Дж/см<sup>2</sup>). При другом типе (точечной) освещенности порог при 403 нм был достигнут с помощью 1/3 дозы, но, опять же, при 550 нм никаких повреждений не было замечено. Полагая равное распределение света на обеих длинах волн, можно оценить, что доза в 70 Дж/см<sup>2</sup> при 550 нм не вызывает повреждения, в соответствии с пороговыми уровнями КСД (рисунок (а)). Поскольку глаза альбиносов также пропускают излучение через склеру, рассчитанные дозы представляют собой минимальные значения.

Доусон (Dawson) и коллеги [37], а также Лунда (Lund) [38] получили пороги у макак при помощи синих лазеров. Их данные приведены на рисунке (б). Постоянное повреждение сетчатки в глазах макаки после экспозиции 568 нм наблюдалось с высоким разрешением аутофлуоресценции, полученное Морганом (Morgan) и др. [39; 40] для облученности сетчатки, существенно ниже пределов ANSI [9; 41]. Хантер (Hunter) и другие [42] из той же группы добавили данные при 488 нм. Данные о крысах, полученные Кайдзю (Kaidzu) и коллегами [43], не рецензировались, но представляют интерес потому, что эти авторы, как и Ноэль с коллегами [2], использовали в качестве критерия ЭРГ, ограничиваясь УФ-излучением.

## Обсуждение

Мы провели поиск в научной литературе с целью найти данные по монохроматическим дозам, чтобы пролить свет на условия получения спектра поглощения родопсина (СПР) и коротковолнового спектра действия (КСД). Строгие критерии отбора применялись в плане монохроматического облучения для получения достаточного спектрального разрешения (исключая возбуждение множественных хромофоров) и данных по абсолютным дозам, чтобы обеспечить возможность сравнения между различными исследованиями. В 18 публикациях обнаружены полезные данные, хотя предыдущие попытки [15, 17] дали только 4–5 научных источников.

Два исследования [2, 28] подходят для спектра СПР. В обоих случаях в качестве животной модели использовались крысы-альбиносы. Примененные к ним фактические уровни дозы были различными, но когда данные Ноэля и соавторов [2] умножаются на коэффициент 25 для коррекции повышенной температуры тела, а данные Уильямса и Хауэлла [28] преобразуются, как описано выше, то результаты максимально сближаются. Позволят ли эти преобразования избежать изменения формы спектра — вопрос остается открытым. Сведения из других 16 источников, похоже, больше соответствуют спектру КСД. Они включают четыре различных вида животных (обезьяна, крыса, кролик и белка) и несколько подвидов и штаммов (таблица). Большинство данных, полученных на различных длинах волн, находятся в пределах порядка величины друг от друга, несмотря на значительные различия в экспериментальных условиях, таких, например, как состояние темновой адаптации, локализация сетчатки, возраст и предыстория взаимодействия со светом. Неопределенности, возникшие при расчете дозы для сетчатки [44], несомненно, не добавили оптимизма, но это справедливо для всех параметров, представленных на рисунке. Направление кривой данных по дозе в зависимости от длины волны кажется более крутым для грызунов (а), чем для макак и кролика (б), однако прямое сравнение, проведенное в одинаковых условиях, отсутствует. Данные по УФ-излучению для макак происходят только из одного научного источника, и получены они на основе исследования трех макак [4]. Данные по крысам имеют больше источников происхождения и, похоже, указывают на более высокую уязвимость (сетчатки). То, что меланиновая пигментация не влияет на уязвимость сетчатки, давно известно [32, 45, 46]. Анализируя материалы для этого обзора, мы пришли к неожиданному выводу, что попытка измерить спектр действия для мыши, насколько нам известно, никогда не была сделана, хотя этот вид животных участвует во многих экспериментах по исследованию световых повреждений.

Важное наблюдение состоит в том, что все данные были получены под наркозом, чаще всего с использованием пентобарбитала. Это неудивительно, так как чуть ли не единственным способом получения достаточной освещенности сетчатки монохроматическим излучением является способ, когда коллимированный луч направлен на иммобилизованные глаза. Следовательно, спектр действия, полученный в условиях свободно передвигающихся животных (как правило, предполагается, что это СПР), недостаточен. Некоторое количество ранних исследований с применением широкополосных фильтров показательно для СПР [2, 47, 48].

Размер поля (сетчатки) был большим в данных, полученных для спектра СПР. В сведениях же, полученных для спектра КСД, этот размер варьировался от 1° до Ганцфельдовского размера. Время экспозиции для данных по СПР варьировалось от 1,5 до 6 ч; для данных по КСД время экспозиции доходило до 5 ч. Эксперименты с белым светом показывают, что произведение освещенности на время постоянно до 12 ч [49].

Уникальной особенностью в исследованиях Ноэля и соавторов [2] стало применение повышенной температуры тела так же, как и длительной адаптации к темноте, однако Уильямс и Хауэлл [28] использовали лишь физиологическую температуру и только 1 час темной адаптации. Данные по КСД могут изменяться в зависимости от световой адаптации вплоть до 16-часовой адаптации к темноте (таблица).

Выбор критерия повреждений может влиять на форму спектра действия. Применительно к данным для спектра КСД гистология как функция длины волны указывает, что существует оболочка (по крайней мере) двух типов спектральных повреждений. Пренебрежение малыми межвидовыми различиями макака [4, 27], белки [29, 30] и крысы [8, 32] показывает, что пороговые облучения фиолетовым и ультрафиолетовым светом (320–440 нм) преимущественно повреждали PR-клетки (фоторецепторные клетки сетчатки), а синий и зеленый свет (440–550 нм) отчетливо повреждал ПЭС (пигментный эпителий сетчатки), но вовлекал в этот процесс также и некоторую часть PR-клеток. Если, например, повреждение ПЭС берется как пороговый критерий, то восприимчивость к фиолетовому свету будет несколько ниже, чем если бы в качестве критерия принимались бы повреждения PR-клеток. На практике эти различия невелики, потому что диапазон от просто наблюдаемого изменения до обширного разрушения внешней сетчатки составляет всего 1 логарифмическую единицу [2, 7, 8, 37]. Поэтому выбор критерия повреждения вряд ли объяснит большое расхождение между СПР и КСД.

Учитывая явные признаки того, зрительные пигменты играют роль в фотохимических световых повреждениях [2, 13, 25, 50, 51], можно сделать вывод, что их «отбеливающий» (обесцвечивающий) уровень способен влиять на спектр действия. Для оценки уровня обесцвечивания зрительных пигментов следует рассматривать отдельно облученность сетчатки и время экспозиции. Возникающая при этом картина не указывает на простое различие, что неполное обесцвечивание дает СПР, а полное обесцвечивание дает КСД. Действительно, родопсин был лишь частично обесцвечен в исследованиях Ноэля и соавторов [2] при облученности  $0,03 \text{ мВт/см}^2$ , но, вероятно, полностью обесцвечен в условиях эксперимента, проведенного Уильямсом и Хауэллом [8], — при экспозиции 485 нм почти полная потеря НЯС через 6 ч воздействия облученности  $0,82 \times 0,4 = 0,33 \text{ мВт/см}^2$  на сетчатке (сравните с данными раздела «Данные по дозе»). В случае с КСД уровень обесцвечивания был 100%-ным в видимом диапазоне с облученностью часто на уровне  $10\text{--}100 \text{ мВт/см}^2$ , но только частичным в УФ-диапазоне, как было показано в исследованиях с использованием более широких спектральных полос [6]. Гримм (Grimm) и коллеги [36, 51] доказали, что неметаболическая регенерация родопсина через процесс фотообратимости при «отбеливании» светом  $\lambda = 403 \text{ нм}$  является очень эффективным способом повышения концентрации родопсина, таким образом предлагая объяснение увеличения восприимчивости сетчатки к этой длине

волны. Вполне вероятно, что такой механизм имеет место и для ближнего УФ-излучения, но количественного анализа недостаточно для подтверждения данного тезиса.

Согласно одной из гипотез, выдвинутой Кремером (Kremers) и Ван Норреном (Van Norren) [15], СПР наблюдается при неполностью «отбеливающей» сетчатку облученности от 12 ч и более (класс I), в то время как КСД наблюдается при более высоких уровнях облученности и более коротких сроках экспозиции (класс II). Исследователи предположили, что при низких уровнях облученности родопсин, являясь наиболее чувствительным хромофором, мог бы быть посредником возникновения повреждения, а спектр действия мог бы следовать его кривой поглощения. При высокой облученности сетчатки родопсин обесцвечивается, а другие, менее чувствительные хромофоры, посредничают при повреждениях, что приводит к КСД. Эта гипотеза требует более прочных экспериментальных данных, по крайней мере потому, что спектр действия при очень длительных экспозициях (со свободно перемещающимися животными) неизвестен. Что касается данных по СПР, которые мы собрали, то в исследовании Ноэля и др. [2] повреждения были получены не в течение более 12 ч, а уже через 1,5 ч. Тем не менее уникальные аспекты в их экспериментальной модели, такие, например, как повышенная температура тела и/или длительная адаптация к темноте, возможно, позволили бы сократить время экспозиции. Исследование Уильямса и Хауэлла [28] труднее вписывается в эту гипотезу. Экспозиция была 6 ч, а облучение сетчатки, вероятно, было полностью обесцвечивающим.

Мы пришли к выводу, что, принимая во внимание все научные источники, критические условия для любого спектра не появились.

## Выводы и будущие эксперименты

Данные по монохроматической дозе для фотохимического повреждения сетчатки применительно к спектру СПР были найдены в двух исследовательских источниках; в 16 источниках найдены данные применительно к спектру КСД. Из восьми рассматриваемых условий (животная модель, использование анестезии, размер поля сетчатки, время экспозиции, температура тела, продолжительность адаптации к темноте, критерий повреждения и уровень обесцвечивания) не оказалось одновременно необходимых и достаточных условий для прогнозирования формирования обоих спектров. Свежие данные, как представляется, поэтому необходимы в следующих областях.

Поскольку количество источников по спектру СПР ограничено, получение дополнительных экспериментальных данных в этой области, с учетом взаимосвязи таких параметров, как температура тела, уровень обесцвечивания и время адаптации к темноте, может расширить наше понимание различий между спектрами СПР и КСД. Простая парадигма могла бы полагать экспозицию находящимися под наркозом крыс монохроматическим излучением (близким к 500 и 400 нм) приравненной к поглощению

родопсина. Когда условия варьируют таким образом, что повреждение при 500 нм находится в пороговой области, то сообразно спектру СПР повреждение при ~400 нм также должно быть в пороговой области. Спектр КСД, однако, предполагает (при этой длине волны) возникновение общего разрушения внешней сетчатки, учитывая, что чувствительность будет выше на два порядка величины. Если это возможно, то эксперименты должны включать облученности как с полным обесцвечиванием зрительных пигментов, так и с их частичным обесцвечиванием. Подобные эксперименты со свободно перемещающимися крысами являются более сложными, потому что высокие уровни монохроматического излучения трудно получить. Современные светодиоды с шириной полосы пропускания 30 нм могли бы открыть новые возможности для исследований. Эксперимент со светодиодами мог бы включать две или даже три клетки: одна в окружении зеленых СД ( $\lambda_{\text{макс}} = 525 \text{ нм}$ ), одна в окружении синих СД (470 нм) и одна в окружении УФ-светодиодов (395 нм). Это позволит получить новую информацию о том, является ли данный спектр действия в таких условиях действительно спектром СПР.

Спектральные данные доступны только для четырех видов животных: крысы, макак, белок и кроликов. Отсутствуют данные по мышам — самому распространенному животному в биомедицинских исследованиях. Расширив число видов животных, можно будет получить ответ на интригующий вопрос: существует ли общий механизм светового повреждения глаз всех млекопитающих, а возможно, и птиц [52–54]?

Сходство в пороговых данных разных видов животных в области спектра КСД выделяется, но разброс довольно большой. Возможные врожденные различия видов животных, как и те, что были установлены между крысиними штаммами [55, 56], должны быть проверены в рамках одной установки с одним критерием повреждения, при правильной коррекции размеров глаз и поглощения глазных сред.

Дополнительные данные по приматам могли бы обеспечить более прочную базу для стандартов афакической защиты от УФ.

## Литература

1. J. J. Vos. A theory of retinal burns. *Bull. Math. Biophys.* 24. 1962.
2. W. K. Noell, V. S. Walker, B. S. Kang and S. Berman. Retinal damage by light in rats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 5. 1966.
3. W. T. Ham Jr., H. A. Mueller and D. H. Sliney. Retinal sensitivity to damage from short wavelength light. *Nature* 260. 1976.
4. W. T. Ham Jr., H. A. Mueller, J. J. Ruffolo Jr., D. Guerry III and R. K. Guerry. Action spectrum for retinal injury from near-ultraviolet radiation in the aphakic monkey. *Am. J. Ophthalmol.* 93. 1982.
5. D. van Norren and P. Schellekens. Blue light hazard in rat. *Vision Res.* 30. 1990.
6. L. M. Rapp, B. L. Tolman and H. S. Dhindsa. Separate mechanisms for retinal damage by ultraviolet-A and mid-visible light. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31. 1990.



7. L. M. Rapp and S. C. Smith. Morphologic comparisons between rhodopsin-mediated and short-wavelength classes of retinal light damage. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33. 1992.
8. T. G. Gorgels and D. van Norren. Ultraviolet and green light cause different types of damage in rat retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 36. 1995.
9. ANSI. American National Standard for Safe Use of Lasers ANSI Z136.1-2007. Laser Institute of America, Orlando, FL. 2007.
10. ICNIRP. Guidelines on limits of exposure to broad-band incoherent optical radiation (0.38 to 3 microM). International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. *Health Phys.* 73. 1997.
11. Health Council of the Netherlands: Committee on Optical Radiation. Optical Radiation Health Based Exposure Limits for Electromagnetic Radiation in the Wavelength Range from 100 Nanometre to 1 Millimetre. 1993 09E. Health Council of the Netherlands, The Hague. 1993.
12. ICNIRP. Guidelines on limits for laser radiation of wavelengths between 180 nm and 1,000 microM. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. *Health Phys.* 71. 1996.
13. D. T. Organisciak and D. K. Vaughan. Retinal light damage: Mechanisms and protection. *Prog. Retin. Eye Res.* 29. 2010.
14. M. A. Mainster. Light and macular degeneration: A biophysical and clinical perspective. *Eye (Lond)* 1 (Pt 2). 1987.
15. J. J. Kremers and D. van Norren. Two classes of photochemical damage of the retina. *Lasers Light in Ophthalmol.* 2. 1988.
16. L. M. Rapp. Retinal phototoxicity. In *Handbook of Neurotoxicology* (Edited by L. W. Chang and R. S. Dyer), Marcel Dekker, New York. 1995.
17. M. Rozanowska, B. Rozanowski and M. Boulton. Light-Induced Damage to the Retina. Available at: [www.photobiology.info/Rozanowska.html](http://www.photobiology.info/Rozanowska.html). 2009. Accessed on August 17, 2010.
18. S. Zigman. Ocular light damage. *Photochem. Photobiol.* 57. 1993.
19. C. E. Reme, F. Hafezi, A. Marti, K. Munz and J. J. Reinboth. Light damage to retina and retinal pigment epithelium. In *The Retinal Pigment Epithelium, Function and Disease* (Edited by M. F. Marmor and T. J. Wolfensberger). Oxford University Press, Oxford. 1998.
20. J. Mellerio. Light effects on the retina. In *Principles and Practice of Ophthalmology* (Edited by D. M. Albert and F. A. Jacobiec). W.B. Saunders Philadelphia, Philadelphia. 1994.
21. J. van de Kraats and D. van Norren. Optical density of the aging human ocular media in the visible and the UV. *J. Opt. Soc. Am.* A 24. 2007.
22. T. G. Gorgels and D. van Norren. Spectral transmittance of the rat lens. *Vision Res.* 32. 1992.
23. B. Lei and G. Yao. Spectral attenuation of the mouse, rat, pig and human lenses from wavelengths 360 nm to 1020 nm. *Exp. Eye Res.* 83. 2006.
24. T. Lawwill. Effects of prolonged exposure of rabbit retina to low-intensity light. *Invest. Ophthalmol.* 12. 1973.
25. T. Lawwill, S. Crockett and G. Currier. Retinal damage secondary to chronic light exposure, thresholds and mechanisms. *Doc. Ophthalmol.* 44. 1977.
26. T. Lawwill. Three major pathological processes caused by light in the primate retina: A search for mechanisms. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 80. 1982.
27. W. T. Ham Jr., J. J. Ruffolo Jr, H. A. Mueller, A. M. Clarke and M. E. Moon. Histologic analysis of photochemical lesions produced in rhesus retina by short-wave-length light. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 17. 1978.
28. T. P. Williams and W. L. Howell. Action spectrum of retinal light-damage in albino rats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 24. 1983.
29. R. J. Collier and S. Zigman. Comparison of retinal photochemical lesions after exposure to near-UV or short-wavelength visible radiation. *Prog. Clin. Biol. Res.* 314. 1989.
30. R. J. Collier, W. R. Waldron and S. Zigman. Temporal sequence of changes to the gray squirrel retina after near-UV exposure. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 30. 1989.
31. E. M. Busch, T. G. Gorgels and D. van Norren. Temporal sequence of changes in rat retina after UV-A and blue light exposure. *Vision Res.* 39. 1999.
32. T. G. Gorgels and D. van Norren. Two spectral types of retinal light damage occur in albino as well as in pigmented rat: No essential role for melanin. *Exp. Eye Res.* 66. 1998.
33. B. J. Putting, J. A. Van Best, R. C. Zweepfenning, G. F. Vrensen and J. A. Oosterhuis. Spectral sensitivity of the blood-retinal barrier at the pigment epithelium for blue light in the 400–500 nm range. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 231. 1993.
34. E. Chen. Inhibition of cytochrome oxidase and blue-light damage in rat retina. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 231. 1993.
35. E. Chen, P. G. Soderberg and B. Lindstrom. Cytochrome oxidase activity in rat retina after exposure to 404 nm blue light. *Curr. Eye Res.* 11. 1992.
36. C. Grimm, A. Wenzel, T. Williams, P. Rol, F. Hafezi and C. Reme. Rhodopsin-mediated blue-light damage to the rat retina: Effect of photoreversal of bleaching. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42. 2001.
37. W. Dawson, T. Nakanishi-Ueda, D. Armstrong, D. Reitze, D. Samuelson, M. Hope, S. Fukuda, M. Matsuishi, T. Ozawa, T. Ueda and R. Koide. Local fundus response to blue (LED and laser) and infrared (LED and laser) sources. *Exp. Eye Res.* 73. 2001.
38. D. J. Lund, B. E. Stuck and P. Edsall. Retinal injury thresholds for blue wavelength lasers. *Health Phys.* 90. 2006.
39. J. I. Morgan, J. J. Hunter, W. H. Merigan and D. R. Williams. The reduction of retinal autofluorescence caused by light exposure. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 50. 2009.
40. J. I. Morgan, J. J. Hunter, B. Masella, R. Wolfe, D. C. Gray, W. H. Merigan, F. C. Delori and D. R. Williams. Light-induced retinal changes observed with high-resolution autofluorescence imaging of the retinal pigment epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 49. 2008.
41. F. C. Delori, R. H. Webb and D. H. Sliney. Maximum permissible exposures for ocular safety (ANSI 2000), with emphasis on ophthalmic devices. *J. Opt. Soc. Am. A Opt. Image Sci. Vis.* 24. 2007.
42. J. J. Hunter, J. I. Morgan, W. H. Merigan and D. R. Williams. Retinal Phototoxicity Observed Using High Resolution Autofluorescence Imaging. International Laser Safety Conference. International Laser Safety Conference Paper 202. Laser Institute of America, Orlando (FL). 2009.
43. S. Kaidzu, T. Okuno, M. Tanito and A. Ohira. Retinal light damage induced by ultraviolet light in albino rats. ARVO 2010 Electronic abstract 2254. 2010.
44. D. H. Sliney. Quantifying retinal irradiance levels in light damage experiments. *Curr. Eye Res.* 3. 1984.
45. L. M. Rapp and S. C. Smith. Evidence against melanin as the mediator of retinal phototoxicity by short-wavelength light. *Exp. Eye Res.* 54. 1992.
46. T. Hoppeler, P. Hendrickson, C. Dietrich and C. Reme. Morphology and time-course of defined photochemical lesions in the rabbit retina. *Curr. Eye Res.* 7. 1988.
47. R. A. Gorn and T. Kubawara. Retinal damage by visible light. A physiological study. *Arch. Ophthalmol.* 77. 1967.
48. M. Kaitz and E. Auerbach. Action spectrum for light-induced retinal degeneration in dystrophic rats. *Vision Res.* 19. 1979.
49. J. J. Kremers and D. van Norren. Retinal damage in macaque after white light exposures lasting ten minutes to twelve hours. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 30. 1989.
50. R. S. Harwerth and H. G. Sperling. Effects of intense visible radiation on the increment-threshold spectral sensitivity of the rhesus monkey eye. *Vision Res.* 15. 1975.
51. C. Grimm, C. E. Reme, P. O. Rol and T. P. Williams. Blue light's effects on rhodopsin: Photoreversal of bleaching in living rat eyes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41. 2000.
52. J. Marshall, J. Mellerio and D. A. Palmer. Damage to pigeon retinae by commercial light sources operating at moderate levels. *Vision Res.* 11. 1971.
53. L. R. Thomson, Y. Toyoda, F. C. Delori, K. M. Garnett, Z. Y. Wong, C. R. Nichols, K. M. Cheng, N. E. Craft and C. K. Dorey. Long term dietary supplementation with zeaxanthin reduces photoreceptor death in light-damaged Japanese quail. *Exp. Eye Res.* 75. 2002.
54. S. Machida. [Evaluation of retinal light damage in aphakic chicken eyes using monochromatic ERGs]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 98. 1994.
55. M. M. LaVail, G. M. Gorrin and M. A. Repaci. Strain differences in sensitivity to light-induced photoreceptor degeneration in albino mice. *Curr. Eye Res.* 6. 1987.
56. J. M. Borges, D. P. Edward and M. O. Tso. A comparative study of photic injury in four inbred strains of albino rats. *Curr. Eye Res.* 9. 1990.