

Исследования опасности синего света на живых крысах

П. БУЛЕНГЕЗ¹, С. КАРРЕ, К. МАРТИНСОНС, А. ТОРРИГЛИА, С. ШАХОРИ

Научно-технический строительный центр, Гренобль;
Национальный институт здоровья и медицинских исследований, Париж;
Альфурская национальная ветеринарная школа, Альфор, Франция

Аннотация

В статье описан эксперимент, проводившийся на живых организмах для улучшения понимания механизмов, лежащих в основе опасности синего света для сетчатки глаза. Группы крыс Вистара облучались светом светодиодов четырёх типов. Глаза крыс исследовались методами вестерн-блоттинга, иммунолюминесценции, терминального дезоксиуридинового мечения концов и просвечивающей электронной микроскопии. Описаны использовавшиеся приёмы дозиметрии и осветительная установка.

Ключевые слова: опасность синего света, предельно допустимая доза, крыса Вистара, дозиметрия.

1. Введение

1.1. Опасность синего света

Опасность синего света – всё ещё не вполне понятное явление, заключающееся в повреждении излучением в синей части видимого спектра пигмента эпителия сетчатки и слоя фоторецепторов.

Быстро наступающие последствия интенсивного воздействия синего света (при полученной сетчаткой дозе > 20 Дж/см²) были замечены уже давно, как и то, что на возрастную макулярную дистрофию влияет ещё и хроническое воздействие малых доз [1].

Это наблюдение до сих пор не подтверждено эпидемиологическими исследованиями, хотя сейчас уже известно, что *A2E* (компонент липофусцина, участвующего в образовании друз, являющихся признаком возраст-

ной макулярной дистрофии) служит инициатором вызываемого синим светом апоптоза клеток пигмента эпителия сетчатки.

1.2. Освещение светодиодами

Внимание к опасности синего света было подстёгнуто появлением светодиодов (СД), которые стали применяться в качестве источников света общего назначения. СД имеют прекрасные световую отдачу и срок службы, однако широко распространённые СД белого света на основе нитрида индия-галлия (*InGaN*) излучают значительно больше синего света на один люмен, чем заменяемые ими лампы (рис. 1).

1.3. Предельно допустимые дозы

Приведённый на рис. 1 спектр действия для опасности синего света был получен в результате проводившихся на животных экспериментов. В недавно опубликованном обзоре [2] упомянуты несколько животных: крысы (9

исследований), макаки (7 исследований), кролики (2 исследования) и суслик (1 исследование).

Кроме того, эти исследования легли в основу предельно допустимых доз облучения, установленных Международной комиссией по защите от неионизирующих излучений (*ICNIRP*) [3]. Примечательно, что предельное значение безопасной дозы облучения сетчатки, взвешенной по функции $B(\lambda)$ (рис. 1), было принято равным $2,2$ Дж/см² (и это при том, что вредные последствия наблюдались при дозах порядка $20\text{--}30$ Дж/см²) [4]. Эта доза была преобразована с учётом физиологии человека во взвешенную по функции $B(\lambda)$ пространственно усреднённую энергетическую яркость (источников света).

Эти предельно допустимые дозы легли в основу разбиения ламп и их совокупностей на группы фотобиологической опасности, осуществлённого Североамериканским светотехническим обществом (*IESNA*), Международной комиссией по освещению (МКО) и Международной электротехнической комиссией (МЭК) [5].

2. Эксперимент на живых организмах

В этой статье представлены результаты экспериментов на животных, проведённых для улучшения понимания биологических механизмов, лежащих в основе пагубных для сетчатки результатов воздействия синего света.

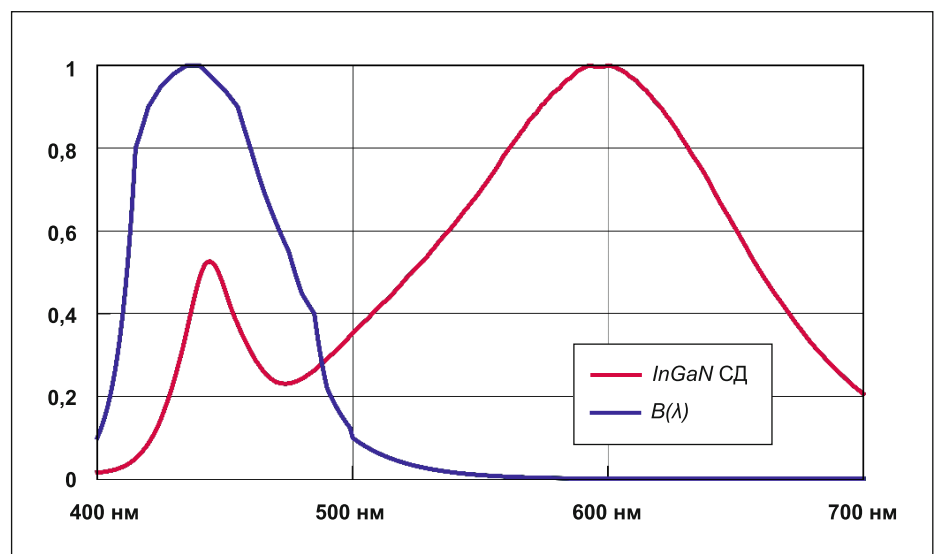


Рис. 1. Относительный спектр излучения белых светодиодов на основе *InGaN* и спектр действия для опасности синего света $B(\lambda)$

¹ По материалам доклада на 28-й Сессии МКО, 29.06–04.07.2015. Манчестер, Великобритания

E-mail: Pierre.Boulenguez@cstb.fr
Перевод с англ. Е.И. Розовского

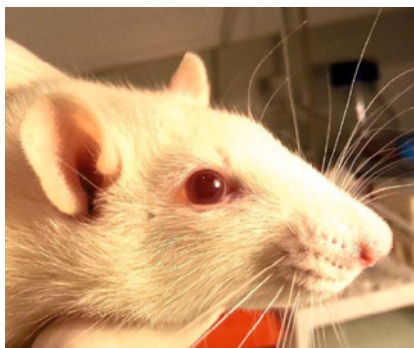


Рис. 2. Нелинейная крыса-альбинос Вистара

2.1. Модельное животное

Крыса Вистара (рис. 2) повсеместно считается идеальным универсальным модельным организмом. Эта линия использовалась в офтальмологических исследованиях с момента её выведения [6], однако распространение полученных результатов на людей всё еще вызывает разногласия.

Все эксперименты проводились в соответствии с требованиями по использованию животных и уходу за ними, установленными Альфорской национальной ветеринарной школой (ENVA).

2.2. Экспериментальная установка

Шестинедельные самцы, которые свободно перемещались по клетке, в течение 16 ч подвергались воздействию синего света. Осветительный прибор (рис. 3 и 4) был сконструирован таким образом, чтобы обеспечить наибольшую равномерность облучённости в плоскости глаз подопытных животных.

Для исследования влияния спектрального распределения излучения использовались четыре разных источника света (табл. 1) (каждая группа крыс облучалась только одним из них).

2.3. Дозиметрия

В основу дозиметрии были положены проводившиеся на месте измерения (п. 2.3.1) и теоретическая модель, устанавливающая связь между спектральной облучённостью (п. 2.3.2) и полученной сетчаткой дозой (п. 2.3.3). Для облегчения интерпретации полученных результатов было разработано специальное программное обеспечение (рис. 5).

Использовавшиеся четыре типа светодиодов

Тип	XP-E Blue	XP-E Royal Blue	NCSE119A	NCSB119
Изготовитель	Cree		Nichia	
Доминантная длина волны, нм	473	449	507	473

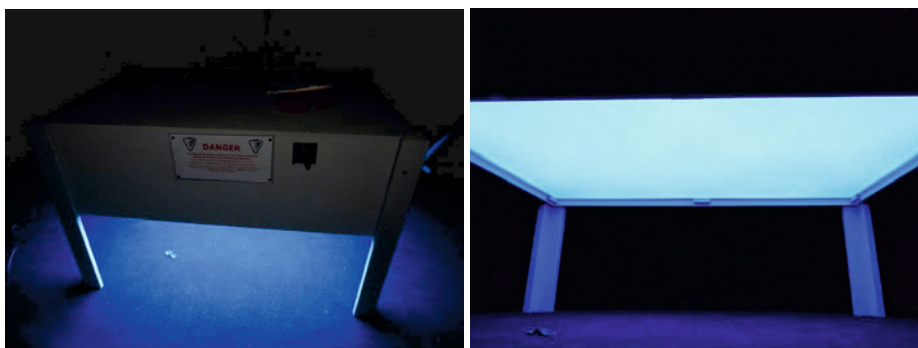


Рис. 3. Осветительный прибор: клетка размещалась под плоскостью, излучающей рассеянный белый свет

2.3.1. Спектрофотометрические измерения

Спектральная облучённость измерялась внутри клеток при помощи волоконно-оптического спектрофотометра (с диффузной головкой). Равномерность облучённости (определяемая отношением $E_{мин}/E_{ср}$) составляла примерно 0,7 для всех источников света.

2.3.2. Спектральная облучённость сетчатки

Спектральная плотность облучённости сетчатки глаз крысы зависела от положения её головы. Полная доза оценивалась в предположении, что в среднем голова крысы находилась на одной линии с её телом.

В соответствии с [2], глаз рассматривался как шар. Так как свет излучала только одна поверхность (рис. 3), то средняя спектральная плотность облучённости роговицы $E_{\lambda_{рог}}$ определялась по формуле

$$E_{\lambda_{рог}} = E_{\lambda}/2 \text{ [Вт/(нм}\cdot\text{м}^2)],$$

а средняя спектральная плотность облучённости сетчатки $E_{\lambda_{сетч}}$ – по формуле

$$E_{\lambda_{сетч}} = \tau \cdot E_{\lambda_{рог}} \cdot A_{рог}/A_{сетч} \text{ [Вт/(нм}\cdot\text{м}^2)],$$

где τ – коэффициент пропускания среды глаза, $A_{рог}$ – эффективная площадь освещённой роговицы, $A_{сетч}$ – площадь освещённого участка сетчатки.

$A_{рог}$ рассчитывалась по формуле

$$A_{рог} = \pi \cdot d_{зр}^2/4 \text{ [м}^2],$$

где $d_{зр}$ – диаметр зрачка. $A_{сетч}$ считалась равной половине площади глазного шара (*ocular globe*):

$$A_{сетч} = 2 \cdot \pi \cdot f^2 \text{ [м}^2],$$

где f – фокусное расстояние (диаметр глазного шара при фокусировке на бесконечность).

В результате средняя спектральная плотность облучённости сетчатки $E_{\lambda_{сетч}} = \tau \cdot E_{\lambda} \cdot d_{зр}^2/(16 \cdot f^2)$ [Вт/(нм \cdot м 2)]. Параметры модели приведены в табл. 2.

2.3.3. Полученная сетчаткой доза

Средняя облучённость сетчатки $E_{сетч}$ была получена путём численного интегрирования средней спектральной плотности облучённости сетчатки:

$$E_{сетч} = \Delta\lambda \cdot \sum_{i=1}^n E_{\lambda_{сетч}, i} \text{ [Вт/м}^2],$$

где $\Delta\lambda = 1$ нм. В итоге полученная сетчаткой доза

Параметры модели глаз крыс Вистара

Диаметр зрачка $d_{зр}$, мм	Фокусное расстояние f , мм	Коэффициент пропускания среды глаза, %
5	2,4	100



Рис. 4. Осветительный прибор: монтаж источников света

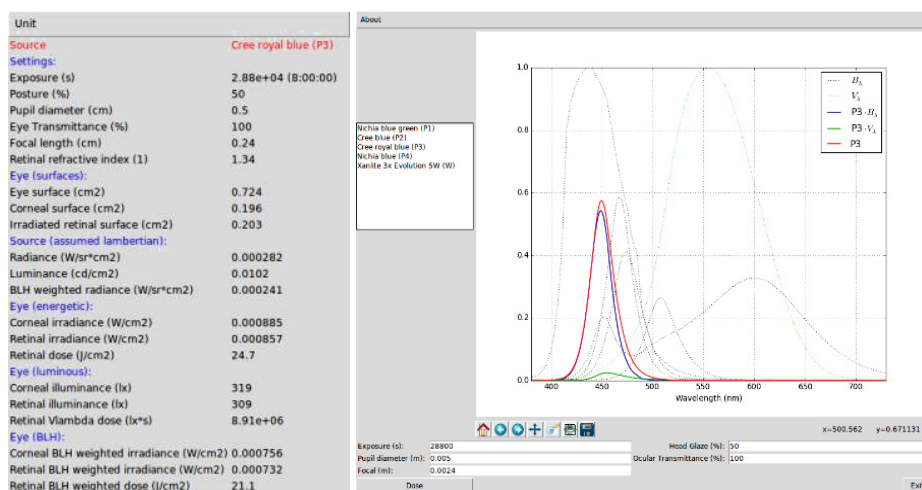


Рис. 5. Дозиметрическое программное обеспечение (язык Питон)

$$D_{сечч} = t \cdot E_{сечч} \text{ [Дж/м}^2\text{]},$$

где t – время облучения.

Хотя определяемые так дозы и содержат неопределённости (главным образом из-за допущения о положении головы), ожидается, что соотношение доз, соответствующих различным источникам света, окажется точным.

Краткий обзор разных подходов к оценке облучённости сетчатки, найденных в литературе, содержится в [7].

2.4. Биологический анализ

Крысы были безболезненно умерщвлены с помощью этанала натрия. Сразу после облучения была проведена фундоскопия при расширенном зрачке. Глаза были извлечены, зафик-

сированы в параформальдегиде, промыты и охлаждены до температуры, оптимальной для изготовления срезов из замороженной ткани.

Сетчатки исследовались с помощью вестерн-блоттинга, иммунолюминесценции, терминального дезоксиуридинового мечения концов (TUNEL) и просвечивающей электронной микроскопии.

3. Результаты и обсуждение

Исследование глазного дна продемонстрировало отсутствие обесцвечивания и наличие значительного отёка конъюнктивы глазного яблока (хемоза). Это проявление раздражения глаза было, возможно, связано с выделениями из неестественно проникаемых капилляров и расширением сосудов конъюнктивы.

Так как не было замечено никаких макроскопических повреждений сетчатки, что указывало на наличие микроскопических фотохимических очагов поражения, которые действительно наблюдались при применении других методов анализа. Это указывало как на наличие существенных окислительных повреждений, охватывающих белки и нуклеиновые кислоты, так и на большое количество погибших клеток.

В результате окрашивания клеток йодидом пропидия было обнаружено омертвление тканей. Интересно, что было помечено значительное количество фоторецепторов, гораздо большее того количества фоторецепторов, которое было выявлено методом терминального дезоксиуридинового мечения концов. Последнее указывает на то, что увеличение проницаемости клеточных оболочек предшествует деградации ДНК.

Наличие этого омертвления тканей легко объясняет появление отёков, которые являются не субретинальными, а внутритканевыми. Этим может объясняться и наличие воспалительной реакции немедленного типа, возможно, вызванной высвобождением патоген-ассоциированных молекулярных паттернов.

4. Заключение

Был проведён эксперимент, в рамках которого крысы подвергались воздействию света четырёх типов СД. Их глаза исследовались с использованием большого числа офтальмологических методов.

Для светотехнического сообщества особую важность при этом имеют два момента: конструкция осветительного прибора, позволяющая животным свободно перемещаться по клетке, и теоретические основы дозиметрии применительно к опасности синего света.

Финансирование межотраслевого сотрудничества учёных из Национального института здоровья и медицинских исследований (INSERM), ветеринарных офтальмологов Альфорской национальной ветеринарной школы (ENVA) и инженеров-светотехников и физиков из Научно-технического строительного центра (CSTB) – «RetinaLED» – осуществляло французское Агентство по охране окружающей среды и эф-

фактивному использованию энергии (ADEME).

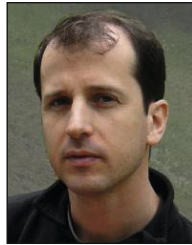
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ham, W.T. Jr, Mueller, H. A., Sliney, D.H. Retinal sensitivity to damage from short wavelength light // Nature. – 1976. – Vol. 260. – P. 153–155.
2. Van Norren, D., Gorgels, T.G. The action spectrum of photochemical damage to the retina: a review of monochromatic threshold data // Photochemistry and Photobiology. – 2011. – Vol. 87, No. 4. – P. 747–753.
3. ICNIRP 2013. Guidelines on limits of Exposure to Incoherent Visible and Infrared Radiation // Health Physics. – 2013. – Vol. 105, No. 1. – P. 74–96.
4. ICNIRP 2005. Adjustment of guidelines for exposure of the eye to optical radiation from ocular instruments: statement from a task group of the International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) // Applied Optics. – 2005. – Vol. 44, No. 11. – P. 2162–2176.
5. CIE S009:2002. Photobiological safety of lamps and lamp systems. European Standard 62471 (в настоящее время объединённый технический комитет МКО/МЭК JTC5 работает над его новой редакцией).
6. Clause, B.T. The Wistar rat as a right choice: Establishing mammalian standards and the ideal of a standardized mammal // Journal of the History of Biology. – 1993. – Vol. 26. – P. 329–349.
7. Jaadane, I., Boulenguez, P., Chanory, S., Carré, S., Savoldelli, M., Jonet, L., Behar-Conen, F., Martinsons, C., Torriglia, A. 2015. Retinal damage induced by commercial light emitting diodes (LEDs) // Free Radical Biology & Medicine. – 2015. pii: S0891–5849(15)00158–6.



Пьер Буленгез (Pierre Boulenguez), Ph.D (2010). С 2012 г. работает в отделении здоровья и комфорта

Научно-технического строительного центра. Область научных интересов: компьютерное зрение, фотометрия ближнего поля, оптическое рассеяние, имидж-радиометрия и фотобиология



Самюэль Карре (Samuel Carré), Ph.D (1998). С 2012 г. работает в светотехнической группе Научно-технического строительного

центра. Область научных интересов: физические основы моделирования освещения, общее освещение зданий, оценка цветопередачи при помощи графических процессоров и компьютерное зрение



Кристоф Мартинсонс (Christophe Martinsons), Ph.D (1998).

Руководитель отделения освещения и электромагнетизма

Научно-технического строительного центра. В настоящее время проводит исследования в области оптики и освещения, направленные на создание энергоэффективных зданий, обеспечивающих наилучший комфорт для пользователей.

Возглавлял проведение исследований по заказу правительственных учреждений Франции и Международного энергетического агентства



Алисия Торриглия (Alicia Torriglia), Ph.D. Директор по науке Национального института здоровья и медицинских исследований.

Специалист в области молекулярных механизмов отмирания клеток сетчатки



Сабин Шахори (Sabine Chahory), Ph.D (2007). Доцент отделения офтальмологии Альфорской национальной ветеринарной

школы. Область научных интересов: дегенерация сетчатки под воздействием света

Поздравляем с юбилеем!

Редакция, редколлегия, сотрудники
ЗАО «ВНИСИ-ШРЕДЕР», друзья
поздравляют одного из старейших работников
светотехнической
отрасли, инженера-конструктора

**Виктора Михайловича
Райхинштейна**

с 85-летием и желают ему крепкого здоровья и
успехов в работе