

Естественные науки. 2023. № 3 (12). С. 12–19.
Yestestvennyye nauki = Natural Sciences. 2023; 3 (12): 12–19 (In Russ.)

Научная статья
УДК 577.95:612.843:591.4:616-092.4/9
doi 10.54398/1818507X_2023_3_12

**ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ
ПЕРЕДНЕГО ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ
В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ ОНТОГЕНЕЗА
ПРИ ДЕЙСТВИИ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ[©]**

*Сентюрова Людмила Георгиевна^{1✉}, Краморенко Олег Владимирович²,
Берлякова Елена Михайловна³, Мазлов Алексей Михайлович⁴, Шерышева
Юлия Владимировна⁵, Морозов Владимир Дмитриевич⁶*

¹⁻⁶Астраханский государственный медицинский университет Минздрава
России, г. Астрахань, Россия

¹Sentlj2012@yandex.ru ✉

Аннотация. Исследованы структурнофункциональные особенности переднего эпителия роговицы глаза млекопитающих в условиях воздействия внешних факторов. Описаны изменения в процессе постнатального развития роговицы беспородных белых крыс начиная от однодневного возраста до 28 дней после действия на роговицу H₂S в дозах 3,30 и 300 мг/м³. Выявлено, что доза 3 мг/м³ не оказывает заметного влияния на формирование межклеточных контактов, позволяя тем самым обеспечить оптимальное функционирование. В этом возрасте не наблюдается нарушение параметров суточного ритма: мезора и амплитуды. По мере увеличения дозы H₂S до 30 мг/м³ страдает плотность контакта с базальной мембраной. В ядре отчетливо видна конденсация хроматина. Меняется амплитуда суточного ритма. При действии 300 мг/м³ найдены более глубокие структурные изменения в виде формирования миелиноподобных структур. Кроме того обнаружены выраженные нарушения параметров суточного ритма пролиферативной активности в её эпителии во все изученные возрастные периоды с десинхронизмом, существенным уменьшением мезора, амплитуды, сдвигом фазовых ритмов вплоть до его инверсии. Результаты показывают оправданное применение методов ультрамикроскопии и исследования пролиферативного индекса для объективизации данных по действию агрессивных поллютантов.

Ключевые слова: роговица, онтогенез, крысы, пролиферативный индекс роговицы, сероводород.

Для цитирования: Сентюрова Л. Г., Краморенко О. В., Берлякова Е. М., Мазлов А. М., Шерышева Ю. В., Морозов В. Д. Характеристика пролиферативной активности переднего эпителия роговицы млекопитающих в постнатальном периоде онтогенеза при действии внешних факторов // Естественные науки. 2023. № 3 (12). С. 12–19. https://doi.org/10.54398/1818507X_2023_3_12.

© Сентюрова Л. Г., Краморенко О. В., Берлякова Е. М., Мазлов А. М., Шерышева Ю. В., Морозов В. Д., 2023.

**CHARACTERISTICS OF THE PROLIFERATIVE ACTIVITY
OF THE ANTERIOR EPITHELIUM OF THE MAMMALIAN CORNEA
IN THE POSTNATAL PERIOD OF ONTOGENESIS UNDER
THE ACTION OF EXTERNAL FACTORS**

*Sentyurova Lyudmila G.¹✉, Kramorenko Oleg V.², Berlyakova Elena M.³,
Mazlov Alexey M.⁴, Sherysheva Yulia V.⁵, Morozov Vladimir D.⁶*

¹⁻⁶Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

¹Sentlj2012@yandex.ru✉

Abstract. The structural and functional features of the anterior epithelium of the mammalian cornea under the influence of external factors have been studied. Changes in the process of postnatal corneal development of mongrel white rats ranging from one day of age to 28 days after the action of H₂S on the cornea at doses of 3.30 and 300 mg/m³ are described. It was found that a dose of 3 mg/m³ does not have a noticeable effect on the formation of intercellular contacts, thereby allowing optimal functioning. At this age, there is no violation of the parameters of the circadian rhythm: mesor and amplitude. As the dose of H₂S increases to 30 mg/m³, the density of contact with the basement membrane suffers. And chromatin condensation is clearly visible in the nucleus. The amplitude of the circadian rhythm changes. At the action of 300 mg/m³, deeper structural changes were found in the form of the formation of myelin-like structures. In addition, pronounced violations of the parameters of the circadian rhythm of proliferative activity in its epithelium were found in all the studied age periods with desynchronization, a significant decrease in mesor, amplitude, and a shift in phase rhythms up to its inversion. The results show the justified use of ultramicroscopy methods and the study of the proliferative index to objectify data on the action of aggressive pollutants.

Keywords: cornea, ontogenesis, rats, proliferative index of the cornea, hydrogen sulfide

For citation: Sentyurova L. G., Kramorenko O. V., Berlyakova E. M., Mazlov A. M., Sherysheva Yu. V., Morozov V. D. Characteristics of the proliferative activity of the anterior epithelium of the cornea of mammals in the postnatal period of ontogenesis under the influence of external factors. *Yestestvennye nauki = Natural Sciences*. 2023; 3 (12): 12–19. https://doi.org/10.54398/1818507X_2023_3_12.

Введение. Из внешних факторов, загрязняющих природную среду можно выделить огромное количество поллютантов, среди которых: меркаптаны, дисульфиды, двуокись серы и другие [1; 5], оказывающие влияние на функциональное состояние зрительного анализатора [6; 9].

Вместе с тем по данным гигиенического мониторинга Астраханской области, переработка газоконденсата неизбежно сопровождается загрязнением, воздушной массы в промышленной зоне серными поллютантами. Загрязнение рабочей зоны обычно происходит в период пусконаладочных работ, при продувке скважин, после ремонта или при розливе жидкой серы в цистерны, при регулярном обслуживании профилактических работ. Установлено, что наиболее важными мишенями токсического действия сероводорода на организм человека являются его нервная и сосудистая системы. Следует учитывать, что в более жарких климатических условиях действие токсических веществ оказывает влияние на организм [7; 8].

В условиях Астраханской области патология органа зрения встречается в два раза чаще, чем в других регионах России [3], но внимания изучению влияния сероводородсодержащего газа на морфофункциональное состояние глаз уделяется недостаточно. Очевидно, что необходимы объективные критерии, позволяющие оценить сохранность структуры и функции. Так, охарактеризован пролиферативный потенциал заднего эпителия роговицы человека [2]. Однако, первым испытывает воздействие внешнего фактора — это передний эпителий. Но нет единого мнения, какие концентрации H_2S делают невозможным проведение текущих работ в рабочей зоне, и степень его токсическое влияния.

Нами было изучено влияние различных концентраций сероводородсодержащего газа АГКМ (3, 30 и 300 мг/м³) на гистогенез и пространственно-временную организацию пролиферации эпителия роговицы белых крыс.

Материал и методы исследования. В качестве объектов исследования были выбраны беспородные белые крысы, относящиеся к незрело рождающимся животным. Эксперименты проводились в октябре – феврале. Животных содержали на стандартном рационе, доступ к воде и пище не был ограничен. Температура воздуха в помещении составляла +18...+21° С. Структура роговицы изучалась на крысах 1, 7, 14, 28 дней постнатального онтогенеза. В опытах использовались самцы. Животные были разделены на две группы: контрольную и опытную. Опытная группа животных на разных стадиях постнатального онтогенеза (1, 7, 14, 28 дней) подвергалась действию природного газа АГКМ. Эксперимент осуществляли в специальных камерах производства Московского института профзаболеваний и гигиены труда им. Эрисмана объемом 200 дм³ в течение четырёх часов. В камеру подавалась смесь природного газа АГКМ с воздухом в концентрациях 3, 30, 300 мг/м³ по сероводороду как наиболее биологически активному компоненту природного газа АГКМ. Во время экспериментов вели визуальные наблюдения за поведением животных. Контрольные животные также находились 4 ч в камерах, но с подачей воздуха без содержания природного газа АГКМ. Полученный материал обрабатывался с помощью следующих методов: Общегистологические методы. После фиксации в жидкостях Карнуа и Бродского роговицу заливали в парафин. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну, по Ван-Гизону. Гистохимический метод. Для выявления сульфатированных и несulfатированных гликозаминогликанов использовали окраску по Сидману и Моури.

Электронная микроскопия применялась с целью получения представлений о становлении структуры и реактивности клеток эпителия роговицы белых беспородных крыс в постнатальном онтогенезе в контрольной и опытной группах. Материал для электронной микроскопии фиксировали в 1%-ом растворе H_2SO_4 в течение 1,5–2,0 ч и после стандартной проводки заливали в аралдит (Боголепов Н. Н., 1976; модиф. Palade, 1952). Срезы изготавливали на ультратоме ЛКВ, просматривали в электронном микроскопе JEM-100. Хронобиологические исследования. Забой животных для хронобиологических исследований производился на 1, 7, 14, 28 сутки постнатального онтогенеза через каждые 4 ч в течение трёх суток, по три животных на каждую временную

точку. В работе применялось устройство для фиксации мелких лабораторных животных в эксперименте [4].

Результаты исследований и их обсуждение. В основу работы положен хронобиологический подход, что является вполне оправданным. Это позволяет сопоставить структурные нарушения в органе с состоятельностью функции в зависимости от концентрации и времени экспозиции внешнего фактора.

Принципиально важно, что H_2S характеризуется высокой проникающей способностью через биологические мембраны. Образующиеся сульфиды блокируют тканевое дыхание, инициируя гипоксию.

Роговица является одним из первых биологических барьеров на пути сероводородсодержащего газа.

Морфологически в течение первых трех дней передний эпителий представлен одним слоем цилиндрической формы базальных клеток и одним слоем покровных. Максимум митозов приходится на 8 ч утра.

На второй неделе постнатального развития кроме базального слоя клеток формируется слой шиповатых клеток, обеспечивающий пролиферацию дифферона эпителиальных клеток роговицы. На электронограмме эпителиальных клеток встречаются участки гранулярной эндоплазматической сети. Пик митотического индекса сохраняется на 8 ч утра.

К моменту прозревания роговица представлена не только базальным и хорошо развитым слоем шиповатых клеток, но и покровными.

При исследовании влияния различных концентраций газа АГКМ на гистогенез и пространственно-временную организацию пролиферации эпителия роговицы белых крыс было выяснено, что воздействие сероводородсодержащим газом в концентрации по H_2S в дозе 3 мг/м^3 не влияет на структурное формирование роговицы (рис. 1).

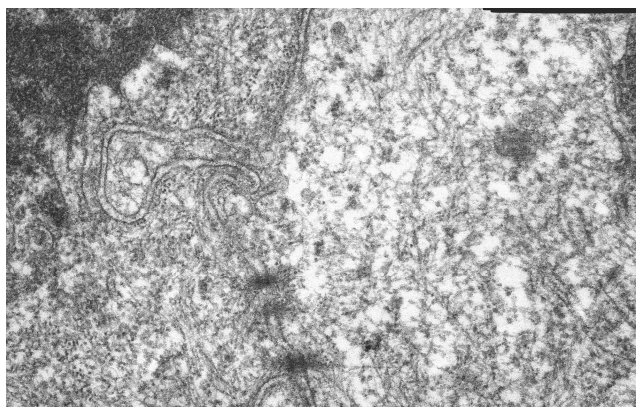


Рисунок 1 — Контакт эпителиоцитов роговицы 21-дневного животного постнатального развития после воздействия H_2S в дозе 3 мг/м^3 (ув. $\times 25\,000$)

Однако отражается на пролиферативной системе эпителия отмечено увеличение амплитуды и снижение мезора у 1–3-дневных животных, а у 7–14-дневных — уменьшение амплитуды пролиферативной активности.

С увеличением дозы H_2S до 30 мг/м^3 , начиная с трёхдневного возраста наблюдаются структурно-функциональные нарушения эпителиоцитов роговицы, выражающиеся в нарушении структуры межклеточных взаимоотношений, контактов между эпителиоцитами и базальной мембраной (рис. 2), в конденсации хроматина в кариоплазме, увеличении размеров митохондрий, уплотнении их матрикса.

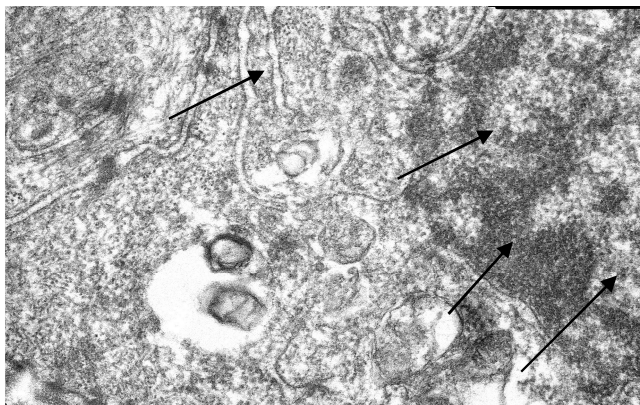


Рисунок 2 — Конденсация хроматина в кариоплазме эпителиоцита на 21-ый день постнатального развития при действии 30 мг/м^3 (ув. $\times 25\ 000$)

Концентрация H_2S в дозе 300 мг/м^3 даже у однодневных животных вызывает грубые нарушения структуры эпителия роговицы: деструкция межклеточных контактов, лизис ядра, фрагментация митохондрий, а к 21 дню появление миелиноподобных структур (рис. 3).

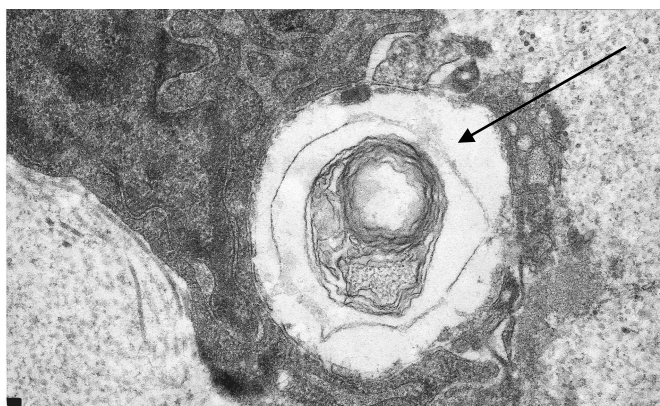


Рисунок 3 — Миелиноподобные структуры в эпителиоцитах роговицы на 21-ый день постнатального развития (ув. $\times 25\ 000$)

Согласно хронобиологическим исследованиям действия сероводородсодержащего газа в дозах 30 и 300 мг/м^3 на роговицу, обнаружены выраженные нарушения параметров суточного ритма пролиферативной активности в её эпителии во все изученные возрастные периоды с десинхронизмом, существенным уменьшением мезора, амплитуды, сдвигом фазовых ритмов вплоть до его инверсии.

Заключение. Влияние различных концентраций H_2S зависит от дозы поллютанта в окружающем воздухе. Так, концентрация H_2S 3 мг/м³ не влечет морфофункциональных нарушений роговицы крыс. При увеличении дозы до 30 мг/м³ уже с трёхдневного возраста в роговице наблюдаются множественные нарушения как структуры, так и синтетических процессов. При дозе 300 мг/м³ к 21 дню постнатальной жизни формируются грубые нарушения структуры роговицы.

Список литературы

1. Бабанов, С. А. Профессиональные поражения органа зрения: оптимизация диагностических и лечебных мероприятий / С. А. Бабанов // Клиническая офтальмология. — 2015. — № 2. — С. 89—94.
2. Каспарова, Евг. А. Проллиферативный потенциал заднего эпителия роговицы человека / Евг. А. Каспарова, А. М. Суббот, Д. Б. Калинина // Вестник офтальмологии. — 2013. — № 129 (3). — С. 82–88.
3. Неваленная, Л. А. Эмбриотоксическое воздействие природного газа АГКМ на постнатальный онтогенез сетчатки глаза: клиничко-морфологические аспекты / Л. А. Неваленная. — Москва, 1999. — 24 с.
4. Патент RU110976 U1. Устройство для фиксации мелких лабораторных животных в эксперименте / Сентюрова Л. Г., Голубкина С. А., Красовский В. С., Дуйко В. В. — Заявка 2011104213/13 от 07.02.2011.
5. Пронина, М. Е. Влияние физических факторов окружающей среды на офтальмологические заболевания (в частности, на механизм развития миопии) / М. Е. Пронина, К. Д. Добрынина, А. В. Климов. — URL: <https://moluch.ru/archive/257/58953/>.
6. Пустовойтов, Ю. Л. Причины нарушений зрения и их профилактика / Ю. Л. Пустовойтов. — URL: <https://human.snauka.ru/2017/03/22677>.
7. Сентюрова, Л. Г. Сосудистые сплетения головного мозга в онтогенезе млекопитающих в климатических условиях Астраханской области / Л. Г. Сентюрова, Ю. В. Шерышева, Н. В. Ткачева, В. С. Красовский, А. М. Мазлов, Л. А. Неваленная, Г. В. Комарова, В. Д. Морозов // Актуальные проблемы биоразнообразия и биотехнологии. — Астрахань, 2021. — С. 21–24.
8. Сентюрова, Л. Г. Действие гипоксии на сосудистые сплетения головного мозга млекопитающих / Л. Г. Сентюрова, Ю. В. Шерышева, В. С. Красовский, А. М. Мазлов, Н. В. Ткачева, Л. А. Неваленная, Г. В. Комарова // Актуальные исследования висцеральных систем в биологии и медицине. — Астрахань, 2020. — С. 63–64.
9. Cestmír, Cejka. The influence of various toxic effects on the cornea and changes in corneal light transmission / Cestmír Cejka, Taras Ardan, Jakub Sirc, Jiří Michálek, Blanka Brůnová, Jitka Cejková. URL: https://www.researchgate.net/publication/44903213_The_influence_of_various_toxic_effects_on_the_cornea_and_changes_in_corneal_light_transmission.

References

1. Babanov S. A. Professionalnye porazheniya organa zreniya: optimizatsiya diagnosticheskikh i lechebnykh meropriyatiy. *Klinicheskaya oftalmologiya = Clinical ophthalmology*. 2015; 2: 89–94.
2. Kasparova, Evg. A., Subbot, A. M., Kalinina, D. B. Proliferativnyy potentsial zadnego epiteliya rogovitsy cheloveka. *Vestnik oftalmologii = Bulletin of Ophthalmology*. 2013; 129 (3): 82–88.

3. Nevalennaya, L. A. *Embriotoksicheskoe vozdeystvie prirodnoy gazy AGKM na postnatalnyy ontogenez setchatki glaza: kliniko-morfologicheskie aspekty* = *Embryotoxic effects of natural gas AGKM on postnatal ontogenesis of the retina: clinical and morphological aspects*. Moscow; 1999: 24.

4. Sentyurova, L. G., Golubkina, S. A., Krasovskiy V. S., Duyko. V. V. *Patent RU110976 U1. Ustroystvo dlya fiksatsii melkikh laboratornykh zhivotnykh v eksperimente* = *Patent RU110976 U1. Device for fixing small laboratory animals in an experiment*. Application 2011104213/13 dated 02/07/2011.

5. Pronina, M. E., Dobrynina, K. D., Klimov, A. V. *Vliyanie fizicheskikh faktorov okruzhayushchey sredy na oftalmologicheskie zabolevaniya (v chastnosti, na mekhanizm razvitiya miopii)* = *The influence of physical environmental factors on ophthalmological diseases (in particular, on the mechanism of myopia development)*. Available at: <https://moluch.ru/archive/257/58953/>.

6. Pustovoytov, Yu. L. *Prichiny narusheniy zreniya i ikh profilaktika* = *Causes of visual impairment and their prevention*. Available at: <https://human.snauka.ru/2017/03/22677>.

7. Sentyurova, L. G., Sherysheva, Yu. V., Tkacheva, N. V., Krasovskiy, V. S., Mazlov A. M., Nevalennaya, L. A., Komarova, G. V., Morozov, V. D. *Sosudistye spleteniya golovnoy mozga v ontogeneze mlekopitayushchikh v klimaticheskikh usloviyakh Astrahanskoy oblasti. Aktualnye problemy bioraznoobraziya ibiotekhnologii* = *Current problems of biodiversity and biotechnology*. Astrakhan; 2021: 21–24.

8. Sentyurova, L. G., Sherysheva, Yu. V., Krasovskiy, V. S., Mazlov, A. M., Tkacheva, N. V., Nevalennaya, L. A., Komarova, G. V. *Deystvie gipoksii na sosudistye spleteniya golovnoy mozga mlekopitayushchikh. Aktualnye issledovaniya vistseralnykh sistem v biologii i meditsine* = *Current research on visceral systems in biology and medicine*. Astrakhan; 2020: 63–64.

9. Cestmír, Cejka, Taras, Ardan, Jakub, Sirc, Jiří, Michálek, Blanka, Brůnová, Jitka, Cejková. *The influence of various toxic effects on the cornea and changes in corneal light transmission*. Available at: https://www.researchgate.net/publication/44903213_The_influence_of_various_toxic_effects_on_the_cornea_and_changes_in_corneal_light_transmission.

Информация об авторах

Сентюрова Л. Г. — доктор медицинских наук, профессор;
Краморенко О. В. — кандидат медицинских наук, врач;
Берлякова Е. М. — кандидат медицинских наук, доцент;
Мазлов А. М. — старший преподаватель;
Шерышева Ю. В. — кандидат медицинских наук, доцент;
Морозов В. Д. — ординатор.

Information about the authors

Sentyurova L.G. — Doctor of Medical Sciences, Professor;
Kramorenko O.V. — Candidate of Medical Sciences, Doctor;
Berlyakova E.M. — Candidate of Medical Sciences PhD, Associate Professor;
Mazlov A.M. — Senior Lecturer;
Sherysheva Yu.V. — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor;
Morozov V.D. — Medical Resident.

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors

All authors have made equivalent contributions to publications. The authors declare that there is no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 11.09.2023; одобрена после рецензирования 15.09.2023; принята к публикации 18.09.2023.

The article was submitted 11.09.2023; approved after reviewing 15.09.2023; accepted for publication 18.09.2023.