

ЗАБОЛЕВАНИЯ ЗАДНЕГО СЕГМЕНТА ГЛАЗНОГО ЯБЛОКА

УДК 617.735-007.281

© Коллектив авторов, 2017

Г.М. Арсланов¹, Т.Р. Мухамадеев^{1,2}, З.Р. Янбукхтина², Т.И. Дибаяев^{1,2}, Б.М. Азнабаев^{1,2}

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕТЧАТКИ ГЛАЗ КРОЛИКОВ ПРИ ИНТРАВИТРЕАЛЬНОЙ ТАМПОНАДЕ ПЕРФТОРОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

²ЗАО «Оптимедсервис», г. Уфа

Целью исследования явился анализ электронно-микроскопических изменений сетчатки глаз кроликов при тампонаде полости стекловидного тела перфторорганическими соединениями (ПФОС) – перфтор-1,3-диметилциклогексаном и перфтордекалином.

На 12 глазах 6 кроликов проведена экспериментальная 25G – витрэктомия с тампонадой полости стекловидного тела ПФОС. Изучение структур сетчатки осуществляли на 5-, 14- и 30-й дни после операции методом электронной микроскопии.

Тампонада полости стекловидного тела обоими видами ПФОС на 5-, 14- и 30-й дни вызывала схожие электронно-микроскопические изменения сетчатки независимо от длительности: отек нейронов в ганглиозном слое сетчатки и проявления признаков умеренных дистрофических процессов в цитоплазме нейронов внутреннего и наружного ядерных слоев. Изменения в наружном ядерном слое появились на 30-й день.

Тампонада полости стекловидного тела перфтор-1,3-диметилциклогексаном в эксперименте вызывает сопоставимые с перфтордекалином электронно-микроскопические изменения сетчатки и может считаться относительно безопасной для сетчатки глаз кроликов в срок до 14 дней.

Ключевые слова: перфторорганические соединения, перфтор-1,3-диметилциклогексан, перфтордекалин, сетчатка, тампонада, электронная микроскопия, электронно-микроскопические изменения.

G.M. Arslanov, T.R. Mukhamadeev, Z.R. Yanbukhtina, T.I. Dibaev, B.M. Aznabaev ELECTRON MICROSCOPIC CHANGES IN RABBIT EYES RETINA DURING INTRAVITREAL TAMPONADE WITH PERFLUOROCARBON LIQUIDS

The objective of the study was to analyze electron microscopic changes in rabbit eyes during intravitreal tamponade with PFCL (perfluoro-1,3-dimethylcyclohexane and perfluorodecalin).

25G vitrectomy with PFCL intravitreal tamponade was performed on 12 eyes of 6 rabbits. Research studies were performed in 5, 14 and 30 days after surgery by electron microscopy.

Tamponade of the vitreous cavity by both types of PFCL in 5, 14 and 30 day caused following similar electron microscopic changes at date: swelling ganglion layer and dystrophy of inner and outer nuclear layer. Electron microscopic changes in outer nuclear layer appeared on 30th day.

Intravitreal perfluoro-1,3-dimethylcyclohexane tamponade caused similar electron microscopic changes as well as perfluorodecalin in the experiment and it was relatively harmless to rabbit retina for up to 14 days.

Key words: PFCL, perfluoro-1,3-dimethylcyclohexane, perfluorodecalin, retina, tamponade, electron microscopy, electron microscopic changes.

Перфторорганические соединения (ПФОС) являются незаменимым инструментом в витреоретинальной хирургии поскольку обладают уникальными физико-химическими свойствами, позволяющими проводить сложные манипуляции при тяжелой хирургической патологии заднего сегмента глаза [8,10,14,15].

Несмотря на успешное применение ПФОС в течение долгого времени, вопросы их влияния на структуры глаза, в частности на сетчатку, до сих пор не имеют однозначных ответов, а полученные результаты экспериментальных исследований не дают полного представления о сроках возможной безопасной тампонады полости стекловидного тела.

Исходя из имеющихся в литературе данных в более ранних исследованиях прослеживается приверженность к тому, что тампонада ПФОС полости стекловидного тела на не-

сколько часов (от 3 до 48 часов) является полностью безопасной для структур сетчатки, что также подтверждается результатами световой и электронной микроскопий в экспериментальных исследованиях [6]. Однако электронно-микроскопические исследования после более длительного (от 4-х дней до 3-х недель) нахождения ПФОС в полости стекловидного тела показали грубые изменения в наружных и внутренних слоях сетчатки, фоторецепторных слоях, а также развитие псевдоэкзофоллиативного синдрома (ПЭС) [7,11,13]. В 90-е гг. появляются экспериментальные работы с применением методов световой и электронной микроскопий, в которых указаны более длительные сроки безопасного нахождения разных видов ПФОС в полости стекловидного тела, что авторы этих работ связывают с повышением качества очистки ПФОС [5,8,9,12].

Сотрудники научно-медицинской ассоциации «Оптимедсервис» и кафедры офтальмологии с курсом ИДПО БГМУ (г. Уфа) разработали новое ПФОС для тампонады полости стекловидного тела на основе отечественной субстанции – перфтор-1,3-диметилциклогексана [1]. Ранее экспериментальные работы по влиянию перфтор-1,3-диметилциклогексана на сетчатку не проводились.

Исходя из вышесказанного изучение влияния разработанного ПФОС – перфтор-1,3-диметилциклогексана («Оптимед», Россия) – на сетчатку глаз экспериментальных животных при кратко- (5 дней), средне- (14 дней) и долгосрочной (30 дней) тампонадах методом электронной микроскопии в сравнении с известным зарубежным аналогом – перфтордекалином («Dk-line», США) актуально.

Цель исследования – изучение и анализ электронно-микроскопических изменений сетчатки глаз кроликов при различных сроках тампонады полости стекловидного тела перфтор-1,3-диметилциклогексаном в сравнении с перфтордекалином.

Материал и методы

Исследование проведено на 12 глазах 6 кроликов породы шиншилла. Модель экспериментально-клинического исследования, оперативного вмешательства и послеоперационного ведения животных была идентична таковой в ранее опубликованном гистологическом исследовании [2].

Энуклеированные глаза фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин по общепринятым стандартным методикам. Для электронно-микроскопического исследования глазное яблоко кроликов разрезали лезвием. Задний полюс разрезали на мелкие кусочки (1×2-3мм), не отделяя сетчатку от хориоидеи и склеры. Кусочки тканей фиксировали в 2% растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере Миллонига (pH 7,2-7,4) в течение 24 часов. Дофиксацию проводили в 1% растворе OsO₄ (в течение 1-2 часов) на том же буфере. Материал обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в эпон-812 по общепринятой методике (Б. Уикли, 1975). Полутонкие и ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-III 8800 (Швеция). Ультратонкие срезы контрастировали 2% водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу [4], изучали и фотографировали в трансмиссионном микроскопе JEM CX II (Япония) при увеличениях от 4000 до 10000. Оценивали нарушение архитектоники сетчатки и наличие внутриклеточных включений.

Результаты и обсуждение

Первые электронно-микроскопические (ультраструктурные) серии снимков сетчатой оболочки глаз кроликов были представлены через 5 дней после интравитреальной тампонады обоими видами ПФОС. Определялся факт уплотнения цитоплазмы ножек радиальных мюллеровских глиоцитов, формирующих внутреннюю глиальную мембрану. Типичные для них органеллы, такие как микрофибриллы, микротрубочки, зерна гликогена, выявлялись нечетко, лишь в отдельных участках, так как появлялись светлые вакуоли разных размеров или обширные пустые зоны в цитоплазме (рис. 1). Внутренний сетчатый слой, состоящий из отростков ганглиозных нейронов и нейронов внутреннего ядерного слоя, выглядел в виде светлой крупноячеистой сети, так как данные отростки нейронов также были в отечном состоянии. Также определялись признаки гидропической дистрофии отдельных нейронов внутреннего ядерного слоя сетчатки. В наружном сетчатом слое наблюдались признаки умеренной отечности. Наружный ядерный слой, включающий тела фоторецепторных нейронов, слой палочек и колбочек, состоящий из их внутренних и наружных сегментов, а также клетки пигментного эпителия сетчатки ультраструктурных изменений не имели.

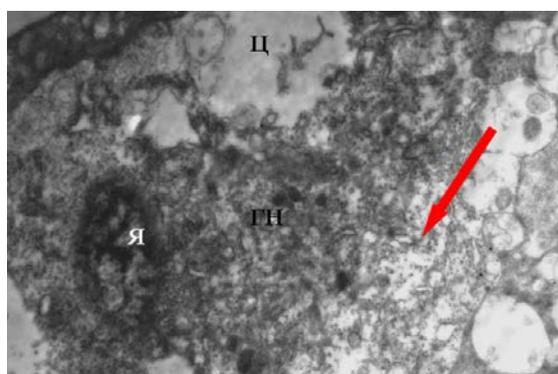


Рис. 1. Ультраструктура сетчатки глаза кролика через 5 дней после введения ПФОС (перфтордекалин): ГН – ганглиозный нейрон; Ц – пустая зона в цитоплазме; Я – пикнотичное ядро; красная стрелка указывает на разрушающиеся органеллы. Электронная микрофотография. Увел. × 4000

Электронно-микроскопические изменения на препаратах сетчатой оболочки глаз кроликов через 14 дней после интравитреальной тампонады обоими видами ПФОС были выражены примерно в той же степени, как в предыдущем сроке эксперимента. В ганглиозном слое определялся отек вокруг отдельных ганглиозных нейронов, а в некоторых клетках в цитоплазме продолжали определяться участки гидропической дистрофии в виде присутствия в цитоплазме небольшого количества светлых

вакуолей разных размеров. Определялись умеренно выраженные признаки гидропической дистрофии в виде вакуолизации цитоплазмы у единичных нейронов внутреннего ядерного слоя и отека между телами фоторецепторных нейронов в наружном ядерном слое. В слое палочек и колбочек, где лежат внутренние и наружные сегменты фоторецепторов, значительных ультраструктурных изменений выявлено не было, кроме слабовыраженных признаков гидропической дистрофии в слое палочек и колбочек (рис. 2), так же как и в клетках пигментного эпителия сетчатки.

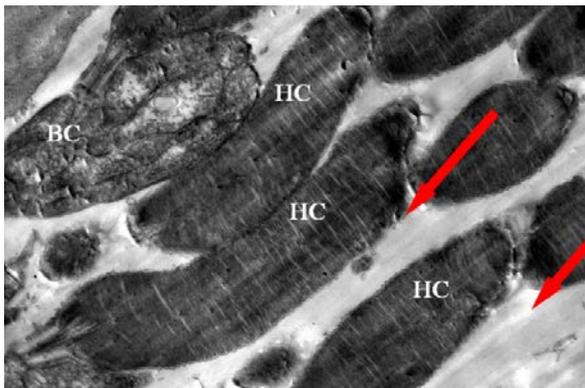


Рис. 2. Ультраструктура сетчатки глаза кролика через 14 дней после введения ПФОС (перфтор-1,3-диметилциклогексан). Отек (красные стрелки) между наружными сегментами фоторецепторных нейронов (НС); ВС – внутренний сегмент нейрона. Электронная микрофотография. Увел. $\times 8000$

Заключительная серия электронно-микроскопических препаратов сетчатой оболочки глаз кроликов была сделана через 30 дней после интравитреальной тампонады обоими видами ПФОС.

Цитоплазма ножек радиальных мюллеровских глиоцитов была уплотнена. В отдельных участках признаки отека сетчатки в виде набухания цитоплазмы нейронов выявлялись как в ганглиозном слое, так и во внутреннем ядерном слое и даже местами в наружном ядерном слое. Ультраструктура внутреннего и наружного сетчатых слоев, слоя палочек и колбочек была изменена мало – выявлялись единичные признаки дистрофических изменений в виде редких вакуолей в цитоплазме клеток. Клетки пигментного эпителия сетчатки лежали на неизменной мембране Бруха и характеризовались типичной для них ультраструктурой – длинными отростками микровиллами, которые плотно обхватывали

наружные сегменты фоторецепторных нейронов (рис. 3).

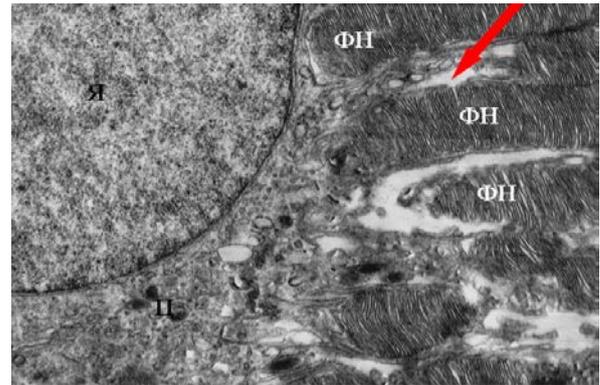


Рис. 3. Ультраструктура сетчатки глаза кролика через 30 дней после введения ПФОС (перфтор-1,3-диметилциклогексан): Ц – цитоплазма пигментных клеток; Я – ядро пигментной клетки сетчатки; ФН – фоторецепторные нейроны; отростки микровиллы пигментной клетки (красная стрелка). Электронная микрофотография. Увел. $\times 6000$

Таким образом, спустя месяц после введения внутрь глазного яблока обоих видов ПФОС в сетчатке экспериментальных кроликов выявляются умеренно выраженные ультраструктурные изменения в виде отека нейронов в ганглиозном слое сетчатки и проявления признаков умеренных дистрофических процессов в цитоплазме нейронов внутреннего ядерного слоя, уплотнения цитоплазмы ножек радиальных мюллеровских глиоцитов. Фоторецепторные нейроны также характеризовались единичными проявлениями ультраструктурных изменений, которые в отдельных участках через месяц исчезали.

Можно заключить, что результаты электронно-микроскопических исследований согласуются с результатами гистологических изменений, подтверждая, таким образом, безопасность периода тампонады ПФОС в течение 14 суток [2]. Полученные результаты также согласуются с данными других авторов [6,9,12]. Необратимых изменений в ультраструктуре сетчатки, которые в данные сроки описывали другие авторы [7,11,13], мы не наблюдали.

Выводы

Тампонада полости стекловидного тела перфтор-1,3-диметилциклогексаном в эксперименте вызывает сопоставимые с перфтордекалином электронно-микроскопические изменения сетчатки и может считаться безопасной для сетчатки глаз кроликов в срок до 14 дней.

Сведения об авторах статьи:

Арсланов Глеб Маратович – ассистент кафедры офтальмологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: gleb@arslanov.ru.

Мухамадеев Тимур Рафаэльевич – д.м.н., доцент кафедры офтальмологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: 8(347) 275-97-65. E-mail: photobgmu@gmail.com.

Янбухтина Зилia Раилевна – зам. генерального директора ЗАО «Оптимедсервис». Адрес: 450059, г. Уфа, ул. 50 лет СССР, 8.

Дибав Тагир Ильдарович – к.м.н., научный сотрудник, врач-офтальмолог ЦЛВЗ Optimed, ассистент кафедры офтальмологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: г. Уфа, ул. 50 лет СССР, 8.

Азнабаев Булат Маратович – д.м.н., проф., зав. кафедрой офтальмологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел./факс: 8(347) 275-97-65.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азнабаев, Б.М. Инновационные технологии в офтальмологии / Б.М. Азнабаев, Т.Р. Мухаммадиев, З.Р. Янбухтина // 7-й Российский общенациональный офтальмологический форум: сб. науч. тр. – М.: Апрель, 2014. – Т. 2. – С. 526-528.
2. Гистологические изменения сетчатки глаз кроликов при интравитреальной тампонаде перфторорганическими соединениями / Г.М. Арсланов [и др.] // Катарактальная и рефракционная хирургия. – 2016. – Т. 16. – № 1. – С. 57-61.
3. Куликов, А.Н. Отечественные перфторорганические соединения для системы реконструктивной офтальмохирургии: дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2006. – 279 с.
4. Уикли, Б. Электронная микроскопия для начинающих: пер. с англ. – М.: Мир. – 1975. – 324 с.
5. Шкворченко, Д.О. Комплексное хирургическое лечение отслоек сетчатки, осложненных гигантскими разрывами и отрывами от зубчатой линии, с применением жидких перфторорганических соединений: дис. ... канд. мед. наук. – М., 1995. – 172 с.
6. Experimental studies of tolerance to intravitreal perfluoro-n-octane liquid / S. Chang [et al.] // Retina. – 1991. – Vol. 11(4). – P. 367-374.
7. Experimental tolerance to perfluorodecalin used in prolonged intraocular tamponade / F. Devin [et al.] // Ophthalmologica. – 1995. – Vol. 209(6). – P. 306-314.
8. Drury, B. Short-term intraocular tamponade with perfluorocarbon heavy liquid / B. Drury, R.D. Bourke // British Journal of Ophthalmology. – 2011. – Vol. 95(5). – P. 694-698.
9. Intraocular tolerance of perfluorooctylbromide (perflubron) / M. Flores-Aguilar [et al.] // Retina. – 1995. – Vol. 15(1). – P. 3-13.
10. Perfluorocarbon liquids in vitreoretinal surgery: a review of applications and toxicity / I. Georgalas [et al.] // Cutaneous and Ocular Toxicology. – 2011. – Vol. 30(4). – P. 251-262.
11. Iwamoto T. Histopathology of rabbit and pig retina in eyes with intravitreal perfluorochemicals, with special reference to pdd (photoreceptor drop down) and mep (moath eaten phenomenon) // Nippon Ganka Gakkai Zasshi. – 1990. – Vol. 94. – P. 88-89.
12. Effect of gravity in long-term vitreous tamponade: in vivo investigation using perfluorocarbon liquids and semi-fluorinated alkanes / J. Mackiewicz [et al.] // Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology. – 2007. – Vol. 245(5). – P. 665-675.
13. Experimental short-term tolerance to perfluorodecalin in the rabbit eye: a histopathological study / N. Orzalesi [et al.] // Curr Eye Res. – 1998. – Vol. 17(8). – P. 828-35.
14. Rizzo, S. Vitreous substitute and tamponade substances for microincision vitreoretinal surgery / S. Rizzo, F. Barca // Dev Ophthalmol. – 2014. – Vol. 54. – P. 92-101.
15. Sargent, J.W. Properties of perfluorinated liquids / J.W. Sargent, R.J. Seffl // Fed Proc. c 1970. – Vol. 29(5). – P. 1699-1703.

УДК 617.747-004.5

© Коллектив авторов, 2017

А.Ю. Брежнев^{1,2}, В.И. Баранов¹, Е.М. Толмачева²,
Т.А. Мясникова², А.В. Ванина², М.В. Малыгина², А.С. Шевелев³
**ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА
ПРИ ПСЕВДОЭКСФОЛИАТИВНОМ СИНДРОМЕ**

¹ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Курск

²ОБЗУ «Офтальмологическая больница», г. Курск

³МОЦ «Крофт-оптика», г. Старый Оскол

Цель работы – изучение эхоскопических изменений у пациентов на фоне псевдоэксфолиативного синдрома (ПЭС).

Среди пациентов с ПЭС изменения стекловидного тела в виде его деструкции в основной группе установлены в 44,2% случаев, в группе сравнения – в 31,6% (p<0,05). Достоверных различий в характере и частоте эхоскопических изменений между мужчинами и женщинами в обеих группах обнаружено не было (p>0,05). Доля больных с деструкцией II-III степеней среди пациентов с ПЭС была почти в 3 раза выше, чем в группе сравнения (35,9% и 13,6% соответственно, p<0,05). Задняя отслойка стекловидного тела при ПЭС также встречалась достоверно чаще – в 11,6% случаев, среди лиц без клинических признаков ПЭС – только в 5,8% (p<0,05). Для обеих групп было характерно увеличение количества деструктивных изменений с повышением возраста больных. У больных с ПЭС имело место более раннее возникновение витреальной патологии.

Таким образом, получены данные о тесной взаимосвязи ПЭС с деструктивными изменениями стекловидного тела. ПЭС может рассматриваться как фактор риска витреальной патологии.

Ключевые слова: псевдоэксфолиативный синдром, стекловидное тело, деструкция, ультразвуковая диагностика.

A.Yu. Brezhnev, V.I. Baranov, E.M. Tolmacheva,
T.A. Myasnikova, A.V. Vanina, M.V. Malykhina, A.S. Shevelev
**PATHOLOGICAL CHANGES IN VITREOUS BODY
IN PATIENTS WITH PSEUDOEXFOLIATION SYNDROME**

The objective of the study is to determine ultrasound changes in patients with pseudoexfoliation syndrome (PEX).

Vitreous body destruction in PEX patients was found in 44,2% of cases in the main group and in the control group in 31,6% (p<0,05). No significant differences in frequency and severity of vitreous pathology between male and female in both groups were observed (p>0,05). The proportion of patients with II-III degree of vitreous destruction in PEX group was almost three times higher than in the control group (35,9% and 13,6%, respectively, p<0,05). Posterior vitreous detachment among PEX patients was determined significantly more often - in 11,6% of cases vs only 5,8% among persons of the control group (p<0,05). Both groups were characterized by an increase of frequency of destructive changes with age. Patients with PEX have earlier onset of vitreous pathology.

Thus, we obtained the data on close relationship of PEX with destructive changes of the vitreous body. PEX can be regarded as a risk factor for vitreous pathology.

Key words: pseudoexfoliation syndrome, vitreous body, destruction, ultrasound examination.