

14. Whitcher J. P. Prevention of corneal ulceration in the developing world / J. P. Whitcher, M. Srinivasan, M. P. Upadhyay // Int Ophthalmol Clin. — 2002. — Vol.42. — P.71–77.
15. World Health Organization. Report of consultation meeting on transplantation with national health authorities in the western pacific region. — 2005. — P.1–63.
16. Wu Z. The use of phospholipase A2 to prepare acellular porcine corneal stroma as a tissue engineering scaffold / Z. Wu, Y. Zhou, N. Li [et al] // Biomaterials. — 2009. — Vol.30. — P.3513–3522.
17. Xu Y. G. Development of a rabbit corneal equivalent using an acellular corneal matrix of a porcine substrate / Y. G. Xu, Y. S. Xu, C. Huang [et al] // Mol Vis. — 2008. — Vol.14. — P.2180–2189.

**Поступила 23.07.2012
Рецензент проф., д. м. н. Э. В. Мальцев**

HISTOMORPHOLOGICAL STUDY OF THE RABBIT CORNEA AFTER THE LAMELLAR TRANSPLANTATION OF HUMAN ACCELLULAR CORNEAL STROMA

Pasechnikova N. V., Vit V. V., Nasinnik I. O.

Odessa, Ukraine

The experimental study was performed on 9 rabbits (18 eyes). A lamellar keratoplasty of the human acellular corneal stroma module was performed in both eyes. There was no inflammatory reaction in 9 rabbits (14 eyes), no signs of graft rejection were observed 2 months later. At the same time corneal histoarchitectonics was repaired.



УДК 617.747–003.215–092.9:621.791.7–091.8

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СОСУДОВ МЕДУЛЛЯРНОЙ ЛУЧИСТОСТИ СЕТЧАТКИ И ХОРИОРЕТИНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА КРОЛИКА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ ЭЛЕКТРОСВАРКИ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ВНУТРИГЛАЗНОГО КРОВОТЕЧЕНИЯ

Н. В. Пасечникова, д. мед. н., В. В. Вит, д. мед. н.,

В. А. Науменко, д. мед. н., Н. Н. Уманец, к. мед. н.

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины»

На моделі внутрішньоочної кровотечі у кроликів встановлено, що використання високочастотного електрозварювання біологічних тканин (модифікований генератор ЕК-300М1) параметрами електричного струму: напруга — 18–20 В, сила струму до 0,1 А, експозиція 1–2 с, частота 66 кГц викликає коагуляцію судин сітківки та облітерацію їх просвіту з явищами коагуляційного некрозу сітчастої оболонки в області дії, при цьому його ступінь значно менше ніж при діатермокоагуляції параметрами електричного струму: потужність — 10 Вт, частота 365 кГц, експозиція 1–2 секунди.

Ключевые слова: модель внутриглазного кровотечения, сосуды сетчатой оболочки, высокочастотная электросварка биологических тканей, диатермокоагуляция

Ключові слова: модель внутрішньоочної кровотечі, судини сітчастої оболонки, високочастотне електрозварювання біологічних тканин, діатермокоагуляція

Введение. Интраоперационное кровотечение считается одним из основных осложнений задней закрытой витрэктомии у больных пролиферативной диабетической ретинопатией, внутриглазными новообразованиями (ангиоматоз Гиппеля-Линдау, меланома сосудистой оболочки), которое снижает эффективность хирургии, в ряде случаев может быть неконтролируемым и приводить к тяжелым последствиям [1–4]. Кроме того, интраоперационное кровотечение во время витрэктомии увеличивает риск развития гемофталмов в раннем послеоперационном периоде, что подчеркивает необходимость тщательного интраоперационного

гемостаза [5]. Общепринятым методом остановки интраоперационного внутриглазного кровотечения остается диатермокоагуляция биполярным эндогиперреальным зондом [6].

Метод высокочастотной электросварки биологических тканей применяется в клинической практике в общей хирургии с 1996 года для купирования и профилактики интраоперационных кровоизлияний и, как показали экспериментальные и клинические исследования, по сравнению с диа-

© Н. В. Пасечникова, В. В. Вит,
В. А. Науменко, Н. Н. Уманец, 2012

термокоагуляцией, обеспечивает более надежный гемостаз [7].

Совместными усилиями ученых из ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова» и Института Электросварки им. Е. О. Патона был модифицирован генератор высокочастотного тока ЕК-300М1 и разработан оригинальный инструментарий для электросварки тканей заднего отдела глазного яблока[8]. В нашем предварительном сообщении на модели внутриглазного кровотечения установлено, что проведение высокочастотной электросварки биологических тканей монополярным зондом параметрами: напряжение -18–20 В, сила тока до 0,1 А, экспозиция — 1–2 с, частота 66 кГц, позволяет остановить кровотечение в 67 % случаев и обеспечивает надежный гемостаз — длительность кровотечения в среднем ($1,8 \pm 1,7$) с при пересечении сосудов медуллярной лучистости сетчатки кролика, тогда как после диатермокоагуляции длительность кровотечения составила ($13,6 \pm 2,4$) с [9]. Необходимо отметить, что структурные изменения сосудов сетчатки под воздействием высокочастотной электросварки биологических тканей ранее не изучались.

В связи с этим целью нашего исследования было изучить в эксперименте структурные изменения сосудов медуллярной лучистости сетчатки и хориоретинального комплекса под воздействием высокочастотной электросварки биологических тканей по сравнению с диатермокоагуляцией при моделировании внутриглазного кровотечения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Эксперимент проводился на 12 кроликах (24 глаза) породы шиншилла возрастом 6–7 месяцев и массой 3,0–3,5 кг. Все экспериментальные животные находились в стандартных условиях вивария на одинаковом рационе питания. При проведении эксперимента соблюдались все рекомендации относительно исследований на животных, принятые международным сообществом.

Все животные на стадии отбора исследовались посредством непрямой бинокулярной офтальмоскопии с использованием линзы 20 дптр.

Экспериментальные животные были разделены на 4 группы (по 3 животных в каждой группе): 1 группа — контрольная и 3 опытных.

После общей анестезии с использованием 10 % тиопентала натрия (1 г/кг), фиксации в специальном станке и обработки операционного поля производилась ретробульбарная анестезия 2 % раствором лидокаина гидрохлорида — 2,0 мл.

Внутриглазное кровотечение моделировалось по методике, описанной в нашем предыдущем исследовании [9].

В первой (контрольной) группе животных (3 кролика; 6 глаз) в витреальную полость вводились осветитель и V-образный 20° нож и сосуды медуллярной лучистости сетчатой оболочки пересекались по краю диска зрительного нерва с темпоральной и назальной стороны.

Во второй группе животных (3 кролика; 6 глаз) перед пересечением ретинальных сосудов выполнялось воздействие на них и подлежащий хориоретинальный комплекс высокочастотным электрическим током (высокочастотная

электросварка биологических тканей) при помощи монополярного зонда следующими параметрами работы модифицированного генератора ЕК-300 М1: напряжение — 14–16 В, сила тока до 0,1 А, экспозиция 1–2 с, частота 66 кГц.

В третьей группе экспериментальных животных (3 кролика; 6 глаз) высокочастотная электросварка сосудов сетчатки и хориоретинального комплекса выполнялась при более высоком напряжении (18–20 В). Остальные параметры работы прибора не отличались от используемых у животных второй группы.

У животных четвертой группы (3 кролика; 6 глаз) производили диатермокоагуляцию сосудов медуллярной лучистости сетчатки высокочастотным электрическим током параметрами: мощность — 10 Вт, частота 365 кГц, экспозиция 1–2 с при помощи серийного биполярного зонда. Необходимо отметить, что параметры электрического тока для диатермокоагуляции полностью соответствовали используемым в ходе витреоретинальных вмешательств в клинике.

Оценивали офтальмоскопические и морфологические особенности ретинальных сосудов и сетчатой оболочки в очагах воздействия. Перед эвтаназией кроликам выполнялось фотографирование глазного дна. Животных выводили из эксперимента через 1 час после операции в состоянии глубокого наркоза методом воздушной эмболии с последующей энуклеацией. Глазные яблоки животных фиксировались в 10 % растворе формалина в течение 24–48 часов. В последующем выполнялось обезвоживание тканей в спиртах возрастающей концентрации и в ксиоле с целью уплотнения с последующей заливкой в парафин, после чего производили стандартную методику обработки и изготовления гистологических препаратов (окрашивание гематоксилином и эозином). Морфологические исследования проводили на микроскопе Olympus с увеличением $\times 120$ - $\times 400$.

РЕЗУЛЬТАТЫ. У животных контрольной группы в области пересечения ретинальных сосудов медуллярной лучистости отмечалось суб- и преретинальное кровоизлияние, не превышающее по площади диск зрительного нерва кролика (рис. 1). Границы кровоизлияния имели четкую границу. Определялся незначительный перифокальный отек сетчатой оболочки.

При гистологическом исследовании выявлено суб- и преретинальное скопление крови, деструкция стекловидного тела (рис. 2 а). При этом структурных изменений кровеносных сосудов не выявлено, за исключением разрушения стенки сосудов в местах проведения их рассечения (рис. 2 б). Каких-либо существенных структурных изменений сетчатой оболочки не выявляется, за исключением ее незначительного отека.

У кроликов второй группы наблюдения в месте приложения монополярного зонда с последующим воздействием высокочастотным электрическим током (модифицированный генератор ЕК-300 М1) на сосуды медуллярной лучистости сетчатки и прилежащий хориоретинальный комплекс при параметрах работы: напряжение — 14–16 В, сила тока до 0,1 А, экспозиция 1–2 с, частота 66 кГц отмечалось кольцевидное посерение поверхности сетчатой оболочки. Прекращения кровотока в сосудах сетчатой

оболочки в зоне воздействия нами не отмечалось. Определялось патологическое уменьшение калибра ретинальных сосудов в месте приложения сварочного зонда. Пересечение кровеносных сосудов сетчатки в зоне воздействия сопровождалось умеренным преретинальным кровоизлиянием, площадь которого не превышала 0,25 диаметра диска зрительного нерва кролика (рис.3). Соответственно, выполнение высокочастотной электросварки биологических тканей вышеуказанных параметров во второй группе экспериментальных животных не исключило кровотечения из пересеченных сосудов сетчатой оболочки.

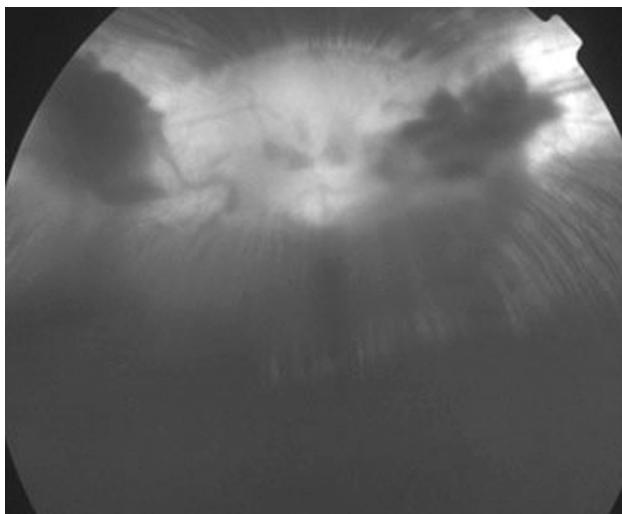
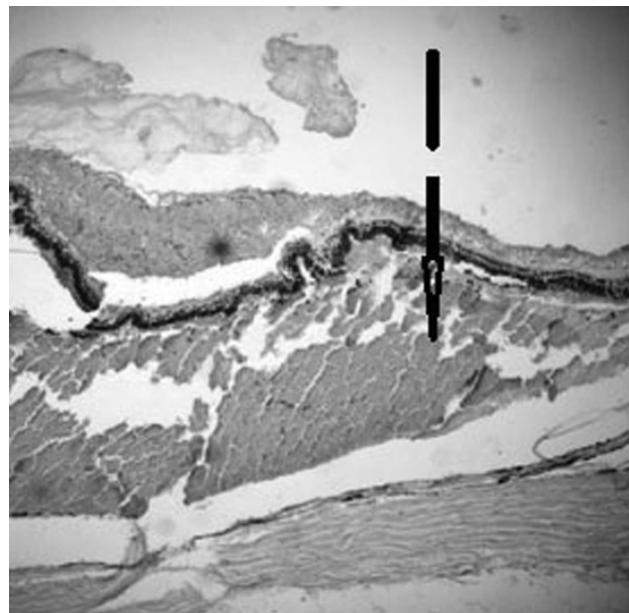


Рис. 1. Фотография глазного дна кролика контрольной группы после пересечения магистральных ретинальных сосудов. По краю диска зрительного нерва с назальной и темпоральной стороны определяется суб- и преретинальное кровоизлияние.

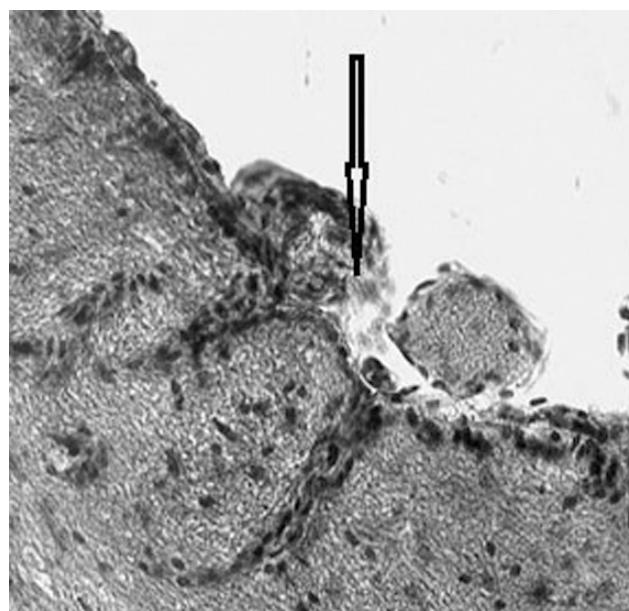
При гистологическом исследовании тканей заднего отдела глазного яблока у животных второй группы наблюдения в очаге воздействия высокочастотным электрическим током вышеуказанных параметров выявлены отек и дезорганизация почти всех слоев сетчатой оболочки, коагуляционные изменения стенок крупных кровеносных сосудов сетчатки, внутрисосудистый гемолиз (рис.4).

У животных третьей группы в месте приложения монополярного сварочного электрода, при параметрах работы генератора ЕК-300М1 (напряжение — 18–20 В, сила тока до 0,1 А, экспозиция 1–2 с, частота 66 кГц) отмечалось изменение цвета сетчатой оболочки, характеризующееся появлением кольцевидной белой поверхности. В области контакта электрода с тканями сетчатки отмечалось запустевание ретинальных сосудов и прекращение кровотока в них (рис. 5). При пересечении сосудов сетчатки в очаге воздействия высокочастотной электросварки вышеуказанных параметров кровоизлияния не отмечалось. Следует подчеркнуть, что

разница в напряжении электрического тока между второй и третьей группами составила до 4 В.



а



б

Рис. 2. Строение слоя нервных волокон и кровеносных сосудов сетчатки без существенных изменений. а) субретинальное кровоизлияние (пунктирная стрелка) б) отмечается разрушение стенки сосудов в местах проведения их рассечения с выходом эритроцитов (стрелка). Гематоксилин и эозин. Х 120–200

При микроскопическом исследовании сетчатой оболочки животных третьей группы наблюдения в очаге воздействия высокочастотной электросварки напряжением электрического тока 18–20 В отмечалась тотальная коагуляция кровеносных сосудов сетчатой оболочки, сопровождающаяся лизисом эритроцитов и тромбозом просвета сосудов.

Экспериментальные исследования

При этом выявлены выраженные четко ограниченные от слабо измененных тканей некротические фокальные очаги сухого и влажного некроза сетчатки, ее вакуолизация. Клетки пигментного эпителия диффузно распределены в наружных слоях вакуолизированной сетчатки. Отмечается отделение от сетчатки гиалоидной мембранны (рис.6).

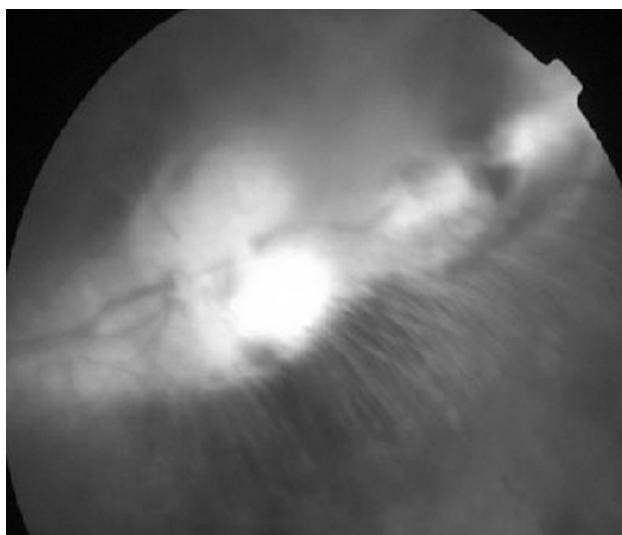


Рис. 3. Фотография глазного дна кролика второй группы наблюдения. В месте приложения монополярного сварочного зонда определяется посерение поверхности сетчатки, патологическое уменьшение калибра сосудов и преретинальное кровоизлияние из пересеченных сосудов сетчатки.

Проведение диатермокоагуляции сопровождалось закипанием стекловидного тела около активных элементов зонда с последующим прилипанием стекловидного тела и сетчатки к поверхности электродов. В зоне коагуляции сосуды сетчатки не дифференцировались. Несмотря на это, при пересечении ретинальных сосудов в зоне воздействия диатермокоагуляции отмечалось умеренное кровотечение (рис. 7)

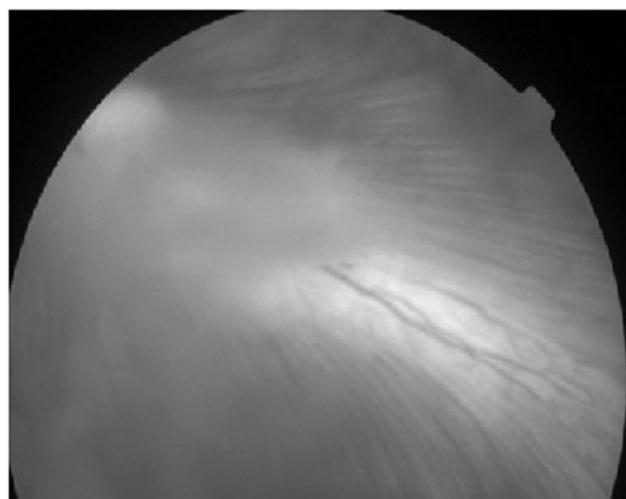


Рис. 5. Фотография глазного дна кролика третьей группы наблюдения. В месте приложения монополярного сварочно-го зонда определяется изменение цвета сетчатой оболочки, характеризующееся кольцевидным побелением ее поверхности и запустевание ретинальных сосудов.

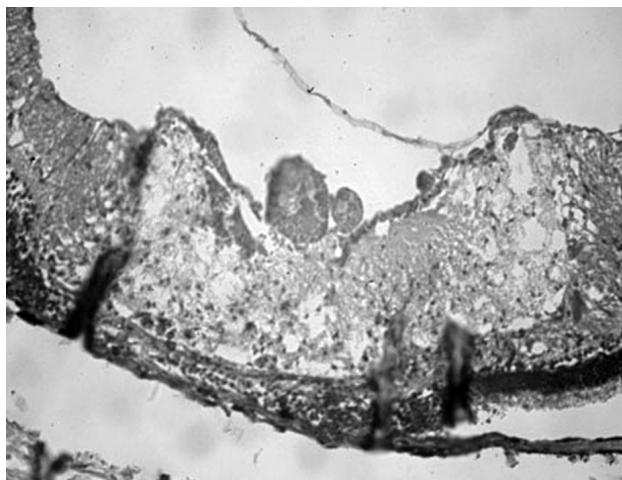


Рис. 4. Изменение структур сетчатой оболочки после воз- действия высокочастотным током при напряжении 14–16 В. Коагуляция стенки крупных сосудов сетчатки и фокаль- ная вакуольная дегенерация всех слоев сетчатки. Гематок- силин и эозин. X 400

У животных четвертой группы после диатермокоагуляции сосудов медуллярной лучистости и прилежащего хориоретинального комплекса в месте приложения эндovитреального зонда отмечалось интенсивное побеление поверхности сетчатки.

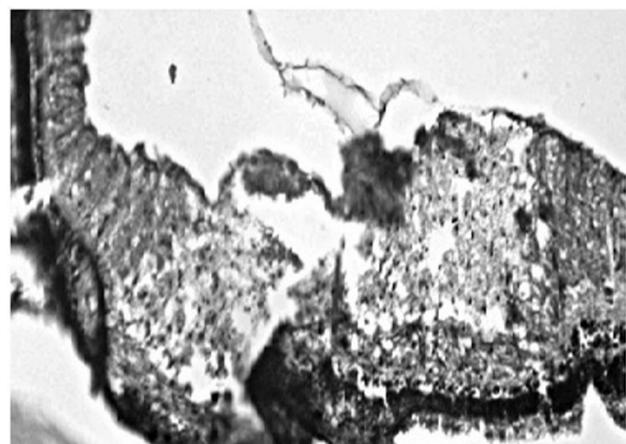


Рис. 6. Изменение структур сетчатой оболочки после воз- действия высокочастотным током при напряжении 18–20 В. Сухой некроз стенки сосудов и облитерация их просвета. Вакуольная дегенерация и влажный некроз всех слоев сет- чатой оболочки. Гематоксилин и эозин. X 200.

При гистологическом исследовании тканей заднего отдела глазного яблока в очаге воздействия диатермокоагуляции выявлен тотальный коагуляционный некроз всех слоев сетчатки, сопровождающийся ее фрагментацией и отделением

фрагментов с распространением в стекловидном теле (рис. 8). Вблизи участков коагуляции сетчатки выявляется отек сохранившейся сетчатки, нарушение строения по слоям, фокальная гомогенизация, что свидетельствует о довольно обширном распространении тепловой энергии вне приложения электрода.

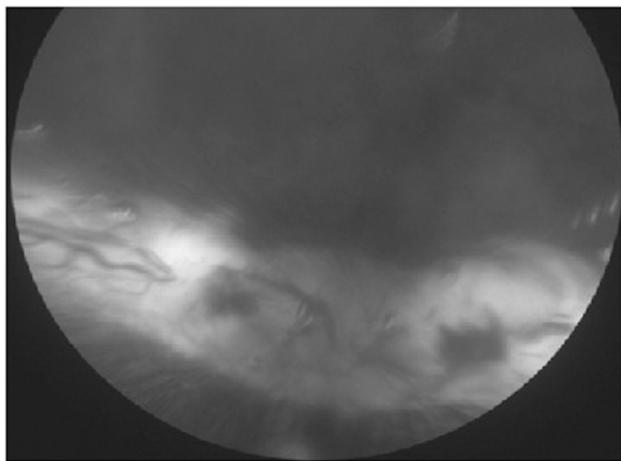


Рис. 7. Фотография глазного дна кролика четвертой группы наблюдения. В зоне диатермокоагуляции сетчатки отмечается побеление ее поверхности, сосуды сетчатки не дифференцируются. Отмечаются преретинальные кровоизлияния.

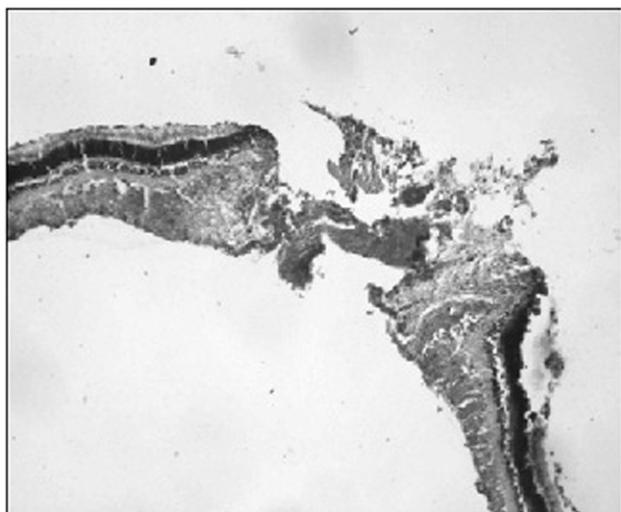


Рис. 8. Морфологические изменения сетчатой оболочки при диатермокоагуляции сетчатки при помощи серийного биполярного (мощность — 10 Вт, частота 365 кГц, экспозиция 1–2 сек). Тотальный коагуляционный некроз всех слоев сетчатки, сопровождающийся ее деструкцией и фрагментацией. Гематоксилин и эозин. X 400

ВЫВОДЫ

1. При использовании различных режимов высокочастотной электросварки биологических тканей, которые отличаются значением напряжения (в пределах 14–20 В), отмечаются деструктивные из-

менения сетчатой оболочки (вакуолизация клеток, гомогенизация, влажный некроз), степень которых зависит от уровня используемого напряжения электрического тока.

2. Наименее выраженные коагуляционные изменения сенсорной части сетчатки, пигментного эпителия сетчатки при наличии коагуляции ретинальных сосудов без облитерации происходят при использовании высокочастотной электросварки биологических тканей (модифицированный генератор ЕК-300М1) параметрами электрического тока: напряжение — 14–16 В, сила тока до 0,1 А, экспозиция 1–2 с, частота 66 кГц.

3. Использование высокочастотной электросварки биологических тканей (модифицированный генератор ЕК-300М1) параметрами электрического тока: напряжение — 18–20 В, сила тока до 0,1 А, экспозиция 1–2 с, частота 66 кГц вызывает коагуляцию мягкоткого луча сосудов сетчатки и облитерацию их просвета с явлениями коагуляционного некроза сетчатой оболочки в области воздействия, при этом его степень значительно меньше чем при диатермокоагуляции параметрами электрического тока: мощность — 10 Вт, частота 365 кГц, экспозиция 1–2 с. Данный режим воздействия высокочастотной электросварки нам представляется оптимальным для достижения гемостаза в ходе эндовитреальных вмешательств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rizzo S. Injection of intravitreal bevacizumab (Avastin) as a preoperative adjunct before vitrectomy surgery in the treatment of severe proliferative diabetic retinopathy (PDR) / Rizzo S., Genovesi-Ebert F., Di Bartolo E. [et al]. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. — 2008. — Vol. 246. — P. 837–42.
2. Moreira Júnior C. Experimental studies with perfluoro-octane for hemostasis during vitreoretinal surgery / Moreira Júnior C., Uscocovich C., Moreira A. Retina. — 1997. — Vol. 17 (6). — P. 530–4.
3. Mathis A. Use of perfluorodecaline during vitrectomy for PDR / Mathis A., Pagot V., Idder A. [et al]. J. Fr. Ophthalmol. — 1993. — Vol.16. — № 11. — P. 584–594.
4. Ho Sung Lee. Intraocular infuse with Hemocoagulase for the control of bleeding during vitreous surgery / Ho Sung Lee, Sang Ha Kim, In Taek Kim. Kor. J. Ophthalmol. — 1989. — Vol. 3. — P.6–10.
5. Cheema R. A. Role of intravitreal bevacizumab (Avastin) injected at the end of diabetic vitrectomy in preventing postoperative recurrent vitreous hemorrhage / Cheema R., Mushtaq J., Al-Khars W. [et al]. Retina. — 2010. — Vol. 30. — P.1646 -50.
6. Johnson M. Pars plana vitrectomy and direct diathermy for complications of multiple retinal angiomas / Johnson M., Flynn H., Gass J. Ophthalmic Surg. — 1992. — Vol.23. — P. 47–50.
7. Патон Б. Е. Электрическая сварка мягких тканей в хирургии / Б. Е. Патон // Автоматическая сварка. — 2004. — № 9. — С.7–11.

8. Пасечникова Н. В. Высокочастотная электросварка тканей заднего отдела глазного яблока (модифицированный генератор ЕК-300М1) с применением оригинального моно- и биполярного инструментария / Пасечникова Н. В., Уманец Н. Н., Артемов А. В. [и др.]. Офтальмол. Журн. — 2012. — № 2. — С.45–49.
9. Уманец Н. Н. Влияние высокочастотной электросварки биологических тканей (модифицированный гене-

ратор ЭЕ-300М1) на длительность кровотечения из магистральных сосудов сетчатки при моделировании внутриглазного кровотечения у кроликов по сравнению с диатермокоагуляцией / Уманец Н. Н. Офтальм. Журн. — 2012. — № 4. — С.88–91.

Поступила 08.08.2012
Рецензент проф., д. м. н. Э. В. Мальцев

STRUCTURAL CHANGES OF THE VESSELS OF THE MEDULLAR RADIATION OF THE RETINA AND CHORIORETINAL COMPLEX IN THE RABBIT UNDER THE EFFECT OF HIGH FREQUENCY ELECTROWELDING OF THE BIOLOGICAL TISSUES IN MODELING INTRAOCULAR HEMORRHAGE

Pasechnikova N. V., Vit V.V., Naumenko V. A., Umanets N. N.

Odessa, Ukraine

It was established on the model of the intraocular hemorrhage in rabbits that the application of high frequency electrowelding of the biological tissues (modified generator EK-300M1) with parameters of the electric current: voltage— 18–20 W, strength —up to 0.1 A, exposition — 1–2 s, frequency — 66 kHz causes coagulation of the main vessels of the retina and obliteration of their lumen with phenomena of coagulation necrosis of the retina in the area under the effect; in this case its degree is significantly less than in diathermocoagulation with the parameters: voltage -10 W, frequency — 365 kHz, exposition — 1–2 s.



УДК 617.741-004.1-092.9-085-036.8

ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИКАТАРАКТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ КАРОТИНОИДОВ (ЛЮТЕИНА И ЗЕАКСАНТИНА) ПРИ РАЗВИТИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КАТАРАКТЫ

Н. Ф. Леус, проф., Будайа Низар, аспирант, Т. В. Пархоменко, ст. лаборант

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им В. П. Филатова НАМН Украины»

Введение. Катаракта является главной причиной слепоты и слабовидения в мире. По данным ряда исследователей, число незрячих вследствие этого заболевания составляет более 20 млн., а к 2020 году прогнозируется еще большее их увеличение [1, 3, 20].

Количество таких больных, по всей вероятности, будет расти в связи с увеличением продолжительности жизни населения. А в результате повышения уровня общего фона радиации на земном шаре можно ожидать не только увеличения частоты возникновения катаракты, но и развития этого заболевания у лиц более молодого возраста [6, 7].

Имеются данные о роли нарушений физиологического равновесия между процессами перекисного окисления липидов и активностью антиоксидантной системы в патогенезе возрастной катаракты [9, 12, 17, 18].

Благодаря многочисленным исследованиям получены убедительные доказательства того, что важнейшим звеном в патогенезе катаракты является дисбаланс процессов свободно-радикального окисления (белков, липидов и др. компонентов) и потенциала антирадикальной системы («гашение»

радикалов) экзогенного и эндогенного характера. В результате этого дисбаланса в организме резко повышается концентрация пероксидов и снижается уровень функциональных групп белков (карбоксильных, тиоловых и др.) [4, 7, 18, 20].

Несмотря на значительные усилия, направленные в течение последних десятилетий на изучение патогенеза возрастной катаракты и разработку новых средств ее консервативного лечения и профилактики, распространение этого заболевания продолжает возрастать. В этой связи актуальным остается поиск новых и усовершенствование существующих способов медикаментозной профилактики и лечения катаракты на ранней стадии ее развития [2, 10, 20].

В последнее время большой интерес у медиков вызывают препараты, которые не являются чужеродными для организма человека. Так, в частности, особый интерес проявляется к каротиноидам — лютеину и зеаксантину — оба каротиноида поступают с пищей в кровяное русло и в конечном итоге накапливаются в тканях глаза [10, 15, 22, 23, 26, 29, 30].

© Н. Ф. Леус, Будайа Низар, Т. В. Пархоменко, 2012