

## Экспериментальные исследования

УДК 617.735–007.281–089:612.843.215(092.9)

### Сравнительная характеристика влияния двухнедельной тампонады жидких перфторуглеродов и «легкого» силиконового масла на биоэлектрическую функциональную активность сетчатки глаза кролика

Д. В. Жмурик, канд. мед. наук<sup>1</sup>, Н. И. Храменко, канд. мед. наук<sup>2</sup>,  
С. Б. Слободяник, канд. мед. наук<sup>2</sup>, М. В. Мищенко, врач<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Киевская городская  
клиническая  
офтальмологическая больница  
«Центр микрохирургии глаза»,  
Киев (Украина)

<sup>2</sup> ГУ «Институт глазных болезней  
и тканевой терапии им.  
В. П. Филатова НАМНУ», Одесса  
(Украина)

E-mail: visus@ukr.net

**Ключевые слова:** ультраструктура сетчатки, функциональная активность, электроретинография, перфторорганические соединения, силиконовое масло, эксперимент.

**Ключові слова:** ультраструктура сітківки, функціональна активність, електроретинографія, перфторорганічні сполуки, силіконове масло, експеримент.

**Актуальность.** Современный этап развития хирургии заднего отрезка глаза характеризуется новыми достижениями. С начала XXI века происходит стремительное развитие витреоретинальной хирургии: появляются хирургия малых калибров (23G, 25G, 27G), новейшее поколение лазеров, оптические приспособления для более четкой визуализации деталей глазного дна в ходе операции, постоянно совершенствуются физико-химические свойства и биологическая инертность перфторорганических соединений (ПФОС), разрабатываются более очищенные силиконовые масла (СМ), разнообразные витреоретинальные инструменты. ПФОС — немаловажный инструмент в витреоретинальной хирургии, общее развитие которой зависит от развития каждого звена. Использование ПФОС для кратковременной тампонады витреальной по-

**Актуальність.** Використання перфторорганічних сполук (ПФОС) для короткочасної тампонади вітреальної порожнини розширює показання до оперативного лікування відшарувань сітчастої оболонки різного генезу. Залишається відкритим питання про ушкоджувальну дію ПФОС, а також про максимально безпечні терміни тампонади.

**Мета.** Визначення особливостей впливу двотижневої тампонади ПФОС на біоелектричну функціональну активність сітківки ока кролика в експерименті і порівняння дії ПФОС і «легкого» силіконового масла (СМ) в'язкістю 5700 сСт в динаміці шляхом проведення електроретинографії в різні терміни після завершення тампонади (7, 14, 30 днів).

**Матеріал і методи.** Експеримент проведений на 6 кроликах (12 очей). Всім тваринам була виконана задня закрыта субтотальна вітректомія з подальшою 14-денною тампонадою ПФОС (праве око) і «легким» силіконовим маслом. Електроретинографія проводилася перед початком експерименту, а також після завершення тампонади вітреальної порожнини на 7-й, 14-й і 30-й день.

**Результати.** 14-денна тампонада ПФОС очей кролика в порівнянні з аналогічною за часом тампонадою «легким» СМ в'язкістю 5700 сСт показала однотипну біоелектричну реакцію сітківки — підвищену активність фоторецепторних і середніх шарів сітківки в ранні терміни після виведення тампонуєчої речовини і нормалізацію показників функції сітківки в пізні терміни (1 місяць) зі зменшенням реактивності середніх шарів.

**Висновок.** ПФОС можуть розглядатися як кандидати для проведення короткочасної тампонади

лости расширяет показания к оперативному лечению отслоек сетчатой оболочки (ОСО) различного генеза, обеспечивает интра- и межоперационную эвакуацию остаточной субретинальной жидкости, полноценную адаптацию сетчатки; может применяться с гемостатической целью, что дает возможность вводить силиконовое масло (СМ) на интактную сетчатку, а также проводить дополнительную лазерную коагуляцию (ЛК) [3, 5, 12]. Несмотря на это, отношение витреоретинальных хирургов к кратковременной тампонаде витреальной полости перфторуглеродами (ПФУ) неоднозначно. Остается открытым вопрос о повреждающем действии

ПФУ, а также о максимально безопасном сроке тампонады [9, 13, 14]. Мы провели анализ экспериментальных работ, посвященных этой теме, и обнаружили, что их результаты отличаются друг от друга. Часть исследователей сообщают о развитии необратимых атрофических изменений после 48-часовой [6], 2-недельной [4], месячной тампонады ПФОС [1, 2, 12]. В других экспериментальных работах сообщается об отсутствии значимых изменений и после месячной тампонады [7, 8]. Однако, сравнить их сложно, поскольку условия проведения экспериментов разные: различаются способы удаления стекловидного тела, используются вещества с различным удельным весом, не всегда при заборе материала учитывалась локализация наиболее повреждающего действия. В качестве контроля всегда выступал физиологический раствор.

Основываясь на результатах ранее проведенных экспериментов, актуально было бы унифицировать условия нашего эксперимента:

- максимально приблизить условия эксперимента к реальным (проведение витрэктомии);
- использовать для тампонады ПФОС с высоким удельным весом (в клинической практике применяются ПФУ одинаковой степени очистки с различным удельным весом — перфтор-н-октан ( $1.76 \text{ г/см}^3$ ), перфтортрибутиламин ( $1.89 \text{ г/см}^3$ ), перфторпергидронафталин ( $1.94 \text{ г/см}^3$ ) и др.), поскольку отсутствие повреждений при их использовании косвенно указывает на безопасность использования ПФОС с меньшим удельным весом [8];
- изучить изменения в сетчатке в различные сроки после завершения тампонады;
- учитывать локализацию максимального повреждающего действия;
- сравнить влияние ПФОС на ультраструктуру сетчатки со стандартным веществом для тампонады — «легким» СМ (удельный вес  $0.971\text{--}0.975 \text{ г/см}^3$ ).

Целью исследования является определение особенностей влияния двухнедельной тампонады ПФУ на биоэлектрическую функциональную активность сетчатки глаза кролика в эксперименте и сравнение действия ПФУ и «легкого» СМ вязкостью 5700 сСт в динамике путем проведения ЭРГ в разные сроки после завершения тампонады (7, 14, 30 дней).

### Материал и методы исследования

Все вмешательства и выведение животных из эксперимента выполняли с соблюдением Хельсинкской декларации: «Правил обращения с лабораторными животными», в частности, с выполнением болезненных процедур под наркозом, а также в соответствии с «Требованиями биоэтики Хельсинкской декларации об этическом регулировании медицинских исследований» [11].

Экспериментальное исследование проведено на 6 кроликах самцах (12 глаз) породы шиншилла массой ( $3,5 \pm 0,5$ ) килограмма, в возрасте ( $6,5 \pm 0,5$ ) месяцев.

ЭРГ проводилась всем животным перед началом эксперимента, а также спустя разные сроки после завершения тампонады витреальной полости ПФУ (7, 14 и 30 дней). Во всех случаях второй глаз (левый) был контрольным. На контрольных глазах проводилась тампонада «легким» СМ вязкостью 5700 сСт (удельный вес  $<1,0 \text{ г/см}^3$ ).

**Методика оперативного вмешательства.** Подготовка: анестезия — внутримышечно вводился раствор тиопентала натрия в дозе 2 мг/кг, эпибульбарно — 0,5 % раствор проксиметакаина. Мидриаз: эпибульбарно 1 % раствор атропина сульфата и 2,5 % раствор фенилэфрина. Перед проведением оперативного вмешательства эпибульбарно 0,3 % раствор офлоксацина.

Задняя закрытая субтотальная витрэктомия (ЗЗСВ) осуществлялась инструментами 20G, 23G и 25G под контролем операционного микроскопа OPTONOpMi-8 и осветителя Photon 2 аппаратом КФЭ-01-«МЕДА-НН» Sonorus (частота до 1200 уд/мин, аспирация 150 мм рт. ст.). В полость правого глаза вводили 1,5 мл ПФОС (перфтордекалин (ПФД)). В полость левого глаза (контроль) вводили 1–1,5 мл «легкого» СМ вязкостью 5700 сСт. После завершения витрэктомии в конъюнктивальную полость закладывали 0,3 % мазь офлоксацина. Срок проведения тампонады составил 14 дней.

Завершение тампонады осуществлялось с проведением подготовки, описанной выше. Выведение ПФД выполняли под контролем операционного микроскопа OPTONOpMi-8 и осветителя Photon 2 аппаратом КФЭ-01-«МЕДА-НН» Sonorus (аспирация 150 мм рт. ст.). Выведение СМ выполняли активно под контролем операционного микроскопа.

**Методика проведения электроретинографии (ЭРГ).** Подготовка: эпибульбарно — 0,5 % раствор проксиметакаина. Мидриаз: эпибульбарно — 1 % раствор атропина сульфата и 2,5 % раствор фенилэфрина. Исследования ганцифельд-ЭРГ проводились на компьютерном электрофизиологическом комплексе «Retiscan» по стандартному протоколу исследования, рекомендованному ISCEV. Анализировали скотопический комбинированный ответ палочек и колбочек, фотопический колбочковый ответ, фотопический колбочковый ответ на мигающую вспышку 30 Гц. Использовали контактную линзу-электрод в качестве датчика, который помещали на роговицу кролика, референтный электрод фиксировали к коже лба по средней линии, заземляющий — к коже уха. ЭРГ была проведена через 7, 14 и 30 дней после завершения двухнедельной тампонады. Результаты электрофизиологического исследования глаза контрольных (интактных) животных приведены в таблице 1.

### Результаты и их обсуждение

Через семь дней после эвакуации тампонирующего вещества реакция фоторецепторов и средних слоев (биполяров и Мюллеровских клеток) периферии сетчатки на вспышку в глазах с тампонадой ПФОС и силиконом не отличалась (табл. 2) и характеризовалась не только усилением реактивности сетчатки, что выражалось повышением амплитуды волны «а» в среднем на 35 % ( $p < 0,05$ ) и амплитуды волны «в» на 82 % ( $p < 0,05$ ) в сравнении с нормой, но и замедленной латентностью потенциала средних слоев (на 58 %) ( $p < 0,05$ ).

Фотопическая ЭРГ показала более низкую активность фоторецепторного слоя колбочек в слу-

**Таблица 1.** Показатели максимальной, фотопической и ритмической электроретинограмм (ЭРГ) ( $M \pm m$ ) у интактных кроликов ( $n=12$ ) ( $M \pm m$ )

Максимальная ЭРГ				Фотопическая ЭРГ				Ритмическая (30 Гц) ЭРГ	
Волна «а» (мс)	Волна «а» ( $\mu V$ )	Волна «в» (мс)	Волна «в» ( $\mu V$ )	Волна «а» (мс)	Волна «а» ( $\mu V$ )	Волна «в» (мс)	Волна «в» ( $\mu V$ )	P1 (мс)	N1-P1 ( $\mu V$ )
13 $\pm$ 0,4	42,6 $\pm$ 2,7	24,3 $\pm$ 3,5	128,3 $\pm$ 9,7	14,3 $\pm$ 1,1	34,8 $\pm$ 4,5	26,5 $\pm$ 1,8	68,1 $\pm$ 6,9	47,5 $\pm$ 3,1	34,3 $\pm$ 7,6

**Таблица 2.** Сравнительный анализ показателей ЭРГ у кроликов после удаления ПФОС (П) ( $n=6$ ) и легкого силикона (С) ( $n=6$ ) в разные сроки после операции ( $M \pm m$ ).

Максимальная ЭРГ				Фотопическая ЭРГ				Ритмическая (30 Гц) ЭРГ		
Через 7 дней после удаления тампонирующего вещества										
В-во	Волна «а» (мс)	Волна «а» ( $\mu V$ )	Волна «в» (мс)	Волна «в» ( $\mu V$ )	Волна «а» (мс)	Волна «а» ( $\mu V$ )	Волна «в» (мс)	Волна «в» ( $\mu V$ )	P1 (мс)	N1-P1 ( $\mu V$ )
П	12,5 $\pm$ 3,5	54,5 $\pm$ 6,0	35,2 $\pm$ 4,0	228,5 $\pm$ 6,2	11,0 $\pm$ 1,5	43,0 $\pm$ 4,0	35,2 $\pm$ 2,2	69,8 $\pm$ 4,5	60,0 $\pm$ 0,5	48,0 $\pm$ 3,0
С	14,0 $\pm$ 1,0	60,7 $\pm$ 3,0	41,0 $\pm$ 3,3	240,0 $\pm$ 10,0	17,0 $\pm$ 2,0*	20,7 $\pm$ 5,5*	25,2 $\pm$ 8,0	104,5 $\pm$ 5,5*	48,2 $\pm$ 6,5*	29,2 $\pm$ 0,5*
Через 14 дней после удаления тампонирующего вещества										
В-во	Волна «а» (мс)	Волна «а» ( $\mu V$ )	Волна «в» (мс)	Волна «в» ( $\mu V$ )	Волна «а» (мс)	Волна «а» ( $\mu V$ )	Волна «в» (мс)	Волна «в» ( $\mu V$ )	P1 (мс)	N1-P1 ( $\mu V$ )
П	11,0 $\pm$ 2,5	50,6 $\pm$ 4,0	35,0 $\pm$ 2,0	216,0 $\pm$ 5,0	13,0 $\pm$ 1,0	15,7 $\pm$ 4,0	31,0 $\pm$ 1,2	103,0 $\pm$ 6,5	59,0 $\pm$ 1,5	38,2 $\pm$ 4,0
С	14,0 $\pm$ 2,5	47,8 $\pm$ 2,0	34,0 $\pm$ 4,0	180,0 $\pm$ 7,2*	16,0 $\pm$ 2,5	26,1 $\pm$ 2,5	28,2 $\pm$ 3,0	92,0 $\pm$ 4,5	46,0 $\pm$ 2,5*	29,6 $\pm$ 2,5*
Через 30 дней после удаления тампонирующего вещества										
В-во	Волна «а» (мс)	Волна «а» ( $\mu V$ )	Волна «в» (мс)	Волна «в» ( $\mu V$ )	Волна «а» (мс)	Волна «а» ( $\mu V$ )	Волна «в» (мс)	Волна «в» ( $\mu V$ )	P1 (мс)	N1-P1 ( $\mu V$ )
П	21,3 $\pm$ 3,4	28,8 $\pm$ 2,7	37,0 $\pm$ 2,7	162,1 $\pm$ 10,1	14,0 $\pm$ 1,8	10,8 $\pm$ 2,5	42,0 $\pm$ 1,5	98,8 $\pm$ 10,0	46,0 $\pm$ 6,5	34,8 $\pm$ 5,0
С	14,0 $\pm$ 2,5	36,6 $\pm$ 1,5*	30,0 $\pm$ 4,5	142,2 $\pm$ 6,1*	15,0 $\pm$ 2,0	26,5 $\pm$ 2,5*	24,5 $\pm$ 1,5*	81,1 $\pm$ 8,5	42,5 $\pm$ 3,5	32,4 $\pm$ 2,5

\* — уровень значимости различий между группами П и С  $p < 0,05$

чае тампонады силиконом — амплитуда волны «а»  $20,7 \pm 5,5$  ( $\mu V$ ), а при тампонаде ПФОС амплитуда волны «а» была в 2,1 раза выше ( $p=0,001$ ). Средние же слои сетчатки колбочкового аппарата на вспышку ответили повышением амплитуды волны «в» на 48 % (табл. 2) ( $p=0,001$ ) на глазах с силиконовой тампонадой.

Ритмическая ЭРГ (РЭРГ) (вспышка 30 Гц), отражающая функцию колбочковой системы при предъявлении стимула с частотой 30 Гц, на глазах после тампонады ПФОС характеризовалась повышением амплитуды волны N1- P1 ( $\mu V$ ) на 65,5 % ( $p=0,001$ ) и удлинением ее латентности на 24,4 % ( $p=0,03$ ). Показатели РЭРГ на глазах после тампонады силиконом не отличались от нормальных (табл.1). Считается, что РЭРГ на мелькающие стимулы высокой частоты является сигналом, отражающим суммарную результирующую активность только нейрональных элементов сетчатки, не опосредованную нейроглией, поскольку, по данным Miller R. F., Dowling J. E., (1970) [11], глиальные мюллеровские клетки неспособны воспринимать световой ритм свыше 2–4 Гц.

Таким образом, на седьмой день наблюдения после завершения эвакуации тампонирующего вещества, воздействие «легкого» СМ и ПФОС характеризовалось фактически равным повышением

активности фоторецепторных и средних слоев сетчатки (на 35–85 %), замедлением проводимости средних слоев (биполярных и Мюллеровских клеток) на 58 %. Однако воздействие ПФОС на колбочки было более щадящим в сравнении с «легким» СМ: колбочковый аппарат отреагировал на тампонаду «легкого» СМ снижением реакции фоторецепторов, замедлением ее латентности и избыточным повышением реакции средних слоев (на 48 %).

На четырнадцатый день после выведения тампонирующего вещества средние слои сетчатки на глазах с ПФОС отреагировали на вспышку более высокой амплитудой волны «в» — до  $216 \pm 5$  ( $\mu V$ ), на 16,6 % ( $p=0,02$ ) выше, чем при введении «легкого» СМ (табл.2). Фотопическая ЭРГ не имела существенных различий этих групп, однако амплитуда волны «в» показала повышение реактивности средних слоев на 43 % от нормы (табл.1). РЭРГ отличалась более высокой амплитудой волны N1- P1 ( $\mu V$ ) (на 22 %) ( $p=0,04$ ), однако в сравнении с нормой этот показатель существенно не изменялся в обеих группах, имелось лишь замедление на 22 % ( $p=0,001$ ) проведения потенциала в нейрональных элементах колбочек (латентности) до  $(59,0 \pm 1,5)$  мс в группе ПФОС.

Таким образом, на четырнадцатый день после выведения тампонирующего вещества остается по-

вышенное реагирование средних слоев как всей сетчатки (на 16,6 % — более при ПФОС), так и средних слоев колбочкового аппарата равно в обеих группах.

На тридцатый день наблюдения показатели максимальной ЭРГ в группе с СМ фактически нормализовались, отмечалось лишь снижение амплитуды волны «а» на 14 % от нормы ( $p=0,04$ ). В группе с ПФОС как в максимальной, так и фотопической ЭРГ амплитуда волны «а» была меньше в сравнении со второй группой (на 27 % ( $p=0,006$ ) и 59 % ( $p=0,001$ ), соответственно), что вероятно, отражает начальные дистрофические изменения в фоторецепторах. Средние слои колбочкового отдела сетчатки реагировали повышением активности на вспышку в обеих группах, достоверно не различаясь по данным амплитуды волны «в» (табл.2), при замедлении проводимости после выведения ПФОС. Следует отметить нормализацию РЭРГ в обеих группах.

Таким образом, в ранние сроки после выведения тампонирующего вещества (ПФОС и «легкого силикона»), сетчатка кроликов реагировала однообразно — фактически равным повышением активности фоторецепторных и средних слоев сетчатки (явление супернормальной ЭРГ). На 14 день наблю-

дения остается повышение реагирования средних слоев всей сетчатки в обеих группах, но с меньшей амплитудой, чем на 7-й день (табл.2). На 30 день в обеих группах средние слои колбочек еще сохраняют повышенное реагирование на вспышку, с более медленной проводимостью и снижением амплитуды ответа фоторецепторов в группе с ПФОС. Данные о нормализации РЭРГ в обеих группах позволяют судить о сохранности способности нейронов сетчатки воспроизводить световой ритм.

### Выводы

В результате эксперимента четырнадцатидневная тампонада перфтордекалином глаза кролика в сравнении с аналогичной по времени тампонадой «легким» силиконовым маслом вязкостью 5700 сСт вызвала однотипную биоэлектрическую реакцию сетчатки — повышенную активность фоторецепторных и средних слоев сетчатки в ранние сроки после выведения тампонирующего вещества и нормализацию показателей функции сетчатки в поздние сроки (1 месяц) с уменьшением реактивности средних слоев. На этом основании перфторорганические соединения могут рассматриваться как кандидаты для проведения кратковременной тампонады.

### Литература

1. **Жмурик Д. В.** Экспериментальное исследование влияния семидневной тампонады перфторорганическими соединениями на биоэлектрическую функциональную активность сетчатки глаза кролика / Д. В. Жмурик, Н. И. Храменко, С. Б. Слободяник, М. В. Милюк // Офтальмол. журнал. — 2014. — № 1. — С. 86–92.
2. **Жмурик Д. В.** Экспериментальное исследование влияния двухнедельной тампонады перфторорганическими соединениями на биоэлектрическую функциональную активность сетчатки глаза кролика / Д. В. Жмурик, М. В. Милюк // Офтальмол. журнал. — 2014. — № 4. — С. 88–94.
3. **Шкворченко Д. О.** Комплексное хирургическое лечение отслоек сетчатки, осложненных гигантскими разрывами и отрывами от зубчатой линии, с применением жидких перфторорганических соединений : дисс. ... канд. мед. наук : 14.00.08 / Д. О. Шкворченко — М., 1995. — 132 с.
4. **Шкворченко Д. О.** К вопросу о тактике хирургического лечения пролиферативной диабетической ретинопатии, осложненной передней пролиферативной витреоретинопатией / Д. О. Шкворченко, Л. В. Левина // Офтальмохирургия. — 2006. — № 1. — С. 29–32.
5. **Brett D., Bourke R.** Short-term intraocular tamponade with perfluorocarbon heavy liquid // Br. J. Ophthalmol. — 2011. — № 5. — P. 694–698.
6. **Chang S., Sparrow J. R., Iwamoto T., et al.** Experimental studies of tolerance to intravitreal perfluoro-n-octane liquid // Retina. — 1991. — № 4. — P. 367–374.
7. **Flores-Aguilar M., Munguia D., Loeb E. et al.** Intraocular tolerance of perfluorooctylbromide (perflubron) // Retina. — 1995. — № 1. — P. 3–13.
8. **Haidt S. J., Clark L. C., Ginsberg J.** Liquid perfluorocarbon replacement of the eye // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 1982. — № 22. — P. 33.
9. **Mackiewicz J., Maaijwee K., Luke C.** Effect of gravity in long-term vitreous tamponade: in vivo investigation using perfluorocarbon liquids and semi-fluorinated alkanes // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. — 2007. — № 245. — P. 665–675.
10. **Miller R. F., Dowling J. E.** Intracellular responses of the Müller (glial) cells of mudpuppy retina: their relation to b-wave of the electroretinogram // J Neurophysiol. — 1970. — May; 33(3). — P. 323–41.
11. **Norman H. J.** The International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals // Хроника ВОЗ. — 1985. — Т. 39, № 3. — С. 3–9.
12. **Sirimaharaj M., Balachandran C., Chan W. C. et al.** Vitrectomy with short term post operative tamponade using perfluorocarbon liquid for giant retinal tears // Br. J. Ophthalmol. — 2005. — № 9. — P. 1176–1179.
13. **Stolba U., Krepler K., Velikay-Parel M., Binder S.** The effect of specific gravity of perfluorocarbon liquid on the retina after experimental vitreous substitution // Graefes Arch Clin. Exp. Ophthalmol. — 2004. — № 11. — P. 931–936.
14. **Zeana D., Becker J., Kuckelkorn R., Kirchhof B.** Perfluorohexyloctane as a long-term vitreous tamponade in the experimental animal. Experimental perfluorohexyloctane substitution // Int. Ophthalmol. — 1999. — № 23. — P. 17–24.

Поступила 11.02.2016