

## Експериментальні дослідження

УДК 617.735–007.281–089:616–008+616–076.4–092.9

### Сравнительная оценка действия ПФОС и тяжелого силиконового масла на структуру и функциональное состояние сетчатки глаза кролика

Д. В. Жмурик<sup>1</sup>, канд. мед. наук, В. В. Вит<sup>2</sup>, д-р мед. наук, профессор, Н. И. Молчанюк<sup>2</sup>, канд. биол. наук, Н. И. Храменко<sup>2</sup>, канд. мед. наук, М. В. Миленко<sup>1</sup>, врач

<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 НАМН Украины»; Одесса (Украина)

E-mail: visus@ukr.net

**Вступ.** Перфторорганічні сполуки (ПФОС) і «важка» силіконова олія мають цінні для вітреоретинальної хірургії якості, а використання їх для тампонади могло би розширити покази до оперативного лікування і покращити результати. Проте однозначної думки відносно механічної дії цих сполук на структуру і функціональний стан сітківки не існує.

**Метою нашого експериментального дослідження** є вивчення впливу і порівняння дії короткочасної тампонади ПФОС (14 діб) і «важкої» силіконової олії на структуру і біоелектричну функціональну активність сітківки ока кролика в динаміці.

**Матеріал і методи.** Експериментальне дослідження було виконано на 6 кроликах (12 очей) породи шиншила. Всім тваринам була проведена задня закриття субтотальна вітректомія з наступною тампонадою (14 діб) ПФОС (праве око) і «важким» силіконом (ліве око). Через 7, 14, 30 діб після виведення даних речовин було проведено вивчення структур сітківки. ЕРГ була проведена всім тваринам перед оперативним втручанням і після завершення тампонади через 7, 14 і 30 діб.

**Результати.** Дослідження структур сітківки ока кролика за допомогою світлової і електронної мікроскопії виявило однотипний вплив даних речовин. Це в основному гідропічні зміни гладкої ендоплазматичної сітки клітин пігментного епітелію сітківки (ПЕС), мітохондрій ПЕС і внутрішніх сегментів фоторецепторних клітин, гангліозних і мюллеровських клітин, а також внутрішньоклітинні компенсаційно-відновні процеси в них, які дозволяють нормалізувати структури. ЕРГ не виявила значної різниці впливу ПФОС (підвищення амплітуди на 30,1 % — явище супернормальної ЕРГ — середніх шарів периферичної сітківки і на 44 % середніх шарів центральної сітківки) і «важкої» силіконової олії (підвищення амплітуди відповіді середніх шарів периферичної сітківки на 43 % і центральної сітківки на 64,7 %) на функціональну активність сітківки ока кролика.

**Висновки:** Короткочасна тампонада (14 діб) вітреальної порожнини ПФОС і «важкою» силіконовою олією має однотипну дію на структуру і функціональну активність сітківки ока кролика. Проте ці зміни відносяться до реактивних, не травмуючі і мають зворотний характер. Для відновлення біоелектричної активності сітківки після 14 денної тампонади ПФОС і «важкою» силіконовою олією необхідний більш тривалий термін.

**Ключевые слова:** сетчатка, ультраструктура, электроретинография, перфторорганіческие соединения, «тяжелое» силиконовое масло.

**Ключові слова:** сітківка, ультраструктура, электроретинография, перфторорганічні сполуки, «важка» силіконова олія.

**Актуальность.** Золотым стандартом лечения отслойки сетчатки различного генеза остается проведение задней закрытой субтотальной витректоми (ЗЗСВ). При выполнении ЗЗСВ необходимо максимально полно удалить стекловидное тело, пролиферации, фиброваскулярные мембраны. В большинстве случаев, для достижения анатомического прилегания сетчатки после проведения хирургического лечения, необходимо проведение тампонады

витреальной полости. Силиконовое масло, удельный вес которого меньше удельного веса воды, и газо-воздушные смеси являются эффективными тампонирующими агентами при хирургическом лечении большинства отслоек сетчатой оболочки

(ОСО). Однако, при проведении хирургического лечения далеко зашедших стадий регматогенных и тракционных ОСО, сопровождающихся гигантскими разрывами и отрывами сетчатки в нижних сегментах [11], передней пролиферативной витреоретинопатией (ППВР) [2], а также макулярных разрывов большого диаметра [5], необходима тампонада агентами, удельный вес которых превышает удельный вес воды, для обеспечения максимальной тампонады нижних отделов [6].

Применение данных веществ дает возможность значительно улучшить анатомические результаты, однако функциональные результаты не всегда удовлетворительны. Это может быть обусловлено операционной травмой, токсическим либо механическим повреждающим действием тампонирующих веществ.

Актуально было бы сравнить механическое действие ПФОС (перфтордекалин — 1.94 г/см<sup>3</sup>) и «тяжелого» фторсодержащего силиконового масла (удельный вес 1.02–1.06 г/см<sup>3</sup>) путем проведения светооптических исследований (СОИ) и электронно-микроскопических исследований (ЭМИ). Для оценки функциональных нарушений можно использовать высокочувствительный метод, такой как электроретинография (ЭРГ), позволяющий локализовать нарушения в различных слоях сетчатки и выявить его в доклинической стадии.

В клинической практике применяются ПФОС с удельным весом от 1.54 до 1.94 г/см<sup>3</sup> (перфторн-октан — 1.76 г/см<sup>3</sup>, перфтортрибутиламин — 1.89 г/см<sup>3</sup>, перфлюоротри-н-пропиламин — 1.83, перфтордекалин — 1.94 г/см<sup>3</sup> и др.). Для экспериментального целесообразно использовать ПФОС с высоким удельным весом, поскольку отсутствие повреждений при применении ПФОС с большим удельным весом косвенно указывает на безопасность использования других видов ПФОС с меньшим удельным весом.

**Цель исследования** — изучение влияния и сравнение действия кратковременной тампонады ПФОС (14 суток) и «тяжелого» силиконового масла на структуру и биоэлектрическую функциональную активность сетчатки глаза кролика в динамике.

### Материал и методы

Экспериментальное исследование проведено на 6 кроликах самцах (12 глаз) породы шиншилла массой 3,5+/-0,5 килограмм, в возрасте 6,5±0,5 месяцев. Тампонада ПФОС и «тяжелым» силиконовым маслом продолжалась 14 суток.

ЭРГ проводилась всем животным перед началом эксперимента, а также в различные сроки после завершения тампонады витреальной полости ПФОС и «тяжелым» силиконовым маслом.

СОИ и ЭМИ сетчатки проводились всем животным спустя разные сроки после завершения тампонады витреальной полости ПФОС и «тяжелым» силиконовым маслом. Все животные после завершения тампонады были разделены на три группы, соответственно срокам исследования:

— первая группа (2 кролика) — проведение СОИ, ЭМИ и ЭРГ сетчатки через 7 суток после завершения тампонады;

— вторая группа (2 кролика) — проведение СОИ, ЭМИ и ЭРГ сетчатки через 14 суток после завершения тампонады;

— третья группа (2 кролика) — проведение СОИ, ЭМИ и ЭРГ сетчатки через 30 суток после завершения тампонады.

Все оперативные вмешательства, а также выведение животных из эксперимента выполняли в соответствии с «Правилами обращения с лабораторными животными»

#### *Методика оперативного вмешательства*

*Подготовка.* Анестезия: внутримышечно раствор тиопентала натрия в дозе 2 мг/кг, эфирно-барбитуратно 0,5 % раствор проксиметакаина. Мидриаз: эфирно-барбитуратно по 1 капле 1 % атропина сульфата и 2,5 % фенилэфрина. Перед проведением оперативного вмешательства эфирно-барбитуратно 0,3 % раствор офлоксацина.

Задняя закрытая субтотальная витрэктомия (ЗЗСВ) проводилась под контролем операционного микроскопа ОРТОН ОрМи-8 аппаратом КФЭ-01-«МЕДА-НН» (частота 1200 уд/мин, аспирация 150 мм рт. ст.) инструментами 23G и 20G. В полость правого глаза вводили 1,5 мл ПФОС — перфтордекалин. В полость левого глаза вводили 1–1,5 мл «тяжелого» силиконового масла. После завершения витрэктомии в конъюнктивальную полость закладывали мазь 0,3 % офлоксацина.

Завершение тампонады осуществлялось после проведения подготовки, описанной выше. Выведение ПФОС и «тяжелого» силикона выполняли активно под контролем операционного микроскопа ОРТОН ОрМи-8 аппаратом КФЭ-01-«МЕДА-НН» (аспирация 150 мм рт. ст.).

Для СОИ выделенную сетчатую оболочку энуклеированного глазного яблока фиксировали в 10 % нейтральном формалине, заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Светооптическое исследование проводили с использованием микроскопа Jenamed 2.

Для ЭМИ кусочки ткани сетчатки кролика (нижние сегменты) фиксировали в 2,5 % растворе глутаральдегида на фосфатном буфере при значении pH — 7,4 с последующей дофиксацией 1 % раствором осмиевой кислоты при том же pH буферного раствора. Затем образцы обезжировались в спиртах восходящей крепости. Пропитывание материала и его заключение производилось в смеси эпон-аралдит. Затем ультратонкие срезы контрастировались по методике Reynolds. Материал изучался под электронным микроскопом ПЭМ-100-01.

#### *Методика проведения ЭРГ.*

*Подготовка.* Эфирно-барбитуратно: 0,5 % раствор проксиметакаина. Мидриаз: эфирно-барбитуратно 1 % атропина сульфата и 2,5 % фенилэфрина. Исследования ганцфельд-ЭРГ проводились на компьютерном электрофизиологическом комплексе «Retiscan» по стандартному протоколу исследования, рекомендованному ISCEV и включающему скотопический палочковый ответ, скотопический комбинированный ответ палочек и колбочек, скотопические осцилляторные потенциалы, фотопический колбочковый ответ, фотопический колбочковый ответ на мигающую вспышку 30Гц. Электроретинограмма полного поля отражает суммарный электрический ответ сетчатки, вызванный световой вспышкой от чашеобразной поверхности (Ганцфельд-стимул). Использовали контактную линзу-электрод в качестве датчика.

ЭРГ проводилась в разные сроки после завершения двухнедельной тампонады (7, 14 и 30 суток).

## Результаты и их обсуждение

### *Структурные и функциональные изменения сетчатки при 14 суточной тампонаде ПФОС.*

СОИ показали, что спустя 7 суток после тампонады ПФОС отмечался отёк слоя нервных волокон и слоя ганглиозных клеток (рис. 1)

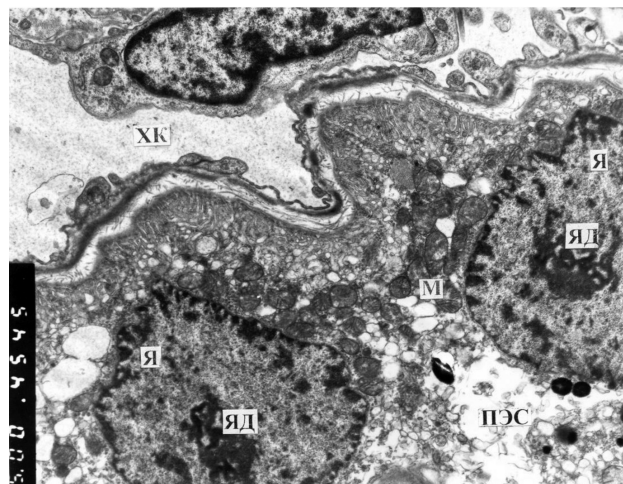
При ЭМИ спустя 7 суток после завершения тампонады ПФОС ультраструктура хориокапилляров (ХК) сосудистой оболочки без изменений. Клетки пигментного эпителия сетчатки (ПЭС) частично фрагментированы, местами наблюдается их деструкция и распад. При этом в клетках довольно много обычных органелл и встречается по 2 ядра (рис. 2). То есть параллельно с явлениями деструкции, причём, в основном — мембран гладкой эндоплазматической сети (ГЭС) — наблюдаются признаки активации внутриклеточной деятельности. В единичных фоторецепторных клетках (ФК) отмечаются патология дисков наружных сегментов (НС) ФК и вакуолизация митохондрий во внутренних сегментах (ВС) ФК

Во внутреннем сетчатом слое выявлены гидропические изменения структур. В слое ганглиозных клеток (ГК) встречается мелкая вакуолизация отростков мюллеровских клеток (МЮК) и набухание митохондрий в ГК.

Спустя 14 суток после завершения тампонады ПФОС ХК большей частью резко расширены. Содержимое просвета микрососудов тонкозернистое, умеренной электронной плотности. Клетки ПЭС содержат обычные органеллы, базальная и апикальная области выражены. В цитоплазме наблюдается мелкая вакуолизация за счёт митохондрий и элементов ГЭС. Мембраны ГЭС рыхлые, места-



**Рис. 1.** Сетчатка кролика через 7 суток после 14 дневной тампонады ПФОС. Отёк слоя нервных волокон и слоя ганглиозных клеток. х 300.



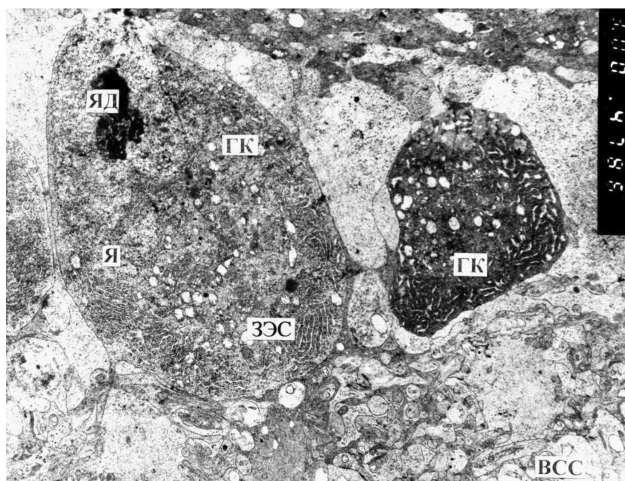
**Рис. 2.** Ультраструктура сетчатки через 7 дней после четырнадцатидневной тампонады ПФОС. Двухядерная клетка пигментного эпителия с признаками гидропических изменений гладкой эндоплазматической сети и скоплением митохондрий в цитоплазме. Электронная микрофотография. X 5000.

Условные обозначения: ХК — хориокапилляр, ПЭС — пигментный эпителий сетчатки, Я — ядро, М — митохондрия, ЯД — ядрышко.

ми фрагментированные. В слое ФК часть клеток имеет внутриклеточный отёк ВС ФК и патологию митохондрий. Область ядер ФК не изменена. Нервные клетки внутренних отделов сетчатки не изменены. Выражены гидропические изменения элементов внутреннего сетчатого слоя. ГК клетки содержат ядра с крупными ядрышками и цитоплазму с большими скоплениями элементов зернистой эндоплазматической сети (ЗЭС) и мелкими вакуолизированными митохондриями. Отростки МЮК вокруг клеток слоя ГК характеризуются мелкой вакуолизацией цитоплазматических структур (рис. 3).

Спустя 30 суток после завершения тампонады ПФОС ХК расширены. Содержимое просвета обычное. Клетки ПЭС как неизменённые, так и содержащие ряд патологических изменений: вакуолизация, местами деструкция элементов ГЭС. При этом некоторые клетки содержат по 2 ядра, большие скопления митохондрий с признаками активности. Микровиллы апикальной области клеток ПЭС местами разрушены. В ФК, во ВС встречаются элементы отёка, в НС — единичные повреждения мембранных структур. Во внутреннем сетчатом слое отмечаются гидропические изменения. В слое ГК в крупных клетках большое количество органелл, участвующих в белоксинтезирующей деятельности, а также митохондрии и др. Отростки МЮК вокруг ГК отличаются очень мелкой вакуолизацией.

Через 7 суток после удаления ПФОС максимальная ЭРГ показала, что латентность волны «а» существенно не изменилась в сравнении с контролем,



**Рис. 3.** Ультраструктура сетчатки через 14 дней после четырнадцатидневной тампонады ПФОС. Мелкая вакуолизация цитоплазмы ганглиозной клетки. Ядро с крупным ядрышком. Электронная микрофотография. X 3000.

Условные обозначения: ГК — ганглиозная клетка, Я — ядро, ЯД — ядрышко, НЭ — нервные элементы, ВСС — внутренний сетчатый слой.

а амплитуда увеличилась на 28 % до  $54,5 \pm 6,0$  ( $\mu V$ ) ( $p=0,01$ ), и это свидетельствует об усилении ответа на стимул фоторецепторного слоя периферическо-

го отдела сетчатки. Ответ средних слоев сетчатки на стимул характеризовался удлинением периода латентности волны «в» до  $35,2 \pm 4,0$  мс ( $p=0,01$ ), и увеличением ее амплитуды до  $228,5 \pm 6,2$  ( $\mu V$ ), что на 77 % выше, чем в исходном состоянии ( $p=0,001$ ) (табл 1, 2).

Показатели активности фоторецепторного слоя центральной зоны сетчатки, по данным фотопической ЭРГ, существенно не изменились, выявилась тенденция к повышению показателя амплитуды волны «а» до  $43,0 \pm 4,0$  ( $\mu V$ ). Также существенно не изменилась активность средних слоев сетчатки (по показателю волны «в»): значимого повышения ее амплитуды, значение которой равнялось  $69,8 \pm 4,5$  ( $\mu V$ ) в сравнении с исходной не выявлено, однако время латентности удлинилось на 32,8 % ( $p=0,001$ ) и составило  $35,2 \pm 2,2$  мс. При проведении ритмической ЭРГ выявлено, что амплитуда колбочкового ответа по волне N1-P1 повысилась на 41 %, до  $48,0 \pm 3,0$  ( $\mu V$ ) и на 27 % удлинилось время латентности, которое было равно  $60,0 \pm 0,5$  мс (табл. 2)

Таким образом, через неделю после удаления тампонирующего вещества ПФОС, выявлена реакция раздражения фоторецепторных и средних слоев периферической и центральной сетчатки (биполяров и Мюллеровских клеток), в том числе и колбочкового аппарата, что проявляется в замедле-

**Таблица 1.** Показатели максимальной, фотопической и ритмической электроретинограмм (ЭРГ) ( $M \pm m$ ) у интактных кроликов ( $n=6$ ).

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) и тяжелого силикона (с) в разные сроки после операции.

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	$13,0 \pm 1,5$	$29,2 \pm 2,0^*$	$38,0 \pm 10,0$	$223,0 \pm 5,0$	$16,0 \pm 2,0$	$4,5 \pm 2,5^*$	$41,2 \pm 4,0$	$66,0 \pm 7,5$	$38,0 \pm 6,5^*$	$56,7 \pm 0,5^*$
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	$14,0 \pm 2,5$	$44,8 \pm 2,0$	$36,0 \pm 4,0$	$245,0 \pm 7,2$	$13,0 \pm 2,0$	$6,1 \pm 2,5$	$28,2 \pm 3,0$	$113,0 \pm 4,5$	$59,0 \pm 2,5$	$49,1 \pm 2,5^*$
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	$27,5 \pm 3,5$	$37,5 \pm 1,5$	$50,0 \pm 10,0$	$184,5 \pm 14,0$	$14,0 \pm 0,1$	$28,2 \pm 7,5^*$	$41,0 \pm 0,1^*$	$112,5 \pm 13,5$	$53,5 \pm 5,5$	$33,0 \pm 4,0$

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

нии проведения потенциала и увеличении амплитуды ЭРГ (явление супернормальной ЭРГ).

Через 14 суток после удаления ПФОС амплитуда волны «а» максимальной ЭРГ в сравнении с показателем в период наблюдения 7 дней незначительно уменьшилась (на 7,4 %), составив  $50,6 \pm 4,0$  ( $\mu\text{V}$ ), оставаясь выше амплитуды в контроле на 19 % ( $p=0,01$ ). Активность средних слоев сетчатки как по времени латентности волны «в», так и по ее амплитуде ( $216,0 \pm 5,0$  ( $\mu\text{V}$ )) существенно не изменилась и превышала норму на 68,8 % ( $p=0,01$ ) (табл.2).

Таким образом, активность фоторецепторного и среднего слоя периферической сетчатки в двухнедельный период после выведения ПФОС не претерпела существенных изменений в сравнении с периодом наблюдения 7 дней.

Фотопическая ЭРГ, отражающая функциональное состояние центральной сетчатки, на 14 сутки после выведения ПФОС имела следующие особенности: время возникновения волны «а» не изменилось, но на 63,5 % уменьшилась ее амплитуда ( $15,7 \pm 4,0$  ( $\mu\text{V}$ )) ( $p=0,001$ ), что было в 2,2 раза ниже нормы; латентность волны «в» ( $31,0 \pm 1,2$  мс) ( $p=0,02$ ) оставалась замедленной и ее амплитуда в сравнении с недельным периодом наблюдения повысилась на 47 %, достигнув значений  $103,0 \pm 6,5$  ( $\mu\text{V}$ ) ( $p=0,001$ ). Функциональное состояние сетчатки на 14 сутки после выведения из витреальной полости ПФОС характеризовалось снижением ответа (депрессия) в 2 раза фоторецепторного слоя центральной зоны сетчатки при повышенной активности (раздражение) средних слоев всей сетчатки.

При наблюдении на 30 сутки после удаления ПФОС выявлено, что удлинилась продолжительность волны «а» максимальной ЭРГ с  $13,0 \pm 0,4$  до  $21,3 \pm 3,4$  мс ( $p=0,01$ ), на 32,4 % уменьшилась ее амплитуда ( $p=0,01$ ) (значение равно  $28,8 \pm 2,7$  ( $\mu\text{V}$ )), что свидетельствует о развитии ранних дистрофических изменений фоторецепторного слоя периферии сетчатки. Активность средних слоев сетчатки не вернулась к исходным значениям, оставаясь выше нормы на 30,1 % ( $p=0,01$ ), однако приняв более низкое значение (на 25 %) — ( $162,1 \pm 10,1$  ( $\mu\text{V}$ )) ( $p=0,01$ ), по амплитуде ее волны «в» в сравнении с двухнедельным сроком наблюдения.

Фотопическая ЭРГ значимо не изменилась в сравнении с предыдущим этапом наблюдения (2 недели), хотя отмечалась тенденция к еще большей депрессии фоторецепторов центральной зоны сетчатки (табл.2), еще большее замедление (на 35,5 %, ( $p=0,01$ )) появления ответа ее средних слоев, что было равно  $42,0 \pm 1,5$  мс при стабильно высокой амплитуде ответа  $98,8 \pm 10,0$  ( $\mu\text{V}$ ) в сравнении с нормой  $68,1 \pm 6,9$  ( $\mu\text{V}$ ) (на 44 % выше нормы).

Таким образом, на 30 сутки наблюдения после удаления тампонирующего вещества ПФОС функциональная активность центрального отдела

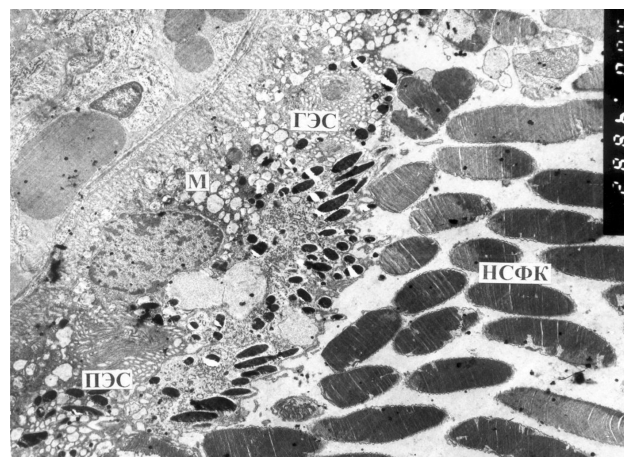
сетчатки характеризовалась замедлением и снижением амплитуды ответа на вспышку (начальная дистрофия) фоторецепторного слоя. Средние слои центра и периферии сетчатки характеризовались ухудшением проводимости и явлением гиперответа (раздражения) на стимул, т. е. полной нормализации функционального состояния сетчатки не наблюдали, возможно для этого необходимы более длительные сроки наблюдения.

#### **Структурные и функциональные изменения сетчатки при 14-суточной тампонаде «тяжелым» силиконовым маслом**

При ЭМИ показано, что спустя 7–14 суток после завершения тампонады «тяжелым» силиконовым маслом просвет ХК расширен. В клетках ПЭС наблюдается вакуолизация ГЭС (рис. 4). Разрыхление области НС и ВС ФК. Признаки гидропических изменений наружных и внутренних сетчатых слоёв сетчатки и вакуолизация цитоплазмы ГК и отростков МЮК в слое ГК.

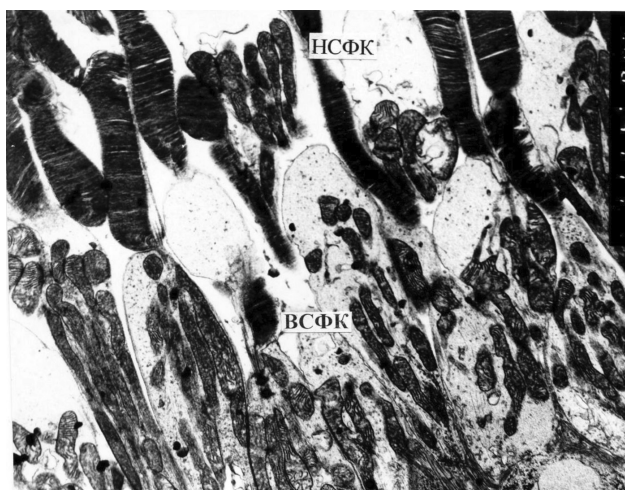
Спустя 30 дней после завершения тампонады в цитоплазме клеток ПЭС фрагментация элементов ГЭС и вакуолизация митохондрий. В области ФК встречается разрежение НС и ВСФК. Часть НС имеет повреждение дисков. Во ВС наблюдается отёк, но при сохранении ультраструктуры митохондрий (рис. 5).

Гидропические изменения наблюдаются в структурах наружного и внутреннего сетчатых слоёв. В ГК небольшие гидропические изменения, в то же время в отростках МЮК, располагающихся у ГК и



**Рис. 4.** Ультраструктура сетчатки через 7 дней после завершения 14-дневной тампонады «тяжелым» силиконовым маслом. Мелкая вакуолизация отдельных внутриклеточных структур клетки пигментного эпителия сетчатки. Нормальная структура наружных сегментов фоторецепторных клеток. Электронная микрофотография. X 3000.

Условные обозначения: ПЭС — пигментный эпителий сетчатки, ГЭС — гладкая эндоплазматическая сеть, М — митохондрия, НСФК — наружные сегменты фоторецепторных клеток.



**Рис. 5.** Ультраструктура сетчатки через 30 дней после 14 дневной тампонады «тяжелого» силикона. Экстра- и внутриклеточный отек наружных и внутренних сегментов фоторецепторных клеток. Электронная микрофотография. X 4000. Условные обозначения: НСФК — наружные сегменты фоторецепторных клеток, ВСФК — внутренние сегменты фоторецепторных

внутренней пограничной мембраны также наблюдается вакуолизация цитоплазмы. Однако описанные изменения ультраструктур сетчатки охватывают гораздо меньший диапазон нервных элементов сетчатки, чем это наблюдалось через 14 дней после окончания тампонады.

При проведении сравнительного анализа биоэлектрической активности сетчатки после удаления тампонирующих витреальную полость веществ ПФОС и «тяжелого» силикона выявлено, что показатель амплитуды волны «а» максимальной ЭРГ в группе с силиконом на 7 сутки наблюдения был на 46 % ниже ( $p=0,001$ ) (табл. 2) и ниже нормы на 31, 4 % ( $p=0,001$ ), что отражает депрессию фоторецепторного слоя периферии сетчатки. Биоэлектрическая активность средних слоев периферии не отличалась в двух группах и характеризовалась повышенной реактивностью по амплитуде волны «в» — на 74–77 % выше нормы. В группе с силиконом также выявлена депрессия фоторецепторного слоя центральной зоны сетчатки по волне «а» фотопической ЭРГ, которая была равна  $4,5 \pm 2,5 (\mu V)$ , что на 86 % ниже нормы ( $p=0,001$ ), активность средних слоев центральной сетчатки соответствовала норме.

На 14 сутки наблюдения обращает на себя внимание то, что на периферии сетчатки нормализовался ответ фоторецепторов в группе с силиконом и сохранялось явление повышенной реактивности средних слоев (табл. 2). Также остается стабильной депрессия фоторецепторного слоя центральной зоны сетчатки в группе с силиконом (волна «а» —  $6,1 \pm 2,5 (\mu V)$ ), повышается реактивность средних слоев — волна «в» —  $113,0 \pm 4,5 (\mu V)$ .

На 30 сутки наблюдения после выведения тяжелого силикона активность средних слоев периферии сетчатки по максимальной ЭРГ снизилась в сравнении с двухнедельным периодом наблюдения на 24,8 % ( $p=0,01$ ), но еще на 43 % превышала норму ( $p=0,01$ ). В этой же группе была отмечена положительная динамика, которая выражалась в нормализации биоэлектрической активности фоторецепторного слоя центральной зоны сетчатки, однако оставалась стабильной повышенная реактивность средних слоев  $112,5 \pm 4,5 (\mu V)$ , что выше нормы на 64,7 % ( $p=0,001$ ).

Изучению данной проблемы посвящен ряд работ. Часть исследователей сообщают о развитии необратимых атрофических изменений после 48 часовой [7], 2 недельной тампонады ПФОС [4]. Различные с нами данные можно объяснить разными условиями проведения экспериментальных исследований. Названные исследователи использовали газовую компрессию стекловидного тела, что могло оказывать дополнительное повреждающее действие на ультраструктуру сетчатки. Flores-Aguilar M. пришла к выводу, что ПФОС (перфлурон) не вызывает морфологических, функциональных и клинических изменений сетчатки и хрусталика на протяжении трех месяцев наблюдения, что подтверждено данными ЭРГ [8, 9].

По данным Stanley Chang, после 2 дневной тампонады перфтор-*n*-октаном наблюдается снижение амплитуды «а» и «в» волны на 40 и 46 % соответственно. Восстановление амплитуды волны «в» к дооперационному уровню начинается после пятого дня и завершается ко второму месяцу после выведения ПФОС. Амплитуда волны «а» восстановилась к пятому дню после выведения ПФОС [4]. Изучение электроретинографии, по данным J. Sherard Bryan, через две недели после завершения 24 часовой и 2 недельной тампонады перфлюороти-*n*-пропиламиноном не выявило отклонений от исходного дооперационного уровня. Отсутствие явления «супернормальной» ЭРГ, описанного нами, а наоборот — снижение вольтажа, либо наличие нормальных показателей ЭРГ можно объяснить разной методикой проведения эксперимента [3]. Stanley Chang и J. Sherard Bryan использовали газовую компрессию стекловидного тела, мы же проводили ЗЗСВ. Проведение ЗЗСВ изменяет состав витреальной полости, вызывая повышение концентрации кальция, магния, белка и снижение концентрации калия [10]. На экспериментальных моделях было показано, что повышение амплитуды «а» и «в» волны наблюдается при снижении температуры, повышении рН и изменении ионного состава [12, 13].

Повышение амплитуды волн «в» в белом и красном свете через 1 месяц после введения ПФОС в полость стекловидного тела кроликов описано Д. О. Шкворченко [1]. По данным автора, эти изменения были связаны с транссудативными процес-

сами. Через четыре месяца после вмешательства, все параметры ЭРГ возвращались к нормальным значениям.

Во всех вышеперечисленных работах в качестве контроля использовался физиологический раствор. В нашем экспериментальном исследовании сравнение влияния ПФОС на ультраструктуру с «тяжелым» силиконовым маслом не выявило значительной разницы во влиянии данных веществ на структуру и функциональное состояние сетчатки.

### Выводы

1. Определены особенности влияния ПФОС и «тяжелого» силиконового масла со сроком тампонады 14 суток на структуру и функциональную активность сетчатки глаза кролика в динамике в течение 30 суток после их выведения. ПФОС и «тя-

желый» силикон вызывают однотипные качественные и количественные структурные изменения сетчатки, которые обратимы и не носят разрушительного характера.

2. После завершения тампонады ПФОС выявлено повышение амплитуды биоэлектрического ответа на 30,1 % (явление супернормальной ЭРГ) средних слоев периферической сетчатки и на 44 % — средних слоев центральной сетчатки. Влияние тяжелого силикона после 14 суток тампонады сопоставимо с влиянием ПФОС: повышение амплитуды ответа средних слоев периферической сетчатки на 43 % и центральной сетчатки на 64,7 %. Для восстановления биоэлектрической активности сетчатки после 14-дневной тампонады ПФОС и «тяжелым» силиконовым маслом требуется более длительный срок.

### Литература

1. **Шкворченко Д. О.** Комплексное хирургическое лечение отслоек сетчатки, осложненных гигантскими разрывами и отрывами от зубчатой линии, с применением жидких перфторорганических соединений: дис...к-та. мед.наук: 14.00.08/ Д. О. Шкворченко — М., 1995. — 132 с.
2. **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.
3. **Бryan J. Shepard.** Experimental vitreous replacement with perfluorotri-n-propylamine / J. Shepard Bryan, Scott M. Friedman, N. Robert, N. Mames, Curtis E. Margo // Arch Ophthalmol. — 1994. — № 8. — P.1098–1102.
4. **Chang S.** Experimental studies of tolerance to intravitreal perfluoro-n-octane liquid / S. Chang, JR. Sparrow, T. Iwamoto, A. Gershbein, R. Ross, R. Ortiz // Retina. — 1991. — № 11. — P. 367–374.
5. **Cillino S.** Treatment of persistently open macular holes with heavy silicone oil (Densiron 68) versus C2F6. A prospective randomized study / S. Cillino, G. Cillino, L. L. Ferraro, A. Casuccio // Retina. — 2016. — № 4. — P.688–694.
6. **Drury B.** Short-term intraocular tamponade with perfluorocarbon heavy liquid/ B. Drury, RD. Bourke// Br. J.Ophthalmol. — 2010. — № 4. — P.694–698.
7. **Devin F.** Experimental tolerability of perfluorodecalin in prolonged intraocular tamponade /F. Devin, T. Jourdan, J. B. Saracco, A. Lucciani // J Fr Ophthalmol. — 1995. — № 4. — P.268–274.
8. **Flores-Aguilar M.** Intraocular tolerance of perfluorocetyl bromide (perflubron) / M. Flores-Aguilar, D. Munguia, E. Loeb, J. A. Crapotta, C. Vuong, S. Shakiba, G. Bergeron-Lynn, C. A. Wiley, J. Weers, W. R. Freeman// Retina. — 1995. — № 1. — P. 3–13.
9. **Mackiewicz J.** Effect of gravity in long-term vitreous tamponade: in vivo investigation using perfluorocarbon liquids and semi-fluorinated alkanes / J. Mackiewicz, K. Maaijwee, C. Luke // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. — 2007. — Vol.245. — P. 665–675.
10. **Killey F. P.** Intraocular fluid dynamics: measurements following vitrectomy and intraocular sulfur hexafluoride / F. P. Killey, H. G. Edelhauser, T. A. Aaberg // Arch Ophthalmol. — 1980. — № 8. — P. 1448–1452.
11. **Sirimaharaj M.** Vitrectomy with short term postoperative tamponade using perfluorocarbon liquid for giant retina tears / M. Sirimaharaj, C. Balachandran, W. C. Chan, A. P. Hunyor, A. A. Chang, J. Gregory-Roberts, A. B. Hunyor, T. J. Playfair // Br J Ophthalmol. — 2005. — № 9. — P. 1176–1179.
12. **Winkler B. S.** The electroretinogram of the isolated rat retina / B. S. Winkler // Vision Res. — 1972. — № 6. — P. 1183–1197.
13. **Winkler B. S.** Importance of bicarbonate in retinal function / B. S. Winkler, V. Simson, S. Banner // Invest Ophthalmol Visual Sci. — 1977. — № 8. — P. 766–768.

Поступила 31.08.2016.