

УДК 617.735+617.726]:621.791.7–085.849.19–092.9

Морфологические изменения хориоретинального комплекса кролика непосредственно после воздействия различных режимов высокочастотной электросварки биологических тканей по сравнению с пороговой диодной эндолазерной коагуляцией

¹ Н. Н. Уманец, к. мед. н., ² В. А. Ульянов, д. мед. н.

¹ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им В. П. Филатова АМН Украины»

²Одесский национальный медицинский университет

У результаті експериментального дослідження, що виконано на 7 кроликах (14 очей), встановлено, що найбільш суттєвий деструктивний вплив на сітківку та судинну оболонку чинить діодна ендолазерна коагуляція. Менший деструктивний вплив чинить високочастотне електрозварювання біологічних тканин (18–20 В). При високочастотному електрозварюванні напругою 14–16 В морфологічні зміни сітківки мінімальні.

Ключевые слова: сетчатка, сосудистая оболочка, высокочастотная электросварка, пороговая диодная эндолазерная коагуляция, морфологические изменения.

Ключові слова: сітківка, судинна оболонка, високочастотне електрозварювання, діодна ендолазерна коагуляція, морфологічні зміни.

Morphological changes in the chorioretinal complex of the rabbit immediately after the effect of different regimens of the high-frequency electrowelding of biological tissues compared with threshold diode endolaser coagulation

¹ N. N. Umanets, ² V. A. Ulyanov

¹The Filatov Institute of Eye diseases and Tissue Therapy of National Medical Sciences Academy, Odessa

²Odessa State Medical University

Key words: retina, choroid, high-frequency electric welding, threshold diode endolaser coagulation, morphological changes

As a result of the experimental study made in 7 rabbits (14 eyes), it is established that the threshold diode endolaser coagulation possesses the most explicit destructive effect on the retina and vascular membrane. The high-frequency electrowelding of biological tissues with a voltage of 18–20 W exerts smaller destructive effect. The most sparing action is exerted by the high-frequency electro-welding with a voltage of 14–16 W.

Введение. Минимизация повреждающего действия некоторых факторов — в частности, лазерного излучения, электрического тока — на ткани глазного яблока в ходе различных вмешательств является актуальным направлением офтальмологии. В последнее время все чаще используются методы селективного воздействия на структуры сетчатки, в частности — селективная лазерная коагуляция пигментного эпителия сетчатки, режим субпорогового лазерного воздействия Micropulse и т.д. [1]. Это позволило существенно повысить результаты лечения больных макулярным отеком различного генеза [2–5]. Однако, как быть в случаях, когда необходимо достичь прочной хориоретинальной спайки, например в хирургии регматогенной отслойки сетчат-

ки? Для этой цели в настоящее время используются лазерная коагуляция, криоретинопексия и, иногда, диатермокоагуляция. Ни один из этих методов нельзя назвать щадящим по отношению к сетчатке и сосудистой оболочке. Известно, что для достижения прочной хориоретинальной спайки термическое воздействие должно приводить к ожогу сетчатки и хориоидеи с последующим формированием рубцовой ткани [6, 7].

Высокочастотная электросварка биологических тканей (ВЭБТ) может рассматриваться как альтернативный метод ретинопексии с возможностью минимизации деструктивного воздействия электриче-

ского тока на сетчатку. В наших предварительных экспериментальных работах были установлены оптимальные параметры электрического тока для проведения трансвитреальной ретинопексии [8,9], однако гистологические особенности хориоретинального комплекса в области воздействия высокочастотной электросварки остаются неизученными.

Цель. Изучить особенности морфологических изменений хориоретинального комплекса кролика непосредственно после воздействия различных режимов высокочастотной электросварки биологических тканей по сравнению с пороговой диодной эндолазерной коагуляцией.

Материал и методы

Для экспериментального исследования было отобрано 7 кроликов (14 глаз) породы шиншилла, самцов возрастом от 6 до 9 месяцев, массой 3–4 кг. Все экспериментальные животные находились в стандартных условиях вивария на одинаковом рационе питания. Перед проведением эксперимента для исключения патологии глазного дна у животных проводилась офтальмоскопия в условиях медикаментозного мидриаза (10 % р-р мезатона).

Экспериментальные животные были разделены на четыре группы — три опытных (по 2 кролика) и одна контрольная (1 кролик).

Общий наркоз животным опытных групп выполнялся путем парентерального введения 10 % тиопентала натрия в дозе 1 мл/кг. После фиксации в специальном станке и обработки операционного поля с соблюдением всех правил асептики и антисептики производилась ретробульбарная анестезия 2 мл 2 % раствором лидокаина гидрохлорида. Мидриаз достигался путем инстилляций в конъюнктивальный мешок 10 % р-ра мезатона. После круговой конъюнктивотомии по лимбу выполнялись склеротомии на 10 и 2 часах на правых и на 4 и 8 часах на левых глазах для интравитреальных инструментов. Для устранения рефракционных aberrаций на роговицу кролика устанавливалась плоская контактная линза. Следует подчеркнуть, что витрэктомия исследуемым животным не выполнялась.

Затем в первой опытной группе (2 кролика (4 глаза) в витреальную полость вводились осветитель и монополярный сварочный зонд. Второй электрод фиксировался к блефаростату. Сварочные аппликации (от 16 до 22) наносились в три ряда concentрично вокруг диска зрительного нерва (ДЗН), отступя 3–4 мм от его края. Расстояние между аппликациями было не менее 1 мм. Использовали пороговые параметры для ВЭБТ сетчатки с подлежащими тканями, установленные в нашем предыдущем исследовании (напряжение — 14–16 В, сила тока до 0,1 А, экспозиция 1–2 с, частота 66 кГц) [8,9].

Во второй опытной группе экспериментальных животных (2 кролика (4 глаза)) также выполнялась ВЭБТ монополярным зондом. В отличие от первой группы животных, ретинопексия выполнялась при уровне напряжения 18–20 В. В остальном методика операции и параметры электрического тока не отличались от таковых в первой группе.

В третьей группе (2 кролика (4 глаза)) хориоретинальная спайка формировалась при помощи эндоокулярного зонда лазерным излучением с длиной волны 810 нм ($E = 200\text{--}300$ мВт, $t = 250$ мс). 24–35 лазерных аппликаций наносились в три ряда вокруг ДЗН. Расстояние между коагулятами было не менее 0,5 мм.

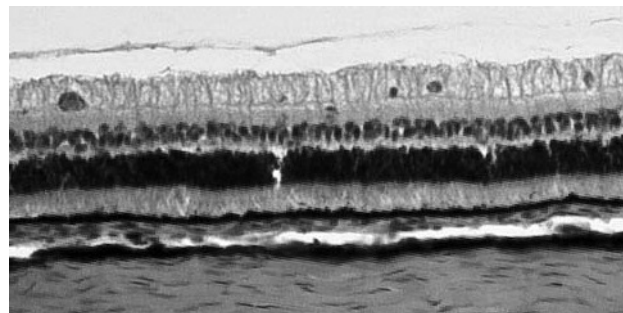


Рис. 1. Интактные сетчатка, сосудистая оболочка и склера кролика контрольной группы. Окраска: гематоксилин-эозин. $\times 100$.

Кролику контрольной группы каких-либо вмешательств не выполнялось.

Кроликов опытных групп выводили из эксперимента методом воздушной эмболии в течение 1 часа после вмешательства. Производилась энуклеация глазных яблок. Степень выраженности изменений в сетчатке и сосудистой оболочке оценивали по сравнению с интактными оболочками глазного яблока кролика контрольной группы (рис. 1).

Удаленное глазное яблоко фиксировали в жидкости Карнуа по модифицированной нами методике [10], заливали в «Гистомикс» (Biovitrum, Россия), готовили постоянные гистологические препараты по общепринятой методике [11]. Срезы окрашивали гематоксилином-эозином [11], исследовали на световом микроскопе «Carl Zeiss AxioStar plus», оборудованном системой видеонализа изображений «ВидеоТест-Мастер Морфология « (ООО) ВидеоТест», (Россия).

Наблюдение, уход, хирургическое вмешательство на животных, а также выведение их из эксперимента выполнялись в соответствии с международными правилами по работе с экспериментальными животными (Хельсинкская декларация по использованию экспериментальных животных в экспериментальных исследованиях 1964–2000 гг).

Результаты и их обсуждение

Пороговая диодная эндолазерная коагуляция вызывала деструктивные изменения сетчатки и реактивные изменения в хориоидее, проявляющиеся плазморрагиями. В центре воздействия максимально повреждались слой ганглиозных клеток, внутренний сетчатый слой, внутренний ядерный слой. Сводились они к коагуляционному некрозу, пикнотическому изменению ядер, нарушению цитоархитектоники внутреннего ядерного слоя. В наружном ядерном слое отмечались участки умеренных коагуляционных изменений, ядра нейронов были пикнотически изменены, в отдельных участках не дифференцировались. Слой палочек и колбочек, а также наружный сетчатый слой гомогенные неструктурированные (рис. 2).

На периферии очага воздействия, на границе с интактной сетчаткой, в большей степени были повреждены наружные слои сетчатки, преимущественно в зоне плазмо- и геморрагий. Коагулированными оказались слой палочек и колбочек и наружный сетчатый слой. При этом минимально

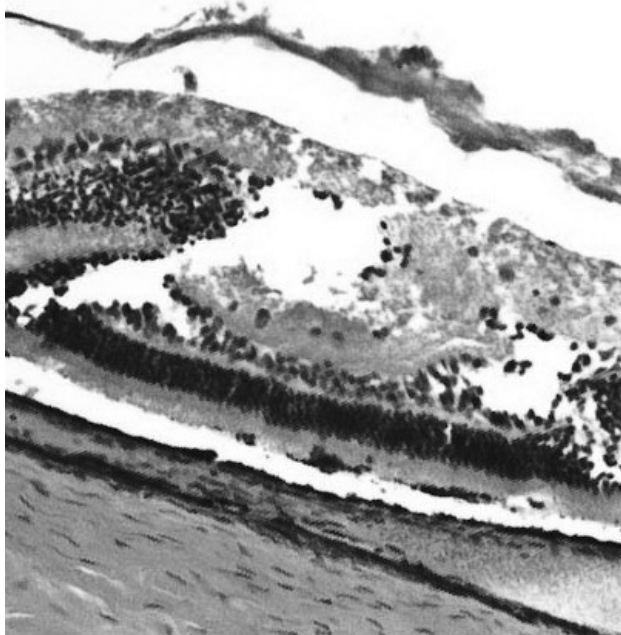


Рис. 2. Сетчатка и сосудистая оболочка кролика. Диодная лазеркоагуляция. Очаг воздействия. Окраска гематоксилин-эозин. Ч 100.

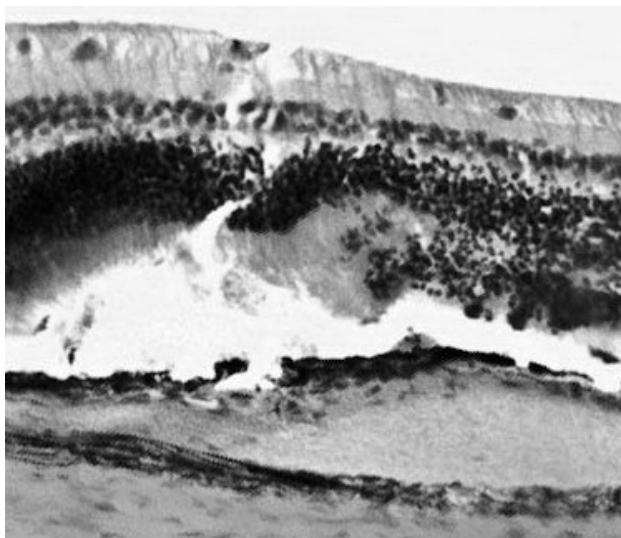


Рис. 3. Сетчатка и сосудистая оболочка кролика. Диодная лазеркоагуляция. Граница очага воздействия и интактной сетчатки. Окраска гематоксилин-эозин. Ч 200.

поврежденными оказывались слой ганглиозных клеток, внутренний и наружный сетчатые слои (рис. 3).

Далее в работе исследовали изменения хориоретинального комплекса при воздействии ВЭБТ посредством монополярного зонда параметрами электрического тока: напряжение 14–16 В и 18–20 В, силой тока до 0,1 А, частотой 66 кГц.

При воздействии ВЭБТ посредством монополярного зонда параметрами электрического тока: напряжение — 14–16 В, сила тока — до 0,1 А, ча-

стота 66 кГц наблюдали отек внутреннего сетчатого и ганглионарного слоя, незначительную дисконфлексацию слоя палочек и колбочек. При этом изменения наружного и внутреннего ядерных слоёв были минимальными и проявлялись незначительными нарушениями цитоархитектоники, что может быть объяснено отеком этих слоев. Реакции сосудистой оболочки на воздействие не наблюдалось (рис. 4).

При воздействии ВЭБТ посредством монополярного зонда параметрами электрического тока: напряжение — 18–20 В, сила тока — до 0,1 А, частота — 66 кГц отмечалось нарушение структуры всех слоев сетчатки. Наблюдали резкое расширение и разволокнение слоя ганглиозных клеток и внутреннего сетчатого слоя. Отмечались коагуляционные изменения в наружных отделах внутреннего сетчатого слоя. При этом изменения клеток наружного сетчатого и внутреннего ядерного слоев были минимальными. Воздействие ВЭБТ данными параметрами тока вызывало деструкцию слоя палочек и колбочек. Обращают на себя внимание изменения в наружном ядерном слое. Изменялась архитектура слоя, встречались участки коагуляционных изменений, сходные с таковыми при лазерном воздействии, однако площадь их была несравнимо меньше, чем при лазерной коагуляции. Большая часть клеток наружного ядерного слоя без видимых изменений. В отличие от предыдущей группы, выявлены изменения в сосудистой оболочке, проявившиеся расширением сосудов, полнокровием, но плазморрагий или геморрагий, как в случае лазерной коагуляции, не наблюдали (Рис. 5).

Таким образом, использованные методы физического воздействия на сетчатку отличались по выраженности вызванных ими деструктивных изменений. Наиболее выраженным деструктивным действием обладала пороговая диодная эндолазерная коагуляция. Меньшее деструктивное действие оказывало воздействие высокочастотного электрического тока посредством монополярного зонда параметрами: напряжение 18–20 В, сила тока — до 0,1 А, частота 66 кГц. И наиболее щадящее действие оказывало воздействие высокочастотным электрическим током посредством монополярного зонда параметрами: напряжение — 14–16 В, сила тока — до 0,1 А, частота 66 кГц. Следует отметить, что выраженность деструктивных изменений в сетчатке при лазерном воздействии не позволяет ожидать полного восстановления структуры сетчатки. Напротив, изменения, вызванные воздействием высокочастотным электрическим током напряжением 14–16 В, более щадящие. Отсутствие каких-либо значительных изменений в сосудистой оболочке не предполагает выраженных нарушений пространственной архитектоники хориоретинального комплекса в целом в очаге воздействия. Сохранность

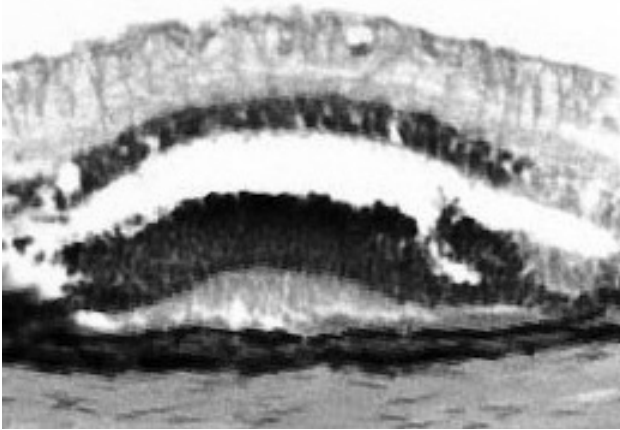


Рис. 4. Сетчатка и сосудистая оболочка кролика. Высоко-частотная электросварка биологических тканей, параметры тока: напряжение 14–16 В, сила тока — до 0,1 А, частота 66 кГц. Окраска гематоксилин-эозин. Ч 100.

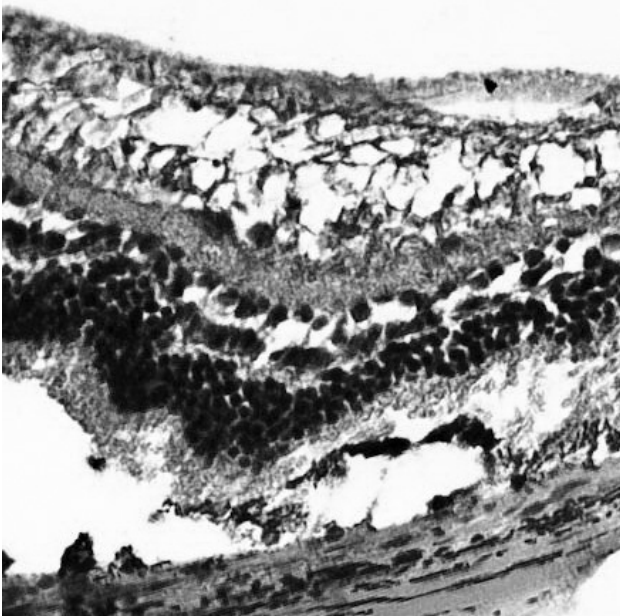


Рис. 5. Сетчатка и сосудистая оболочка кролика. Высоко-частотная электросварка биологических тканей, параметры тока: напряжение 18–20 В, сила тока — до 0,1 А, частота 66 кГц. Окраска гематоксилин-эозин. Ч 200.

наружного и внутреннего ядерных слоев, наружного сетчатого слоя позволяют надеяться на восстановление сетчатки в большей степени, чем при лазерном воздействии.

Обращает на себя внимание некоторое утолщение сетчатки при воздействии ВЭБТ, которое, в зависимости от напряжения, сопровождается или не сопровождается разволокнением внутреннего сетчатого слоя и слоя ганглиозных клеток, при сохранности ядерных. На наш взгляд, это может быть связано с отеком сетчатки, изменением состояния межклеточного вещества. Возможно, именно в этом заключается терапевтический эффект высо-

кочастотной электросварки биологических тканей, направленный на сохранение связи сетчатки с подлежащей сосудистой оболочкой. Экссудат, содержащий определенное количество белков, распространяясь между клетками и волокнами, может служить своеобразным цементирующим материалом. Возможность распространения белкового экссудата при патологических процессах вдоль слоев сетчатки описана еще В. Н. Архангельским, 1960 [12]. Причем изменения коллоидного состояния межклеточного вещества могут быть достаточно стойкими и длительными, визуально приводя к офтальмоскопической картине помутнения сетчатки. Высокочастотная электросварка биологических тканей и пороговая диодная эндолазерная коагуляция предположительно обладают принципиально разными механизмами формирования хориоретинального соединения. В случае лазеркоагуляции — это коагуляционная деструкция сетчатки с последующим формированием соединительнотканного рубца. В случае ВЭБТ — пропитывание сетчатки экссудатом, предположительно упрочняющим соединение слоев внутри сетчатки и сетчатки с подлежащими тканями при сохранении целостности компонентов сосудистой оболочки.

Заключение. Использованные методы физического воздействия на сетчатку отличались по выраженности вызванных ими деструктивных изменений. Наиболее выраженным деструктивным действием обладала пороговая диодная эндолазерная коагуляция, которая сопровождалась коагуляционными изменениями всех слоев сетчатки и реактивными изменениями сосудистой оболочки (плазморрагии). Меньшее деструктивное действие оказывало воздействие ВЭБТ параметрами электрического тока: напряжение — 18–20 В, сила тока — до 0,1 А, частота 66 кГц. Имело место резкое расширение и разволокнение слоя ганглиозных клеток и внутреннего сетчатого слоя, что связано с отеком сетчатки, изменением состояния межклеточного вещества. Явления умеренных коагуляционных изменений отмечали как во внутреннем, так и в наружном ядерном слоях. Отмечалась деструкция слоя палочек и колбочек. Выявлены изменения в сосудистой оболочке, проявлявшиеся расширением сосудов и их полнокровием. Наиболее щадящее действие оказывало воздействие ВЭБТ параметрами электрического тока: напряжение — 14–16 В, сила тока — до 0,1 А, частота 66 кГц. Такое воздействие сопровождалось отеком внутреннего сетчатого и ганглионарного слоя сетчатки, незначительной дисконкомплексацией слоя палочек и колбочек. При этом изменения наружного и внутреннего ядерных слоев были минимальными и проявлялись незначительными нарушениями citoархитектоники, что может быть объяснено отеком этих слоев. Реакции сосудистой оболочки на воздействие не наблюдалось.

Литература

1. **Mainster M. A.** Decreasing retinal photocoagulation damage: principles and techniques // *Sem. Ophthalmol.* — 1999. — Vol. 14. — P. 200–9.
2. **Figueira J.** Prospective randomised controlled trial comparing sub-threshold micropulse diode laser photocoagulation and conventional green laser for clinically significant diabetic macular oedema / Figueira J., Khan J., Nunes S. [et al] // *Br. J. Ophthalmol.* — 2009. — № 93. — P.1341–4.
3. **Takatsuna Y., Yamamoto S., Nakamura Y.** Long-term therapeutic efficacy of the subthreshold micropulse diode laser photocoagulation for diabetic macular edema / Takatsuna Y., Yamamoto S., Nakamura Y. // *Jpn. J. Ophthalmol.* — 2011. — № 55. — P. 365–9.
4. **Пасечникова Н. В.** Селективная лазерная коагуляция пигментного эпителия сетчатки при лечении диабетической макулопатии / Н. В. Пасечникова, В. А. Науменко // *Офтальмол. журн.* — 2003. — № 2. — С. 42–46
5. **Пасечникова Н. В.** Методика селективной лазерной коагуляции пигментного эпителия сетчатки при лечении диабетической макулопатии / Н. В. Пасечникова, В. А. Науменко, А. В. Зборовская // *Український медичний альманах.* — 2003. — Т. 6, № 3. — С. 117–119.
6. **Lincoff H.** The chorioretinal adhesion / Lincoff H., O'Connor P., Bloch D. [et al]. — *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol.* — 1970. — Vol. 74. — P. 98–107.
7. **Smiddy W. E.** Histopathologic results of retinal diode laser photocoagulation in rabbit eyes / Smiddy W. E., Hernandez E. // *Arch.Ophthalmol.* — 2002. — Vol.110. — P.693–698.
8. **Уманец Н. Н.** Сравнение прочности хориоретинального соединения в динамике после воздействия различных режимов высокочастотной электросварки биологических тканей и эндолазерной коагуляции (810 нм). *Офтальмол. журн.* — 2012. — № 6. — С. 92–96.
9. **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.
10. **Уманец М. М.** Модифікація способу фіксації тканин очного яблука для гістологічних досліджень / Уманец М. М., Ульянов В. О. // *Одеський мед. журнал.* — 2012. — № 3. — С. 27–30.
11. **Саркисов Д. С.** Микроскопическая техника / **Саркисов Д. С.**, Ю. Л. Перова. — М.: Медицина, 1996. — 544 с.
12. **Архангельский В. Н.** Морфологические основы офтальмоскопической диагностики / В. Н. Архангельский. — М.: Медгиз, 1960. — 175 с.

Поступила 08.04.2013