

## Экспериментальные исследования

УДК 617.747-089.51-092.9:617.723/.35-091.8

### Структура хориоретинального комплекса глаз кролика после витрэктомии. Сообщение 1. Ирригация витреальной полости растворами различной температуры в течение 30 минут.

О. С. Задорожный, канд. мед. наук; Р. Э. Назаретян, В. В. Мирненко,  
В. А. Науменко, д-р мед. наук, профессор; Э. В. Мальцев, д-р мед. наук, профессор;  
Н. В. Пасечникова, д-р мед. наук, профессор, член-корр. НАМН Украины

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины»; Одесса (Украина)

E-mail: laserfilatova@gmail.com

**Актуальность.** На сегодняшний день остается недостаточно изученным вопрос о том, какой температуры ирригационные растворы и в течение какого времени целесообразно использовать в процессе витрэктомии.

**Цель.** Изучить структуру хориоретинального комплекса глаза кролика после витрэктомии с применением ирригационных растворов различной температуры в течение 30 минут.

**Материал и методы.** Эксперимент *in vivo* проведен на 12 кроликах (24 глаза). Витрэктомия выполнялась трехпортовым трансклиарным доступом с ирригационным раствором температурой 22°C (5 кроликов, 10 глаз) и 5°C (5 кроликов, 10 глаз). В качестве контроля использовался материал интактных животных (2 кролика, 4 глаза). Длительность периода ирригация-аспирация составила 30 минут. Забор материала для гистологического исследования проводился через 1 и 7 суток после операции. Исследовался хориоретинальный комплекс глаза (сосудистая и сетчатая оболочки).

**Результаты.** Тридцатиминутное непрерывное охлаждение витреальной полости раствором с температурой 22°C и 5°C не привело к структурным изменениям элементов сосудистой и сетчатой оболочек по сравнению с глазами интактных животных.

**Выводы.** Ирригационные растворы с температурой 22°C и 5°C не вызывают структурных изменений сетчатой и сосудистой оболочек и могут быть использованы в процессе витреоретинальной хирургии для ирригации витреальной полости длительностью до тридцати минут.

#### Ключевые слова:

витрэктомия, интраокулярная температура, глаз кролика, хориоретинальный комплекс

**Актуальность.** В настоящее время терапевтическая контролируемая гипотермия успешно применяется в медицине (кардиохирургии, нейрохирургии, реаниматологии, неонатологии) с целью повышения устойчивости клеток головного мозга к условиям ишемии [3, 8, 12]. В основе нейропротекторного действия гипотермии лежит снижение индукции апоптоза нейронов посредством уменьшения в них скорости метаболических процессов. Так, снижение температуры головного мозга на 1°C обеспечивает уменьшение потребления нейронами кислорода и метаболизм глюкозы на 5% [13].

В офтальмологии для лечения ряда глазных заболеваний широко применяются внутриглазные хирургические вмешательства, в ходе которых используются ирригационные растворы с температурой значительно ниже температуры внутриглазных сред. Как правило, температура ирригационного раствора соответствует температуре окружающей среды в операционной и не

контролируется в ходе операции [6]. Следовательно, офтальмологические хирургические вмешательства выполняются в условиях искусственной неконтролируемой локальной гипотермии глаза. Тем не менее, в литературе лишь единичные работы посвящены оценке безопасности и эффективности различных температурных режимов для офтальмохирургии [11, 14].

Остается недостаточно изученным вопрос о том, какой температуры и в течение какого времени целесообразно использовать ирригационные растворы в процессе офтальмологической внутриглазной хирургии. Понимание динамики структурных изменений хориоретинального комплекса в условиях гипотермии позволит разработать технологию контролируемой ги-

потермии глаза, более эффективно использовать полезные эффекты низких температур для лечения глазных болезней и снизить риск развития ряда интра- и послеоперационных осложнений.

**Цель.** Изучить структуру хориоретинального комплекса глаза кролика после витрэктомии с применением ирригационных растворов различной температуры в течение 30 минут.

#### Материал и методы

Эксперимент *in vivo* проведен на 12 кроликах (24 глаза) породы шиншилла, массой 2,5-3,5 кг. Всех животных разделили на две группы.

В 1 группе (5 кроликов, 10 глаз) проводилась витрэктомия с ирригационным раствором температурой 22° С, а во 2 группе (5 кроликов, 10 глаз) выполнялась витрэктомия с ирригационным раствором температурой 5°С. Исследование проводили при температуре воздуха (22-24)° С. В качестве контроля использовался материал интактных животных (2 кролика, 4 глаза).

Для проведения витрэктомии использовалась хирургическая система Ascus 400VS фирмы Alcon, USA. Витрэктомия выполнялась трехпортовым трансцилиарным доступом инструментом калибром 23 G.

**Методика операции:** после обработки операционного поля раствором антисептика и эпibuльбарной анестезии стандартным трехпортовым доступом выполнялась витрэктомия центральных и периферических отделов стекловидного тела (частота резов 1500-1800 в минуту, аспирация 150 мм рт. ст., давление ирригационной жидкости – 20 мм рт. ст.). Длительность периода ирригация-аспирация составила 30 минут.

Для ирригации применялся сбалансированный солевой раствор Рингера лактат. Температура ирригационного раствора в 5° С достигалась путем охлаждения раствора гелевыми аккумуляторами холода. Охлаждение раствора происходило в ирригационной трубке в непосредственной близости к операционному полю. Температура ирригационного раствора в 22° С создавалась за счет нахождения бутылки с раствором в помещении операционной в течение нескольких часов перед операцией. Температура раствора, поступающего в глаз, постоянно контролировалась в ходе операции.

Для измерения температуры в различных отделах глаза, температуры ирригационного раствора, температуры воздуха в операционной применялось термоэлектрическое устройство, разработанное Институтом термоэлектричества НАН и МОН Украины и ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова НАМН Украины» [1, 2]. Для контроля температуры ирригационного раствора применялся также компактный инфракрасный термограф FLIR ONE (FLIR® Systems, Inc., USA).

Всем животным после установки векорасширителя и эпibuльбарной анестезии, после формирования хирургического доступа измерительный зонд вводился в стекловидное тело через стандартный порт в проекции плоской части цилиарного тела. Регистрировалась

температура в различных отделах стекловидного тела перед проведением и в процессе проведения всех этапов хирургического вмешательства.

Во всех случаях регистрировалась также ректальная температура кролика, температура и относительная влажность воздуха в помещении.

Работа с экспериментальными животными проводилась согласно Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и других научных целей, принятой в Страсбурге в 1986 году, и закону Украины «О защите животных от жестокого обращения» (2006 год). Проведение исследования было одобрено биоэтическим комитетом ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова НАМН Украины».

Животные содержались в стандартных условиях и на стандартном рационе питания. Всем экспериментальным животным проводились биомикроскопия и офтальмоскопия. При проведении хирургических вмешательств применялся наркоз в виде внутримышечных инъекций 10% раствора тиопентала натрия в дозе 1,0 мл на 1 кг массы животного. На подготовительном этапе к хирургическому вмешательству в оба глаза инстиллировали 0,5% раствор проксиметакаина гидрохлорида. Для расширения зрачка применяли инстилляцию 1% раствора атропина сульфата. Следуя правилам асептики и антисептики, после хирургического вмешательства кроликам проводились инстилляцией 20% раствора сульфацил-натрия, 0,3% раствора офлоксацина.

Гистологическое исследование проводилось на базе лаборатории патологоанатомических и электронно-микроскопических исследований ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова НАМН Украины». После выведения кроликов из исследования (через 1 сутки и 7 суток после операции), глазные яблоки животных фиксировались в 10% растворе формалина в течение 24-48 часов, после чего производили стандартную методику обработки и изготовления гистологических препаратов с толщиной парафиновых срезов 5 мкм. Применяли окраску срезов гематоксилин-эозином. Исследовался хориоретинальный комплекс глаза (сосудистая и сетчатая оболочки).

**Статистический анализ.** Обрабатывались показатели температуры, зарегистрированные в эксперименте. Рассчитывались базовые показатели: средние значения (M) и стандартные отклонения (SD). Достоверными считали различия с уровнем значимости  $p < 0,05$ . Статистический анализ проводился с использованием пакета Statistica 10.0.

#### Результаты

Исходная средняя ректальная температура животных в 1 и 2 группах была зарегистрирована на уровне соответственно  $37,98 \pm 0,7$  и  $38,2 \pm 0,7^\circ\text{C}$  ( $p=0,6$ ). В 1 и 2 группах исходная температура в среднем отделе стекловидного тела составила соответственно  $37,0 \pm 0,9$  и  $36,9 \pm 1,2^\circ\text{C}$  ( $p=0,9$ ), в ходе операции (на этапе ир-

ригации витреальной полости) снизилась до  $25,8 \pm 0,5$  и  $10,9 \pm 1,4^\circ \text{C}$  ( $p < 0,0001$ ). Таким образом, температура стекловидного тела в процессе ирригации снизилась в 1 и 2 группах, по сравнению с исходными данными, на  $11,2$  и  $26^\circ \text{C}$  ( $p < 0,0001$ ).

Длительность витрэктомии в среднем составила 4 минуты, а этапа ирригации-аспирации – 30 минут. Спустя 10 минут после завершения ирригации, в обеих группах температура в среднем отделе стекловидного тела уже значимо не отличалась от исходной температуры. В ходе операции изменений роговицы не наблюдалось, хрусталик сохранил прозрачность.

Гистологическое исследование показало, что через 1 сутки после тридцатиминутного охлаждения глаза путем ирригации витреальной полости раствором с температурой  $22^\circ \text{C}$  сетчатка сохраняла обычное послойное строение. Неизменным оставалось и количество рядов нейронов в наружном (5-8) и внутреннем (3-4) ядерных слоях, как и их обычная ширина. Также неизменным было и строение обоих сетчатых слоев с преобладанием ширины внутреннего слоя. Явлений выраженной отечности не наблюдалось, тем не менее, в отдельных участках препаратов были заметны единичные отечные полости, в частности в слое ганглиозных клеток. При длительности наблюдения с этими же параметрами до 7 суток гистологическая картина сетчатки оставалась нормальной, в том числе и в области ее мягкотных лучей. В хориоиде структурных изменений выявлено не было. Явлений отечности не обнаружено. Таким образом, тридцатиминутное охлаждение глаза раствором с температурой  $22^\circ \text{C}$  не вызвало гистологических изменений структур сетчатой оболочки и хориоидеи ни через 1 сутки, ни через неделю.

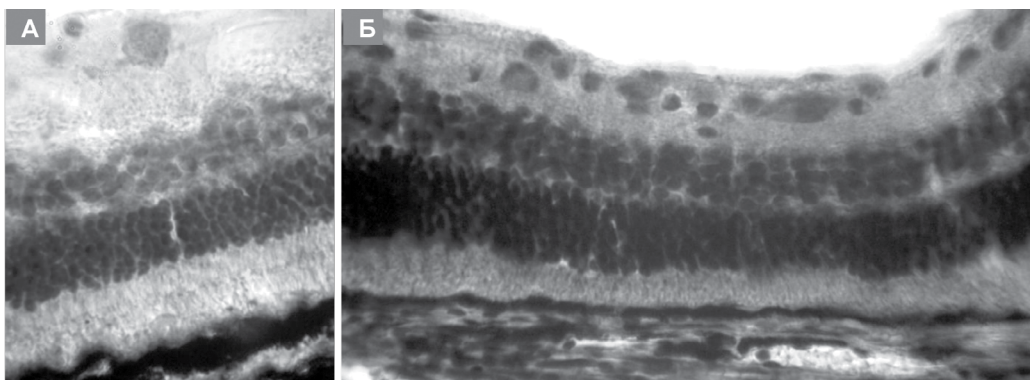
Что же касается тридцатиминутной ирригации витреальной полости раствором, охлажденным до  $5^\circ \text{C}$ , то в этом случае спустя 1 сутки после воздействия структура всех слоев сетчатки и других оболочек глаза (хориоидея, склера), сохранила нормальное строение. Причем, это характерно как для участков сетчатой

оболочки, располагающихся поблизости от головки зрительного нерва, так и вдали от него. Выраженной вакуолизации структур сетчатки не наблюдалось. В отдельных участках препаратов были обнаружены единичные очаги вакуолизации в слое ганглиозных клеток. Наличия других патологических изменений не отмечено (рис. 1А). Остается констатировать, что структуры глаза кроликов при тридцатиминутном охлаждении витреальной полости раствором с температурой  $5^\circ \text{C}$  спустя сутки после воздействия соответствуют аналогичным структурам интактных животных.

Исследование структур хориоретинального комплекса глаз кроликов, полость стекловидного тела которых охлаждалась в течение 30 минут раствором с температурой  $5^\circ \text{C}$ , спустя 7 суток после операции показало следующее. Структура сетчатой оболочки оставалась нормальной, причем даже в области наилучшего световосприятия – зрительной полоски (здесь располагается наибольшее количество ганглиозных клеток). Хорошо было заметно, что и сосудистая оболочка, как и прилежащая к ней сетчатая оболочка в области зрительной полоски, имели обычное нормальное строение (рис. 1Б). Явлений отечности не выявлено. Пигментный эпителий, как и в норме, был заполнен меланином, что особенно хорошо видно на его плоскостных срезах. Мякотный луч имел обычное строение, несмотря на его большую толщину, примерно втрое превышающую толщину всей сетчатой оболочки, что характерно и для нормального глаза кролика. Остается заключить, что в целом строение всех оболочек глазного яблока сохранило нормальное строение и спустя 7 суток после холодного воздействия в течение тридцати минут.

### Обсуждение

В настоящее время трансцилиарная витрэктомия широко применяется в офтальмологии и является «золотым стандартом» витреоретинальной хирургии при различной офтальмопатологии [7]. Несмотря на постоянное совершенствование технологий витре-



**Рис. 1.** Сетчатая и сосудистая оболочки кролика после витрэктомии с тридцатиминутной перфузией глаза раствором температурой  $5^\circ \text{C}$ . **А.** Через сутки после витрэктомии. Сетчатая и сосудистая оболочки обычного строения. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение  $40 \times 7$ . **Б.** Через 7 суток после витрэктомии. Сетчатая и сосудистая оболочки глаза кролика в области зрительной полоски без видимых патологических изменений. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение  $40 \times 16$ .

оретинальной хирургии, в этой области существует целый ряд нерешенных проблем, снижающих результативность лечения. Известно фототоксическое и даже термическое повреждение сетчатки при проведении витрэктомии. Это и неудивительно, поскольку в ходе витрэктомии освещение глазного дна происходит через оптоволоконный эндоосветитель, минуя барьерные свойства хрусталика, в результате чего значительно снижаются пороги повреждающего влияния света на сетчатку [9]. Кроме того, описаны токсическое влияние на нейроретинальный сетчатки красителей, используемых витреоретинальными хирургами [4], а также и механические повреждения внутренних слоев сетчатки в ходе витрэктомии потоком инфузируемого воздуха [5]. В литературе имеются данные и о том, что в процессе витрэктомии повышение внутриглазного давления и снижение системного давления ведут к опасному снижению перфузионного давления и к интраоперационному ишемическому повреждению сетчатки и зрительного нерва [10].

В литературе имеются сведения о повреждении сетчатки кроликов после витрэктомии с использованием длительной ирригации витреальной полости растворами с низкой температурой. Так, в 1990 году Zilis J.D. с соавторами продемонстрировали клинические и структурные изменения глаз кроликов после трехчасовой витреоретинальной хирургии с использованием ирригационного раствора Рингера лактата с температурой 22°C и 2°C. В группе животных, прооперированных с температурой раствора 2°C, преретинальная температура составила 6,5°C. Гистологическое исследование сетчатки спустя 1 сутки после трехчасовой витрэктомии с растворами температурой 22°C и 2°C не обнаружило выраженных изменений в обеих группах, кроме искусственно отслоенной сетчатки. При светооптическом и электронно-микроскопическом исследовании на 7 сутки после витрэктомии в группе с температурой раствора 22°C (9 глаз) также не было выявлено структурных изменений сетчатки и хориоидеи. В группе животных, прооперированных с температурой раствора 2°C (9 глаз), на 7 сутки на 7 глазах наблюдались выраженные изменения в наружных слоях сетчатки, включая пигментный эпителий, (потеря и дезорганизация фоторецепторов, инфильтрация макрофагами, накопление интраретинальной и субретинальной серозной жидкости). В группе животных, прооперированных с температурой раствора 2°C, в ряде случаев также отмечались обратимые помутнения хрусталиков в послеоперационном периоде [14]. Таким образом, применение во время витрэктомии ирригационных растворов с низкой температурой (2°C) при длительной экспозиции (3 часа) также может приводить к повреждению структур хориоретинального комплекса.

По данным литературы известно, что температура внутриглазных сред приближается к температуре тела [6], что также подтверждается и в нашей работе. Так, у животных 1 группы при температуре тела 37,98°C

температура стекловидного тела составила 37,0°C. В ходе витрэктомии и применении инфузионного раствора комнатной температуры температура в стекловидном теле упала с 37,0°C до 25,8°C (более чем на 11°C). Таким образом, применение для витреоретинальной хирургии ирригационных растворов комнатной температуры (22-23°C) приводит к снижению внутриглазной температуры до уровня глубокой гипотермии (ниже 30°C) [8], что также подтверждает необходимость разработки рекомендаций по безопасному температурному и временному режиму применения ирригационных растворов в ходе витрэктомии.

В нашей работе при использовании в ходе витрэктомии инфузионного раствора температурой 5°C в течение 30 минут температура в стекловидном теле упала с 36,9°C до 10,9°C (температура стекловидного тела снизилась по сравнению с исходными данными на 26°C). При этом тридцатиминутное охлаждение витреальной полости раствором с температурой 5°C не привело к структурным изменениям элементов сосудистой и сетчатой оболочек по сравнению с глазами интактных животных. Следовательно, в процессе витреоретинальной хирургии температура ирригационного раствора может быть безопасно снижена до 5°C для непрерывной ирригации витреальной полости длительностью до тридцати минут. Такие температурные параметры могут быть использованы в ряде случаев в ходе витрэктомии, например, для повышения стойкости нервных клеток к условиям ишемии или при воздействии других повреждающих факторов на структуры хориоретинального комплекса.

Tamai K. с соавторами в 1997 году *in vivo* моделировали ишемию глаз кроликов путем повышения внутриглазного давления в течение 30 минут во время витрэктомии с применением ирригационных растворов различной температуры (8°C, 22°C и 38°C). В результате гистологического исследования глаз, проведенного на 7 сутки после хирургии, в группе экспериментальных животных с температурой раствора 38°C обнаружили грубую дезорганизацию сетчатой оболочки по сравнению с контролем и глазами, прооперированными с растворами температурой 22°C и 8°C. При этом наименьшие структурные изменения хориоретинального комплекса по сравнению с контрольными глазами были обнаружены на 7 сутки после хирургии в группе, прооперированной с температурой раствора 8°C [11], что близко и к нашим результатам.

Таким образом, для создания технологии управляемой гипотермии глаза необходимы дальнейшие исследования, направленные на изучение оптимальных путей охлаждения глаза, поиск наиболее безопасных и эффективных температурных и временных режимов охлаждения внутриглазных структур.

## Выводы

1. Использование ирригационных растворов 22°C и 5°C для витреоретинальной хирургии приводит к снижению температуры внутриглазных сред до уровня

глибокої гіпотермії (при температурі розчину 22°C і 5°C температура середнього вітреальної порожнини знижувалась, відповідно, до 25,8°C і 10,9°C).

2. Тридцятихвилинне безперервне охолодження вітреальної порожнини ока кролика іригаційними розчинами температурою 22°C і 5°C в ході вітреоретинальної хірургії не викликає структурних змін хоріоретинального комплексу очей кроликів в післяопераційному періоді в течение 7 днів.

3. Іригаційні розчини з температурою 22°C і 5°C можуть бути використані в процесі вітреоретинальної хірургії для безперервної іригації вітреальної порожнини тривалістю до тридцяти хвилин.

### Література

1. **Анатичук Л.І.** Термоелектричний прилад для вимірювання внутрішньоочної температури / Л.І. Анатичук, Н.В. Пасечнікова, О.С. Задорожний, [и др.] // Термоелектрика. – № 3. – 2015. – С. 31-40.
2. **Анатичук Л.І.** Оригінальне пристрій і підходи к изучению распределения температуры в различных отделах глаза / Л.І. Анатичук, Н.В. Пасечнікова, О.С.Задорожний, [и др.] // Офтальмол. журн. – 2015. – №6. – С. 50-53.
3. **Alzaga A.G.** Therapeutic hypothermia / A.G. Alzaga, M. Cerdan, J. Varon // Resuscitation – 2006. – Vol.70, (3). – P. 369-380.
4. **Farah M.** Dyes in Ocular Surgery: Principles for Use in Chromovitrectomy / M. Farah, M. Maia, E.B. Rodrigues // Am. J. Ophthalmol. – 2009. – Vol. 48, (3). – P. 332-340.
5. **Hasumura T.** Retinal Damage by Air Infusion during Vitrectomy in Rabbit Eyes / T. Hasumura, N. Yonemura, A. Hirata, [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2000. – Vol.41. – P.4300-4304.

6. **Iguchi Y.** Changes in vitreous temperature during intravitreal surgery / Y. Iguchi, T. Asami, S. Ueno, [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2014. – Vol.55. – P.2344-2349.
7. **Machemer R.** Vitrectomy: a pars plana approach. Technical improvements and further results / R. Machemer, J.M. Parel, E.W. Norton // Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol. – 1972. – Vol.76. – P.462-466.
8. **Polderman K.H.** Therapeutic hypothermia and controlled normothermia in the ICU: Practical considerations, side effects, and cooling methods / K.H. Polderman, I. Herold // Critical Care Medicine. – 2009. – Vol. 37. – P. 1101-1120.
9. **Postel E.A.** Long-term follow-up of iatrogenic phototoxicity / E.A. Postel, J.S. Pulido, G.A. Byrnes, [et al.] // Arch. Ophthalmol. – 1998. – Vol.116, (6). – P. 753-757.
10. **Rossi T.** Ocular perfusion pressure during pars plana vitrectomy: a pilot study / T. Rossi, G. Querzoli, G. Angelini [et al.] // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2014. – Vol. 55. – P. 8497-8505.
11. **Tamai K.** Local hypothermia protects the retina from ischaemic injury in vitrectomy / K. Tamai, E. Toumoto, A. Majima // Brit. J. Ophthalmol. – 1997. – Vol.81, (9). – P. 789-794.
12. The Hypothermia after Cardiac Arrest Group. Mild therapeutic hypothermia to improve the neurologic outcome after cardiac arrest / The Hypothermia after Cardiac Arrest Group // N. Engl. J. Med. – 2002. – Vol.346. – P. 549-556.
13. **Yenari M.A.** Neuroprotective mechanisms of hypothermia in brain ischaemia / M.A. Yenari, H.S. Han // Nat. Rev. Neurosci. – 2012. – Vol.13. – P. 267-278.
14. **Zilis J.D.** Clinical and Histologic Effects of Extreme Intraocular Hypothermia / J. D. Zilis, D. Chandler, R. Machemer // Am. J. Ophthalmol. – 1990. – Vol. 109. – P. 469-473.

Поступила 05.03.2018

## Структура хоріоретинального комплексу очей кролика після вітректомії. Повідомлення 1. Іригація вітреальної порожнини розчинами різної температури протягом 30 хвилин

Задорожний О. С., Назаретян Р. Е., Мирненко В. В., Науменко В. О., Мальцев Е. В., Пасечнікова Н. В.

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»; Одеса (Україна)

**Актуальність.** На сьогоднішній день залишається недостатньо вивченим питання про те, якої температури іригаційні розчини і протягом якого часу доцільно використовувати в процесі вітректомії.

**Мета.** Вивчити структуру хоріоретинального комплексу ока кролика після вітректомії з застосуванням іригаційних розчинів різної температури протягом 30 хвилин.

**Матеріал та методи.** Експеримент *in vivo* проведено на 12 кроликах (24 ока). Вітректомія виконувалася трьохпортовим транскліарним доступом з іригаційним розчином температурою 22°C (5 кроликів, 10 очей) і 5°C (5 кроликів, 10 очей). В якості контролю використовувалася матеріал інтактних тварин (2 кролика, 4 ока). Тривалість періоду іригація-аспірація

склала 30 хвилин. Забір матеріалу для гістологічного дослідження проводився через 1 і 7 діб після операції. Досліджувався хоріоретинальний комплекс ока (судинна та сітчаста оболонки).

**Результати.** Безперервне охолодження вітреальної порожнини розчином з температурою 22°C і 5°C протягом 30 хвилин не привело до структурних змін елементів судинної і сітчастої оболонок порівняно з очима інтактних тварин.

**Висновки.** Іригаційні розчини з температурою 22°C і 5°C не викликають структурних змін сітчастої і судинної оболонок та можуть бути використані в процесі вітреоретинальної хірургії для іригації вітреальної порожнини тривалістю до тридцяти хвилин.

**Ключові слова:** вітректомія, інтраокулярна температура, око кролика, хоріоретинальний комплекс