

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РОГОВИЦЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ АСПИРАЦИИ КОРТИКАЛЬНЫХ МАСС ХРУСТАЛИКА КРОЛИКОВ

Идрисова Г.М.<sup>1,2</sup>, Азнабаев Б.М.<sup>1,2</sup>, Мусина Л.А.<sup>1</sup>, Дибаяев Т.И.<sup>1,2</sup>, Мухамадеев Т.Р.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа, e-mail: idguma@mail.ru;

<sup>2</sup>ЗАО «Оптимедсервис», Уфа

Изучить гистологические особенности роговицы кроликов после экспериментальной ультразвуковой аспирации кортикальных масс хрусталика. Экспериментальная ирригация-аспирация кортикальных масс хрусталика проведена на 20 глазах кроликов с использованием разработанной авторами ультразвуковой системы. Гистологические исследования роговицы кроликов проводили на 1, 7, 14 и 30-й дни после операции. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону. На 1-й день после операции толщина роговицы кроликов была равномерной почти на всем протяжении. В переднем эпителии были выявлены признаки слабо выраженных дистрофических изменений. Боуменова мембрана не просматривалась. Ближе к десцеметовой мембране было отмечено слабое набухание коллагеновых волокон стромы. Десцеметова мембрана была в виде плотной однородной ленты. На десцеметовой мембране визуализировались участки набухания эндотелиоцитов. На 7-й день изменения были выражены в меньшей степени, сохранялось слабое набухание коллагеновых волокон ближе к десцеметовой мембране. На 14-й и 30-й дни наблюдали полный регресс обнаруженных ранее изменений. При использовании ультразвуковой системы для аспирации кортикальных масс в гистологической структуре роговицы наблюдаются слабо выраженные изменения, которые носят обратимый характер и регрессируют к 14-му дню послеоперационного периода.

Ключевые слова: катаракта, ультразвуковая аспирация, кортикальные массы, гистология, роговица, кролик.

## MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE RABBIT'S CORNEA DURING EXPERIMENTAL ULTRASONIC ASPIRATION OF LENS CORTEX

Idrisova G.M.<sup>1,2</sup>, Aznabaev B.M.<sup>1,2</sup>, Musina L.A.<sup>1</sup>, Dibaev T.I.<sup>1,2</sup>, Mukhamadeev T.R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>FGBOU VO "Bashkir State Medical University" Ministry of Health of Russia, Ufa, e-mail: idguma@mail.ru;

<sup>2</sup>ZAO "Optimedservis", Ufa

To study the histological structures of the rabbit's cornea after experimental ultrasonic aspiration of lens cortex. Experimental irrigation-aspiration of lens cortex was performed on 20 eyes of rabbits using developed by the authors ultrasonic system. Histological evaluations of the cornea were performed on days 1, 7, 14 and 30 after surgery. Histological cuts were stained using hematoxylin and eosin, Van Gieson's picrofuchsin. On the day one after the operation the thickness of the rabbit's cornea was uniform. Signs of mild dystrophic changes were revealed on the epithelium. Bowman's membrane was not visible. There was a slight swelling of collagen fibers near the Descemet's membrane. Descemet's membrane was in the form of a dense uniform layer. Areas with edema of endothelial cells were visualized on Descemet's membrane. On the day seven, this changes decreased, there was a slight swelling of collagen fibers near the Descemet's membrane. On days 14 and 30, a complete regression of the previously detected changes was observed. Using of the ultrasonic system for cortex aspiration caused the weakly expressed changes in corneal histological structure. The changes were reversible and regress by 14 days of the postoperative period.

Keywords: cataract, ultrasonic aspiration, cortex, histology, cornea, rabbit.

Состояние роговицы (выраженность послеоперационного отека, потери эндотелиальных клеток, конфигурация операционных разрезов) является важным показателем безопасности хирургии катаракты [1-3]. Операционная травма роговицы может быть вызвана длительным воздействием ультразвуковой энергии и ирригационных потоков, механической

травмой хирургическими инструментами и фрагментами хрусталика, резкими перепадами внутриглазного давления [2; 4-7].

Помимо этапа удаления ядра, которому традиционно уделяется большое внимание, высокий риск повреждения роговицы возникает и на этапе удаления кортикальных масс хрусталика.

С целью снижения воздействия вышеперечисленных повреждающих факторов предложены различные медико-технические решения, которые в основном касаются этапа удаления ядра. Однако, учитывая тенденцию к совершенствованию и повышению безопасности хирургии катаракты, и на этапе удаления кортикальных масс имеется потенциал [8].

Для повышения эффективности и безопасности данного этапа на базе отдела микрохирургического оборудования ЗАО «Оптимедсервис» разработана система для ультразвуковой аспирации кортикальных масс (патент РФ № 2679305 «Способ аспирации кортикальных масс и устройство для его осуществления» от 06.02.2019) [9]. Отличительной особенностью данной системы является возможность использования дополнительной дозированной ультразвуковой энергии, благодаря которой облегчается эвакуация кортикальных масс. Это сокращает длительность операции, уменьшается длительность воздействия ирригационных потоков на эндотелий роговицы, снижается необходимость дополнительных манипуляций хирургическими наконечниками, направленными на измельчение трудноаспирируемых кортикальных масс [10]. Вместе с тем требует изучения степень влияния дополнительной ультразвуковой энергии на состояние роговицы при использовании разработанной системы.

Цель исследования – изучить гистологические особенности роговицы кроликов после экспериментальной ультразвуковой аспирации кортикальных масс хрусталика.

### **Материал и методы исследования**

Эксперименты были выполнены на 20 кроликах породы шиншилла (масса  $2,2 \pm 0,2$  кг, возраст  $4,9 \pm 0,8$  месяца) с соблюдением общепринятых принципов гуманности, согласно правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 г. № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики», «Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г. [11] и Федеральный закон Российской Федерации «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г.). До и во время проведения экспериментов животные содержались в идентичных условиях.

На глазах кроликов был смоделирован этап ирригации-аспирации кортикальных масс хрусталика, выполненный с помощью разработанной ультразвуковой системы на отечественной офтальмологической хирургической платформе «Оптимед Профи» (ЗАО «Оптимедсервис», Россия).

Ход эксперимента.

После предоперационной подготовки в глазную щель кролика был установлен блефаростат, дополнительно в конъюнктивальный мешок закапаны обезболивающие капли и выполнены два парацентеза шириной 1,2 мм.

Перед введением в переднюю камеру инструментов активировали ирригацию путем перевода педали факоэмульсификатора в первое положение, затем последовательно через один парацентез вводили ирригационный, через другой – аспирационный наконечники (активация аспирации осуществлялась переводом педали во второе положение).

Во время проведения экспериментов инструменты располагали таким образом, чтобы они не касались и не травмировали интраокулярные структуры (эндотелий роговицы, радужку, хрусталик).

Настройки микрохирургической системы во время проведения экспериментальной ирригации-аспирации кортикальных масс были следующие: производительность аспирации – 35 мл/мин., высота ирригационной емкости – 75 см, предел вакуума – 400 мм рт. ст., мощность ультразвука 30%, режим ультразвука – постоянный, время активации ультразвука – 10 секунд (активация ультразвука проводилась путем перевода педали факоэмульсификатора в боковое положение).

С целью широкой оценки безопасности и возможности использования новой технологии в ходе эксперимента мы использовали более высокие значения мощности ультразвука, чем требуется для аспирации кортикальных масс [10]. Во время эксперимента ирригационный и аспирационный наконечники местами не меняли. Длительность каждого эксперимента была одинаковой.

Для чистоты эксперимента и исключения случайных повреждений эндотелия роговицы хирургическими инструментами, фрагментами ядра и кортикальных масс хрусталика мы намеренно отказались от проведения самой факоэмульсификации.

После завершения эксперимента инструменты удаляли, осуществляли контроль герметизации парацентезов, под конъюнктиву вводили раствор антибиотика и стероидного противовоспалительного средства. В послеоперационном периоде всем кроликам в конъюнктивальный мешок закапывали антибактериальные и нестероидные противовоспалительные капли.

На каждый срок послеоперационного наблюдения (1, 7, 14, 30-й дни) из эксперимента выводили по 5 кроликов путем безболезненной воздушной эмболии с последующей энуклеацией глаз.

Подготовка препаратов для гистологического исследования проводилась по стандартной методике [12]. Энуклеированные глазные яблоки в течение 3-5 суток фиксировали в 10%-ном растворе формалина по Лилли. После на предметном столике роговицу с ободком склеры, радужкой, цилиарным телом выкраивали, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Затем были выполнены серийные срезы роговицы на микротоме LEICA RM2125RTS (Leica, Германия). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону.

Микроскопию и фотографирование полученных препаратов осуществляли на световом микроскопе LEICA 108MD со встроенной камерой (Leica, Германия) при увеличении  $\times 40$ ,  $\times 100$ ,  $\times 200$  и  $\times 400$ .

Сбор и обработка полученных данных проводились в программе Microsoft Excel 2016. Для оценки переменных использовали методы описательной статистики: для количественных переменных – среднее значение и стандартное отклонение, для качественных – частота (%).

### **Результаты исследования и их обсуждение**

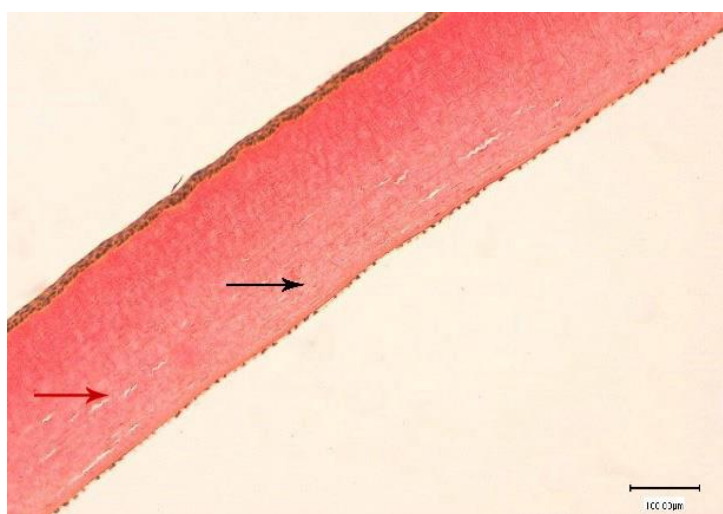
На 1-й день после операции на всех гистологических препаратах (в 100% случаев) толщина роговицы кроликов была равномерной почти на всем протяжении.

В переднем эпителии дифференцировались все слои (базальный, шиповатый и поверхностный). В единичных эпителиальных клетках были выявлены признаки слабо выраженных дистрофических изменений в виде просветления цитоплазмы в околоядерных зонах (рис. 1). Боуменова мембрана не просматривалась (характерная особенность роговицы кроликов).



*Рис. 1. Структура роговицы кролика на 1-й день после экспериментальной ультразвуковой аспирации кортикальных масс хрусталика. Слабо выраженные дистрофические изменения в переднем эпителии роговицы – просветление цитоплазмы в околядерных зонах (черная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином*

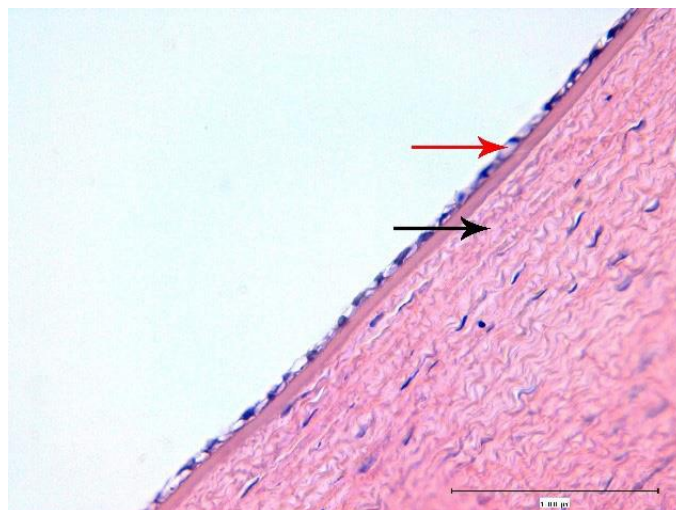
Строма роговицы состояла из параллельно лежащих роговичных пластин, основу которых составляли пучки коллагеновых волокон. Между ними просматривались удлиненные веретенообразной формы кератоциты (рис. 1). Ближе к десцеметовой мембране отмечалось слабое набухание коллагеновых волокон. В отдельных участках стромы визуализировалось небольшое разволокнение коллагеновых волокон в результате мукоидного набухания основного вещества стромы (рис. 2, 3).



*Рис. 2. Структура роговицы кролика на 1-й день после экспериментальной ультразвуковой аспирации кортикальных масс хрусталика. Слабое набухание коллагеновых волокон внутренней части стромы (черная стрелка). Разволокнение коллагеновых волокон стромы (красная стрелка). Окраска по Ван Гизону*

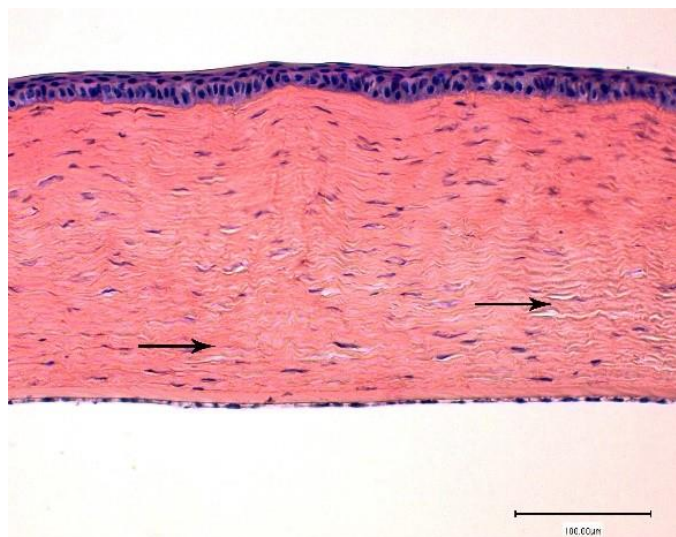
Десцеметова мембрана визуализировалась в виде плотной однородной ленты, изменений в ее структуре обнаружено не было.

На большем протяжении десцеметовой мембраны был зафиксирован равномерный монослой эндотелиальных клеток. Также были зафиксированы участки с несколько набухшими эндотелиоцитами (их цитоплазма становилась прозрачной (рис. 3)).



*Рис. 3. Структура роговицы кролика на 1-й день после экспериментальной ультразвуковой аспирации кортикальных масс хрусталика. Набухание эндотелиальных клеток (красная стрелка). Слабое набухание коллагеновых волокон (черная стрелка). Окраска гематоксилином и эозином*

На 7-й день после операции описанные изменения роговицы всех кроликов были выражены в меньшей степени. На всем протяжении роговица была равномерной. Дистрофических изменений в переднем эпителии роговицы не наблюдалось. Боуменова мембрана не просматривалась. В отдельных участках ближе к десцеметовой мембране сохранялись слабо выраженные признаки набухания коллагеновых волокон. На отдельных участках определялось слабое разволокнение коллагеновых волокон. В передней части роговицы изменений в фиброархитектонике коллагеновых волокон отмечено не было. Десцеметова мембрана представляла собой плотную однородную ленту, прилегающую к задней поверхности соединительнотканной стромальной пластинки. Эндотелиальные клетки выглядели интактными (рис. 4).

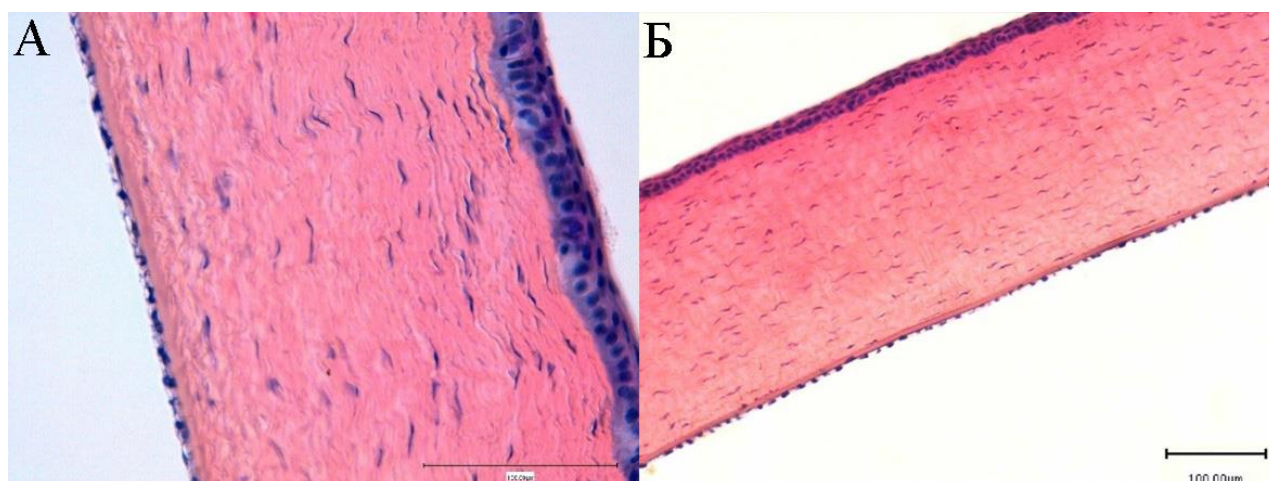




*Рис. 4. Структура роговицы кролика на 7-й день после экспериментальной ультразвуковой аспирации кортикальных масс хрусталика. Слабое набухание и разволокнение коллагеновых волокон внутренней части роговой пластинки (черные стрелки).*

*Окраска гематоксилином и эозином*

На 14-й и 30-й дни послеоперационного наблюдения на всех гистологических препаратах роговица кроликов выглядела интактной, соответствовала нормальной картине. Переднюю поверхность соединительнотканной пластинки покрывал ровный слой многослойного плоского неороговевающего эпителия, состоящего из базального, шиповатого и поверхностного слоев. Боуменова мембрана не визуализировалась. Строма роговицы состояла из ровных параллельно лежащих роговичных пластин, основу которых составляли пучки коллагеновых волокон. Между ними просматривались удлиненные веретенообразной формы кератоциты – фибробластические клетки стромы роговой оболочки глаза. Заднюю поверхность соединительнотканной пластинки покрывала ровная плотная десцеметова мембрана, на которой плотно лежал слой эндотелиальных клеток, без каких-либо изменений. (рис. 5 А, Б).



*Рис. 5. Интактная структура роговицы кролика (соответствующая нормальной картине) на 14-й (А) и 30-й (Б) дни после экспериментальной ультразвуковой аспирации кортикальных масс хрусталика. Роговица равномерная, все слои визуализируются четко, признаки дистрофии отсутствуют. Окраска гематоксилином и эозином*

### **Заключение**

По результатам проведенных исследований с использованием разработанной ультразвуковой системы для аспирации кортикальных масс в гистологической структуре роговицы были обнаружены слабовыраженные дистрофические изменения, которые полностью регрессировали к 14-му дню послеоперационного периода, на основании чего можно сделать вывод об их обратимом характере.

## Список литературы

1. Азнабаев Б.М., Мухамадеев Т.Р., Дибаяев Т.И. Оптическая когерентная томография + ангиография в диагностике, терапии и хирургии глазных болезней. М.: Август Борг, 2019. 352 с.
2. Mehra P., Verma R.K. Evaluation of corneal endothelial cell loss in different grades of nucleus during phacoemulsification. *Int. J. Med. Res. Rev.* 2015. vol. 3. no 10. P. 1128–1132.
3. Sharma N., Singhal D., Nair S.P., Sahay P., Sreeshankar S.S., Maharana P.K. Corneal edema after phacoemulsification. *Indian J. Ophthalmol.* 2017. vol. 65. P. 1381-1389.
4. Buratto L., Werner L., Zanini M., Apple D. Phacoemulsification: Principles and Techniques, Second Edition. NY: SLACK Inc., 2003. 768 p.
5. Park J., Yum H.R., Kim M.S., Harrison A.R., Kim E.C. Comparison of phaco-chop, divide-and-conquer, and stop-and-chop phaco techniques in microincision coaxial cataract surgery. *J. Cataract Refract Surg.* 2013. vol. 39. no 10. P. 1463-1469.
6. Kelman C.D. Phacoemulsification and aspiration: A progress report. *Am. J. Ophthalmol.* 1969. vol. 67. no 4. P. 464-477.
7. Horta G.A., Horta R.C., Steinfeld K., Koch C.R., Mello G.R., Kara-Junior N. Ultrasound power and irrigation volume in different lens opacity grades: comparison of femtosecond laser-assisted cataract surgery and conventional phacoemulsification. *Clinics (Sao Paulo).* 2019. vol. 74. P. e1294.
8. Азнабаев Б.М., Дибаяев Т.И., Мухамадеев Т.Р., Идрисова Г.М., Мухаметов Р.Г. Современный взгляд на этап ирригации-аспирации кортикальных масс при факоэмульсификации. *Медицинский вестник Башкортостана.* 2018. Т. 13. № 1. С. 102-105.
9. Азнабаев Б.М., Дибаяев Т.И., Мухамадеев Т.Р., Янбухтина З.Р., Рахимов А.Ф., Идрисова Г.М. Способ аспирации кортикальных масс и устройство для его осуществления // Патент РФ, № 2679305. Патентообладатель Закрытое акционерное общество «Оптимедсервис». 2019. Бюл. № 4.
10. Азнабаев Б.М., Дибаяев Т.И., Мухамадеев Т.Р., Идрисова Г.М. Оценка эффективности новой системы для удаления кортикальных масс при факоэмульсификации в эксперименте // *Современные технологии в офтальмологии.* 2018. № 5. С. 12-14.
11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 18. III. 1986. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.worldlii.org/int/other/treaties/COETSER/1986/1.html> (дата обращения 30.04.2022).
12. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. Микроскопическая техника: Руководство. М.: Медицина, 1996. 544 с.