

Сведения об авторах статьи:

Дибаяв Тагир Ильдарович – к.м.н., доцент кафедры офтальмологии с курсом ИДПО ВО ФГБОУ БГМУ, руководитель отдела координации научных исследований ЗАО «Оптимедсервис». Адрес: г. Уфа, ул. 50 лет СССР, 8. E-mail: dibaev@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-7448-6037.

Вавинов Александр Сергеевич – старший лаборант кафедры офтальмологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ, младший научный сотрудник отдела координации научных исследований ЗАО «Оптимедсервис». Адрес: г. Уфа, ул. 50 лет СССР, 8. E-mail: a.s.vafiev@gmail.com. ORCID: 0000-0002-0541-3248.

Исмагилов Тимур Наилевич – клинический ординатор кафедры офтальмологии с курсом ИДПО ВО ФГБОУ БГМУ, младший научный сотрудник отдела координации научных исследований ЗАО «Оптимедсервис». Адрес: г. Уфа, ул. 50 лет СССР, 8. E-mail: ismagilov-timur@bk.ru. ORCID: 0000-0003-4132-4979.

ЛИТЕРАТУРА

1. Интраоперационная оптическая когерентная томография в изучении микроструктурных изменений заднего отдела глаза при витрэктомии / Б. М. Азнабаев [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. – 2018. – №73. – С. 19-22.
2. Азнабаев, Б.М. Оптическая когерентная томография + ангиография в диагностике, терапии и хирургии глазных болезней / Б.М. Азнабаев, Т.Р. Мухамедеев, Т.И. Дибаяв. – М.: Август-Борг, 2019. – 352 с.
3. Ультразвуковая витрэктомия: экспериментальные аспекты / Б.М. Азнабаев [и др.] // X Российский общенациональный офтальмологический форум: сборник трудов научно-практической конференции с международным участием. – М.: Апрель, 2017. – С. 501-505.
4. Экспериментальное исследование производительности ультразвукового витреотома / Б.М. Азнабаев [и др.] // Катарактальная и рефракционная хирургия. – 2017. – Т. 17, № 2. – С. 48-51.
5. Retinal lesions experimentally produced by intravitreal ultrasound / S. Bopp [et al.] // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 1993. – No. 231. – P. 295-302.
6. Charles, S. Vitreous Microsurgery / S. Charles, J. Calzada, B. Wood. – Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. – 2011. – 259 p.
7. Ehlers, J.P. Outcomes of Intraoperative OCT-Assisted Epiretinal Membrane Surgery from the PIONEER Study / J.P. Ehlers, M. Khan, D. Petkovsek // Ophthalmology Retina. – 2018. – No. 2. – P. 263-7.
8. Kumar, V. Intraoperative Optical Coherence Tomography (OCT): A new frontier in Vitreoretinal Surgery / V. Kumar, A. Gadkar, P. Chandra // Delhi Journal of Ophthalmology. – 2016. – No. 26. – P. 192-4.
9. Mohamed, S. Review of Small Gauge Vitrectomy: Progress and Innovations / S. Mohamed, C. Claes, C.W. Tsang // Journal of Ophthalmology. – 2017. – No. 4. – P. 1-9.
10. Pavlidis, M. Two-Dimensional Cutting (TDC) vitrectomy: In vitro flow assessment and prospective clinical study evaluating core vitrectomy efficiency versus standard vitrectome / M. Pavlidis // Journal of Ophthalmology. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1-6.
11. Performance analysis of a new hypersonic vitrector system / P.E Stanga [et al.] // Plos One. – 2017. – No. 12. – P. 1-15.

REFERENCES

1. Intraoperative optical coherence tomography in the study of microstructural changes of posterior segment of the eye during vitrectomy / B.M. Aznabae [et al.] // Bashkortostan Medical Journal. – 2018. – No 1. – p. 19-22. (in Russ.)
2. Aznabae, B.M. Optical coherence tomography + eye angiography in the diagnosis, therapy and surgery of eye diseases / B.M. Aznabae, T.R. Mukhamadeev, T.I. Dibaev. – Moscow: August Borg. – 2019. – 352 p. (in Russ.)
3. Ul'trazvukovaya vitrektomiya: eksperimental'nye aspekty / B.M. Aznabae [i dr.] // X Rossijskij obshchenacional'nyj oftal'mologicheskij forum. Sbornik trudov nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem. – Moskva. – 2017. – S. 501-505. (in Russ.)
4. Eksperimental'noe issledovanie proizvoditel'nosti ul'trazvukovogo vitreotoma / B.M. Aznabae [i dr.] // Kataraktal'naya i refrakcionnaya hirurgiya. – 2017. – Tom 17, № 2. – С. 48-51. (in Russ.)
5. Retinal lesions experimentally produced by intravitreal ultrasound / S. Bopp [et al.] // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. – 1993. – No. 231. – P. 295-302. (in Eng.)
6. Charles, S. Vitreous Microsurgery / S. Charles, J. Calzada, B. Wood. – Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. – 2011. – 259 p. (in Eng.)
7. Ehlers, J.P. Outcomes of Intraoperative OCT-Assisted Epiretinal Membrane Surgery from the PIONEER Study / J.P. Ehlers, M. Khan, D. Petkovsek // Ophthalmology Retina. – 2018. – No. 2. – P. 263-7. (in Eng.)
8. Kumar, V. Intraoperative Optical Coherence Tomography (OCT): A new frontier in Vitreoretinal Surgery / V. Kumar, A. Gadkar, P. Chandra // Delhi Journal of Ophthalmology. – 2016. – No. 26. – P. 192-4. (in Eng.)
9. Mohamed, S. Review of Small Gauge Vitrectomy: Progress and Innovations / S. Mohamed, C. Claes, C.W. Tsang // Journal of Ophthalmology. – 2017. – No. 4. – P. 1-9. (in Eng.)
10. Pavlidis, M. Two-Dimensional Cutting (TDC) vitrectomy: In vitro flow assessment and prospective clinical study evaluating core vitrectomy efficiency versus standard vitrectome / M. Pavlidis // Journal of Ophthalmology. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1-6. (in Eng.)
11. Performance analysis of a new hypersonic vitrector system / P.E Stanga [et al.] // Plos One. – 2017. – No. 12. – P. 1-15. (in Eng.)

УДК 617.7-001.15

© Р.Р. Ямгутдинов, К.С. Мочалов, Т.Р. Мухамедеев, 2020

Р.Р. Ямгутдинов^{1,2}, К.С. Мочалов¹, Т.Р. Мухамедеев^{1,3}
ОКСИДАТИВНЫЙ СТАТУС СЕТЧАТКИ ПОСЛЕ ЭНДОВИТРЕАЛЬНОГО
СВЕТОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Минздрава России, г. Уфа

²ГБУЗ РБ «Городская клиническая больница №10», г. Уфа

³ЗАО «Оптимедсервис», г. Уфа

Цель – изучить изменения оксидативного статуса крови из центральной вены сетчатки после эндовитреального светового воздействия.

Материал и методы. Люминолзависимая и железоиндуцированная хемилюминесценция цельной крови и сыворотки крови из центральной вены сетчатки кролика после экспериментальной эндоиллюминации с интенсивностью 50% и 100%.

Результаты. Установлено, что под действием эндовитреального светового излучения максимальной интенсивности происходят усиление генерации активных форм кислорода в крови и увеличение антиокислительной активности плазмы крови.

Вывод. Оксидативный стресс может являться одним из факторов фототоксического действия на сетчатку эндовитреальных источников освещения.

Ключевые слова: эндоиллюминация, витрэктомия, витреоретинальная хирургия, фототоксичность, хемилюминесценция, оксидативный статус.

R.R. Yamgutdinov, K.S. Mochalov, T.R. Mukhamadeev

OXIDATIVE STATUS OF RETINA AFTER ENDOVITREAL ILLUMINATION

The goal was to study changes in the oxidative status of blood from the central retinal vein after endovitreal illumination.

Material and methods: luminol-dependent and iron-induced chemiluminescence of whole blood and blood serum from the central retinal vein of a rabbit after experimental endoillumination with an intensity of 50% and 100%.

Results and discussion: we found that under the influence of endovitreal illumination there is an increase in the generation of reactive oxygen species in the blood and an increase in the antioxidant activity of blood plasma, which depends on the endoillumination intensity.

Conclusion: oxidative stress can be one of the factors of the phototoxic effect of endovitreal light sources on the retina.

Key words: endoillumination, vitrectomy, vitreoretinal surgery, phototoxicity, chemiluminescence, oxidative status.

Витреоретинальная хирургия является одним из наиболее сложных разделов офтальмологии. Она включает в себя широкий спектр высокотехнологичных вмешательств на стекловидном теле, а также на самой высокодифференцированной структуре глаза – сетчатке. Одним из основных условий для успешного проведения данного типа операций является хорошая визуализация внутриглазных структур. Для решения этой задачи созданы и постоянно совершенствуются системы эндоиллюминации.

Основным стимулом для создания новых источников освещения послужил переход к малым доступам (25G, 27G). Однако увеличение допустимой мощности привело к увеличению токсического действия света на сетчатку [2]. Выделяют две основные формы фототоксичности: тепловую (термическую) и фотохимическую. Однако считается, что при проведении эндовитреальных вмешательств большее значение имеет именно фотохимическая токсичность [1].

Согласно литературным данным, чувствительность нейроэпителия и пигментного эпителия сетчатки к фотоповреждению обусловлена наличием в них всех факторов, которые необходимы для реакции свободнорадикального окисления – окрашенные вещества, поглощающие свет (фотосенсибилизаторы), субстраты окисления, а также кислород [4].

Среди механизмов фототоксичности особого внимания заслуживают процессы, связанные со сбоями в регуляции активных форм кислорода (АФК). Активные формы кислорода являются одной из разновидностей свободных радикалов (СР) и выступают в качестве необходимых регуляторов активности клеток, медиаторов воспаления и участников репаративных процессов [5]. Вместе с тем их избыточное количество лежит в основе феномена оксидативного стресса. Оксидативный стресс являет-

ся универсальным звеном в развитии ряда патологических процессов [3]. Тесная связь генерации активных форм кислорода с воспалительными, деструктивными и регуляторными процессами открывает возможность для исследования роли оксидативных процессов при негативных изменениях структур глаза, в том числе при воздействии источников излучения, используемых для операций.

С учетом сказанного целью работы явилось исследование оксидативного статуса сетчатки после эндовитреального светового воздействия.

Материал и методы

Процессы оксидативного стресса при различных воздействиях охватывают не только очаги его первоначального возникновения, но и распространяются на отдаленные ткани систем органов. Исходя из этого, была исследована активность венозной крови как индикатора, отражающего процессы развития оксидативного стресса при эндовитреальном световом воздействии. Двум кроликам под местной анестезией через порт 25G в проекции плоской части цилиарного тела с помощью канюли с изменяющимся диаметром 25G/40G (MedOne Surgical, США) отбирали кровь из центральной вены сетчатки (ЦВС) в пластиковую пробирку с антикоагулянтом. В качестве антикоагулянта использовали гепарин, который разводили физиологическим раствором в 10 раз. Пробы крови в количестве 0,1 мл добавляли к 0,01 мл раствора гепарина (5 ед. гепарина). Далее в порт устанавливали эндоосветитель, дистальный конец которого располагали на расстоянии 4 мм от сетчатки. Экспозиция эндоиллюминации у первого кролика составила 60 минут при 100% интенсивности (16 кД/м²), у второго – 60 минут при 50% интенсивности (8 кД/м²). После окончания светового воздействия повторно отбирали кровь из ЦВС вышеописанным способом.

Оценка генерации АФК проводилась методом люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) цельной крови. При взаимодействии активных форм кислорода выделяются кванты света – хемилюминесценция (ХЛ). Реакции с образованием света избирательно усиливаются в присутствии специального соединения – люминола. Маточный раствор люминола (молекулярная масса 177,16 г/моль) разводили в диметил-сульфоксиде (DMSO). Непосредственно в исследовании использовали рабочий раствор люминола, который получали путем разведения 0,5 мл маточного раствора люминола в 500 мл физиологического раствора (рН 7,0-7,2 ед.). Регистрация ЛЗХЛ позволяет определить интенсивность образования активных форм кислорода и процессы оксидативного стресса.

При подготовке исследования рабочий раствор люминола инкубировали в термостате при температуре 37°C. При исследовании образцы крови в объеме 0,1 мл добавляли в 2 мл рабочего раствора люминола, смешивали и помещали в прибор – хемилюминометр. Измерение ЛЗХЛ проводили в течение 3 мин в термостатируемой камере прибора при 37°C.

Регистрацию свечения проводили на приборе «ХЛМ-003» (Уфимский государственный авиационный технический университет). Для оценки оксидативного статуса анализировали параметры светосуммы S (интегральной характеристики свечения) и максимальной амплитуды медленной вспышки I_{max}. Данные ХЛ при эндовитреальном световом воздействии сравнивались с данными ХЛ до воздействия, показатели которого принимались за 100%.

Кроме исследования ЛЗХЛ также исследовалась хемилюминесценция сыворотки крови для определения ее антиокислительного статуса. Для этого из образцов крови кролика получали сыворотку посредством центрифугирования (1500 оборотов в течение 15 минут). Полученную сыворотку в объеме 0,5 мл добавляли в 20 мл фосфатного буфера. Состав фосфатного буфера: K₂HPO₄, KCl, цитрат натрия. Пробы сыворотки с буфером исследовали на хемилюминометре. Хемилюминесценцию инициировали введением 1 мл 50 мМ сернокислого железа (FeSO₄·7H₂O) – железиндуцированная хемилюминесценция (ЖХЛ). Интенсивность ЖХЛ характеризует способность липидов крови подвергаться перекисному окислению в зависимости от антиокислительного статуса сыворотки крови.

Статистическая обработка проводилась с применением непараметрических методов.

Образцы сравнивались между собой посредством теста Манна–Уитни. Результаты на уровне значимости $p \leq 0,05$ принимались в качестве статистически достоверных.

Результаты и обсуждение

После проведенной процедуры светового воздействия полной интенсивности происходило усиление генерации активных форм кислорода, то есть осуществлялась активация функционально-метаболического состояния клеток – стимуляция кислородзависимого метаболизма: в 7 раз увеличилась S и в 6,5 раза I_{max} (табл. 1). Уменьшение интенсивности применяемых источников уже не приводило к статистически значимым изменениям параметров хемилюминесценции крови. Действие источников используемой интенсивности, очевидно, уже не затрагивало генерацию активных форм кислорода в крови, что свидетельствовало о наличии уровня оксидативных процессов, сопоставимого с контрольными значениями.

Таблица 1
Параметры люминол-зависимой хемилюминесценции до и после светового воздействия, %

Исследуемый параметр	50% интенсивность эндоиллюминации		100% интенсивность эндоиллюминации	
	до	после	до	после
S	100	170,1	100	710,1*
I _{max}	100	143,2	100	650,3*

* Различие с контролем статистически значимо при $p \leq 0,05$.

Развитие оксидативного стресса приводит к изменению активности ферментных систем, в частности каталазы, пероксидазы и др., функциональное назначение которых заключается в регуляции и предотвращении избыточного образования свободных радикалов. Нарушение систем окислительного метаболизма, образование активных форм кислорода приводит к усилению ферментативных систем, что находит отражение в показателях системы крови – ее антиокислительной активности.

Результаты исследования являются предварительной оценкой оксидативных процессов при воздействии источников излучения разной интенсивности, их фототоксического эффекта. Они показали, что после проведения процедуры светового воздействия полной интенсивности происходило снижение ЖХЛ (S уменьшилась в 3,2 раза и I_{max} в 1,2 раза), что может характеризовать активацию антиокислительных систем организма, направленных на его защиту от чрезмерного образования свободных радикалов и реакций перекисного окисления липидов. В то же время, проведение процедуры при 50-процентной интенсивности практически не оказывало статистически достоверного воздействия на

ЖХЛ, то есть не затрагивало активацию антиокислительных систем организма (табл. 2). Есть основания полагать, что источники света с такой интенсивностью уже не могли вызывать повышенную активность ферментов антиоксидантных систем так, как это происходило при полной интенсивности.

Таблица 2

Параметры железоиндуцированной хемилюминесценции до и после светового воздействия, %

Исследуемый параметр	50% интенсивность эндоиллюминации		100% интенсивность эндоиллюминации	
	до	после	до	после
S	100	97,7	100	31,6*
I _{max}	100	104,2	100	84,9*

* Различие с контролем статистически значимо при $p \leq 0,05$.

Заключение

Установлено, что стопроцентная интенсивность светового излучения способна приводить к усилению генерации активных форм кислорода в крови и увеличению антиоксидательной активности плазмы крови, что может рассматриваться как вероятная защитная реакция в ответ на интенсификацию оксидативных процессов. Излучение в половину меньшей интенсивности уже не приводит к таким изменениям. Таким образом, оксидативный стресс может являться одним из факторов фототоксического действия на сетчатку эндотральных источников освещения.

Сведения об авторах статьи:

Ямгутдинов Ринат Радикович – ассистент кафедры офтальмологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России; врач-офтальмолог ГБУЗ РБ ГКБ №10 г. Уфы. Адрес: г. Уфа, ул. Кольцевая, 47. E-mail: yamgrin@gmail.com. ORCID: 0000-0001-7316-8291.

Мочалов Константин Сергеевич – к.б.н., заведующий центральной научно-исследовательской лабораторией, доцент кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: kostja.mochalov@yandex.ru. ORCID: 0000-0003-3078-2464.

Мухаммадеев Тимур Рафаэльевич – д.м.н., профессор кафедры офтальмологии с курсом ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. E-mail: photobgmu@gmail.com. ORCID: 0000-0003-3078-2464.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эндоиллюминация в ходе витреальной хирургии – эволюция вопроса и особенности применения на современном этапе / С.Н. Казиев [и др.] // Практическая медицина. – 2013. – Т. 70. – С. 10-12.
2. Vitreoretinal instruments: vitrectomy cutters, endoillumination and wide-angle viewing systems / P.R. Chaves de Oliveira [et al.] // International Journal of Retina and Vitreous. - 2016. - Vol. 28.-№2.- P. 1-15.
3. Liochev, S.I. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging // S.I. Liochev // Free Radic Biol Med. - 2013. – Vol. 60. - P. 1-4.
4. McCannel, C.A. Advanced in endoillumination / C.A. McCannel // Retinal physician. – 2015. – Vol. 12. – P. 9-10.
5. Turrens, J.F. formation of reactive oxygen species / J.F. Turrens // Journal of Physiology. – 2003. – Vol. 552. – P. 335-44.

REFERENCES

1. Endoillumination in the course of vitreal surgery – history of the issue and administration details in the modern period / S.N. Kaziev [et al.] // Prakticheskaya meditsina. 2013; (70): 10-12. (In Russ).
2. Vitreoretinal instruments: vitrectomy cutters, endoillumination and wide-angle viewing systems / P.R. Chaves de Oliveira [et al.] // International Journal of Retina and Vitreous. 2016; 1-15.
3. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging // Liochev S.I. // Free Radic Biol Med. 2013; (60): 1-4.
4. McCannel, C.A. Advanced in endoillumination / C.A. McCannel // Retinal physician. 2015; (12): 9-10.
5. Turrens, J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species / J.F. Turrens // Journal of Physiology. 2003; (552): 335-44.