

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 617.715

**Морфологические и биомеханические изменения склеры после воздействия диодного лазера. Экспериментальное исследование**

А.В. Милингерт, С.А. Борзенко, Т.В. Соколовская, А.Н. Бессарабов

ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва

**РЕФЕРАТ**

**Цель.** Исследовать морфологические и биомеханические изменения склеры после воздействия диодного лазера в эксперименте.

**Материал и методы.** Исследовано 12 изолированных фрагментов склеры 12 кадаверных глаз человека в возрасте от 60 до 70 лет. Среднее значение передне-задней оси (ПЗО) кадаверных глаз – 23,56±3,06 мм (от 20,05 до 26,62). Критериями исключения являлись: глаза с травмами, оперативными вмешательствами ранее, а также с общими соматическими заболеваниями из анамнеза. Образцы склеры выкраивались микрохирургическим лезвием из заднего полюса глаза, после чего подвергались воздействию диодного лазера (длина волны – 810 нм., энергия E – 900 мДж, экспозиция – 5 с.) Обработанные лазером фрагменты склеры культивировались в среде и далее транспортировались в лабораторию на биомеханические испытания на испытательной машине Инстрон и на морфологические исследования с использованием электронного микроскопа Quanta 200 3D.

**Результаты.** Исследования биомеханических свойств склеры заднего полюса глаза показали увеличение прочности и Модуля Юнга

Офтальмохирургия.– 2017.– № 2.– С. 44–47.

во всех образцах ткани. Диодное лазерное воздействие приводит к выраженным морфологическим изменениям склеральной ткани.

**Выводы.** 1. Прочностные показатели образцов склеральной ткани после воздействия диодного лазера увеличиваются на 30% у всех лиц вне зависимости от рефракции глаза, что может иметь значение при разработке новых методов лечения глаукомной оптиконейропатии.

2. Наименьшими биомеханическими характеристиками обладают фрагменты склеры с миопическим типом рефракции, что обуславливает выраженные изменения биомеханического статуса изначально по сравнению с другими типами рефракции.

3. Диодное лазерное воздействие приводит к выраженным морфологическим изменениям склеры, что на биомеханическом уровне сопровождается увеличением прочностных характеристик ткани.

**Ключевые слова:** склера, диодный лазер, биомеханические показатели, морфология. ■

**Авторы не имеют финансовых или имущественных интересов в упомянутых материале и методах.**

**ABSTRACT****The morphological and biochemical changes in the sclera after exposure to the laser diode. Experimental study**

A.V. Milingert, S.A. Borzenok, T.V. Sokolovskaya, A.N. Bessarabov

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow

**Purpose.** To investigate the morphological and biomechanical changes in the sclera after exposure to diode laser in the experiment.

**Material and methods.** The study included 12 isolated fragments of human cadaver sclera of 12 eyes aged 60 to 70 years. [Axial length (AL) is 23.56±3.06mm (20.05-26.62)]. Exclusion criteria were: eye injuries, surgical interventions before, as well as the general anamnesis of medical illness. Samples of sclera were cut out with a microsurgical blade from the posterior pole of the eye, then the scleral fragments were exposed to the diode laser ALOD-1 (Russia) (energy E=900mJ, exposure time 5sec). Fragments of the sclera treated earlier by the laser were cultivated in the medium and then transported to a laboratory for biomechanical testing on an Instron testing machine, and morphological studies using electron microscope Quanta 200 3D.

**Results.** The study of biomechanical properties of posterior pole of sclera after the exposure to diode laser showed an increase in strength and indices Jung's modulus (JM) in all tissue samples regardless of the refraction of the eye. The morphological studies using the electron

microscope Quanta 200 3D. diode laser exposure leads to pronounced morphological changes in the scleral tissue.

**Conclusions.** Strength properties of samples of scleral tissue after the exposure to the diode laser increased by 30% in all persons (regardless of the refraction of the eye), which may be relevant for the development of new methods in treatment of glaucomatous optic neuropathy.

The lowest biomechanical characteristics are detected in the fragments of the myopic type sclera that causes pronounced changes in the biomechanical status initially in comparison with other types of refraction.

Modeling of the biomechanical properties (JM, strength) in the most prognostically dangerous areas (the posterior pole of the eye), enables a future development of a method of invasive impact on the fibrous membrane of the eye in open-angle glaucoma.

**Key words:** sclera, diode laser, biomechanical parameters, morphology. ■

**No author has a financial or proprietary interest in any material or method mentioned.**

The Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery.– 2017.– No. 2.– P. 44–47.

Несмотря на имеющиеся успехи, достигнутые в ранней диагностике и лечении глаукомы, доля больных с глаукомой неуклонно увеличивается [12]. Предполагают, что изменение эластичности и упругости склеральной оболочки может являться одним из ключевых факторов развития глаукомы [1, 5-9, 13, 18, 20].

Большинство хирургических вмешательств при терминальной глаукоме травматичны и направлены на коррекцию гидродинамики и ригидности склеральной оболочки глаза [14, 17, 19]. По мнению Светловой О.В. с соавт. (2003) уменьшение ригидности склеральной оболочки глаза может происходить за счет изменения наружных высокоригидных слоев склеры и эффективного включения в работу более глубоких ее слоев, не потерявших своих упругоэластических свойств [10, 11, 15-17]. Контактная транссклеральная диод-лазерная циклофотокоагуляция (КТДЦК) в последние годы получила широкое распространение как метод, позволяющий не только снизить офтальмотонус, но и купировать болевой синдром [2-4]. Однако биомеханические и морфологические исследования фиброзной оболочки глаза после воздействия диодного лазера не теряют свою актуальность и в настоящий момент.

Разрабатываемые сегодня биомеханические модели оказываются весьма полезными для разработки способов профилактики и лечения различных глазных заболеваний, следовательно, изучение биомеханических свойств склеры позволит создать и разработать новые методы лечения глаукоматозной оптико-нейропатии [21].

## ЦЕЛЬ

Исследовать морфологические и биомеханические изменения склеры после воздействия диодного лазера с длиной волны 810 нм в эксперименте.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовано 12 изолированных фрагментов склеры 12 кадаверных

глаз человека; возраст – от 60 до 70 лет, 4 – мужчин, 2 – женщин.

Среднее значение передне-задней оси (ПЗО) кадаверных глаз –  $23,56 \pm 3,06$  мм (20,05-26,62), измерение проводилось с помощью электронного штангенциркуля (Неусо, Германия). Исходя из данных ПЗО, все кадаверные глаза были разделены на группы по типу осевой рефракции глаз. С гиперметропическим типом рефракции – 4 глаза, с миопическим типом рефракции – 4 глаза, с эмметропическим типом рефракции – 4 глаза. Критериями отбора кадаверных глаз являлись наивысшая атропиновая проба и срок забора материала до 14 часов.

Критериями исключения являлись глаза с травмами, оперативными вмешательствами ранее, наличие в анамнезе общих заболеваний соединительной ткани.

Образцы склеры стандартной ширины 5 мм выкраивались микрохирургическим лезвием из заднего полюса глаза, после чего подвергались воздействию диодного лазера АЛОД-1 (Россия) с длиной волны 810 нм. (энергия  $E = 900$  мДж, экспозиция – 5 с). Контрольной группой являлись образцы склеры этих же глаз без произведения воздействий на них.

Затем фрагменты склеры культивировались в среде с 96% содержанием DMEM/F12, 3% фетальной телячьей сывороткой и 1% содержанием антибиотиков. Срок культивирования составил 14 дней со срока смены среды каждые 2 дня. Исследование проводилось при поддержке центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова».

Во время транспортировки фрагментов склеры в лабораторию для биомеханических испытаний использовалась среда Борзенка-Мороз для хранения роговицы.

Биомеханические испытания образцов склеры проводились в однократном режиме нагружения, вплоть до разрыва на универсальной испытательной машине Инстрон-3322. На экране монитора фиксировалась кривая зависимости удлинения образца от приложенной нагрузки, после обработки которой вычислялись соответствующие упруго-прочност-

ные показатели склеры. Исследования проводились в лаборатории прочности и пластичности металлических и композиционных материалов и наноматериалов № 10 ФГБУ «ИМЕТ РАН им. А.А. Байкова» (зав. лабораторией – к.т.н. Севостьянов М.А.).

После проведения биомеханических испытаний склеральная ткань опускалась в 10% раствор формалина и исследовалась с помощью растрового ионно-электронного микроскопа Quanta 200 3D. Исследования проводились в ФГБУ «НИИ-ЭМ им. Н.Ф. Гамалеи».

С помощью сканирующего электронного микроскопа Quanta 200 3D был проведен анализ морфологии склеральной ткани после лазерного воздействия. Для проведения электронной сканирующей микроскопии образцы склеральной ткани подвергались напылению золотом до 1 мкм при  $P=10^{-2}$  АТМ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При исследовании биомеханических свойств фрагментов склеры заднего полюса глаза после диод-лазерного воздействия отмечено увеличение показателей прочности и Модуля Юнга. При сравнении с контрольной группой прочностные показатели склеральной ткани после воздействия диодного лазера достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличивались и составили  $17,3 \pm 1,1$  МПа у лиц с гиперметропическим типом осевой рефракции,  $13,6 \pm 1,8$  МПа – с миопическим типом осевой рефракции,  $17,1 \pm 1,4$  МПа – с эмметропическим типом (табл. 1).

Величина Модуля Юнга достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличивалась в образцах склеры, подвергнутых ранее воздействию лазера, и составила  $49,1 \pm 2,1$  МПа у лиц с гиперметропическим типом осевой рефракции,  $32,2 \pm 2,8$  МПа – с миопическим типом осевой рефракции,  $48,9 \pm 1,5$  МПа – с эмметропическим типом рефракции (табл. 2).

Показатели прочности и МЮ увеличиваются во всех образцах скле-

### Для корреспонденции:

Милингерт Анастасия Валерьевна, аспирант  
E-mail: milingert@yandex.ru

Таблица 1

**Прочность склеры, Мпа ( $M \pm \sigma$ ), после лазерного воздействия на глазах с различным типом осевой рефракцией**

	Гиперметропия	Эмметропия	Миопия
После лазера	17,3±1,1*	17,1±1,4	13,6±1,8*
Контроль	13,6±0,42*	12,7±1,2	10,1±1,2*

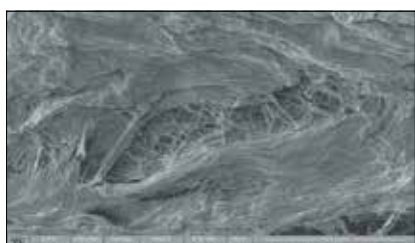
\* Различия между нормой, миопией и гиперметропией статистически достоверны,  $P \leq 0,05$ .

Таблица 2

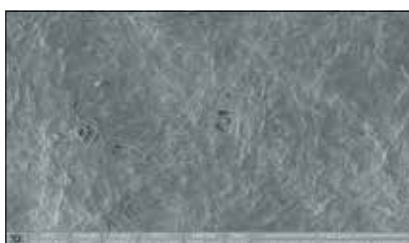
**Модуль Юнга, МПа ( $M \pm \sigma$ ), после лазерного воздействия на глазах с различным типом осевой рефракцией**

	Гиперметропия	Эмметропия	Миопия
После лазера	49,1±2,1*	48,9±1,5	32,2±2,8*
Контроль	37,3±2,4*	36,8±1,6	24,1±3,2*

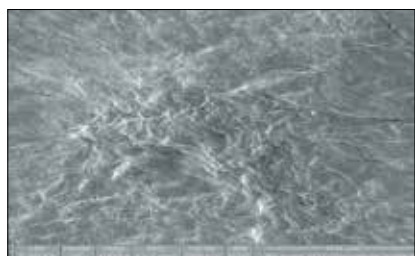
\* Различия между нормой, миопией и гиперметропией статистически достоверны,  $P \leq 0,05$ .



**Рис. 1.** Склера после воздействия диодного лазера у лиц с миопическим типом осевой рефракции. Ув. x1000



**Рис. 2.** Склера группы контроля у лиц с миопическим типом осевой рефракции. Ув. 1000



**Рис. 3.** Склера после воздействия диодного лазера у лиц с гиперметропическим типом осевой рефракции. Ув. x1000



**Рис. 4.** Склера группы контроля у лиц с гиперметропическим типом осевой рефракции. Ув. x1000

ры, вне зависимости от типа осевой рефракции. Наименьшими характеристиками обладают фрагменты склеры с миопическим типом осевой рефракции, что обуславливает изменения патогенетического статуса изначально.

При проведении электронной сканирующей микроскопии культивируемых образцов склеры по-

сле воздействия лазера выявлялись морфологические изменения склеры по сравнению с группой контроля (рис. 1-3).

Наиболее выраженные морфологические изменения склеры выявлены у лиц с миопическим типом осевой рефракции, проявляющиеся в частности утолщением коллагеновых волокон, хаотичным располо-

жением в пространстве, увеличением расстояния между пучками коллагеновых фибрилл и образованием тонких коллагеновых структур паутинообразной консистенции между волокнами (рис. 1, 2).

При проведении электронной сканирующей микроскопии культивируемых образцов склеры после воздействия лазера у лиц с гиперметропическим и эмметропическим типом осевой рефракции обнаружены морфологические изменения склеры при сравнении с группой контроля (рис. 3-6).

Морфологические изменения склеры проявлялись в утолщении коллагеновых структур, увеличении расстояния между пучками коллагеновых фибрилл и образовании единичных тонких паутинообразной консистенции коллагеновых структур между волокнами.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Исследование биомеханических свойств склеры заднего полюса глаза после воздействия диодного лазера показало увеличение показателей прочности и Модуля Юнга во всех образцах склеры в не зависимости от рефракции глаза. Полученные результаты демонстрируют высокую корреляционную связь прочности и Модуля Юнга (МЮ) во всех группах.

Инволюционные изменения склеры на морфологическом уровне сводятся к более плотной упаковке фибрилл, уплотнению основной цементирующей субстанции, в которой происходит качественное и количественное перераспределение гликозаминогликанов (ГАГ), однако после воздействия диодного лазера наблюдается утолщение коллагеновых волокон, увеличение расстояния между пучками коллагеновых фибрилл и образование единичных тонких паутинообразных коллагеновых структур между волокнами, в результате чего изменяются биомеханические параметры склеры.

Исходя из данных отечественной литературы, большинство хирургических вмешательств направлены на коррекцию гидродинамики и ригидности глазного яблока при далеко зашедших и терминальных стадиях глаукомы, являются травматичными и требуют длительного послеоперационного периода лечения. В настоящий момент офтальмологическое общество занимается поиском новых, малотравматичных способов лечения глаукомы и глаукомной оптиконейропатии. Учитывая изменения биомеханических свойств, данные настоящего исследования могут быть использованы для построения математической модели фиброзной оболочки глаза и позволят в дальнейшем разработать новые патогенетически направленные методы лечения глаукомной оптиконейропатии.

## ВЫВОДЫ

1. Прочностные показатели образцов склеральной ткани после воздействия диодного лазера увеличиваются на 30% у всех лиц вне зависимости от рефракции глаза, что может иметь значение при разработке новых методов лечения глаукомной оптиконейропатии.
2. Наименьшими биомеханическими характеристиками обладают

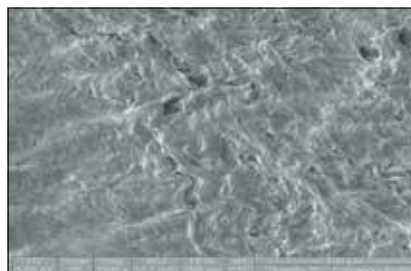


Рис. 5. Склеры после воздействия диодного лазера у лиц с эметропическим типом осевой рефракции. Ув. x1000

фрагменты склеры с миопическим типом рефракции, что обуславливает выраженные изменения биомеханического статуса изначально по сравнению с другими типами рефракции.

3. Диодное лазерное воздействие приводит к выраженным морфологическим изменениям склеры, что на биомеханическом уровне сопровождается увеличением прочностных характеристик ткани.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнян Л.Л. Роль биомеханических свойств глаза в определении целевого давления // Глаукома. – 2007. – № 3. – С. 60-67.
2. Бойко Э.В., Куликов А.Н., Скворцов В.Ю. Сравнительная оценка диод-лазерной термотерапии и лазеркоагуляции как методов циклодеструкции (экспериментальное исследование) // Практическая медицина. Офтальмология. – 2012. – Т. 1. – С. 175-179.
3. Егоров В.В., Сорокин Е.Л., Марченко А.Н. и др. Трансклеральная диодлазеркоагуляция цилиарного тела в лечении терминальной болевой глаукомы // Глаукома. – 2007. – № 4. – С. 142-144.
4. Егорова Э.В., Соколовская Т.В., Узунян Д.Г., Дробницкая А.А. Оценка результатов контактной трансклеральной диод-лазерной циклокоагуляции с учётом изменений цилиарного тела при исследовании методом ультразвуковой биомикроскопии у больных с терминальной глаукомой // Офтальмохирургия. – 2013. – № 3. – С. 72-77.
5. Журавлева А.Н. Склеральный компонент в глаукомном процессе // Глаукома: теории. Тенденции, технологии. НРТ клуб России. – 2009. – С. 195-200.
6. Засеева М.В. Морфофизиологические особенности склеры человека как ключевого звена в формировании уровня внутриглазного давления в норме и при // Морфология. – 2009. – № 5. – С. 5-10.
7. Затулина Н.И. Количественный анализ возрастных особенностей параметров склеры человека // Офтальмологический журнал. – 1988. – № 5. – С. 300.
8. Затулина Н.И. Соединительная ткань в патогенезе ПОУГ // VI Всесоюз. съезд офтальмологов: Тез. докл. – М., 1985. – Т. 2. – С. 26-28.



Рис. 6. Склеры группы контроля у лиц с эметропическим типом осевой рефракции. Ув. x1000

9. Иомдина Е.Н., Кошиц И.Н. Биомеханические исследования в современной офтальмологии // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2003. – № 9. – С. 25-29.
10. Котляр К.Е., Светлова О.В., Кошиц И.Н. Биомеханическое обоснование разработки современных методов лечения открытоугольной глаукомы // Фундаментальные исследования в технических университетах: Мат. науч.-технич. конф. – СПб., 1997. – С. 278-279.
11. Кошиц И.Н., Светлова О.В., Котляр К.Е. и др. Ригидность и эластичность фиброзной оболочки глаза. Биомеханические и клинические аспекты // Науч.-практ. конф. «Биомеханика глаза – 2009» МНИИ «ГБ им. Гельгольца: Сб.тр. – М., 2009. – С. 126-133.
12. Либман Е.С. Эпидемиологическая характеристика глаукомы // Глаукома. – 2009. – № 1 (приложение). – С. 2-3.
13. Пригожина А.Л. Патологическая анатомия и патогенез глаукомы. – М. Медицина, 1966. – 220 с.
14. Рябцева А.А., Сергушев С.Г., Хомякова Е.Н. и др. Лазерная гипотензивная непроникающая склеротомия // Биомеханика глаза – 2007: Сб. тр. МНИИ ГБ им. Гельгольца. – М., 2007. – С. 147-151.
15. Светлова О.В., Балашевич Л.И., Засеева М.В. и др. Физиологическая роль ригидности склеры в формировании уровня внутриглазного давления в норме и при глаукоме // Глаукома. – 2010. – № 1. – С. 26-40.
16. Светлова О.В., Кошиц И.Н., Рябцева А.А., Макаров Ф.Н. Патогенез открытоугольной глаукомы и инновационные динамические методы ранней диагностики (Ч. 1: Патогенез) // Глаукома: теории, тенденции, технологии. НРТ клуб России – 2012: X Международ. конгресс: Сб. науч. ст. – М., 2012. – С. 361-365.
17. Симановский А.И. Сравнительный анализ изменения биомеханических свойств склеры в процессе естественного старения и при развитии глаукоматозной патологии // Глаукома. – 2005. – № 4. – С. 13-19.
18. Синеок А.Е., Золотарев А.В., Карлова Е.В. К вопросу об эластичности и гистерезисе склеры // Науч.-практ. конф. «Биомеханика глаза – 2007»: Сб. тр. МНИИ ГБ им. Гельгольца. – М., 2007. – С. 106-111.
19. Arciniegas A., Amaya L.E. et al. Mechanical behavior of the sclera // Ophthalmologica. – 1986. – Vol. 193, № 1-2. – P. 45-55.
20. Egbert P.R., Fiadoyor S., Budenz D.L. et al. Diode laser transscleral cyclophotocoagulation as a primary surgical treatment for primary open-angle glaucoma // Arch. Ophthalmol. – 2001. – Vol. 119, № 3. – P. 345-350.
21. Sigal I.A., Flanagan J.G., Terting I., Etier C.R. Finite element modeling of optic nerve head biomechanics // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2004. – Vol. 45. – P. 4378-4387

Поступила 10.02.2016

