Оценка состояния электрогенеза сетчатки при ультрафиолетовом спектрофлуориметрическом исследовании глаза

В.В. Нероев¹, В.В. Гарькавенко², Л.А. Шапиро³, В.В. Салмин³

¹ ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

² КГБУЗ «Красноярская краевая офтальмологическая клиническая больница им. профессора П.Г. Макарова», ул. Никитина, д. 1в, Красноярск, 660011, Россия

³ ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого», ул. Партизана Железняка, д. 1, Красноярск, 660022, Россия

Цель работы — изучить влияние ультрафиолетового (УФ, 365 нм) облучения переднего отдела глаза в малых дозах ($1200 \text{ Дж} \cdot \text{м}^{-2}$), соответствующих режимам спектрофлуориметрического исследования зоны лимба и хрусталика, на биоэлектрическую активность сетчатки. **Материал и методы.** В группу исследования включены 25 добровольцев, в том числе 12 мужчин и 13 женщин, средний возраст составил $21,0 \pm 1,3$ года, без офтальмологической и соматической патологии. Всем участникам исследования проводили спектрофлуориметрическое исследование зоны лимба и хрусталика, а затем в различные сроки наблюдения оценивали состояние электрогенеза сетчатки. **Результаты.** После проведения спектрофлуориметрического исследования хрусталика и зоны лимба на всех этапах наблюдения изменений электрической активности сетчатки не обнаружено. Показатели амплитуды α -волны как до, так и после проведения спектрофлуориметрического исследования глаза варьировали от 75,2 до 86,2 мкВ. Значимых различий β -волны в исследуемых точках не наблюдалось. Индекс β/α на всех сроках наблюдения не имел значимых отличий от исходных показателей. **Заключение.** УФ-облучение (365 нм) переднего отдела глаза в дозах, не превышающих предельно допустимые значения в соответствии с СанПиН 5804-91, при спектрофлуориметрическом исследовании не оказывает влияния на функциональное состояние сетчатки, может считаться безопасным и использоваться в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова: флуоресценция; электроретинография; сетчатка

Конфликт интересов: отсутствует.

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Для цитирования: Нероев В.В., Гарькавенко В.В., Шапиро Л.А., Салмин В.В. Оценка состояния электрогенеза сетчатки при ультрафиолетовом спектрофлуориметрическом исследовании глаза. Российский офтальмологический журнал. 2020; 13 (2): 41–44.

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-2-41-44>

Assessment of retina electrogenesis in ultraviolet spectrofluorimetry of the eye

Vladimir V. Neroev¹, Victor V. Gar'kavenko², Ludmila A. Shapiro³, Vladimir V. Salmin³

¹ Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia

² Krasnoyarsk Makarov Regional Ophthalmological Clinical Hospital, 1 b, Nikitina St., Krasnoyarsk, 660011, Russia

³ V.F. Voino-Yasenevsky Krasnoyarsk State Medical University, 1, Partizana Zhelezniaka St., Krasnoyarsk, 660022, Russia
victor-unique@yandex.ru

Purpose was to study how ultraviolet (UV) light (365 nm) applied in low doses ($1200 \text{ J} \cdot \text{m}^{-2}$), corresponding to the regimens of spectrofluorimetric analysis of the limbus and lens area, to the anterior eye chamber, affects bioelectric activity of the retina. **Material and methods.** A group of 25 volunteers (12 men and 13 women aged 21.0 ± 1.3 years) with no signs of ophthalmological or somatic pathology underwent

spectrofluorimetric assessment of the limbus and lens area, followed by an evaluation of retina electrogenesis state. **Results.** We revealed no changes in the electric activity of the retina during the whole period of observation. The amplitude of A-wave varied from 75.2 mcV to 86.2 mcV both before and after the spectrofluorimetric examination. There were no significant changes in b-wave characteristics at any periods of investigation; b/a index did not demonstrate any difference from the baseline level. **Conclusion.** UV radiation (365 nm) of the anterior eye chamber in doses not exceeding those permitted by the SANPIN 5804-91 standard has no effect on the retinal function, should be considered safe, and can be used in future studies.

Keywords: fluorescence; electroretinography; retina

Conflict of interests: there is no conflict of interests.

Financial disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

For citation: Neroev V.V., Gar'kavenko V.V., Shapiro L.A., Salmin V.V. Assessment of retina electrogenesis in ultraviolet spectrofluorimetry of the eye. Russian ophthalmological journal. 2020; 13 (2): 41–4 (In Russian).

<https://doi.org/10.21516/2072-0076-2020-13-2-41-44>

Спектрофлуориметрия — перспективная методика диагностики заболеваний в офтальмологии [1]. Изученными направлениями применения флуоресцентных методов в офтальмологии являются диагностика катаракты и ишемических состояний роговицы при ношении контактных линз [2, 3]. Нами разработан и апробирован малогабаритный спектрофлуориметр с УФ-светодиодным возбуждением для диагностики состояния переднего отдела глаза [4, 5]. Известно, что большая часть УФ-излучения с длиной волны 320–350 нм интенсивно поглощается хрусталиком, тем не менее на сетчатку проникает часть излучения — не более 2 % [6]. Кроме того, при исследовании возникает люминесценция, которую видит пациент. Таким образом, на сетчатку может оказывать влияние не только видимое излучение люминесценции, но и УФ-излучение. Ультрафиолет не несет зрительной информации, но, как известно, может повреждать сетчатку глаза при интенсивном воздействии [7]. Доказано также, что длительное воздействие ультрафиолета в эксперименте с мышами может вызвать денатурацию сетчатки и в том числе макулярную дегенерацию [8, 9]. По данным других авторов, воздействие ультрафиолета А и В коротковолнового видимого (УФА, УФВ) излучения, даже из естественной среды, может вызвать образование активных форм кислорода и привести к окислительному повреждению клеток пигментного эпителия [10].

В настоящее время имеются противоречивые сведения о влиянии ультрафиолетового излучения с длиной волны 320–350 нм на функционирование сетчатки [11]. Одним из методов оценки функционального состояния сетчатки является регистрация электроретинограммы [12–14]. Клиническая электроретинография позволяет определить степень выраженности, глубину и распространенность патологического процесса в структурах сетчатки и обеспечить его раннее выявление [15, 16]. Нами была поставлена задача оценить общее влияние излучений, применяемых при спектрофлуориметрии глаза, на электрофизиологическое состояние сетчатки при безопасных дозах облучения хрусталика.

ЦЕЛЬ — оценить влияние УФА-излучения при спектрофлуориметрическом исследовании переднего отдела глаза на биоэлектрическую активность сетчатки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Спектрофлуориметрия проводилась по ранее описанной методике [4]. Наиболее важными параметрами воздействия УФА-излучения были: длина волны $\lambda = 365$ нм, интенсивность $I = 4$ мВт/см², мощность излучения $P = 1$ мВт, длительность воздействия $t = 30$ с. Таким образом, однократная доза облучения не превышала $H = I \cdot t = 1200$ Дж·м⁻², в то время как, согласно СанПиН 5804-91 [16], предель-

ная однократная суточная доза при облучении глаз и кожи лазерным излучением в спектральном диапазоне $315 < \lambda \leq 380$ нм составляет $H_{\text{плд}} = 8000$ Дж·м⁻².

Критерии включения добровольцев в исследование: отсутствие офтальмологической и соматической патологии, обязательное согласие на проведение спектрофлуориметрического и электрофизиологического исследования. Обследовано 25 добровольцев (12 мужчин и 13 женщин, средний возраст составил $21,0 \pm 1,3$ года). Функциональное состояние нейрорецепторных элементов сетчатки исследовали путем регистрации данных электроретинографии (ЭРГ). Изучали показатели амплитуд волн а и b, а также индекс b/a. Считается, что индекс b/a более устойчив к индивидуальным особенностям электрогенеза сетчатки и условиям, связанным с различными типами электродов, что позволяет сравнивать данные различных лабораторий [17]. Пациентам за час до проведения спектрофлуориметрического исследования были зарегистрированы данные ЭРГ на обоих глазах. После проведения спектрофлуориметрии глаза через час, через сутки и через 7 дней проводили повторную ЭРГ.

Электроретинограмму регистрировали портативной электрофизиологической установкой «Нейро-ЭРГ» (ООО «Нейрософт», г. Иваново, Россия). В качестве активного электрода использовали ретинографический электрод, закрепляя его на нижнем веке. Референтный электрод располагали на мочке уха пациента. Сопротивление под электродами не превышало 5 кОм. Световую стимуляцию проводили в условиях темновой адаптации с использованием мини-ганцфельд-сферы, позволяющей получить равномерный засвет сетчатки. Частота стимуляции составила 0,5 Гц, полоса пропускания усилителя — 2–200 Гц.

Методы статистического анализа. Обработка полученных данных проводилась методами непараметрической статистики с использованием программы Statistica (версия 8,0, StatSoft, Австралия — США). Описательная статистика представлена в виде медианы (Me) и межквартильного интервала (Q_1 ; Q_3). Для определения значимости различий при множественных сравнениях применяли непараметрический дисперсионный анализ для зависимых выборок (критерий Фридмана), для сравнения данных в двух выборках — критерий Манна — Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом КрасГМУ им. В.Ф. Войно-Ясенецкого 17.04.2019, выписка из протокола № 89/2019.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные ЭРГ обоих глаз имели классический вид, волны (а и b) хорошо выражены, что свидетельствует о хорошем

Рисунок. Записи ЭРГ правого и левого глаза до спектрофлуориметрического исследования

Figure. Electroretinograms of right and left eyes registered before spectrofluorimetry

функциональном состоянии ретинальных нейрорецепторных механизмов (рисунок).

До проведения спектрофлуориметрического исследования анализ показателей ЭРГ правого и левого глаза обследованных добровольцев не выявил статистически значимых различий ($p > 0,05$). Показатели ЭРГ до спектрофлуориметрического исследования представлены в таблице 1.

Во всех случаях перед проведением спектрофлуориметрии хрусталика и зоны лимба амплитуда волн b и индекс b/a на правом и левом глазу не имели различий ($p > 0,05$).

Показатели ЭРГ правого глаза после спектрофлуориметрического исследования через час, через сутки и через 7 дней представлены в таблице 2.

Показатели амплитуды a-волны как до, так и после проведения спектрофлуориметрического исследования глаза варьировали от 75,2 до 86,2 мкВ. Значимых различий показателей a-волны с исходным уровнем во всех точках исследования не выявлено ($\chi^2 = 2$, $p = 0,57$).

Абсолютные величины амплитуды b-волны в исследуемых точках отличались. Отмечался подъем абсолютной

величины через час, а также через 7 дней, однако значимых различий показателей b-волны с результатами, полученными до исследования, не обнаружено ($\chi^2 = 6,1$, $p = 0,1$).

Индекс b/a во все периоды наблюдения находился в пределах 1,18–1,78, без значимых отличий от исходных показателей ($\chi^2 = 4,8$, $p = 0,19$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изменений показателей ЭРГ (a-волна, b-волна, индекс b/a) при проведении спектрофлуориметрических исследований глаза не выявлено на всех этапах исследования. Поскольку, подобно лазерным источникам, светодиоды характеризуются высокой степенью монохроматичности излучения и обладают высокой яркостью, используемое устройство отвечает «Санитарным нормам и правилам устройства и эксплуатации лазеров» (СанПин 5804-91). Таким образом, спектрофлуориметрические исследования, проводимые с помощью малогабаритного прибора, не оказывают влияния на электрогенез сетчатки и могут использоваться в дальнейших исследованиях.

Литература/References

1. Rovati L., Docchio F. Autofluorescence methods in ophthalmology. J. Biomed. Opt. 2004; 9 (1): 9–21. doi: 10.1117/1.1628241
2. Vladimirova E.S., Salmin V.V., Salmina A.B., et al. Fluorescence diagnosis of the status of the human lens in vivo. Journal of Applied Spectroscopy. 2012; 79 (1): 126–30. doi: 10.20333/25000136-2014-1-39-43
3. Salmin V.V., Lazarenko V.I., Salmina A.B., Hovalyg M.Sh., Vladimirova E.S. Diagnostics of the cornea pathology by the laser-fluorescence spectroscopy method. Journal of Applied Spectroscopy. 2012; 4: 646–50. doi: 10.1007/s10812-012-9649-4
4. Гарькавенко В.В., Салмин В.В., Лазаренко В.И. и др. Определение тактики хирургии катаракты на основании данных спектрофлуориметрического исследования хрусталика. Российский офтальмологический журнал. 2017; 4: 16–9. doi: 10.21516/2072-0076-2017-10-4-16-19 [Gar'kavenko V.V., Salmin V.V., Lazarenko V.V., et al. Choosing the cataract surgery approach on the basis of spectrofluorometric examination of the lens. Russian ophthalmological journal. 2017; 4: 16–9 (in Russian). doi: 10.21516/2072-0076-2017-10-4-16-19]
5. Salmin V., Gar'kavenko V., Levchenko J. et al. UVA-induced autofluorescence spectroscopy in ophthalmology. In: Asia

Таблица 1. Показатели ЭРГ пациентов исследуемой группы до спектрофлуориметрического исследования (Me [Q₁; Q₃])

Table 1. Indexes of electroretinograms obtained in patients before spectrofluorimetry (Me [Q₁; Q₃])

Показатели Parameters	Правый глаз Right eye n = 25	Левый глаз Left eye n = 25
a-волна, мкВ a-wave, μV	75,80 [75,60; 76,20]	75,30 [75,10; 75,60]
b-волна, мкВ b-wave, μV	110,00 [104,00; 110,00]	110,00 [105,00; 112,00]
Индекс b/a Index b/a	1,42 [1,37; 1,46]	1,44 [1,39; 1,47]

Таблица 2. Амплитуда электроретинограммы пациентов исследуемой группы в различные сроки после проведения спектрофлуориметрии (Me [Q₁; Q₃])

Table 2. Changes in electroretinogram amplitude in patients underwent spectrofluorimetry (Me [Q₁; Q₃])

Показатели Parameters	До исследования Before study n = 25	Через час In 1 hour n = 25	Через сутки In 24 hours n = 25	Через 7 дней In 7 days n = 25
a-волна, мкВ a-wave, μV	75,8 [75,6; 76,2]	76,0 [75,6; 76,4]	75,8 [75,4; 76,2]	75,8 [75,6; 76,2]
b-волна, мкВ b-wave, μV	110 [104; 110]	108 [105; 115]	107 [105; 114]	110 [106; 114]
Индекс b/a Index b/a	1,42 [1,37; 1,46]	1,42 [1,39; 1,51]	1,42 [1,38; 1,51]	1,45 [1,39; 1,50]

- Communications and Photonics Conference 2014, OSA Technical Digest (online), paper ATh3A.203. <https://www.osapublishing.org/viewmedia.cfm?uri=ACPC-2014-ATh3A.203&seq=0>
6. *Weale R.A.* Age and the transmittance of the human crystalline lens. *Journal of physiology.* 1988; 395: 577–87.
 7. *Mainster M.A.* The spectra, classification, and rationale of ultraviolet-protective intraocular lenses. *Am. J. Ophthalmol.* 1986; 102: 727–32.
 8. *Glickman R.D.* Ultraviolet phototoxicity to the retina. *Eye Contact Lens.* 2011; 37 (4): 196–205. doi: 10.1097/ICL.0b013e31821e45a9
 9. *Yam J.C., Kwok A.K.* Ultraviolet light and ocular diseases. *Int. Ophthalmol.* 2014; 34: 383–400. doi: 10.1007/s10792-013-9791-x
 10. *Yao J., Bi H.E., Sheng Y., et al.* Ultraviolet (UV) and hydrogen peroxide activate ceramide-ER stress-AMPK signaling axis to promote retinal pigment epithelium (RPE) cell apoptosis. *Int. J. Mol. Sci.* 2013; 14:10355–68. doi: 10.3390/ijms140510355
 11. *Heilweil G., Komarowska I., Zemel E.* Normal physiological and pathophysiological effects of trypan blue on the retinas of albino rabbits. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2010; 51 (8): 4187–94. doi:10.1167/iovs.09-4675
 12. *Kwok A.K., Lai T.Y., Yeung C.K.* The effects of indocyanine green and endoillumination on rabbit retina: an electroretinographic and histological study. *Br. J. Ophthalmol.* 2005; 89: 897–900. doi: 10.1136/bjo.2004.061093
 13. *Зуева М.В., Цапенко И.В., Рябина М.В., Охоцимская Т.Д., Гринченко М.И.* Изменение функции нейронов сетчатки и глиальных клеток Мюллера у больных сахарным диабетом 2-го типа при лечении диабетической ретинопатии ингибитором ангиотензинпревращающего фермента. *Вестник офтальмологии.* 2013; 129 (3): 44–7. doi: 10.1016/j.visres.2017.03.013 [Zueva M.V., Tsapenko I.V., Ryabina M.V., Okhotsimskaya T.D., Grinchenko M.I. Changes of retinal neurons and Muller glial cells in patients with type II diabetes in treatment of diabetic retinopathy with angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Vestnik oftal'mologii.* 2013; 129 (3): 44–7 (in Russian). doi: 10.1016/j.visres.2017.03.013]
 14. *Veckeneer M., Overdam K., Monzer J.* Ocular toxicity study of trypan blue injected into the vitreous cavity of rabbit eyes. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2001; 239: 698–704. doi: 10.1007/s004170100341
 15. *Зуева М.В., Нероев В.В., Цапенко И.В. и др.* Топографическая диагностика нарушений ретиальной функции при ретмаотгенной отслойке сетчатки методом ритмической ЭРГ широкого спектра частот. *Российский офтальмологический журнал.* 2008; 1 (2): 18–23. [Zueva M.V., Neroev V.V., Tsapenko I.V., et al. The topographic diagnostics of retinal function disorders in rhegmatogenous retinal detachment by wide frequency range flicker electroretinography (ERG). *Russian ophthalmological journal.* 2008; 1 (2): 18–23 (in Russian)].
 16. СанПиН. Санитарные нормы и правила устройства и эксплуатации лазеров, 5804-91. Москва: Информационно-издательский центр Минздрава России, 1991. [SanPiN Sanitary standards and device rules and exploitation for laser, 5804-91. Moscow: Information and Publishing Center of the Ministry of Health of Russia; 1991 (in Russian)].
 17. *Perlman I.* Relationship between the amplitude of the b-wave and the a-wave as a useful index for evaluating the electroretinogram. *Br. J. Ophthalmol.* 1983; 67: 443–8.

Вклад авторов в работу: В.В. Нероев — научный консультант исследования; В.В. Гарькавенко — сбор материала, написание статьи; Л.А. Шапиро — статистическая обработка материала; В.В. Салмин — разработка спектрофлуориметра, разработка методики исследования.

Поступила: 28.06.2019
 Переработана: 24.10.2019
 Принята к печати: 10.11.2019

Originally received: 28.06.2019
 Final revision: 24.10.2019
 Accepted: 10.11.2019

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ/INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

ФГБУ «НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19, Москва, 105062, Россия

Владимир Владимирович Нероев — академик РАН, проф., д-р мед. наук, директор

КГБУЗ «Красноярская краевая офтальмологическая клиническая больница им. профессора П.Г. Макарова», ул. Никитина, д. 1в, Красноярск, 660011, Россия

Виктор Валерьевич Гарькавенко — канд. мед. наук, врач-офтальмолог ФГБОУВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого», ул. Партизана Железняка, д. 1, Красноярск, 660022, Россия

Людмила Афанасьевна Шапиро — доцент кафедры медицинской и биологической физики

Владимир Валерьевич Салмин — д-р физ.-мат. наук, доцент, заведующий кафедрой медицинской и биологической физики

Для контактов: Виктор Валерьевич Гарькавенко, victor-unique@yandex.ru

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia

Vladimir V. Neroev — Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Dr. of Med. Sci., director

Krasnoyarsk Makarov Regional Ophthalmological Clinical Hospital, 1 b, Nikitina st., Krasnoyarsk, 660011, Russia

Victor V. Gar'kavenko — Cand. of Med. Sci., MD, ophthalmologist Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, 1, partizana Zhelezniaka st., Krasnoyarsk, 660022, Russia

Ludmila A. Shapiro — Associate Professor, department of medical and biological physics

Vladimir V. Salmin — Dr. of Phys. Math. Sci., associate professor, head of department of medical and biological physics

Contact information: Victor V. Gar'kavenko, victor-unique@yandex.ru