

УДК: 615.216.84.03:617.713-001.41
DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.4.473

СРОКИ УДЕРЖАНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ КРАСИТЕЛЕЙ НА РЕЗАНОЙ РАНЕ РОГОВИЦЫ

Минина А.О. * – канд. ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-4176-4053); **Бокарев А.В.** – д-р ветеринар. наук, доц. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-4623-5388); **Пилипец Е.Я.** – асп. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-0735-523X); **Прудникова Е.В.** – канд. ветеринар. наук, асс. кафедры общей, частной и оперативной хирургии (ORCID: 0000-0002-9866-1231).

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

*Bluzma-nast@yandex.ru

Ключевые слова: крысы, резанные раны роговицы, флуоресцеин, рибофлавин, бенгальский розовый, лиссаминовый зеленый.

Keywords: rats, corneal incision wounds, fluorescein, riboflavin, bengal pink, lissamine green.

Поступила: 19.10.2023

Принята к публикации: 17.11.2023
Опубликована онлайн: 08.12.2023



РЕФЕРАТ

Проводили сравнительные исследования четырех основных офтальмологических красителей по их способности, после однократной кратковременной экспозиции, окрашивать резаную рану роговицы. Для исследования были отобраны 12 годовалых крыс линии «Вистар» массой 180-220 грамм. Из них сформировали 4 опытные группы по 3 крысы в каждой. Всем животным наносили резанные раны роговицы. Для обезболивания роговицы использовали 10,0% раствор лидокаина. Перед нанесением резаной раны животных вводили в наркоз препаратом «Севофлуран». Контроль глубины наносимой раны проводился визуально при помощи микроскопа при увеличении в 4-6 раз. Далее проводили окрашивание резаной раны роговицы различными красителями: животным 1 группы – флуоресцеином, 2 группы – рибофлавином, 3 группы – бенгальским розовым, 4 группы – лиссаминовым зеленым. Экспозиция всех красителей, до устранения излишков, составляла 1 минуту. Степень окрашивания роговицы оценивали и фотодокументировали сразу после устранения излишков красителей и далее через 10 мин., 20 мин., 30 мин., 60 мин., 90 мин., и 120 мин. Роговицу визуализировали и фотодокументировали при помощи микроскопа «jingleszen 315W» при увеличении $\times 6.0$. При длительных исследованиях целесообразно использовать бенгальский розовый, который визуализирует раневой дефект в течение 60 минут после окрашивания. Лиссаминовый зеленый следует использовать в случаях, когда необходим контраст между красителем и роговицей, и/или нижележащими структурами глаза. Флуоресцеин и рибофлавин достаточно быстро диффузно распространяются в окружающие ткани, а также окрашивают слезную пленку, что может давать ложноположительный результат при диагностике раневого дефекта роговицы.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В настоящее время в ветеринарной офтальмологии для исследования дефектов роговицы наиболее часто используется флуоресцеин. Он доступен, применяется в виде раствора и тест - полосок, с его помощью возможно проведение нескольких тестов одновременно [1, 2, 3].

В гуманной медицине помимо флуоресцеина используется бенгальский розовый и лиссаминовый зеленый. [4, 5, 6].

В некоторых случаях вместо флуоресцеина используют рибофлавин [7].

У каждого красителя есть свои плюсы и минусы, которые необходимо учитывать при анализе результатов диагностики повреждений роговицы [4].

Флуоресцеин визуализирует участки роговицы с поврежденным/отсутствующим эпителием. Но в то же время может препятствовать этой визуализации маскируя участки повреждения растворившись в слезной пленке [8, 9].

Рибофлавин, являясь водорастворимым витамином помимо окрашивания раневого дефекта, легко проникает в межклеточное пространство и может окрашивать также здоровые участки роговицы [7].

Бенгальский розовый окрашивает не только мертвые или погибающие клетки, но и здоровые клетки. А, так же окрашивать роговицу проникая по межклеточным пространствам. Но такое окрашивание может происходить только в случае отсутствия или повреждения слезной пленки. Проникая через клеточную мембрану бенгальский розовый может окрашивать ядра клеток [6, 10].

Лиссаминовый зеленый окрашивает главным образом ядра мертвых клеток и/или клетки с поврежденной мембраной. Другой его особенностью является то, что окрашивание лиссаминовым зеленым видно с большим контрастом на красном фоне [11, 12, 13].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования проводили на крысах линии Вистар. В эксперименте было использовано 12 годовалых самцов массой

180-220 грамм. Всем животным наносили резанные раны роговицы до стромального слоя. Для этих целей использовали хирургический скальпель.

Для обезболивания роговицы использовали 10,0% раствор лидокаина. Перед нанесением резаной раны животных вводили в наркоз препаратом «Севофлуран». Контроль глубины наносимой раны проводился визуально при помощи микроскопа при увеличении в 4-6 раз.

Для проведения эксперимента животных разделили на 4 группы, в каждой группе по 3 животных. Первой группе животных роговицы окрашивали флуоресцеином (Рисунок 1А). Второй группе животных рану роговицы окрашивали 1% раствором рибофлавина (Рисунок 2А). Третьей группе животных рану роговицы окрашивали бенгальским розовым (Рисунок 3А). Четвертой группе животных рану роговицы окрашивали лиссаминовым зеленым (Рисунок 4А). Окрашивание флуоресцеином, бенгальским розовым и лиссаминовым зеленым проводили при помощи полосок с указанными красителями. Тест полоску предварительно смачивали физиологическим раствором хлорида натрия 0,9%, затем полоски с красителями вносили на поверхность роговицы. Экспозиция всех красителей, до устранения излишков, составляла 1 минуту.

Степень окрашивания роговицы оценивали и фотодокументировали сразу после устранения излишков красителей и далее через 10 мин., 20 мин., 30 мин., 60 мин., 90 мин., и 120 мин. Без введения подопытных животных в наркоз.

Роговицу визуализировали и фотодокументировали при помощи микроскопа «jingleszcn 315W» при увеличении x 6.0 подключенного к персональному компьютеру.

Для визуализации флуоресцентных красителей использовали источник ультрафиолетового света.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исследование резаной раны роговицы у крыс в 1 группе показало, что флуоресцеин хорошо прокрашивает дефект

сразу после инстилляции и удерживается в нем в течение 10 минут (Рисунок 1 А, Б). При этом также хорошо прокрашивается слезная пленка. С 20 минуты раневой дефект уже имеет размытые границы, что

уменьшает контрастность повреждения и тем самым затрудняет диагностику (Рисунок 1 В, Г). С 60 минуты окрашивание раневого дефекта не визуализируется (Рисунок 1 Д, Е, Ж).

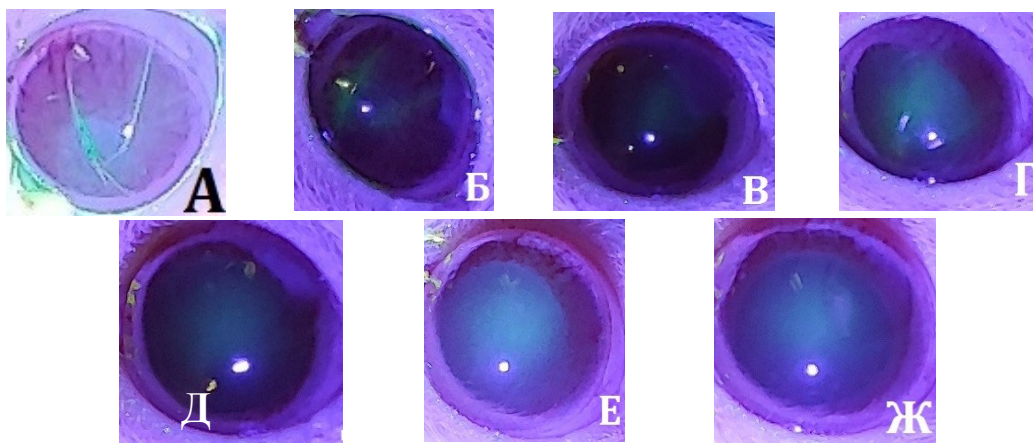


Рисунок 1 – Внешний вид окрашенной флуоресцеином раны роговицы. А - 0 мин. после окрашивания; Б - через 10 мин. после окрашивания; В - через 20 мин. после окрашивания; Г - через 30 минут после окрашивания; Д - через 60 мин. после окрашивания; Е - через 90 мин. после окрашивания; Ж - через 120 мин. после окрашивания.

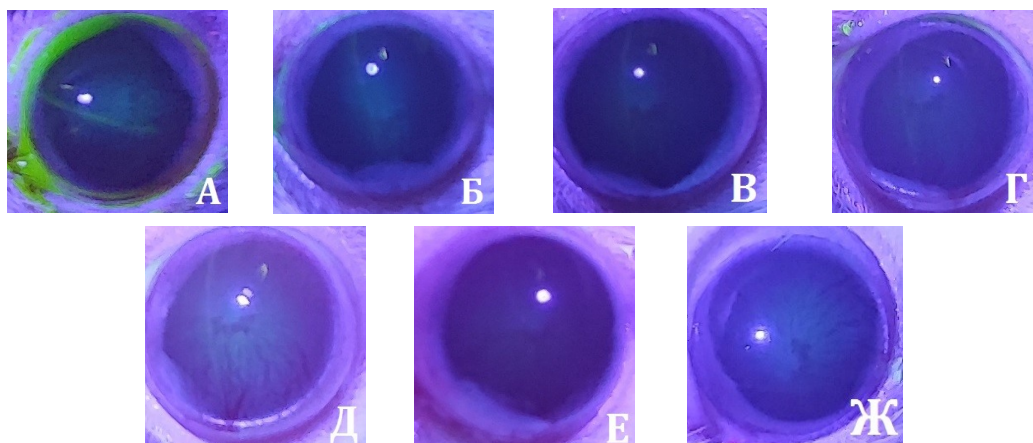


Рисунок 2 – Внешний вид окрашенной рибофлавином раны роговицы. А - 0 мин. после окрашивания; Б - через 10 мин. после окрашивания; В - через 20 мин. после окрашивания; Г - через 30 минут после окрашивания; Д - через 60 мин. после окрашивания; Е - через 90 мин. после окрашивания; Ж - через 120 мин. после окрашивания.

При окрашивании роговицы с резаной раной рибофлавином, дефект четко визуализируется сразу после окрашивания (Рисунок 2 А). Через 10 минут окраска

дефекта размывается (Рисунок 2 Б, В, Г, Д). А к 90 минуте не визуализируется вовсе (Рисунок 2 Е, Ж).

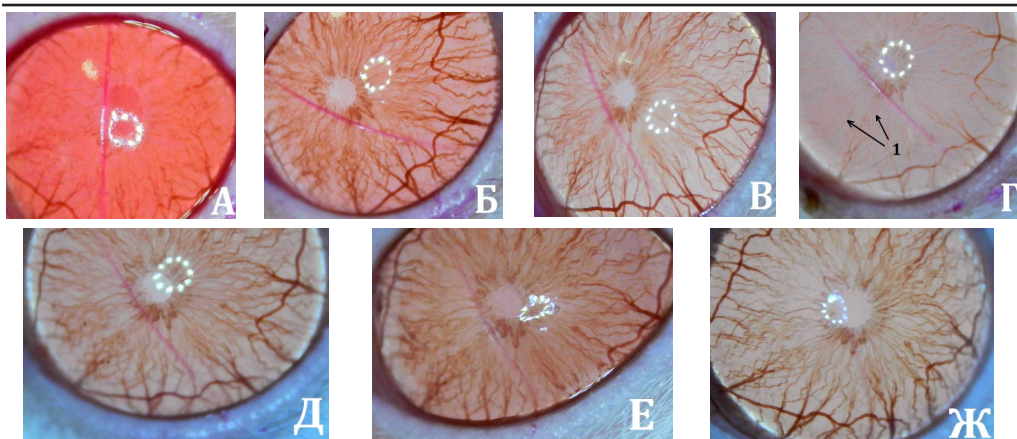


Рисунок 3 – Внешний вид окрашенной бенгальским розовым раны роговицы. А - 0 мин. после окрашивания; Б - через 10 мин. после окрашивания; В - через 20 мин. после окрашивания; Г - через 30 минут после окрашивания, стрелками указаны мелкопятнистые диффузные окрашивания; Д - через 60 мин. после окрашивания; Е - через 90 мин. после окрашивания; Ж - через 120 мин. после окрашивания.

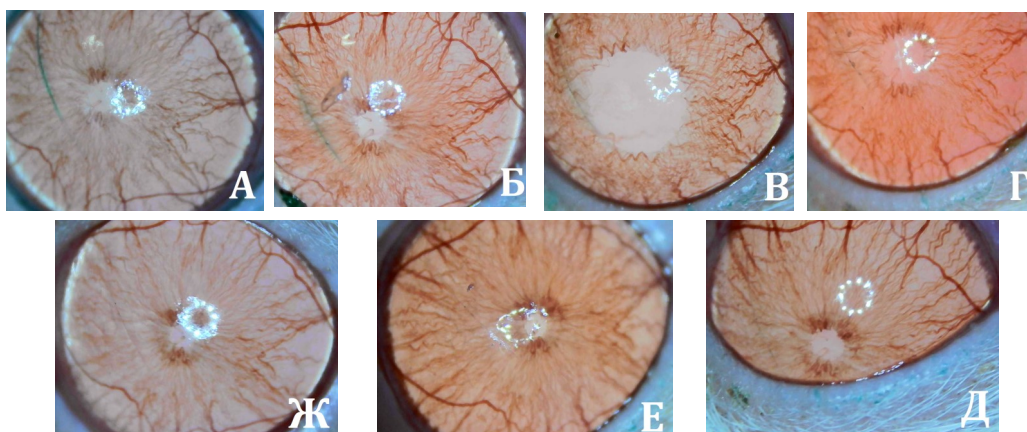


Рисунок 4 – Внешний вид окрашенной лиссаминовым зеленым раны роговицы. А - 0 мин. после окрашивания; Б - через 10 мин. после окрашивания; В - через 20 мин. после окрашивания; Г - через 30 минут после окрашивания; Д - через 60 мин. после окрашивания; Е - через 90 мин. после окрашивания; Ж - через 120 мин. после окрашивания.

При использовании бенгальского розового, раневой дефект остается хорошо прокрашенным в течение 60 минут (Рисунок 2 А, Б, В, Г, Д). К 90 минуте окрашивание становится менее интенсивное (Рисунок 3 Е), а к 120 минуте практически не визуализируется (Рисунок 3 Ж). Также, к 30 минуте на роговице помимо раневого дефекта появляются мелкопят-

нистые диффузные окрашивания по всей поверхности роговицы (Рисунок 3 Г1).

Окрашивание роговицы с резаной раной лиссаминовым зеленым показало, что краситель сразу хорошо распределяется по линии раневого дефекта и визуализируется в течение 10 минут (Рисунок 4 А, Б). К 20 минуте окраска раневого дефекта ослабевает (Рисунок 4 В). и к 30 минуте

становятся неотчетливым (Рисунок 4 Г). На 60 минуте раневой дефект не визуализируется (Рисунок 4 Д, Е, Ж).

По длительности визуализации раневого дефекта после окрашивания роговицы самый не продолжительный результат был получен при использовании рибофлавина. И составил менее 10 минут. При использовании флуоресцеина и лиссаминового зеленого время четкой визуализации было продолжительным и составило 10 минут. Самый длительный период хорошей визуализации раневого дефекта наблюдался при окрашивании бенгальским розовым (до 60 минут), таблица 1.

Недостатком окрашивания флуоресцеином и рибофлавином является то, что с 10 мин наблюдается диффузное распространение красителя за пределы раневого дефекта. Что уменьшает контрастность окрашенного дефекта.

Сходный недостаток имеет место при использовании бенгальского розового. С 30 минуты появляется мелкопятнистое окрашивание по всей поверхности роговицы, это так же уменьшает контрастность раневого дефекта.

Лиссаминовый зеленый является единственным красителем, который окрашивает исключительно раневой дефект.

Таблица 1 – Сводная таблица по длительности окрашивания резаной раны роговицы после окрашивания

Краситель	Время визуализации красителя на резаных ранах роговицы после окрашивания, мин.						
	0	10	20	30	60	90	120
Флуоресцеин	+	+	±	±	-	-	-
Рибофлавин	+	±	±	±	±	-	-
Бенгальский розовый	+	+	+	+	+	±	-
Лиссаминовый зеленый	+	+	±	±	-	-	-

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

При длительных исследованиях целесообразно использовать бенгальский розовый, который визуализирует раневой дефект в течение 60 минут после окрашивания.

Лиссаминовый зеленый следует использовать в случаях, когда необходим контраст между красителем и роговицей, и/или нижележащими структурами глаза.

Флуоресцеин и рибофлавин достаточно быстро диффузно распространяются в окружающие ткани, а также окрашивают слезную пленку, что может давать ложноположительный результат при диагностике раневого дефекта роговицы.

RETENTION PERIODS OF DIAGNOSTIC DYES ON A CUT CORNEAL WOUND

Minina A.O. * – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-4176-4053); **Bokarev A.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-4623-5388); **Pilipets E. Ya.** – graduate student of the Department of General, Private and Operative Surgery (ORCID: 0000-0002-0735-523X); **Prudnikova E. V.** – Candidate of Veterinary Sciences, Assistant of the Department of General, Private and Operative Sur-

gery (ORCID: 0000-0002-9866-1231).

Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "St. Petersburg State University of Veterinary Medicine"

*Bluzma-nast@yandex.ru

ABSTRACT

Comparative studies of four main ophthalmic dyes were carried out on their ability, after a single short-term exposure, to stain a corneal incised wound.

12 year-old Wistar rats weighing 180-220 grams were selected for the study. 4 experimental groups of 3 rats each were formed from them. Corneal incision wounds were inflicted on all animals. A 10.0% lidocaine solution was used to anesthetize the cornea. Before applying the cut wound, the animals were injected into anesthesia with the drug "Sevoflurane". The depth of the wound was monitored visually using a microscope at a magnification of 4-6 times. Next, the corneal cut wound was stained with various dyes: animals of group 1 – fluorescein, group 2 – riboflavin, group 3 – bengal pink, group 4 – lissamine green. The exposure of all dyes, before eliminating the excess, was 1 minute.

The degree of corneal staining was evaluated and photodocumented immediately after the elimination of excess dyes and further after 10 min., 20 min., 30 min., 60 min., 90 min., and 120 min. The cornea was visualized and photodocumented using a microscope "jingleszen 315W" at magnification x 6.0.

For long-term studies, it is advisable to use bengal pink, which visualizes a wound defect within 60 minutes after staining. Lissamine green should be used in cases where a contrast is needed between the dye and the cornea, and/or the underlying structures of the eye. Fluorescein and riboflavin diffuse rapidly enough into the surrounding tissues, and also stain the tear film, which can give a false positive result when diagnosing a wound defect of the cornea.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1.Плотникова, Е.В. Применение флюоресцеина в клинической практике врача-

офтальмолога / Е.В. Плотникова // The EYE Глаз. - 2019. - Т. 21. - № 4. - С. 41-48.

2.Прудникова, Е.В. Офтальмология. Специальные методы исследования у животных. Методические указания / Е.В. Прудникова, А.А. Стекольников, М.А. Нарусбаева, Е.В. Титова // Санкт-Петербург. - СПбГУВМ. - 2021. - 31 с.

3.Стекольников, А.А. Ветеринарная офтальмология: учебник / А.А. Стекольников, Л.Ф. Сотникова. - СПб: Проспект Науки, 2017. - 296 с.

4.Бржеский, В. В. Роговично-конъюнктивальный ксероз (диагностика, клиника, лечение) / В. В. Бржеский, Е. Е. Сомов // СПб.: Левша, 2003. - 119 с.

5.Лоскутов, И.А. Современная оптометрия. Краткое руководство / И.А. Лоскутов, А.В. Корнеева // ГЭОТАР-Медиа. - 2021. - 344 с.

6.An evaluation of the efficacy of fluorescein, rose bengal, lissamine green, and a new dye mixture for ocular surface staining / D.R. Korb, J.P. Herman, V.M. Finnemore [et al.] // Eye Contact Lens. - 2008. - № 34(1). - P. 61-64.

7.Зайнутдинова, Г.Х. Препарат для диагностики повреждений эпителия роговицы / Г.Х. Зайнутдинова, Г.М. Казакбаева, Л.И. Халимова // Медицинский вестник Башкортостана. - 2017. - Т. 12. - № 1 (67). - С 62-65.

8.Петраевский, А.В. Клинико-цитологическая диагностика синдрома «сухого глаза» / А. В. Петраевский, К. С. Тришкин // Вестник ВолгГМУ. - 2012. - № 4(44). - С 52-54.

9.Awisi, G.D. A simple and cost effective method for preparing FL and LG solutions / G.D. Awisi, C.G. Begley, N.J. Daniel // Ocul Surf. - 2018. - № 16(1). - P. 139-145.

10.Khan-Lim, D. Still confused about Rose Bengal? / D. Khan-Lim, M. Berry // Current Eye Research. - 2004. - V.29. - N4-5. - p. 311-317.

11.Мак-Доннелл, К. Лиссаминовый зеленый / К. Мак-Доннелл // Современная оптометрия. - 2010. - № 5(35). - С. 14-16.

12.Comparative performance of lissamine green stains / A. Delaveris, U. Stahl, M. Madigan, I. Jalbert // Cont Lens Anterior

Eye. - 2018. - № 41(1). - P. 23-27.

13. Obtaining Lissamine Green 1% Solution for Clinical Use / M. Stock, D. Salvay, B. Shoss, [et al.] // Cornea. - 2015. - № 34(11). - P. 1523-5.

REFERENCES

1. Plotnikova, E.V. Skin color change in the clinical practice of an ophthalmologist / E.V. Plotnikova // OCULAR eye. - 2019. - Vol. 21. - No. 4. - pp. 41-48.

2. Prudnikova, E.V. Ophthalmology. Special methods of research in animals. Methodical instructions / E.V. Prudnikova, A.A. Stekolnikov, M.A. Narusbaeva, E.V. Titova // Kant-Peter. - SPbGUVU. - 2021. - 31 p.

3. Stekolnikov, A.A. Veterinary ophthalmology: textbook / A.A. Stekolnikov, L.F. Sotnikova. - St. Petersburg: Prospect Nauki, 2017. - 296 p.

4. Brzhesky, V. V. Corneal-conjunctival xerosis (diagnosis, clinic, treatment) / V. V. Brzhesky, E. E. Somov // St. Petersburg: Levsha, 2003. - 119 p.

5. Loskutov, I.A. Modern optometry. Brief guide / I.A. Loskutov, A.V. Korneeva // GEOTAR-Media. - 2021. - 344 p.

6. Evaluation of the effectiveness of fluorescein, bengal rose, lissamine green and a new mixture of dyes for staining the surface of the eyes / D.R. Korb, J.P. Herman, V.M.

Finnemore [et al.] // Contact lenses for eyes. - 2008. - № 34(1). - P. 61-64.

7. Zaynutdinova, G.H. Preparation for the diagnosis of corneal epithelial damage / G.H. Zaynutdinova, G.M. Kazakbayeva, L.I. Halimova // Medical Bulletin of Bashkortostan. - 2017. - T. 12. - № 1 (67). - Pp. 62-65.

8. Petraevsky, A.V. Clinical and cytological diagnosis of dry eye syndrome / A.V. Petraevsky, K. S. Trishkin // Vestnik VolgSMU. - 2012. - № 4(44). - From 52-54.

9. Avizi, G.D. A simple and economical way to prepare solutions of FL and LG / G.D. Avizi, K.G. Begley, N.J. Daniel // Ocul Surf. - 2018. - № 16(1). - S. 139-145.

10. Khan-Lim, D. Are you still in doubt about the Bengal rose? / D. Khan-Lim, M. Berry // Modern eye research. - 2004. - Vol. 29. - N4-5. - pp. 311-317.

11. McDonnell, K. Lissamine green / K. McDonnell // Modern optometry. - 2010. - № 5(35). - Pp. 14-16.

12. Comparative characteristics of lissamine green dyes / A. Delaveris, W. Stahl, M. Madigan, I. Jalbert // The front part of the lens of the eye. - 2018. - № 41(1). - Pp. 23-27.

13. Obtaining a 1% solution of lissamine green for clinical use / M. Stock, D. Salvay, B. Shoss, [et al.] // The cornea. - 2015. - № 34(11). - Pp. 1523-5.