

## RYŠYS TARP ULTRAGARSINIŲ IR MECHANINIŲ AKIES LĘŠIO BRANDUOLIO SAVYBIŲ

Marija Paunksnienė<sup>1</sup>, Vida Babrauskienė<sup>1</sup>, Eglė Svaldenienė<sup>1</sup>, Alvydas Paunksnis<sup>2</sup>, Skaidra Kurapkienė<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Anatomijos ir fiziologijos katedra, Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, Kaunas

<sup>2</sup>Biomedicininų tyrimų institutas, Oftalmologijos laboratorija, Kauno medicinos universitetas, Eivenių g. 4, Kaunas LT-50009; tel. 33 88 49

**Santrauka.** Katarakta serga visi naminiai gyvūnai, dažniausiai – šunys. Daugelio veislių šunims diagnozuojama įgimta arba įgyta katarakta. Ligos diagnostikai svarbi ultragarsinė akies biometrija. Ultragarstu galima nustatyti kataraktos formavimosi stadijose pasikeitusį lęšio dydį, o ultragarso slopinimo koeficientu tiksliai išreikšti kataraktos subrendimo laipsnį. Darbo tikslas buvo įvertinti ultragarsines ir mechanines lęšio branduolio savybes, kurios padėtų neinvaziniu būdu nustatyti lęšio branduolio kietumą prieš operaciją. Diegiant naują lęšio kietumo įvertinimo metodiką į eksperimentą, ištirta 10 šunų akių su skaidriais lęšiais, nustatyta tiesioginė priklausomybė tarp ultragarso slopinimo koeficiento ir lęšio branduolio kietumo.

**Raktažodžiai:** katarakta, ultragarsinė biometrija, lęšio baltymai, šunų katarakta.

## THE RELATIONSHIP OF THE LENS NUCLEUS ULTRASONIC AND MECHANICAL PROPERTIES IN DOGS

Marija Paunksnienė<sup>1</sup>, Vida Babrauskienė<sup>1</sup>, Eglė Svaldenienė<sup>1</sup>, Alvydas Paunksnis<sup>2</sup>, Skaidra Kurapkienė<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Anatomy and Physiology, Lithuanian Veterinary Academy

<sup>2</sup>Laboratory of Ophthalmology, Institute for Biomedical Research, Kaunas Medical University

**Summary.** Cataract is the leading cause of blindness worldwide in animals, particularly in dogs, and cataract extractions are most common of all ophthalmic procedures. Cataract is predominantly an age related disease and with increased of lifetime, the frequency of cataract surgery significantly increases. The aim of performed study was to investigate experimentally the relationship between ultrasonic and mechanical characteristics of nucleus cataract in dogs. By calculating the ultrasound attenuation coefficient of lens stiffness was estimated *in vivo*. It was shown, that mechanical properties of the cataractous lens are one of the major factors influencing the suitability of a patient for phacoemulsification.

**Keywords:** cataract, ultrasonic biometry, lens proteins, cataract of dogs.

**Įvadas.** Katarakta – tai lęšio drumstis. Neskaidrus gali būti visas lęšis arba nedidelis jo plotelis (Johnson, 1998). Tokie lęšio pokyčiai gali būti pablogėjusio regėjimo ar visiško akumo priežastis, nes lęšis yra labai svarbi optinio aparato dalis, praleidžianti ir laužianti šviesą, dalyvaujanti akomodacijoje. Optinis aparatas gerai veikia tik tuomet, kai lęšis skaidrus, o jo padėtis akies ašies atžvilgiu nepakitusi (Gellat, 1991). Lęšis skaidrus, jei kristalinai yra natyvūs, tirpūs ir susijungę į stambiamolekulines struktūras (Benedek, 1997). Pagal sudaromų baltymų kompleksų molekulinę masę skiriami alfa kristalinai (didesnės kaip 200 kDa molekulinės masės) ir beta kristalinai (40-60 kDa). Organizmo senėjimo laikotarpiu kristalinai patiria žymias potransliacines modifikacijas: sutrumpėja jų polipeptidinė grandinė (Takemoto, 1995), vyksta jų deamininimas (Yang et al., 1994), fosforilinimas (Miesbauer et al., 1994) ir pan. Taip lęšyje suardoma normali kristalinų struktūra. Šie pokyčiai lemia padidėjusį kristalinų agregacijos laipsnį ir sumažėjusį jų tirpumą. Tai tampa padidėjusio šviesos sklaidymo priežastimi ir prielaida senatvinei kataraktai susiformuoti. Pavyzdžiui, alfa kristalinų modifikacijos sumažina baltymų tirpumą ir lemia jų atsiradimą netirpioje senatvinės kataraktos frakcijoje

(Chen et al., 1997). Su amžiumi lęšyje didėja netirpių baltymų agregatų dalis (Matsushima et al., 1997).

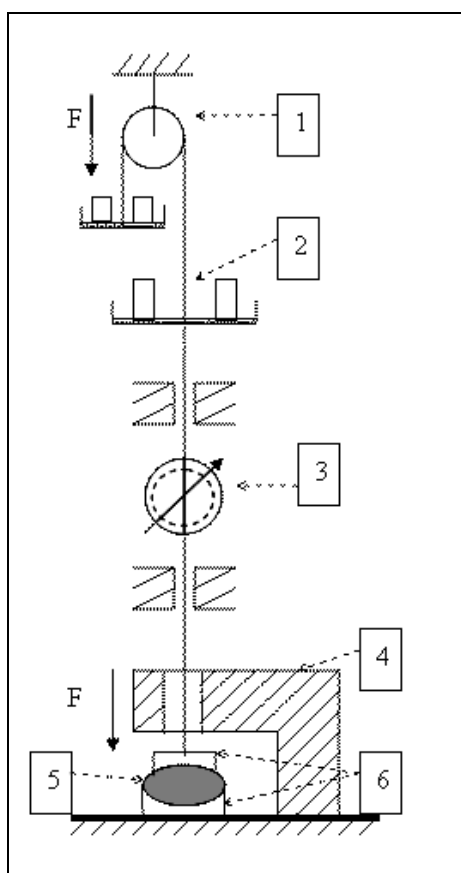
Svarbiausia pagyvenusių žmonių akumo priežastis yra senatvinė katarakta, kuri dažniausiai išsivysto žmonėms, vyresniems nei 50 metų. Šiuo metu pasaulyje yra daugiau kaip 16 milijonų žmonių, aklą dėl kataraktos, o ilgėjant žmonių gyvenimo trukmei dėl šios ligos gali dar labiau padidėti aklių skaičius. Senatvinės kataraktos etiopatogenezė yra daugiafaktorinė. Jos atsiradimui turi įtakos vidiniai ir išoriniai veiksniai – paveldėjimas, sulėtėjusi medžiagų apykaita, sumažėjęs įvairių fermentų aktyvumas, endokrininės sistemos sutrikimai, nuodingųjų medžiagų kaupimasis organizme, padidinta šviesos ekspozicija, ultravioletiniai spinduliai bei mitybos pobūdis. Tobulėjanti chirurginė technika įgalina saugiai atlikti intervencines procedūras ir tikėtis gerų pooperacinių rezultatų. Operacijos sėkmė priklauso nuo mechaninių lęšio branduolio savybių, ypač jo kietumo. Lęšio kietumas gali priklausyti nuo daugelio faktorių – amžiaus, lęšio kataraktos subrendimo laipsnio, lydimo lęšio biocheminių pokyčių.

**Darbo tikslas** – įvertinti ultragarsines ir mechanines lęšio branduolio savybes, kurios padėtų neinvaziniu būdu nustatyti lęšio branduolio kietumą prieš operaciją.

**Tyrimo metodai.** Lęšio kietumo laipsnio optiškai (*in vivo*) nustatyti neįmanoma, todėl jis buvo tiriamas ultragarsine A sistema, fiksuojant dažninius radijo signalus ir apskaičiuojant ultragarso slopinimo koeficientą. Tyrimai eksperimento sąlygomis atlikti su beveislių (mišrūnų) šunų akimis (n=10). *In vivo* šunų akys įvertintos ir akių dugnas ištirtas oftalmoskopu. Eutanazijai atlikti naudoti pentobarbituratai, po eutanazijos atlikta abiejų akių enukleacija. Po enukleacijos lęšio branduoliai tirti šiam tikslui Kauno technologijos universitete sukonstruotu lęšio deformacijos įvertinimo prietaisu (1 pav.). Norint nustatyti lęšio mechanines savybes, svorio jėga dedama ant lęšio. Rezultatas gaunamas išmatavus poslinkio dydį. Lęšio kietumas ir maksimalus stiprumas nustatytas apskaičiuavus santykį tarp uždėtos svorio jėgos  $F$  (N) ir poslinkio lęšyje  $D$  (mm). Buvo dedami nuo 2 iki 140 g svoriai, laiko tarpas tarp svorių uždėjimo – 30 s:

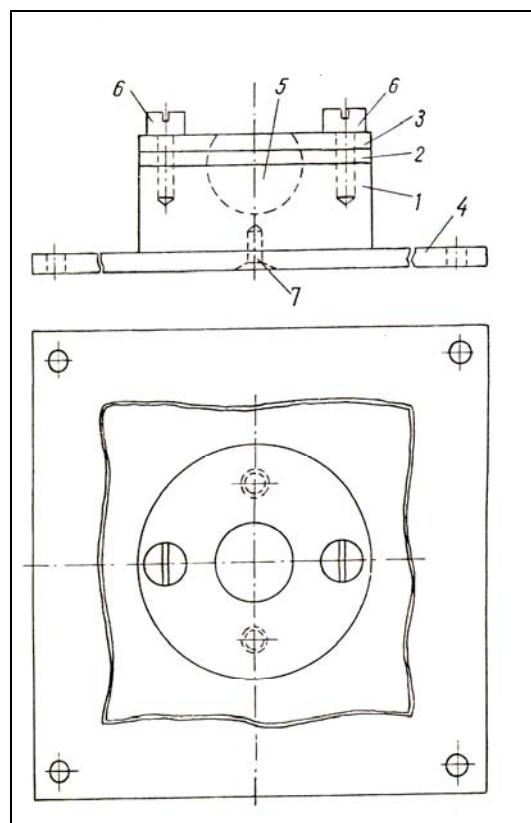
$$K = \frac{F_{\max}}{D_{\max}} \text{ [N/mm]},$$

čia  $K$  – santykinis kietumo dydis,  $F_{\max}$  – maksimali spaudžiamoji jėga,  $D_{\max}$  – maksimalus lęšio poslinkis.



1 pav. Lęšio branduolio kietumo įvertinimo metodo schema:

1 – balansavimo sistema, 2 – svoriai, 3 – mikrometras, 4 – stovas iš organinio stiklo, 5 – lęšis, 6 – lęšio laikikliai (viršutinis –  $R=3,6$  mm ir apatinis –  $R=7,2$  mm)



2 pav. Fiksavimo įtaisas šunų lęšiukų ultragarsiniam tyrimui:

1 – korpusas iš organinio stiklo, 2 – gumos tarpiklis, 3 – plokštelė iš organinio stiklo, 4 – fiksavimo pagrindas, 5 – išpjova enukleuotai akiai įdėti, 6, 7 – tvirtinimo elementai

Lentelė. Šunų akių tyrimo duomenys

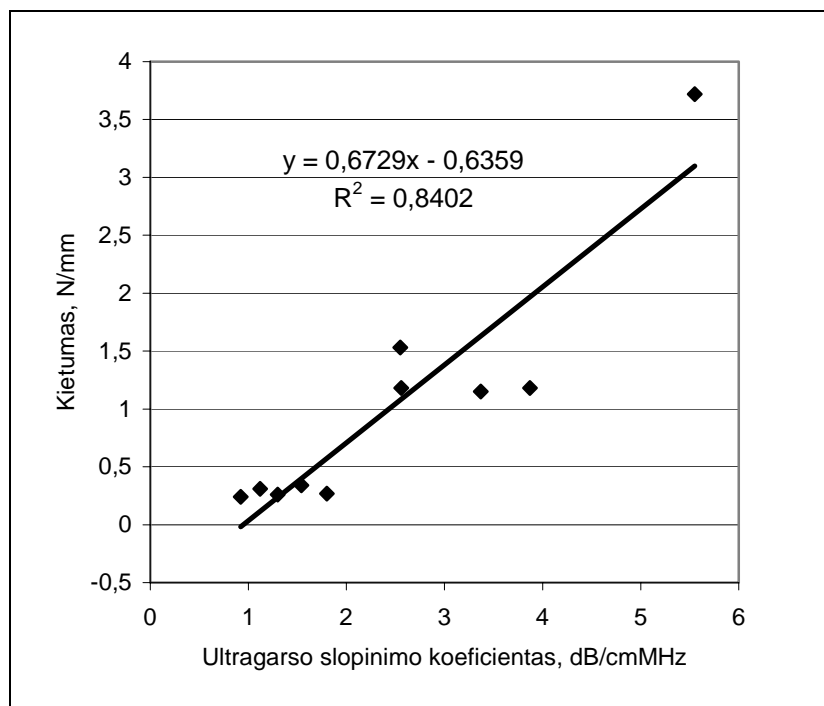
Šunų akys	Ultragarso slopinimo koeficientas, dB/cm MHz	Lęšiuo kietumas esant 140g svoriui, N/mm
1	1,80	0,27
2	1,54	0,34
3	2,56	1,18
4	2,55	1,53
5	1,30	0,26
6	3,87	1,18
7	3,37	1,15
8	1,12	0,31
9	5,55	3,72
10	0,92	0,24

Norint gauti tikslus ultragarsinius RD signalus, enukleuotos šunų akys buvo dedamos į specialų fiksavimo įtaisą (2 pav.). Įtaisas padėjo tiksliai fiksuoti keitliklio padėtį ragenos centre, išvengti akies deformacijos ir intraokulinio spaudimo pokyčių.

**Tyrimų rezultatai.** Ultragarso slopinimo koeficientas lęšio branduolyje buvo skaičiuojamas skaitmenizuotų ultragarso signalų spektrinės analizės būdu. Tyrimai parodė, kad ultragarso slopinimo koeficientas didesnis

esant labiau išreikštoms branduolio drumstims (lentelė). Tai sietina su pasikeitusiomis lęšio branduolio baltymų savybėmis. Vykstant baltymų agregacijai, susidarantys stambiamolekuliniai junginiai, didindami ultragarso bangos išbarstymą ir absorbciją, mažina lęšio optinį skaidrumą. Šunų akių lęšiai yra elastiniai mechanizmai. Mechaninės ir ultragarsinės savybės ryškiai koreliuoja –

$r = 0,92$ ,  $p < 0,01$ . Šunų lęšių ultragarso slopinimo koeficiento vidurkis yra  $\beta = 2,46 \pm 1,04$  dB (cm MHz), lęšio kietumo vidurkis yra  $1,02 \pm 0,77$  N/mm. Koreliacinis ryšys tarp šunų lęšių ultragarsinių ir mechaninių charakteristikų parodytas 3 pav.



3 pav. Koreliacinis ryšys tarp šunų lęšių ultragarsinių ir mechaninių charakteristikų

**Rezultatų aptarimas.** Su amžiumi susiję akies lęšio baltymų pokyčiai gali būti vienas iš rizikos veiksnių kataraktai išsivystyti. Nustatyta, kad lytiškai subrendusių šunų lęšiuose ryškiai mažiau (apie 30 proc.) tirpių baltymų nei dviejų mėnesių amžiaus šuniukų lęšiuose. Regėjimo aštrumo sumažėjimas statistiškai patikimai koreliuoja su pakitusiu lęšio branduolio tirpių baltymų kiekiu. Tiek šunų senėjimo metu, tiek vystantis žmogaus branduolinei kataraktai nustatytas ryškus tirpių lęšio baltymų persiskirstymas į didesnės molekulinės masės frakcijas (Svaldenienė, 2001). Vadinasi, senstant dalis akies lęšio baltymų tampa netirpūs (Matsuchima et al., 1997). Labai dideli pokyčiai įvyksta lęšiuose su išsivysčiusia katarakta. Čia absoliuti dauguma kristalinių yra vien didelės molekulinės masės agregatuose.

Nors kataraktą diagnozuoti nėra labai sudėtinga, ganėtinai sunku šią ligą įvertinti rutininiais tyrimo metodais. Ultragarso tyrimai plačiai taikomi oftalmologijoje ir suteikia daugiau informacijos. Ultragarso impulsai sklinda akies audiniuose greičiu, atvirkščiai proporcingu akies audinių tankiui ir elastingumui. Sklindančios audinyje ultragarso bangos yra sugeriamos ir išbarstomos, dėl to atsiranda ultragarso slopinimas. Jei normalus lęšis yra akustiškai homogeniškas ir skaidrus, ultragarso slopinimo koeficientas beta yra mažas. Y. Sugata su kitais

mokslininkais (1992) tyrinėjo sveikus bei kataraktinius lęšius ir pasiūlė kataraktos diagnostikai taikyti ultragarso slopinimo modelį. Mokslininkai nustatė, kad skaidraus lęšio slopinimo koeficientas yra 0,07–0,92 dB/cm MHz, o įvairaus intensyvumo kataraktos atvejais – 1,6–7,3 dB/cm MHz. H. Tabandeh ir grupės tyrėjų duomenimis (2000), ultragarso slopinimas ryškiai koreliuoja su lęšio kietumu: kietesniuose lęšiuose slopinimas didesnis.

Vienas iš pagrindinių veiksnių, lemiančių paciento tinkamumą fakoemulsifikacijai (kataraktos operacijos rūšis) yra kataraktinio lęšio kietumas. Operacijos sėkmė priklauso nuo mechaninių lęšio savybių. Chirurginės taktikos ir trukmės parinkimui labai svarbu įvertinti lęšio branduolio kietumą prieš operaciją. Kietą lęšį sunku ultragarsu emulsifikuoti, dėl to pailgėja emulsifikacijos laikas, taip pat ir operacijos trukmė, didėja pooperacinių komplikacijų rizika. Lęšio kietumo *in vivo* įvertinimo metodai ir ryšys su klinicine kataraktos išraiška bei ultragarso slopinimu turi mokslinę ir praktinę reikšmę, todėl bus tiriami toliau.

#### Išvados:

1. Nustatyta tiesioginė priklausomybė tarp ultragarso slopinimo koeficiento ir lęšio branduolio kietumo.
2. Nustatyta, kad ultragarso slopinimo koeficientas didesnis esant labiau išreikštai lęšio branduolio drumsčiai.
3. Operacijos sėkmė priklauso nuo mechaninių lęšio

branduolio savybių, todėl labai svarbu įvertinti lęšio branduolio kietumą dar prieš operaciją.

#### Literatūra

1. Benedek G. B. Cataract as protein condensation disease: the proctor lecture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1997. Vol. 38. P. 1911–1921.
2. Chen Y. C., Reid G. E. et al. Molecular evidence of the involvement of alpha crystallin in the colouration/crosslinking of crystallins in age-related nuclear cataract. *Exp. Eye Res.* 1997. Vol. 65. P. 835–840.
3. Gellat K. N. *Veterinary ophthalmology*. Philadelphia, 1991. P. 429–460.
4. Johnson G. J. Limitations of epidemiology in understanding pathogenesis of cataracts. *Lancet*. 1998. Vol. 351. Issue 9107. P. 925–928.
5. Matsushima H., Peskind E. R., Clark J. M. et al. Protein changes during aging and the effects of long-term cortisol treatment in macaque monkey lens. *Optom. Vis. Sci.* 1997. Vol. 74. P. 190–197.
6. Miesbauer L. R., Zhou X., Yang Z. et al. Post-translational modifications of the water soluble human lens crystallins from young adults. *J. Biol. Chem.* 1994. Vol. 269. P. 12494–12502.
7. Sugata Y., Murakami K., Masayasu I., Yamamoto Y. An application of ultrasonic tissue characterization to the diagnosis of cataract. *Acta Ophthalmol.* 1992. Vol. 70 Suppl. 204. P. 35–39.
8. Svaidienė E., Plančiūnienė R., Sadauskienė I. ir kt. Kompleksinis akies lęšio tyrimas: su amžiumi susiję biocheminiai ir biometriniai pokyčiai. *Medicina*. 2001. T. 37 (6). P. 636–641.
9. Tabandeh H., Wilkins M., Thompson G. M. et al. Hardness and ultrasonic characteristics of the human crystalline lens. *J. Cataract Refract Surgery*. 2000. Vol. 26. P. 838–841.
10. Takemoto L. J. Identification of the in vivo truncation sites at the C-terminal region of alpha-A crystallin from aged bovine and human lens. *Curr. Eye Res.* 1995. Vol. 14. P. 837–841.
11. Yang Z., Chamorro M., Smith D. L., Smith J. B. Identification of the major components of the high molecular weight crystallins from old human lenses. *Curr. Eye Res.* 1994. Vol. 13. P. 415–421.