

18. Терских В. В. и др. Эпидермальные кератиноциты человека и животных. Проблемы культивирования и трансплантация. — Москва: Наука, 1995, 1. — С. 4, 82.
19. Insler M. S., Zopez L. G. Heterologous Transplantation versus Enhancement of Human Corneal Endotelium // Cornea. — 1991. — Vol. 10. — № 2. — P. 136-148.
20. Kenyon K. R. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders / K. R. Kenyon, S. C. G. Tseng // Ophthalmology. — 1989. — Vol. 96. — P. 709-723.
21. Rao S. K. Limbal allografting from related live donors for corneal surface reconstruction / Rao S. K. [et al.] // Ophthalmology. — 1999. — Vol. 106. — P. 822-828.

Поступила 15.07.2000.

Рецензент д-р мед. наук проф. Э. В. Мальцев

PECULIARITIES OF CULTIVATION OF THE MONOLAYER OF FETAL FIBROBLASTS ON THE SOFT CONTACT LENSES, WHICH CONTAIN THE COLLAGEN

Pasechnikova N. V., Drozhzhina G. I., Ivanova O. N., Nasinnik I. O., Popandopulo A. G., Kavelina A. S.
Odessa, Ukraine

Under the conditions of the experiment the work considered the peculiarities of cultivation of the monolayer of fetal fibroblasts on the hydrophilic soft contact lenses, which contain collagen; it is promising with respect to the early spontaneous and stimulated regeneration of the corneal tissue in its severe affection.

As a result of the study in vitro, it is revealed that the valuable monolayer of fibroblasts could not be obtained in the group of the cultural lenses, containing 13% of polyacrylamide. In the second group of the cultural, hydrophilic lenses, composition of which had 12% of polyacrylamide and 1% of collagen, the monolayer of the fetal fibroblasts was obtained, covering practically the entire area of the internal surface of lenses on the 5th day of cultivation.



УДК 617.713-085.322+617.713-003.93

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ АБСОРБИРУЮЩЕГО РАНЕВОГО ПОКРЫТИЯ НА ОСНОВЕ КОЛЛАГЕНА ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ РОГОВИЦЫ

Н. В. Пасечникова, д-р мед. наук, проф., **С. А. Якименко**, д-р мед. наук, проф.,
А. И. Бузник, врач, **И. О. Насинник**, мл. научн. сотр., **Т. Б. Кустрин**, врач

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова АМН Украины», Одесса

Проведено експериментальне дослідження використання абсорбуючого ранового покриття рогівки.

Отримані в експерименті дані вказують на можливість застосування для лікувальної кератопластики абсорбуючого ранового покриття на базі колагену як біопокриття при поверхневих і глибоких ушкодженнях строми рогівки.

Ключевые слова: повреждения роговицы, раневое покрытие, коллаген, регенерация.

Ключові слова: пошкодження рогівки, раньове покриття, колаген, регенерація.

Введение. Повреждения и заболевания роговицы занимают одно из ведущих мест среди причин слепоты и слабовидения. Ранения глаза с дефицитом ткани роговицы, ожоги глазного яблока, инфекционные, нейротрофические, аутоиммунные и аллергические язвы роговицы протекают с нарушением процессов регенерации [14,15,16].

Для регенерации слоев роговицы при различных заболеваниях успешно применяют консервативную терапию, а при низкой ее эффективности различные виды покрытий для лечебной кератопластики.

Отдельным направлением в лечении дефектов и язв роговицы явилась разработка новых материалов для биопокрития, одним из которых стал амнион, применяемый с 40-х годов прошлого столетия [1].

В настоящее время наряду с лечебной кератопластикой используется метод конъюнктивальной пластики роговицы, разработанный Х. Кребсом (1887). Независимо от него Х. Кунт (1889) разработал собственные способы конъюнктивального покрытия роговицы и определил показания к их применению. Аутоконъюнктивальная пластика роговицы является операцией выбора при показаниях к экстренной кератопластике, когда отсутствует донорский материал [5,6,9].

В. П. Филатов показал важность послойной кератопластики как подготовительной, мелиоративной операции. Эффективность предложенной

© Н. В. Пасечникова, С. А. Якименко, А. И. Бузник, И. О. Насинник, Т. Б. Кустрин, 2009.

процедуры связывают с влиянием на окружающие ткани консервированной роговичной ткани, то есть эффектом тканевой терапии по методу В.П. Филатова (1934) [7,8].

Методика биологического покрытия была предложена в 1968 году Н. А. Пучковской и отличается от послойной кератопластики тем, что пораженные слои роговицы не удаляются, а соскабливается только эпителий, если таковой имеется [4]. Поверхность роговой оболочки покрывается трансплантатом. Трансплантат обычно рассасывается, но за это время совершаются процессы регенерации.

Э. Р. Мулдашев с соавт. (1987) отмечают возможность применения аллопланта в виде биопокрытия при лечебной кератопластике и достижения стойкого клинического эффекта ввиду его замещения собственной тканью роговицы, а не чужеродной тканью [2,3].

В качестве временного покрытия, являющегося протектором восстановления собственных тканей, используются различные материалы. Несмотря на использование классической фармакотерапии и большого количества хирургических методик биопокрытия, проблема качественного лечения поражений роговицы до настоящего времени не решена. В Украине одной из причин этого является отсутствие глазного банка тканей, отвечающего современным критериям безопасности в системе донор/реципиент, а также недоработки в законодательстве.

Вышеизложенный материал подчеркивает актуальность проблемы и необходимость разработки новых препаратов многопланового действия, одновременно выполняющих задачи стимуляции регенерации, защиты пораженных тканей глаза от неблагоприятных факторов внешней среды и восстановления нарушенных функций.

Цель. Изучить возможность применения биологического абсорбирующего раневого покрытия (БАРП) роговицы в эксперименте на животных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Экспериментальное исследование выполнено на 18 кроликах (36 глаз) породы шиншилла массой от 2 до 4,5 килограмм. В качестве материала для лечебной кератопластики роговицы было использовано абсорбирующее раневое покрытие «Тахокомб»®.

Покрытие представляет собой стерильную коллагеновую пластину, клеящий слой которой состоит из фибриногена, тромбина, апротинина и рибофлавина. Последний маркирует желтым цветом клеящую поверхность. При контакте с кровоточащей поверхностью или жидкостями организма факторы свертывания, содержащиеся в коллагеновом слое, освобождаются, и тромбин превращает фибриноген в фибрин, апротинин препятствует преждевременному фибринолизу плазмином.

Все хирургические вмешательства и выведение животных из эксперимента выполнены в соответствии с правилами «Надлежащей лабораторной практики». Цель исследования была одобрена местным этическим комитетом. Все болезненные процедуры выполнялись под наркозом.

Проводилась эпibuльбарная анестезия (инстиляция 0,5% раствора алкаина). Хирургические операции выполнялись с использованием операционного микроскопа.

Кролики были разделены на 6 групп.

Первая группа: 3 кролика (3 глаза), которым была проведена полная дезэпителизация роговицы и выполнено покрытие лоскутом БАРП, превышающим зону повреждения на 1,5 мм.

Вторая группа: 4 кролика (4 глаза), которым был выполнен поверхностный дефект стромы диаметром 4-6 мм и произведено покрытие абсорбирующим раневым покрытием, превышающим размеры дефекта роговицы на 1-2 миллиметра.

Третья группа: 4 кролика (4 глаза), которым был выполнен дефект стромы роговицы на 2/3 толщины и более, с сохранением десцеметовой мембраны. Диаметр дефекта 2-6 мм. Дефект был закрыт лоскутом абсорбирующего раневого покрытия, диаметром 4-6 мм.

Четвертая группа включала в себя 4 кролика (4 глаза) с проникающими ранениями роговицы диаметром 1 и 2 мм. Дефекты роговицы были закрыты лоскутами БАРП, превышающими размер дефекта на 1 — 1,2 мм.

Пятая группа: 3 кролика (6 глаз), которым была выполнена интраамеллярная имплантация лоскута абсорбирующего раневого покрытия.

В шестую контрольную группу вошли парные глаза кроликов (15 глаз) с различными дефектами роговицы без покрытия.

Биопокрытие укладывалось на дефект роговицы маркированной стороной. В первой и второй группах фиксация на поверхности дефекта происходила за счет адгезивных свойств абсорбирующего раневого покрытия. В 3-4-й группах была выполнена дополнительная фиксация биопокрытия на поверхности дефекта при помощи 4-8 узловых роговичных швов 10/0. После операции всем животным проводилась антибактериальная терапия.

Кролики наблюдались ежедневно в течение двух месяцев. Наблюдение за состоянием глаз животных осуществляли с помощью фокального освещения и биомикроскопии с применением щелевой лампы. Контроль эпителизации производился путем окрашивания поверхности роговицы 1% раствором флюоресцеина с последующей фоторегистрацией. Клиническую оценку состояния глаз животных проводили по следующим признакам: степень и срок воспалительной реакции, интенсивность помутнения, сроки эпителизации роговицы. Степень воспалительной реакции и интенсивность помутнений определялись по системе баллов, предложенной Дрейзом, при этом оценивалась степень гиперемии, отека конъюнктивы, отека роговицы, а также степень ее прозрачности и опалесценция влаги передней камеры [17].

По окончании срока наблюдения животных выводили из эксперимента под наркозом методом воздушной эмболии через ушную вену. Для дальнейших морфологических исследований выполняли энуклеацию глазных яблок по обычной хирургической методике. Глаза фиксировались в 12% нейтральном растворе формалина, проводились через батарею спиртов и заливались в целлоидин. Срезы окрашивались гематоксилин-эозином. Изучение микропрепаратов осуществлялось с использованием светового микроскопа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. У кроликов первой группы на вторые сутки биопокрытие смещалось при движении третьего века. Воспалительная реакция не выражена в исследуемой и кон-

трольной группах. Полная эпителизация наступала на 5-й день, в контрольной группе на 4-й день. Прозрачность роговицы в зоне дефекта сохранялась в обеих группах. При гистологическом исследовании определялась полная эпителизация, все слои роговицы были сохранены.

Во второй группе биопокрытие на роговице держалось в течение трех дней. Остатки покрытия сохранялись в области швов, а сам дефект был выполнен фибриной пленкой. Воспалительная реакция наблюдалась до 6-го дня, в контрольной группе — до 7-го дня. На 6-й день отмечалась полная эпителизация дефекта. В обеих группах при осмотре определялось незначительное облачковидное помутнение в месте дефекта, которое не затрудняло визуализацию деталей радужной оболочки. При гистологическом исследовании в контрольной группе наблюдалось нарушение структуры стромы роговицы. В исследуемой группе структура стромы не была нарушена, однако отмечалась гиперплазия эпителиального слоя роговой оболочки. В контрольной группе эпителиальный слой восстановился полностью (рис. 1).

У кроликов третьей группы биопокрытие держалось в течение пяти суток. В области швов сохранялись остатки покрытия, сам дефект был закрыт фибриной пленкой до 8-го дня, с последующей полной эпителизацией на 10-й день. В контрольной группе эпителизация наступала на 8 день. Воспалительная реакция держалась до 14-го дня, в контрольной группе — до 16-го дня. На месте дефекта в исследуемой группе отмечалось облачковидное помутнение, при этом детали радужной оболочки визуализировались не отчетливо. Однако помутнение было менее выражено по сравнению с контрольной группой, где покрытие не выполнялось. Гистологическое исследование показало гиперплазию эпителия, нарушение структуры и отек стромы, но в меньшей степени, чем в контрольной группе (рис. 2).

Биопокрытие роговицы в четвертой группе держалось на поверхности дефекта в течение двух дней, затем его остатки отмечались только в месте фиксации швов. Дефект роговицы был закрыт фибриной пленкой в течение последующих четырех дней, а затем наступила перфорация, которая закрылась вследствие вставления радужки. В контрольной группе сквозной дефект был закрыт вставленной радужкой. В обеих группах наблюдалась выраженная воспалительная реакция. Клинически определялся значительный отек и помутнение роговицы. При гистологическом исследовании отмечались грубые нарушения структуры стромы роговицы.

В пятой группе воспалительная реакция уменьшилась на второй день. БАРП рассасывалось постепенно на протяжении всего срока наблюдения. Перед выведением из эксперимента при осмотре в щелевой лампе имплантированный лоскут в слоях

роговицы не визуализировался. При этом наблюдалось сохранение прозрачности роговицы в месте имплантации. При гистологическом исследовании наблюдались эпителизованные кисты в строме роговицы.

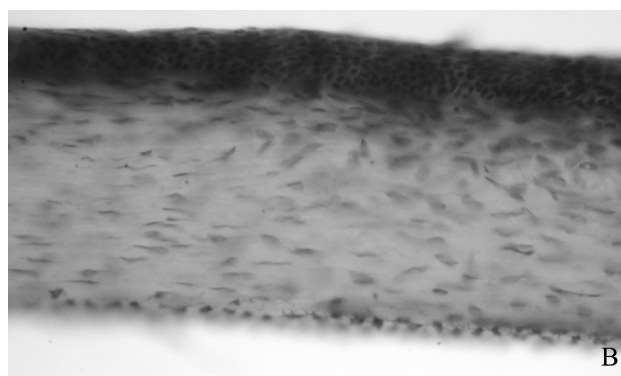
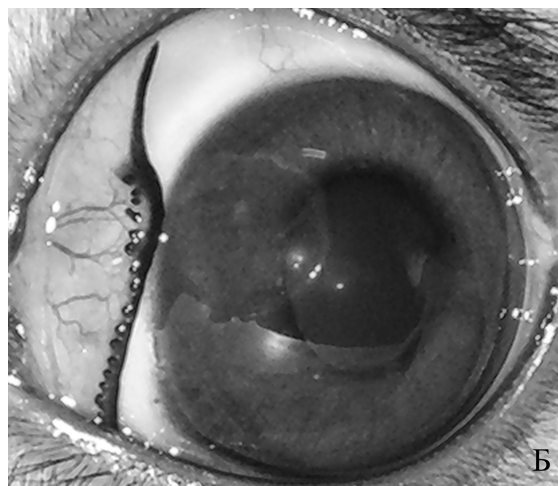
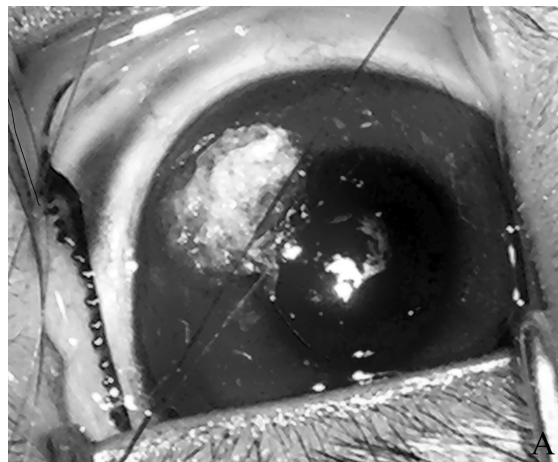


Рис. 1. Фотография глаза кролика 2-й группы, исследуемый глаз. А — сразу после закрытия дефекта абсорбирующим раневым покрытием. Б — на 7-й день после закрытия дефекта абсорбирующим раневым покрытием. Наблюдается нежное облачковидное помутнение в месте дефекта, которое не затрудняет четкой визуализации деталей радужки. В — гистологический препарат исследуемого глаза, отмечается сохранение структуры стромы и гиперплазия, эпителизация роговицы.

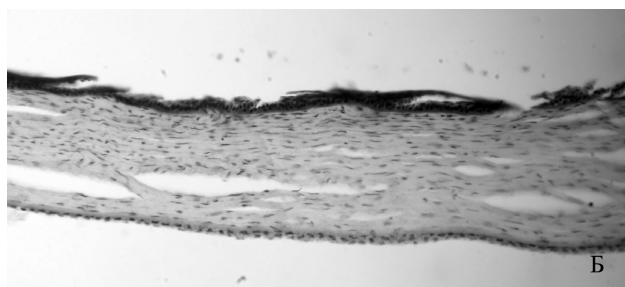
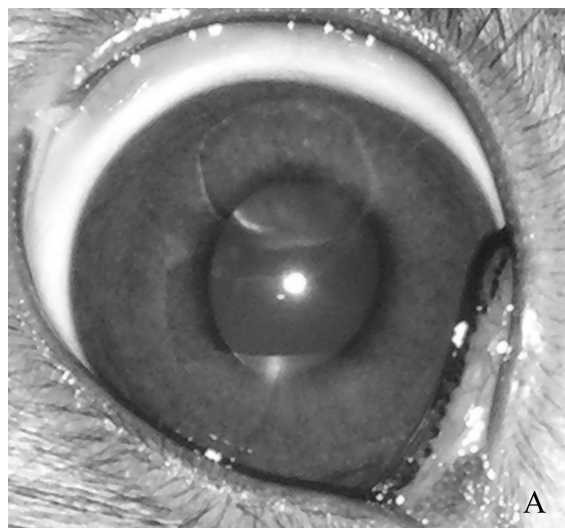


Рис. 2. Фотография глаза кролика 3-й группы. А — на 7-й день после покрытия. Наблюдается нежное облачковидное помутнение в месте дефекта. Б — при гистологическом исследовании отмечается нарушение структуры стромы, полная эпителизация роговицы в месте дефекта.

Статистическая обработка полученных материалов проводилась при помощи программы SPSS версия 13.0. Использовались непараметрические критерии оценки Манна-Уитни и Т-критерий.

В группе, где выполнялась деэпителизация, а также в группе с проникающими ранениями роговицы достоверные отличия не наблюдались.

Отмечалось достоверное уменьшение степени воспалительной реакции во второй и третьей группах ($p = 0,042$) и замедление сроков эпителизации ($p = 0,009$) по сравнению с контрольной группой. Достоверных отличий при оценке остальных клинических результатов между группой, где выполнялось биологическое покрытие, и контрольной группой не отмечалось.

Таким образом, у животных исследуемых групп после нанесения дефекта роговицы и лечебного биопокрытия наблюдалась задержка эпителизации и уменьшение воспалительной реакции. Это, возможно, было связано с действием апротинина, входящего в состав абсорбирующего коллагенового покрытия, который ингибировал протеолитическую активность ферментов и тем самым оказывал противовоспалительное действие [11,12]. Задержку эпителизации можно объяснить тем, что дефект

был закрыт фибриной пленкой, которая замедляет миграцию роговичного эпителия.

Продукты распада животного коллагена при рассасывании покрытия оказывают стимулирующее действие на процессы репаративной регенерации, биосинтеза коллагена и восстановление структуры соединительной ткани. Являясь основным белком соединительной ткани, коллаген играет ведущую роль в заживлении ран [13].

Полученные нами результаты эксперимента аналогичны результатам других исследователей, использовавших в качестве покрытия амниотическую мембрану. По данным эксперимента, эпителизация роговой оболочки наступала не позднее 7-9 суток. К 14 суткам все признаки воспаления купировались. Роговая оболочка при поверхностных дефектах сохраняла прозрачность и была покрыта эпителием. При дефектах стромы роговицы наблюдались помутнения различной степени [10].

Гистологически в группе с применением БАРП менее выражена дезорганизация стромы.

Заключение. Полученные в эксперименте данные указывают на возможность применения для лечебной кератопластики абсорбирующего раневого покрытия в качестве биопокрытия при поверхностных и глубоких повреждениях стромы роговицы. Таким образом, целесообразно продолжение изучения технических и клинических аспектов данной проблемы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Батманов Ю. Е., Егорова К. С., Колесникова Л. Н. Применение свежего амниона в лечении заболеваний роговицы // Вестн. офтальмол. — 1990. — Т. 106. — № 5. — С. 17-19.
2. Комах Ю. А., Мороз З. И., Борзенко С. А. Современное состояние проблемы повторной пересадки роговицы (Обзор литературы) // Офтальмохирургия. — 1997. — № 1. — С. 19-27.
3. Мулдашев Э. Р., Муслимов С., Саликов. // Аллопланты для офтальмохирургии. — Уфа, 1987. — С. 30.
4. Пучковская Н. А., Мучник С. Р., Шульгина Н. С. Гистологические и биохимические изменения роговой оболочки после химических и термических ожогов // Офтальмол. журн. — 1959. — № 4. — С. 202.
5. Kuhnt H. Ueber die Verwerbarkeit der Bindehaut in der praktischen operativen // Augenheilkunde, Wiesbaden. — 1898. — P. 149.
6. Kuhnt H. // Elschnigs Operationslehre. — 1905. — Bd. 1. — P. 560.
7. Filatov V. P. Remarks concerning the amelioration of leucomas and corneal transplantation // Amer. J. Ophthalmol. — 1937. — Vol. 20, № 6. — P. 1283.
8. Гундорова Р. А., Поволочко Л. И., Ржечицкая О. В. с соавт. Лечебная кератопластика при различных патологических состояниях роговицы // Офтальмол. журн. — 1983. — Т. 258. — № 2. — С. 75-77.
9. Судалин А. В., Батманов Ю. Е. Применение кератопластики и пластики конъюнктивы в лечении глу-

- боких кератитов (Обзор литературы)// Клинич. офтальмолог. — 2003. — Т. 4. — № 1. — С. 1-3.
10. Милодин Е. С. Восстановление эпителия роговицы под силиковысушенной пластифицированной амниотической мембраной у больных с патологией переднего сегмента глаза // Вестник СамГУ -- Естественнаучная серия. — 2006. — № 9. — С. 227-236.
 11. Кадышев Ю. Г., Левицкий А. П., Литвинов П. Г. и др. Применение ингибиторов протеиназ для лечения ожоговых ран. // Клини. Хир. — 1992. — № 3. — С. 42-44.
 12. Schmid S., Uhl W., Buchler M. W. Protease-antiprotease interactions and the rationale for therapeutic protease inhibitors.// Scand. J. Gastroenterol. — 1996. — № 219. — P. 47-50.
 13. Шехтер А. Б. Стимулирующее влияние коллагена и хондроэтинсульфатов на образование соединительной ткани. Гистофизиология соединительной ткани. // Новосибирск. — 1972. — Т. 1. — С. 51-53.
 14. Волков В. В., Забойникова Т. П. Каминская Л. Ю. и др. Акантамебный кератит // Вестн. офтальмол. — 1994. — № 1. — С.28-31.
 15. Дронов М. М. Руководство по кератопластике. // Санкт-Петербург: «Влазипресс». — 1997. — С.115-117.
 16. Майчук Ю. Ф. Терапевтические алгоритмы при инфекционных язвах роговицы. // Вестн. офтальмол. — 2000. — № 3. — С. 35-37.
 17. Ocular toxicity studies // The Basis of Toxicity Testing. Ed. by D. J. Ecobichon. — 2nd ed. — New York, 1997. — 220 p.
- Поступила 13.07.2009.**
Рецензент канд. мед. наук Т. Б. Гайдамака

EXPERIMENTAL STUDY OF APPLICATION OF THE ABSORBING WOUND COATING ON THE BASIS OF COLLAGEN IN DAMAGES OF THE CORNEA

Pasechnikova N. I., Yakimenko S. A., Buznik A. I., Nasinnik I. O., Kustrin T. B.
Odessa, Ukraine

An experimental study is carried out by using the absorbing wound coating of the cornea in the experiment on 18 rabbits with different defects of the cornea.

The data obtained in the experiment indicate the possibility of applying the absorbing wound coating for the therapeutic keratoplasty as biocovering in superficial and deep damages of the cornea.



УДК 617.723/.35-778.317:613.2-099:612.085.1

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕМЕНТОВ ХОРИОРЕТИНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ГЛАЗА КРЫС ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ МЕТИЛОВОГО СПИРТА

Н. Е. Думброва, проф., д-р мед. наук, **Н. И. Молчанюк**, канд. биол. наук

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова АМН Украины»

Досліджено хоріокапіляри судинної оболонки, пігментний епітелій та фоторецептори сітківки щурів у динаміці (1 — 14 діб) після одноразового в/б введення метилового спирту в дозі 0,75 г/кг маси тіла.

Встановлено, що на це діяння найбільше реагують клітини пігментного епітелію сітківки: через одну добу виявляються ознаки активації внутріклітинних структур; на сьому добу відзначається значна ТХ альтерація; на 14 добу в клітинах з'являються ознаки компенсаторно-відновного характеру.

Звертає на себе увагу виражена реакція мітохондрій, що є енергостворюючими структурами клітини, і слабо розвинута базальноскладчатість, яка вказує на зниження їх насосної функції.

Дослідження буде продовжено з метою з'ясування дії різних доз метилового спирту на організм тварини.

Ключевые слова: хориоретинальный комплекс, ультраструктурные изменения, метиловый спирт, эксперимент.

Ключові слова: хоріоретинальний комплекс, ультраструктурні зміни, метиловий спирт, експеримент.

Введение. Алкоголизм относится к распространенной патологии современного человека. Известно, что это заболевание поражает многие жизненно важные органы и, в первую очередь, вовлекает в патологический процесс ткани головного мозга и органа зрения, особенно сетчатку и диск

зрительного нерва [1, 6, 8, 9, 10, 11, 12]. Помимо повышенного употребления спиртных напитков, широкое распространение находит также употребление суррогатов алкоголя, что может приводить к

© Н. Е. Думброва, Н. И. Молчанюк, 2009.