

УДК 617.713-002.447-089.843:612.085.1

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЗАЖИВЛЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГНОЙНОЙ ЯЗВЫ РОГОВИЦЫ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЛЕЧЕБНО-ТЕКТОНИЧЕСКОЙ КЕРАТОПЛАСТИКИ ЛОСКУТАМИ АУТОСКЛЕРЫ

Л. А. Сухина, д. мед. н., проф., **М. Б. Перекрестов**, врач

Кафедра глазных болезней ФИПО Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького

Проведено експериментальне дослідження використання аутосклеральних лоскутів при лікуванні гнійної виразки рогівки.

Результати гістологічного вивчення очей кроликів, що перенесли лікувально-тектонічну кератопластику клаптями аутосклери при експериментальній гнійно-запальній виразці рогівки, виявили роль васкуляризованих аутосклеральних трансплантатів у пригніченні інфекційного процесу, запалення, резорбції некротичних мас і тканинного детриту з поверхні виразки, а також участь фібробластів склери поряд з кератобластами рогівки в регенерації дефекта рогівкової тканини. Встановлено також лікувальний вплив трансплантата на оточуючу рогівку.

Ключевые слова: гнойная язва роговицы, кератопластика, аутосклера, регенерация, эксперимент.

Ключові слова: гнійна виразка рогівки, кератопластика, аутосклера, регенерація, експеримент

Введение. По данным ВОЗ, роговичная слепота занимает третье место в мире среди причин, приводящих к необратимой слепоте и слабосightedию [4]. Среди всей роговичной патологии особого внимания заслуживает гнойная язва роговицы (ГЯР) вследствие тяжести заболевания, приводящего к значительному снижению зрения, анатомической гибели глаза, что может заканчиваться энуклеацией в 8–17 % случаев [1, 5]. Наиболее эффективным методом хирургического лечения ГЯР является лечебная кератопластика (ЛКП). В ургентной офтальмохирургии нехватка или отсутствие донорского материала, в частности, роговичных лоскутов, значительно влияет на качество лечения и исходы тяжелых заболеваний и травм роговицы [2]. В развитых странах мира для бесперебойного обеспечения офтальмохирургов качественным донорским пластическим материалом создана система глазных банков, которые используют современные технологии в приготовлении консервированных кадаверных тканей [2]. Несмотря на то, что академику В. П. Филатову и его научной школе принадлежит приоритет в разработке важнейших теоретических предпосылок, вопросов консервации и хранения донорских материалов, техники кератопластики, специального инструментария для ее проведения, в Украине глазные банки в силу различных правовых и экономических причин до сих пор не созданы, что делает выполнение ургентной лечебной кератопластики весьма затрудненным. В связи с этим разработка новых способов хирур-

гического лечения пациентов с ГЯР с применением альтернативных донорской роговице пластических материалов является актуальной. Одной из альтернатив ЛКП донорской роговице может быть применение склеры. Основой для ее использования в офтальмологии являются хорошие пластические свойства [6]. В литературе имеются лишь единичные сообщения о применении аутосклеральных лоскутов на питающем основании для ургентной кератопластики [3, 7]. Достоинствами аутосклеры как пластического материала является то, что она практически всегда доступна, не требует приготовления и хранения, не вызывает повреждения роговицы, нетоксична, не обладает антигенными свойствами, легко принимает форму роговицы, непроницаема для инфекции [3, 7]. Однако роль кровоснабжения аутосклерального лоскута в заживлении и механизмы репарации ГЯР при применении лечебной кератопластики аутосклеральными лоскутами остаются неизученными.

В связи с этим **целью исследования** было: изучить гистоморфологические особенности и механизмы репарации ГЯР при применении лечебно-тектонической кератопластики аутосклеральными лоскутами (ЛТКА).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Экспериментальные исследования произведены на 13 половозрелых кроликах (26 глаз) массой 2,5–3 кг. На 25 глазах создана экспериментальная модель ГЯР, один глаз оставлен интактным. Все болез-

© Л. А. Сухина, М. Б. Перекрестов, 2010

ненные процедуры выполнялись под наркозом. Для моделирования ГЯР применяли следующую методику*. Кролика фиксировали в станке. В глаза инстиллировали алкаин 0,5 %, за веки вставляли векорасширитель. Фиксировали глаз кролика пинцетом, затем инсулиновой иглой 25G на 12 часах парацентрально в 6 мм от центра роговицы делали интрастромальную инъекцию и продвигали кончик иглы к центру роговицы, затем интрастромально вводили 0,2–0,3 мл воздуха до формирования звездчатой полости в слоях роговицы. Затем, не вынимая иглы, меняли шприц и вводили в сформированную полость в роговице живую культуру *Staphylococcus aureus*, после чего извлекали иглу. Лечение начинали через 1 сутки после инъекции, когда биомикроскопически на месте интрастромального введения в центральных отделах роговицы отмечалось формирование гнойной язвы роговицы.

Техника операции ЛТКА. Кроликов фиксировали в станке. В глаз инстиллировали алкаин 0,5 % и ципролет. За веки вставляли векорасширитель. Гнойную язву роговицы тщательно очищали от гноя, некротического налета путем соскабливания ложечкой и ватным тампоном, интенсивно промывали раствором антибиотика (ципролет). Конъюнктиву отсекали у лимба и вместе с подслизистой оболочкой отсепаровывали в сторону экватора. Выделяли и брали на швы-держалки наружные прямые мышцы глаза. Натяжением за швы-держалки выводили глаз кролика в положение, удобное для операции. В одном из квадрантов между прямыми мышцами глаза циркулем на склере размечали лоскут необходимых размеров прямоугольной формы. Лезвием делали дозированную насечку 200 мкм по намеченному контуру, после чего ножом-расслаивателем формировали аутосклеральный лоскут прямоугольной формы на питающей ножке у лимба. Затем положение глаза меняли и в противоположном квадранте выкраивали второй аутосклеральный лоскут с основанием у лимба. Размеры лоскутов рассчитывали таким образом, чтобы они закрывали дефект роговицы. При этом учитывали тот факт, что выкроенные лоскуты уменьшаются в размере, происходит их сморщивание до 10 % от первоначальной длины. Выкроенные склеральные лоскуты переворачивали через основание, укладывали на роговицу навстречу друг другу и фиксировали между собой узловыми швами. Накладывали швы на конъюнктиву, субконъюнктивально вводили антибиотик (цефазолин 0,2 мл) и дексаметазон (0,3 мл). В течение двух недель после операции в глаза животных инстиллировали ципролет 0,1 %, раствор дексаметазона 4 раза в день.

Всех животных выводили из эксперимента методом воздушной эмболии под наркозом в соответствии с требованиями биоэтики Хельсинской декларации об этическом регулировании медицинских исследований в запланированные сроки: до операции, через 3, 7, 14, 21 сутки, 1, 2, 3 и 6 месяцев после операции. Для дальнейших гистоморфологических исследований после энуклеации глаза фиксировали в 10 % нейтральном растворе формалина, проводили по спиртам возрастающей концентрации, заливали в целлоидин, изготавливали срезы толщиной 10 мкм. Срезы монтировали на химически чистые предметные стекла, подсушивали в термостате, окрашивали гематоксилин-эозином и микроскопировали под световым микроскопом с последующим фотографированием.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Через сутки после моделирования ГЯР у кроликов в ро-

говице гистологически определялся дефект эпителия и стромы на 1/2 ее толщины. Строма роговицы была с резко выраженным отеком, формированием щелей, значительно инфильтрирована лимфоидными клетками, на поверхности язвы отмечался некротический налет. Таким образом, к моменту начала лечения в роговице преобладали явления альтерации, гидратации, гнойного воспаления.

Через трое суток после ЛТКА на роговице определялся склеральный трансплантат, закрывающий язвенный дефект роговицы. Количество некротических масс на поверхности язвы уменьшилось, глубокие слои роговицы обильно инфильтрированы сегментоядерными лейкоцитами и макрофагами, отмечается отек, формирование щелей. Склеральный лоскут равномерной толщины, соединительнотканые волокна лежат компактно, отмечается инфильтрация лоскута лимфоидными клетками и макрофагами. В проксимальной трети аутосклерального лоскута на поперечных срезах определяются сосуды с группами эритроцитов в их просвете (рис. 1). Между склеральным лоскутом и роговицей отмечена пролиферация эпителия роговицы с погружным характером роста.

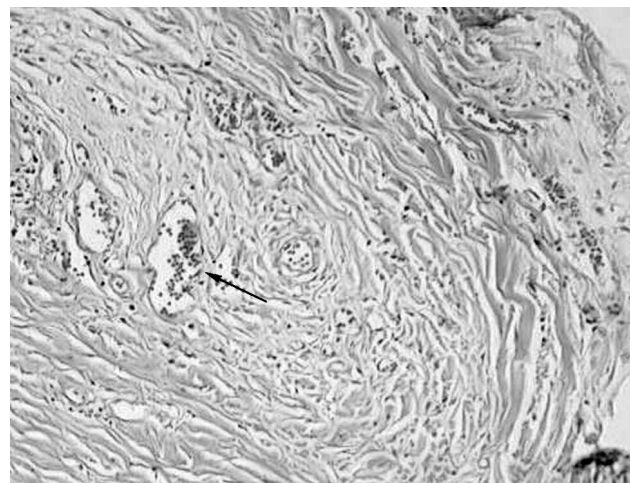


Рис. 1. Гистопрепарат аутосклерального лоскута через трое суток после ЛТКА. Сосуды с форменными элементами крови в просвете (стрелка). Окраска гематоксилин-эозином, увеличение 200х.

Таким образом, через трое суток после операции в роговице преобладает воспаление, в то же время отмечено начало репаративных процессов. Особого внимания заслуживает факт сохранности кровоснабжения аутотрансплантата, что подтверждается наличием сосудов с форменными элементами крови в их просвете. Также обращает внимание обильная лимфогистиоцитарная и макрофагальная инфильтрация аутосклерального лоскута, что свидетельствует об участии трансплантата в воспалении, рассасывании тканевого детрита и некротических масс.

* *Примечание от редакции:* И. Я. Новицкий «Способ моделирования инфекционного язвенного кератита», SU 1184537 А

Через одну неделю после ЛТКА на роговице определяется склеральный трансплантат без признаков лизиса с погружением в язвенный дефект роговицы, он равномерной толщины, соединительнотканые волокна лежат компактно, отмечается усиление лимфогистиоцитарной инфильтрации лоскута. В толще лоскута определяются сосуды с форменными элементами крови. Наблюдается пролиферация роговичного эпителия как поверх аутосклерального лоскута, так и между ним и роговицей. Отмечено исчезновение некротических масс, тканевого детрита с поверхности язвы. В глубоких слоях стромы роговицы значительно уменьшилась лимфогистиоцитарная инфильтрация, стало значительно меньше макрофагов, уменьшился отек, разволокнение роговицы. Таким образом, через неделю после операции воспаление в роговице уменьшается, а преобладающими стали регенеративно-репаративные процессы, что может быть связано с влиянием склерального лоскута на окружающую роговицу, наподобие эффекта тканевой терапии по методу В. П. Филатова (1934).

Через две недели после ЛТКА на роговице определяется аутосклеральный лоскут, в котором появился отек, разволокнение, уплощение, атрофия фибробластов, изредка гибнущие пучки без фибробластов, значительно уменьшилась клеточная инфильтрация. В толще аутосклерального лоскута только у его основания определяются единичные сосуды. Между аутосклеральным лоскутом и дефектом роговицы появилась молодая соединительная ткань с пролиферацией кератоцитов и фибробластов и небольшим количеством хаотично расположенных пучков. Здесь же наблюдается пролиферация эпителия роговицы с образованием многослойного пласта и погружным ростом его в окружающую ткань. В месте соединения роговицы с лоскутом склеры отмечается воспаление от слабого до умеренного с инфильтрацией лимфоцитами, гистиоцитами, единичными эозинофилами. Таким образом, через 14 суток после операции в роговице преобладают регенеративно-репаративные процессы с формированием молодой соединительной ткани, причем заживление ее идет как за счет собственных роговичных клеток — кератоцитов, так и за счет фибробластов склерального лоскута, появившихся в большом количестве между аутосклеральным лоскутом и роговицей. Установлено, что кровоснабжение аутосклеральных трансплантатов может играть положительную роль в процессе заживления язвы роговицы в течение двух недель после операции.

Через три недели после ЛТКА на роговице определяется частично лизированный аутосклеральный лоскут с признаками дистрофии и атрофии соединительнотканых пучков, истончением и разволокнением. Функционирующие сосуды в

аутосклеральном лоскуте не определяются. Молодая соединительная ткань между аутосклеральным лоскутом и роговицей восполняет дефект роговицы и приобретает черты созревающей. В окружающей дефект роговицы воспалительная инфильтрация не определяется, однако сохраняются отек и разволокнение.

Через один месяц после ЛТКА в аутосклеральном лоскуте определяются явления резко выраженного процесса дистрофии и атрофии, истончение и разволокнение его, вплоть до полного рассасывания аутотрансплантата. В месте имевшегося ранее дефекта роговицы молодая соединительная ткань приобрела черты созревающей и восполнила дефект роговичной ткани. В регенерате значительно уменьшилось количество активно делящихся клеток, увеличилось количество коллагеновых волокон и пучков. Волокна приобрели определенные размеры, форму, ориентацию, приближающиеся к таковым ткани склеры, нежели роговичной ткани. Глубокие слои роговицы без видимых изменений.

Через два месяца после ЛТКА аутосклеральный лоскут полностью рассосался. Роговица свободна от трансплантата, поверхность роговицы полностью эпителизирована. В месте имевшегося ранее дефекта роговицы определяется соединительная ткань с небольшим количеством клеток и большим количеством волокон и пучков. Размеры, форма и направление пучков отличаются от таковых неизменной роговичной ткани за счет рыхлого, некомпактного расположения с формированием множества щелей, отсутствует правильная укладка пучков. Глубокие слои роговицы без изменений.

Через три месяца после ЛТКА роговица свободна от трансплантатов, полностью эпителизирована. В месте имевшегося ранее язвенного дефекта роговицы определяется зрелая соединительная ткань, в которой отмечено уменьшение количества клеток и увеличение количества волокон и пучков, имеющих неправильную, хаотичную ориентацию, неоднородные размеры, формирующих множество щелей. Глубокие слои роговицы без видимых изменений (рис. 2). Таким образом, через три месяца после оперативного лечения в роговице продолжают процессы перестройки сформированного рубца.

Через 6 месяцев после ЛТКА в роговице продолжают процессы перестройки соединительной ткани, направленные на формирование более нежного рубца.

Заключение. Представленные результаты гистологического исследования глаз кроликов, перенесших ЛТКА при экспериментальной ГЯР, позволили выявить морфологические особенности ее заживления. Установлено участие васкуляризированных аутосклеральных трансплантатов в подавлении инфекции, воспаления, резорбции некротических масс и тканевого детрита с поверх-

ности язвы, лечебное действие лоскутов на окружающую роговицу, а также участие фибробластов склеры, наряду с кератообластами роговицы, в регенерации дефекта роговичной ткани.

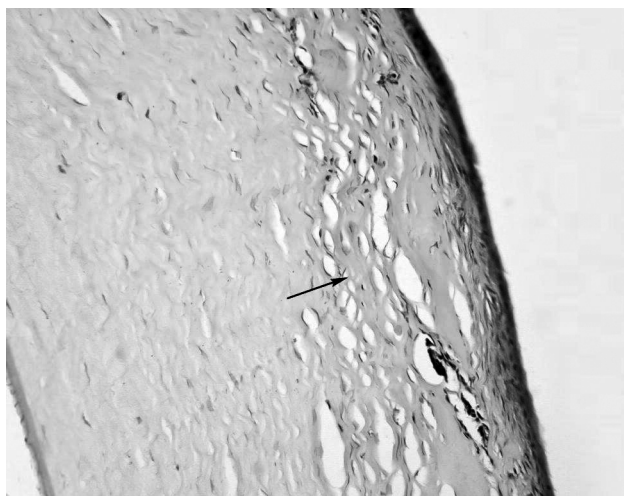


Рис. 2. Гистопрепарат роговицы кролика через 3 месяца после ЛТКА. Зрелая соединительная ткань в зоне язвенного дефекта (стрелка). Окраска гематоксилин-эозином, увеличение 100х.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов Д. В. Анализ терапии гнойных кератитов и роль кератопластики в этом процессе // Мат. науч. — практ. конф. «Актуальные проблемы офтальмологии». — Москва, 2000. — С. 24–26.
2. Каспаров А. А. Роль глазного банка в реконструктивной хирургии НИИ ГБ РАМН / А. А. Каспаров, В. Н. Розина // В мат. науч. — практ. конф. «Актуальные вопросы офтальмологии». — Москва, 2000. — С. 183–184.
3. Красюк Е. Ю. Герметизация аутосклерой проникающих ран роговицы с дефектом ткани (экспериментальное исследование): автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук: специальность 04.01.08 «Глазные болезни» / Е. Ю. Красюк. — Рязань, 1997. — 21 с.
4. Либман Е. С. Слепота и инвалидность по зрению в населении России // VIII съезд офтальмологов России. — Москва, 2005. — С. 78–79.
5. Майчук Ю. Ф. Основные тенденции в эпидемиологии и терапии глазных инфекций // Тезисы VIII съезда офтальмологов России. — Москва, 2005. — С. 92–93.
6. Hyndiuk R. A. Free tissue patch and cyanoacrylate in corneal perforation / Hyndiuk R. A., Hull D. S., Kinyoun J. L. // *Ophthalmic Surg.* — 1974. — Vol. 5, № 2. — P. 50–55.
7. Injerto de esclera: nuestra experiencia / Delgado J. L., Ayala E., Montesinos B., [et al.] // *Archive Soc Canar Ophthalmol.* — 2000. — Vol. 11. — P. 19–22.

Поступила 29.09.2010
Рецензент проф. Э. В. Мальцев

MORPHOLOGIC PECULIARITIES OF HEALING OF THE EXPERIMENTAL CORNEAL PURULENT ULCER IN APPLICATION OF THE THERAPEUTIC-TECTONIC KERATOPLASTY WITH AUTOSCLERAL FLAPS

Sukhina L. A., Perekrestov M. B.
Donetsk, Ukraine

The experimental study was made to investigate the application of the autoscleral flaps in treatment of corneal purulent ulcers.

The results of histological studies of the eyes of the rabbits having undergone the therapeutic-ectonic keratoplasty with autoscleral flaps in modeled corneal purulent ulcer revealed participation of the vascularized autoscleral transplants in inhibition of the infectious process, inflammation, resorption of the necrotic masses and tissue detritus from the ulcer surface as well as participation of scleral fibroblasts along with corneal keratoblasts in regeneration of the corneal tissue defect.

There was also established a therapeutic effect of the transplant on the surrounding cornea.

