

Експериментальні дослідження

УДК 617.721.6-006.81.04-089.87:617.723-091.8

Порівняльні особливості структурних змін у судинному тракті ока після застосування радіохвильового ножа або ріжучого інструмента в експерименті

О. В. Хомякова, В. В. Віт, д-р мед. наук, професор; А. П. Малецький, д-р мед. наук

ДУ "Інститут очних хвороб та
тканинної терапії ім. В.П. Філатова
НАМН України";
Одеса (Україна)

E-mail: maletskiy@filatov.com.ua

Актуальність. Органозберігаючі оперативні втручання при увеальній меланомі залишаються пріоритетним напрямком терапії. Недостатній досвід застосування технологій радіохвильової хірургії вимагає розширення досліджень щодо дії радіоножа на пухлинну і здорову тканину ока на гістологічному рівні, а також характер змін при загоєнні операційної рани після різних способів оперативного втручання.

Мета: вивчити в експерименті характер реакції склери та судинного тракту ока при застосуванні радіохвильового ножа або ріжучого інструменту.

Матеріал та методи. Експериментальні дослідження проведені на базі віварію ДУ "Інститут хвороб очей і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України". Видалення структур ока виконано на 12 кроликах (12 очей) породи «шиншила» віком 4-6 міс, в тому числі з використанням радіохвильового ножа Surgitron «ELLMAN International» (США) – I група (n=6), з використанням звичайного різального інструменту – II група (n=6). Видалені тканини підлягали стандартному гістологічному дослідженню.

Результати. Проведені гістоморфологічні дослідження тканин ока (склери, райдужки, циліарного тіла, судинної оболонки) у експериментальних тварин (кролики), показали, що при використанні радіохвильового ножа розвиваються некротичні, дистрофічні зміни збережених під час операції тканин ока поблизу раневого каналу, які поширюються до сітчастої оболонки. Зміни тканин після застосування ріжучого інструменту є менш вираженими.

Висновки. При використанні радіохвильового ножа розвиваються дистрофічні та некротичні зміни збережених під час операції тканин ока (фрагментів війкового тіла, склери і субкон'юнктивальної тканини) поблизу раневого каналу. Вказані зміни зберігаються протягом 30 днів, з тенденцією до поглиблення некротично-дегенеративних змін.

Ключові слова:

судинна оболонка ока, радіохвильова хірургія, експериментальна модель, гістоморфологічні зміни

Актуальність. Внутрішньоочна меланома є високо злоякісною пухлиною і відноситься до розряду рідкісних пухлин, так як становить менше 1% від усіх типів раку, 12% від меланом всіх локалізацій, 80-87% від всіх внутрішньоочних пухлин (11-18% складають ретинобластоми, що як правило, зустрічаються в ранньому дитячому віці) [2, 7]. Середня захворюваність хворих на увеальну меланому (УМ) становить близько 8-13,5 випадків на 1 млн. населення [6]. Незважаючи на досягнуті успіхи в діагностиці та лікуванні УМ, смертність після енуклеації ока через 5 років становить 16,5% [13], після 10 років – 58% [13]. Значно погіршується прогноз у хворих УМ при її екстрасклеральному проростанні, і в цих випадках смертність

після закінчення 10 років досягає 69 - 73% [13]. Ці дані свідчать про те, що прогноз щодо життя багато в чому залежить від стадії пухлини, тому рання діагностика УМ надзвичайно важлива. Слід зазначити, що пік захворюваності УМ доводиться на вік 55 років [5].

УМ можуть вражати як райдужку, так і циліарне тіло і судинну оболонку, тому необхідний диференційований підхід в діагностиці і лікуванні даної пухлини.

Відомо, що меланоми переднього відрізка ока (райдужка, циліарне тіло і судинна оболонка) зустрічаються у 28-35% пацієнтів.

В останні десятиліття інтенсивно розробляється проблема органозберігаючого лікування хворих УМ [3, 1, 8, 9, 13], значимість якого полягає не тільки в збереженні органа зору і його функцій – які зазвичай досягаються в 41-52% випадків [9], але і в істотному поліпшенні прогнозу життя хворих. Так, за даними групи дослідників [13], п'ятирічне виживання хворих після органозберігаючого лікування склало 85,1-94%, а 10-річне – до 90% [13], тобто відсоток виживання суттєво вище в порівнянні з енуклеацією ока.

В останні роки досягнення в офтальмомікрочірургії істотно розширили можливості видалення пухлин іридоциліохоріоїдальної області, проте відсоток інтраопераційних і післяопераційних ускладнень досить високий, що позначається на кінцевому результаті.

Так, за даними ряду авторів (Линник Л. Ф., 2000; J.García-Agumí et al, 2001 і ін.), основними інтраопераційними ускладненнями є експульсивна кровотеча, частковий гемофтальм, геморагії в хоріоїдею; а післяопераційними – катаракта – 40%, ексудативне відшарування сітківки – 16%, епіретинальна проліферація в макулу – 8%, геморагії в сітківку – 8%, гіпотонія, яка веде до субатрофії ока). З метою зменшення відсотка вищенаведених ускладнень, нам представляється можливим використання методу радіохірургії при проведенні резекції пухлини, яка дозволяє одномоментно проводити розтин тканин і коагуляцію судин. У доступній нам літературі ми не знайшли робіт, стосовно даної проблеми.

Мета роботи – оцінка патоморфологічних змін структур ока після застосування радіохвильового хірургічного втручання та ріжучого інструменту в умовах експерименту.

Матеріал та методи

Експериментальні дослідження проводились на базі віварію ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» з дотриманням етичних норм, передбачених міжнародними принципами Європейської конвенції «О защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и в других научных целях» (Страсбург, 1986) та норм біомедичної етики, схвалених першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.), а також закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Київ, 2006).

Експериментальні дослідження були проведені на 12 кроликах породи Шиншила, масою 2-3 кг, віком 5-6 міс., які знаходилися в однакових умовах перебування.

Хірургічні втручання здійснювалися під загальною анестезією (з розрахунку 1мл 0,1% розчину тіопенталу натрію на 1 кг маси тіла кролика внутрішньом'язово). У шести кроликів дослідної групи (I група) на 6 очах було проведено видалення структур ока (райдужка, ціліарне тіло, судинна оболонка з використанням радіохвильового ножа Surgitron «ELLMAN International» (США), який застосовує високочастотний струм з генерацією 3,8-4 МГц (монополярний режим). У шести

кроликів групи порівняння (II група) видалення структур ока (райдужка, ціліарне тіло, судинна оболонка) проведено з використанням звичайного різального інструменту.

Евтаназія тварин здійснювалася методом повітряної емболії під наркозом відповідно до "Вимог біоетики декларації Гельсінкі про етичне регулювання медичних досліджень" [2]. Тварини виводилися з дослідження на 10 та 30 добу з дотриманням процедури рандомізації. Видалені очі поміщали у парафінові блоки, після чого за стандартною методикою готували зрізи, які забарвлювали гематоксиліном та еозіном. Світлову мікроскопію виконували на мікроскопі JonaMed (Німеччина).

Статистична обробка проводилася непараметричними методами за допомогою програмного забезпечення Statistica 10.0 (США) [1]

Оцінка досліджуваних клінічних ознак (набряк кон'юнктиви, стан швів, наявність виділень, наявність крововиливів у передню камеру ока і скловидне тіло) проводилася щодня на 1-10 добу і потім через кожні п'ять діб по бальній системі:

I. Набряк тканин кон'юнктиви (0 балів – набряк відсутній, 1 бал – набряк ділянки післяопераційного шва, 2 бали – набряк ділянки післяопераційного шва і прилеглої кон'юнктиви, 3 бали – виражений хемоз кон'юнктиви і набряк м'яких тканин орбіти).

II. Стан швів (0 балів – немає розходження швів, 1 бал – одинарні ділянки розходження швів до 1,0 мм, 2 бали – розходження швів протягом більше 1,0 і менше 5,0 мм, 3 бали – розходження швів на всьому протязі).

III. Виділення з кон'юнктивальної порожнини (0 балів – виділень немає, 1 бал – невелика кількість сукровичних виділень у кон'юнктивальній порожнині та на краях повік, 2 бали – незначне серозно-сукровичне виділення, що знаходиться у кон'юнктивальній порожнині, на краях повік та орбітальної ділянки, 3 бали – виражене серозно-сукровичне виділення у кон'юнктивальній порожнині, на краях повік, орбітальної ділянки та за межами орбіти).

IV. Наявність крововиливів у передню камеру і скловидне тіло (0 балів- крововиливів немає, 2 бали – наявність крововилива у третині передньої камери, 3 бали – наявність крововилива в половині передньої камери, 3 бали – наявність повної гіфеми, наявність повного гемофтальму).

Результати дослідження

У першу добу після операції за допомогою ріжучого інструменту спостерігався виражений набряк кон'юнктиви у всіх тварин, стан швів тварин цієї групи був задовільний на всьому протязі спостереження, також у перші 5 діб після операції відмічались виражені виділення з кон'юнктивальної порожнини, які зменшувались на 10-11 добу. Також спостерігається наявність крововиливів у передню камеру і скловидне тіло під час хірургічного втручання і перші 5-10 діб.

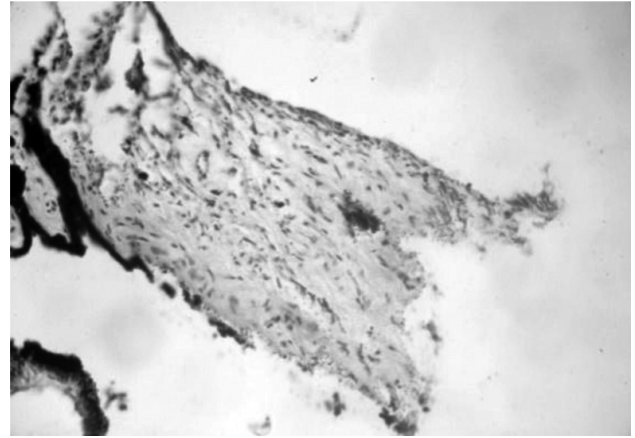
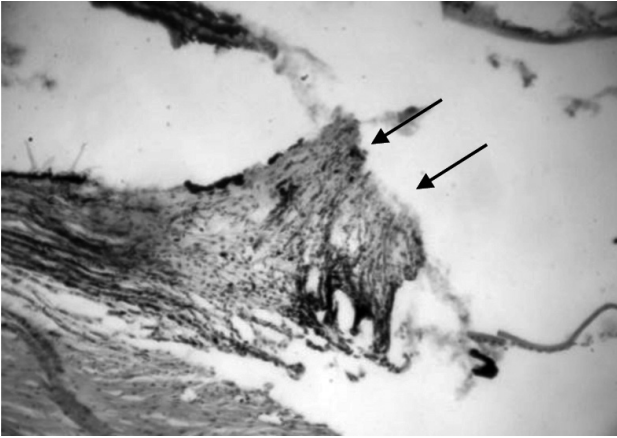


Рис. 1. Гістологічна картина резидуальних фрагментів райдужки при використанні різального інструменту а) через 10 діб, б) через 30 діб (Гематоксилін-еозин; х 70, х120)

При використанні радіохвильового ножа Surgitron «ELLMAN International» ми відмічали також набряк кон'юнктиви, який зменшувався на протязі 2-3 діб, стан швів у тварин цієї групи був задовільний на всьому протязі спостереження, відмічались незначні виділення з кон'юнктивальної порожнини, крововиливів у передню камеру і скловидне тіло не відмічалось. Патогістологічні дослідження показали, що після розрізу райдужної оболонки і війкового тіла з використанням різального інструменту, визначалися однотипні зміни структур ока, які характеризувалися наявністю чітких країв раневого каналу незалежно від структур, через які пройшов інструмент. Жодних виражених структурних змін тканин, що збереглися, не виявлено (рис. 1).

Якщо на 10 добу визначався лише чіткий край розрізу і незначна лимфоїдна інфільтрація строми, то на 30 добу спостерігалися набряк строми, відсутність запальної реакції і ознак фібротизації строми. У раневому каналі визначався детрит, що утворився в результаті механічного ушкодження тканин.

Аналогічні зміни визначаються і при розтині війкового тіла (рис. 2) і війкового тіла з ділянкою склери (рис. 3).

На 10 добу визначається рівний край розрізу і відсутність запальної реакції, однак наприкінці першого місяця після оперативного втручання спостерігаються явища фібротизації травмованих під час операції структурних елементів тканини. Волокниста тканина розміщується здебільшого субкон'юнктивально, у 2 (66,7%) випадках волокниста тканина була гіперплазована. Слід зазначити, що кон'юнктивальний епітелій вже через тиждень покриває раневу поверхню і має звичайну будову, тобто істотних дегенеративних і запальних змін тканин, що збереглися, через тиждень після оперативного втручання не відзначається.

Натомість, через 30 днів спостерігалася масивна фібротизація субкон'юнктивальної тканини (рис. 3 б).

Наступні дослідження показали, що використання радіохвильового ножа з метою іридоциклектомії і ціліохоріоїдектомії у кроликів призводить до істотних

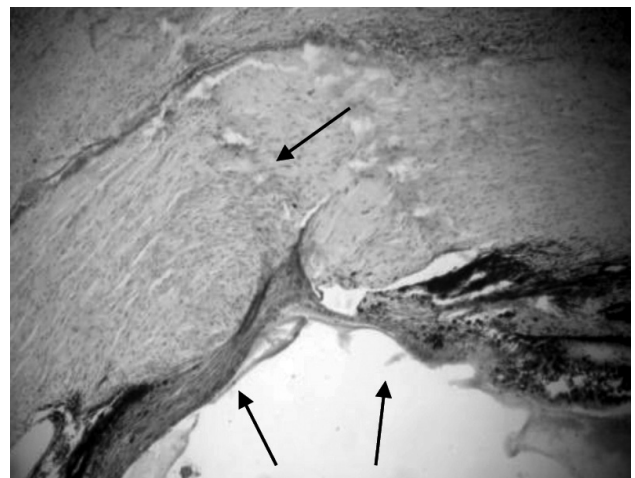
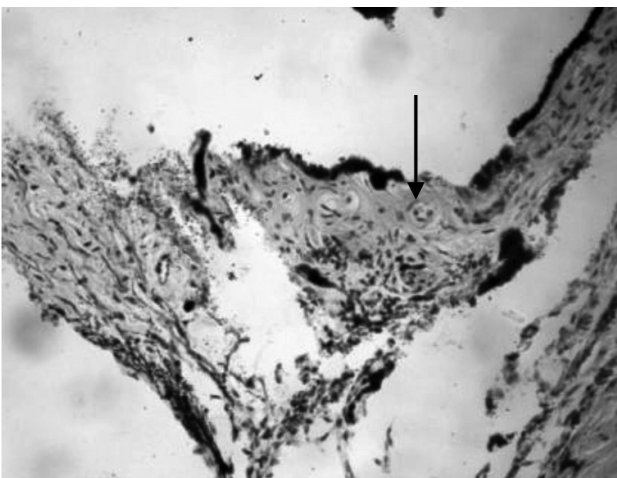


Рис. 2. Гістологічна картина резидуальних фрагментів війкового тіла при використанні різального інструменту а) через 10 діб після операції, б) через 30 діб після операції. (Гематоксилін-еозин; х 120)

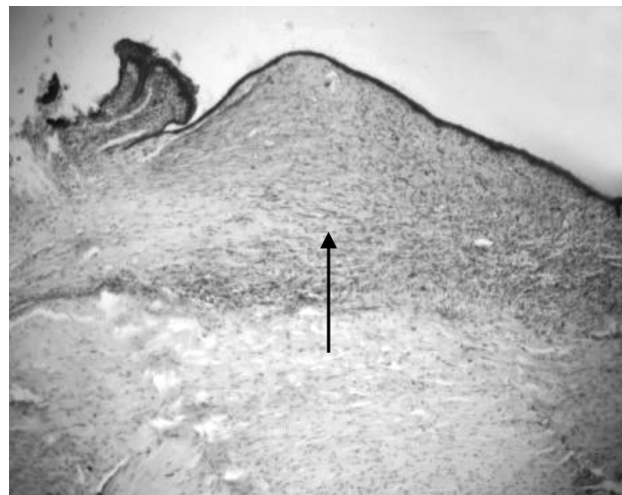
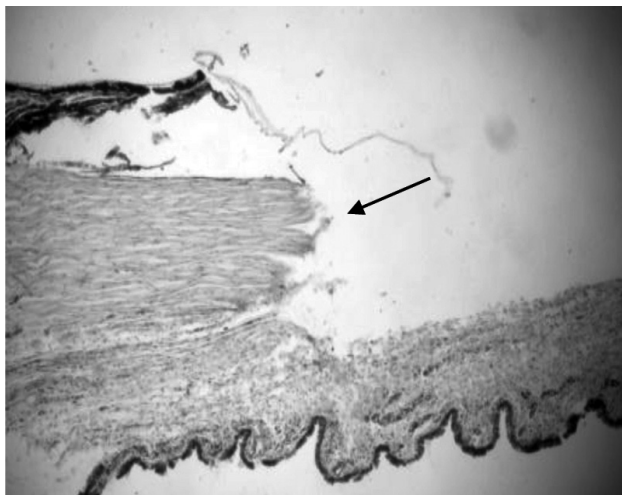


Рис. 3. Гістологічна картина резидуальних фрагментів війкового тіла, склери і субкон'юнктивальної тканини при використанні різального інструменту а) через 10 діб після операції; б) через 30 діб. (Гематоксилін-еозин; x 120)

змін структур, прилеглих до місця розрізу райдужки, війкового тіла і судинної оболонки. У безпосередній близькості до місця розрізу визначається смужка гомогенізації і сухого некрозу стромы райдужки та її пігментного епітелію (рис. 4). Технічних складнощів при виконанні оперативних втручань з використанням радіохвильового методу не було.

Крім того, виявляються ділянки сухого і волого некрозу прилеглої судинної оболонки і сітківки. Дезорганізація структури склери супроводжується інтенсивною запальною інфільтрацією.

В окремих випадках (1 спостереження – 33,3% від загального числа одержаних тканинних комплексів), через 10 днів у препаратах зберігалася гомогенізація склери, увеального тракту, сітківки і залишків війкового тіла. На цьому тлі визначалися також явища застійного повнокров'я. Характерною була виражена запальна реакція усіх тканин, яка проявлялася лім-

фоцитарною інфільтрацією навколо зон гомогенізації і некрозу. Ділянки, більш віддалені від місця дії, характеризувалися розширенням просвіту кровонесних судин, діapedезними крововиливами.

На цьому етапі дослідження спостерігали також випадок волого некрозу сітчастої і судинної оболонок, а також дезорганізацію структури частини війкового тіла, що зберіглася.

На більш пізній стадії дослідження визначалося рубцювання раневого каналу. При цьому зберігаються ділянки гомогенізації ділянок склери і залишків стромы райдужки. Спостерігаються дистрофічно змінені клітини пігментного епітелію, що формують локальні скупчення, оточені зрілою волокнистою тканиною. В цілому зберігається запальна інфільтрація та некротично-дегенеративні зміни.

З огляду на малий розмір проаналізованої вибірки перелічені відмінності за частотою виявлення деструктивних змін статистично значущо не відрізнялися ($\chi^2=1,09$ $p>0,05$).

Обговорення

Проведені гістоморфологічні дослідження тканин ока (склери, райдужки, циліарного тіла, судинної оболонки) у експериментальних тварин (кролики), показали, що при використанні радіохвильового ножа розвиваються некротичні, дистрофічні зміни збережених під час операції тканин ока поблизу раневого каналу, які поширюються до сітчастої оболонки. Виявляється, що оперування ріжучим інструментом є більш ощадливим. Так, після застосування радіохвильового хірургічного методу на десяту добу відзначається виражена запальна реакція, тоді як при іридоциклектомії з використанням ріжучого інструменту явища патоморфозу є мінімальними. Через місяць подібні зміни частково зберігаються, але переважають явища рубцювання як раневого каналу, так і збережених тканин, особливо

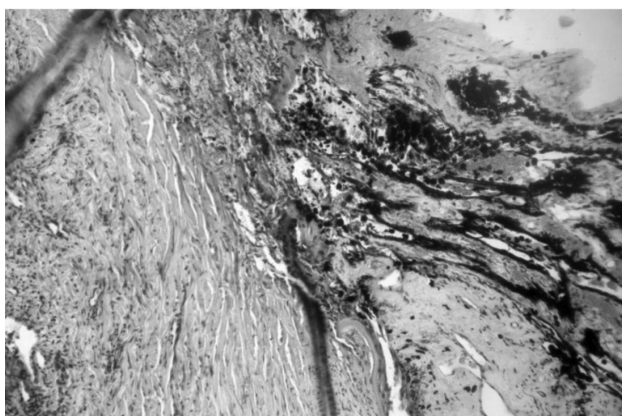


Рис. 4. Гістологічна картина зони оперативного втручання в ділянці війкового тіла при використанні радіохвильового ножа через 10 днів після оперативного втручання. (Гематоксилін-еозин; x 120).

тканини субкон'юнктиви, а так само увеального тракту і склери.

На нашу думку, виникнення виражених ознак активного патоморфозу тканин ока після застосування радіохвильового хірургічного методу не заперечує перспектив його застосування при органозберігаючих втручаннях на елементах судинної оболонки ока, адже з усього різноманіття режимів впливу високочастотного струму був обраний один з найбільш «ощадливих» діапазонів, а саме 3,8-4 МГц при монополярному впливі, що зменшує інтенсивність коагулюючого впливу. У комплексів Surgitron існує й біполярний режим, для якого може бути застосована менша частота, але при цьому ймовірна навіть більш виражена альтерація тканин, аніж ми спостерігали в дослідженні. Альтернативою радіочастотного методу є застосування лазерного скальпеля або ж технології CyberKnife [3], доступ до яких суттєво обмежений з економічних міркувань.

Висновки

1. В експерименті встановлено, що запальна реакція (набряк, виділення із кон'юнктивальної порожнини, наявність крововиливів у передню камеру і скловидне тіло) більш виражена при застосуванні ріжучого інструменту і менш виражена при застосуванні радіохвильового ножа.

2. При використанні радіохвильового ножа розвиваються дистрофічні та некротичні зміни збережених під час операції тканин ока поблизу раневого каналу.

3. Вказані зміни зберігаються протягом 30 днів, з тенденцією до поглиблення некротично-дегенеративних змін.

Література

1. **Боровиков В. П.** STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере / В. П. Боровиков СПб.: Питер, 2003, – 700 с.
2. **Ильин Е. А.** Биоэтика в исследованиях на человеке и животных / Ильин Е.А. // Авиакосмическая и экологическая медицина. – 2016. – Т.50. – №5. – С. 69-77
3. **Коробов Е. Н.** Первичная эндорезекция меланомы хориоидеи: метаанализ публикаций / Коробов Е. Н., Яровой А. А., Горшков И. М. // Современные технологии в офтальмологии. – 2017. – №1(14). – С. 142-145.

4. Первый опыт лечения меланомы хориоидеи на роботизированном линейном ускорителе «CYBER KNIFE» / Важеннин А. В., Панова И. Е., Семёнова Л. Е., Галямова Ю. В., Лукина Е. Ю., Новиков Е. В., Важеннин И. А., Важенина Д. А., Кузнецова И. В. // Сибирский онкологический журнал. – 2012. – №1. – С. 48-50.
5. Способ радиохирургического лечения увеальной меланобластомы / Смолякова Г. П. (RU), Пиховская И. Г. (RU), Лузьянина В. В. (RU), Сорокин Е. Л. (RU) <http://www.findpatent.ru/patent/226/2265423.html>
6. Увеальная меланома: основные эпидемиологические аспекты и факторы риска / Козина Е. В., Козина Ю. В., Гололобов В. Т., Кох И. А. // Сибирское медицинское обозрение. – 2014. – №4 (88). – С. 57-64.
7. **Chua V, Aplin AE.** Novel therapeutic strategies and targets in advanced uveal melanoma // Curr Opin Oncol. – 2018. – Mar; 30(2). – P.134-141.
8. **Gigliotti C. R., Modorati G., Di Nicola M. et al.** Predictors of radio-induced visual impairment after radiosurgery for uveal melanoma // Br J Ophthalmol. – 2017. – Sep 13. Pii.
9. **Jang B. S., Chang J. H., Oh S., Lim Y. J., Kim I. H.** Surgery vs. radiotherapy in patients with uveal melanoma : Analysis of the SEER database using propensity score matching and weighting // Strahlenther Onkol. – 2017. – Nov; 193(11). – P.931-942.
10. **Kim J. H., Shin S. J., Heo S. J., Choe E. A., Kim C. G., Jung M., Keum K. C., Yoon J. S., Lee S. C., Shin S. J.** Prognoses and Clinical Outcomes of Primary and Recurrent Uveal Melanoma // Cancer Res Treat. – 2017. – Dec 28. doi: 10.4143/crt.2017.534.
11. **Maletskiy A. P.** Radiowave surgery and selective endarterial chemotherapy in treatment of patients with uveal melanoma / A. P. Maletskiy, O. V. Homyakova // Joint Congress SOE Geneva, 4-7 June 2011. – P.139.
12. **Pham C. M., Custer P. L., Couch S. M.** Comparison of primary and secondary enucleation for uveal melanoma // Orbit. – 2017. – Dec; 36(6). – P. 422-427.
13. **Yang J., Manson D. K., Marr B. P., Carvajal R. D.** Treatment of uveal melanoma: where are we now? // Ther Adv Med Oncol. – 2018. – Feb 21 (10). – 1758834018757175.

Поступила 24.06.2019

Автори засвідчують про відсутність конфлікту інтересів, які б могли вплинути на їх думку стосовно предмету чи матеріалів, описаних та обговорених в даному рукопису.

Сравнительные особенности структурных изменений в сосудистом тракте глаза после применения радиоволнового ножа или режущего инструмента в эксперименте

Хомякова Е. В., Вит В. В., Малецкий А. П.

ГУ "Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины"; Одесса (Украина)

Введение. Органосохраняющие оперативные вмешательства при увеальной меланоме остаются приоритетным направлением лечения. Недостаточный опыт применения технологий радиоволновой хирургии требует расширения исследований относительно действия радионожка на опухолевую и здоровую ткани глаза на гистологическом уровне, а также характера изменений при заживлении операционной раны после различных способов оперативного вмешательства.

Цель исследования: изучить в эксперименте характер реакции склеры и сосудистого тракта глаза при применении радиоволнового ножа и режущего инструмента.

Материал и методы. Экспериментальные исследования проведены на базе вивария ГУ "Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова АМН Украины". Удаление структур глаза выполнено на 12 кроликах (12 глаз) породы «шиншилла» в возрасте 4-6 мес, в том числе с использованием радиоволнового ножа Surgitron «ELLMAN International» (США) – I группа (n = 6), с использованием обычного инстру-

мента – II группа (n = 6). Удаленные ткани подлежали стандартному гистологическому исследованию.

Результаты. Проведенные гистоморфологические исследования тканей глаза (склеры, радужки, цилиарного тела, сосудистой оболочки) у экспериментальных животных (кролики), показали, что при использовании радиоволнового ножа развиваются некротические, дистрофические изменения сохранившихся во время операции тканей глаза вблизи раневого канала, которые распространяются до сетчатой оболочки. Изменения тканей после применения режущего инструмента менее выражены.

Заключение. При использовании радиоволнового ножа развиваются дистрофические и некротические изменения сохранившихся во время операции тканей глаза (фрагментов цилиарного тела, склеры и субконъюнктивальной ткани) вблизи раневого канала. Указанные изменения сохраняются в течение 30 дней, с тенденцией к углублению некротически-дегенеративных изменений.

Ключевые слова: сосудистая оболочка глаза, радиоволновая хирургия, экспериментальная модель, гистоморфологические изменения