

УДК 617.713-001.42-089.843:599.731.1]-092.9
DOI©М. В. Турчин¹, І. М. Кліщ¹, Р. М. Борис²ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”¹
ПВНЗ “Київський медичний університет УАНМ” МОЗ України²**МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ РОГІВКИ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКАЮЧОЇ ТРАВМИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ КЕРАТОКСЕНОІМПЛАНТАТОМ**

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ РОГІВКИ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МЕХАНІЧНОЇ НЕПРОНИКАЮЧОЇ ТРАВМИ ТА ЇЇ КОРЕКЦІЇ КЕРАТОКСЕНОІМПЛАНТАТОМ – Досліджено вплив непроникаючої механічної травми рогівки на її гістологічну структуру в кролів та за її корекції кератоксеноімплантатом. За умов механічної травми рогівки значно порушується структурна організація переднього епітелію, пограничної пластинки та власної речовини. Застосування кріоліофілізованої ксенороговки після механічної травми рогівки зменшує ступінь ушкодження її компонентів, активізує регенераторні процеси, що сприяє поступовому оновленню та відносній нормалізації переднього епітелію, пограничної пластинки та власної речовини рогівки.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЕ РОГОВИЦЫ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ НЕПРОНИКАЮЩЕЙ ТРАВМЫ И ЕЕ КОРЕКЦИИ КЕРАТОКСЕНОИМПЛАНТАТОМ – Исследовано влияние непроникающей механической травмы роговицы на ее гистологическую структуру в кроликов и в условиях ее коррекции кератоксеноимплантатом. В условиях механической травмы роговицы значительно нарушается структурная организация переднего эпителия, пограничной пластинки и собственного вещества. Применение криолиофилизированной ксенороговки после механической травмы роговицы уменьшает степень повреждения ее компонентов, активизирует регенераторные процессы, способствует постепенному обновлению и относительной нормализации переднего эпителия, пограничной пластинки и собственного вещества роговицы.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF CORNEA IN THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL MECHANICAL NONPENETRATIVE INJURY AND ITS CORRECTION BY CERATOXENOMPLANT – The influence of corneal mechanical nonpenetrative injury on its histological structure in rabbits and its correction by ceratoxenimplant were studied. In case of mechanical injury of the cornea structural organization of the anterior epithelium, anterior basement membrane and substantia propria is greatly disturbed. Application of cryolyophilized ceratoxenimplant after mechanical injury of the cornea reduces the extent of damage of its components, activate regenerative processes, promotes gradual renewal and relative normalization of the anterior epithelium, anterior basement membrane and substantia propria of the cornea.

Ключові слова: рогівка, механічна непроникаюча травма, кератоксеноімплантат.

Ключевые слова: роговица, механическая непроникающая травма, кератоксеноимплантат.

Key words: cornea, mechanical nonpenetrative injury, ceratoxenimplant.

ВСТУП Травми органа зору залишаються однією з основних причин інвалідності серед різних офтальмологічних захворювань. Так, згідно з дослідженнями Т. А. Аліфанової та співав., основними інвалідизуючими формами офтальмопатології у 2006 році в Україні були наслідки травм ока та орбіти – 27,0 %, глаукома – 17,0 %, захворювання очного дна – 16,3 %, міопія – 12,3 %, атрофія зорового нерва – 6,6 % та вроджені вади розвитку – 5,1 % [4]. Через особливості анатомічного розташування ока в орбіті у результаті травми у 70,85 % випадків ушкоджується передній відділ ока [8].

Ураження рогівки внаслідок захворювань, травм і їх наслідків часто зумовлює зниження зору та сліпоти [3].

На сьогодні найбільш розповсюдженим методом лікування в клініці очних хвороб є пересадка нативної донорської рогової оболонки. Більше 10 млн людей у світі страждають від сліпоти через патологію рогівки, але лише 120 000 її пересадок виконується щорічно [3]. Існує безперервно велика потреба в матеріалі для трансплантації, що пов'язано з гострою нестачею донорської тканини у багатьох країнах через демографічні проблеми, збільшення випадків інфекційних захворювань, більш широким використанням рефракційної лазерної хірургії. Крім того, цей дефіцит посилюється недосконалістю законодавства і релігійними факторами [6]. Вищевказані проблеми зумовлюють пошук нових шляхів забезпечення матеріалу для реконструктивних операцій на рогівці. Крім того, маловивченим, але вкрай важливим питанням є відновлення структурного гомеостазу травмованої рогівки. Тому метою дослідження було встановити особливості морфологічних змін рогівки в кролів у динаміці експериментальної механічної непроникаючої травми рогівки та при її корекції кератоксеноімплантатом.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження проведено на 50 статевозрілих кролях породи Шиншила (масою 2,5–3 кг) із дотриманням правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [9], а також згідно з Науково-практичними рекомендаціями із утримання лабораторних тварин та роботи з ними [5]. Кролі отримували повноцінне збалансоване харчування і перебували в належних санітарно-гігієнічних умовах виварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”.

Експериментальну модель пошкодження рогівки відтворювали на обох очах тварини під місцевою епібульбарною анестезією 0,5 % розчином алкаїну та ретробульбарною анестезією 2 % розчином лідокаїну 1,0 мл. Трепаном діаметром 7 мм у верхній половині рогівки наносили концентричну епітеліальну насічку, в межах якої одноразовим офтальмологічним скальпелем видаляли епітелій разом із переднім шаром строми рогівки (викроювали клапоть товщиною до 0,2 мм). Контроль відтворення ерозії здійснювали методом фарбування рогівки 0,5 % розчином флюоресцеїну.

Хірургічну корекцію травми здійснювали закриттям дефекту рогівки ксенокератоімплантатом, пришиванням його в 4 місцях (на 12, 15, 18 та 21 год) до склери через кон'юнктиву за допомогою атравматичної голки 8/0 нейлон. Протягом терміну спостереження проводили інстиляцію розчину антибіотика фторхінолонового ряду – “Вігамокс” (1 крапля тричі на день).

Виробництво кріоліофілізованого ксенокератоімплантата здійснено за технологією, розробленою разом із ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського” й Одеським інститутом очних хвороб та тканинної терапії імені акад. В. П. Філатова АМН України (Пат. 52278 У, 2010). Технологічні етапи полягають у видаленні рогівки у щойно забитої свині, обробці за відповідних умов кріопротектором, консервуванні при наднизькій температурі (мінус 196 °С), вакуумному висушуванні, проходженні технологічного контролю, пакуванні виробу та його стерилізації радіаційним методом.

Тварин поділили на п'ять груп: контрольна група – інтактні тварини (10 кролів); перша дослідна група – термін спостереження через 3 доби після травми та корекції (10 кролів); друга дослідна група – через 7 днів після травми та корекції (10 кролів); третя дослідна група – через 14 днів після травми та корекції (10 кролів); четверта дослідна група – термін спостереження через 21 день після травми та корекції (10 кролів).

Для проведення гістологічних досліджень забирали шматочки рогівки кроля, фіксували в 10 % нейтральному формаліні. Подальшу обробку матеріалу з наступною заливкою в парафінові блоки здійснювали згідно з загальноприйнятими методиками [7]. Отримані на санному мікроскопі зрізи забарвлювали гематоксином та еозином.

Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Гістологічні дослідження рогівки тварин на 3-тю добу після травми показали, що передній епітелій і погранична пластинка відсутні. У власній речовині рогівки спостерігається значний набряк, який проявляється потовщеними порожнинами міжсполучнотканинних пластинок. Останні виглядають деструктивно зміненими, особливо у поверхневих ділянках, їх колагенові фібрили гомогенізовані. Значно пошкоджені фіброцити, у центральній ділянці вони не визначаються (рис. 1).

Проведені мікроскопічні дослідження рогівки тварин на 7-му добу після механічної травми встановили, що деструктивні її зміни подібні, але більш виражені, ніж у попередній термін експерименту. Відсутній передній епітеліальний шар і передня погранична пластинка. Власну речовину рогівки складають ушкоджені сполучнотканинні пластинки, між якими розташовані світлі порожнини, що утворені набряклим аморфним компонентом. Зберігається значна інфільтрація поверхневих ділянок власної речовини рогівки (рис. 2).

Гістологічні дослідження крайової ділянки рогівки тварин на 3-тю та 7-му доби після механічної травми показали, що наявна репаративна регенерація структурних компонентів рогівки, але вона погано виражена і неповноцінна. В такій ділянці мікроскопічно виявляється передня епітеліальна пластинка, проте поширене розташування епітеліоцитів і їх структура змінені. Передня погранична пластинка потовщена, погано контурується. Власна речовина рогівки у крайовій ділянці ушкодження складається з потовщених сполучнотканинних пластинок, між якими наявні світлі, подовгасті форми, різних розмірів порожнини. Також спостерігається значна лейкоцитарна інфільтрація (рис. 3).

Наші дані узгоджуються із даними Е. Ф. Барінова та співав., які встановили, що механічне ушкодження очного яблука зумовлює некроз епітеліального покриву, дезорганізацію сполучної тканини, деструкцію системи мікроциркуляторного русла, що, у свою чергу, спричиняє гіпоксію уражених тканин [2]. Провідним механізмом альтерації структур ока, окрім механічного ушкодження, є ішемія внаслідок гострого порушення мікроциркуляції. Тяжкість посттравматичного періоду зумовлена прогресуючими деструктивними процесами, що розвиваються в біологічних структурах переднього відділу ока. Гіпоксія, зумовлена порушеннями гемодинаміки в системі мікроциркуляторного русла, поглиблює метаболічні порушення [1].

Проведені гістологічні дослідження рогівки тварин на 3-тю добу після механічної травми за умов застосування кріоліофілізованої ксенорогівки показали, що з крайової ділянки передньої епітеліальної пластинки відбувалось наростання тонкого шару епітеліоцитів на ушкоджену поверхню рогівки. 2–3 шари клітин розташовані на вузькій

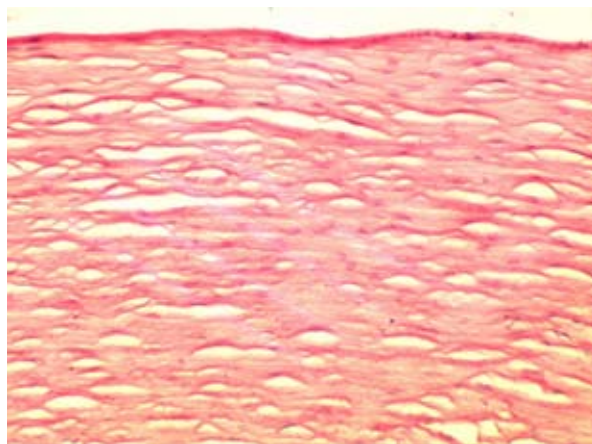


Рис. 1. Мікроскопічний стан рогівки тварини на 3-тю добу після механічного пошкодження. Відсутність переднього епітеліального шару та пограничної пластинки, набряк власної речовини. Забарвлення гематоксином та еозином. $\times 100$.

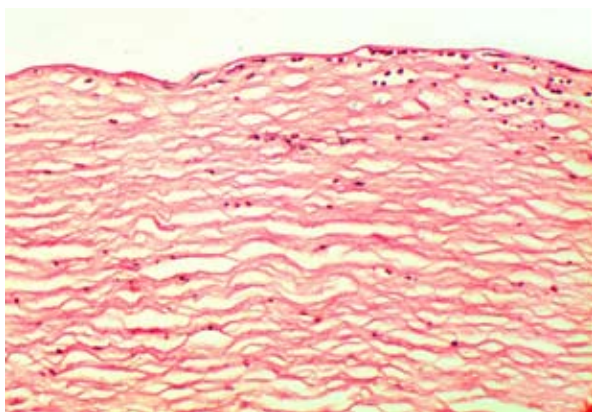


Рис. 2. Мікроскопічні зміни рогівки тварини на 7-му добу після механічного ушкодження. Відсутність переднього епітелію та пограничної пластинки, набряк власної речовини, її лейкоцитарна інфільтрація. Забарвлення гематоксином та еозином. $\times 100$.

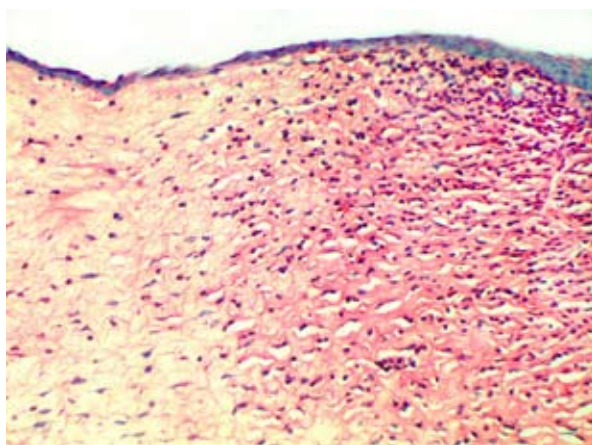


Рис. 3. Гістологічний стан крайової ділянки рогівки тварини на 7-му добу після механічного ушкодження. Змінений передній епітелій та власна речовина. Забарвлення гематоксином та еозином. $\times 100$.

передній пограничній пластинці, що формувалась. Власна речовина рогівки в цей термін досліду була змінена подібно до експериментальної групи без застосування коригуючого чинника. Відмічається набряк з утворенням світлих порожнин, біля поверхні наявна лейкоцитарна ін-

фільтрація. Проте більше збережені фіб्रोцити, що мають подовгасту форму і базофільно забарвлені (рис. 4).

Мікроскопічні дослідження, проведені на 7-му, 14-ту та 21-шу доби після механічної травми за умов застосування кріоліофілізованої ксенорогівки, показали, що вся поверхня uszkodженої ділянки вкрита епітеліальною пластинкою, що розташована на передній пограничній пластинці, яка формується. Епітеліальний регенерат потовщений у крайовій ділянці, тонший у центральній, проте епітеліоцити

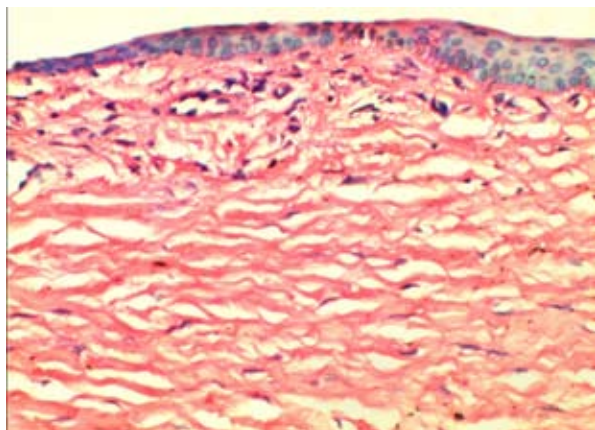


Рис. 4. Гістологічні зміни рогівки тварини на 3-тю добу після травми при застосуванні кріоліофілізованої ксенорогівки. Епітелізація uszkodженої ділянки, змінена власна речовина. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$.

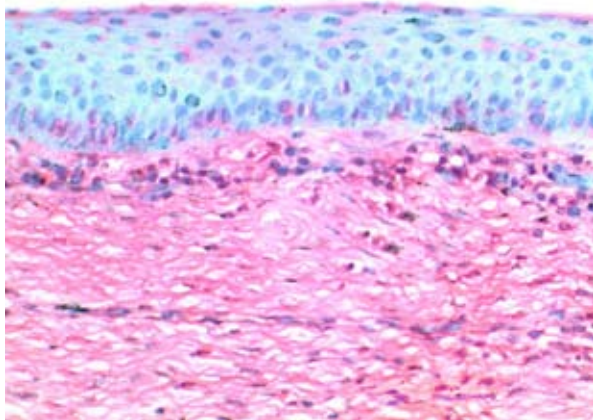


Рис. 6. Гістологічна організація рогівки тварини на 14-ту добу після травми при застосуванні кріоліофілізованої ксенорогівки. Передня епітеліальна пластинка зі сформованими шарами епітеліоцитів, помірно змінена власна речовина. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 200$.

ВИСНОВКИ 1. За умов механічної травми рогівки значно порушується структурна організація переднього епітелію, пограничної пластинки та власної речовини. Ступінь деструктивних змін залежить від терміну дослідження. В пізній термін експерименту відбувається слабовиражена крайова епітелізація рогівки, власна речовина деструктивно змінена, наявна лейкоцитарна інфільтрація.

2. Застосування кріоліофілізованої ксенорогівки після механічної травми рогівки зменшує ступінь uszkodження її компонентів, активізує регенераторні процеси, що сприяє поступовому оновленню та відносній нормалізації переднього епітелію, пограничної пластинки та власної речовини рогівки.

розташовані пошарово з ознаками диференціювання у базальний, остистий та плоский епітеліальні шари.

Покращується структурна організація власної речовини рогівки, відмічається зменшення набряку, формування сполучнотканинних пластинок і в них упорядковане розташування колагенових фібрил. Поліпшується структура фібробластів (рис. 5, 6).

У власній речовині відмічаються ділянки лейкоцитарної інфільтрації, особливо ближче до епітеліальної пластинки.

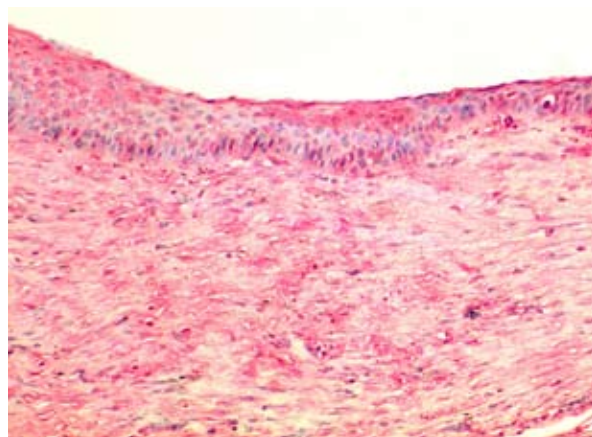


Рис. 5. Мікроскопічний стан рогівки тварини на 7-му добу після травми при застосуванні кріоліофілізованої ксенорогівки. Епітелізація поверхні, оновлення власної речовини. Забарвлення гематоксилином та еозином. $\times 100$.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Барінов Е. Ф. Вплив екзогенного фосфокреатину на перебіг експериментальної контузійної травми рогівки / Е. Ф. Барінов, К. Е. Голубов, О. М. Сулаєва // *Офтальмологический журнал*. – 2013. – № 4. – С. 56–60.
2. Барінов Е. Ф. Патоморфоз структур судинної оболонки ока за умов контузійної травми очного яблука в експерименті / Е. Ф. Барінов, К. Е. Голубов, О. М. Сулаєва // *Офтальмологический журнал*. – 2013. – № 5. – С. 73–77.
3. Гистологическое и ультраструктурное исследование роговиц кроликов после интраламеллярной имплантации бесклеточного модуля стромы роговицы человека / Н. В. Пасечникова, В. В. Вит, Н. Е. Думброва [и др.] // *Медицина сьогодні і завтра*. – 2011. – № 1–2 (50–51). – С. 206–209.
4. Епідеміологічні аспекти інвалідності внаслідок патології органа зору в Україні / Т. А. Аліфанова, І. С. Аліфанов, Я. О. Зосімова, Ю. Ю. Гладченко : матеріали Міжнародної наукової конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження академіка Н. О. Пучківської “Сучасні аспекти клініки, діагностики та лікування очних хвороб” 29–30 травня 2008 року. – Одеса. – С. 6.
5. Кожемякін Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін. – К., 2002. – 155 с.
6. Пасечникова Н. В. Гистоморфологическое исследование роговицы кроликов после послойной трансплантации бесклеточного модуля стромы роговицы человека / Н. В. Пасечникова, В. В. Вит, И. О. Насинник // *Офтальмологический журнал*. – 2012. – № 5. – С. 47–51.
7. Сорочинников А. Г. Гистологическая и микроскопическая техника / А. Г. Сорочинников, А. Е. Доросевич. – Смоленск : САУ, 2000. – 480 с.
8. Хадикіна Т. О. Соціальні основи зниження очного травматизму / Т. О. Хадикіна // *Медицинські перспективи*. – 2004. – Т. IX, № 3. – С. 141–145.
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.

Отримано 15.02.16