

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ
ТЕРАПІЇ ім. В. П. ФІЛАТОВА АМН УКРАЇНИ»

ІЛЬІНА ЄВГЕНІЯ МИКОЛАЇВНА

УДК 617.713-002-02:616.98:578.825]-089.843:611.018 (043.3)

**ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ АУТОЛОГІЧНИХ КЛІТИН ЛІМБА
В ЛІКУВАННІ РЕЦИДИВУЮЧИХ ГЕРПЕТИЧНИХ КЕРАТИТІВ,
УСКЛАДНЕНИХ ЛІМБАЛЬНОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ**

14.01.18 – офтальмологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Одеса – 2012

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Харківському національному медичному університеті МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Бездітко Павло Андрійович**, Харківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри офтальмології

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, старший науковий співробітник **Дрожжина Галина Іванівна**, ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України», керівник відділу патології рогівки ока

доктор медичних наук, професор **Кондратенко Юрій Миколайович**, Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, професор кафедри офтальмології

Захист відбудеться «10» лютого 2012 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.556.01 в ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України» за адресою: 65061, Україна, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова АМН України» (65061, Україна, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51).

Автореферат розісланий «6» січня 2012 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
канд. медичних наук

О.В. Зборовська

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Рецидивуюча герпетична інфекція є серйозною проблемою для здоров'я населення, оскільки з нею пов'язані різноманітна патологія і велика соціальна та моральна шкода. Більше 90% людей старше 20 років інфіковані вірусом простого герпесу, з них у 10% спостерігаються стійкі рецидиви захворювання (Сафронова М.М., 1997). Одним із проявів герпетичної інфекції є офтальмогерпес, що становить від 20 до 50% всіх запальних захворювань очей, зокрема рогівки. Герпетична інфекція очей є найбільш частою причиною рогівкової сліпоти (Корі Л., 1994). У структурі офтальмогерпесу дуже часто зустрічаються ушкодження рогівкової оболонки ока (кератити), які мають схильність до рецидивів. Частота рецидивів протягом 2-х років після першої атаки складає від 25 до 33%, після другої – від 43 до 50% (Каспаров А.А., 1994). Слід відзначити, що кожний послідовний рецидив проходить важче за попередній, частіше призводить до появи рогівкових помутнінь та потребує проведення кератопластики. До інфікування рогівки призводить тривала персистенція вірусу герпесу в нервових гангліях, слізних та слинних залозах, кон'юнктиві. Вірус ушкоджує тканини ока при нездатності місцевих захисних механізмів. Потрапляючи до тканин ока екзогенним (через епітелій) або нейрогенним шляхом, вірус простого герпесу активно розмножується в клітинах епітелію рогівки, що призводить до їх некрозу внаслідок цитопатичних та дистрофічних процесів. При поверхневих кератитах ушкоджується лише епітелій рогівки. Надалі дефект рогівкової тканини епітелізується, вірус переходить до неактивного стану, при якому він може знаходитися не тільки в трійчастому вузлі, але й у рогівці. При герпетичних кератитах із рецидивуючим перебігом відбувається тривале ушкодження епітелію рогової оболонки, що приводить до порушення його метаболізму і, як наслідок, до загибелі камбіальних елементів (Ситник Г.В., 2005). Таким чином, розвивається їх часткова або повна недостатність. Доведено, що лімбальний епітелій, а саме його базальний шар, є джерелом рогівкових епітеліальних клітин (Lavker R., 2004). Нездатність лімбальних клітин утворювати в потрібній кількості клітини для епітелію рогівки призводить до вродження судин і кон'юнктивальної тканини в рогову оболонку (Dua H., 2000). Унаслідок цього розвиваються: кон'юнктивальний панус, хронічне запалення, помутніння рогової оболонки різного ступеня, неоваскуляризація, погана взаємодія епітеліальних клітин у вигляді нерівної рогівкової поверхні, рецидивуючі ерозії та виразки, деструкція базальної мембрани (Hortelano F., 2007). У результаті – різке зниження зору. Виходом є оперативне лікування, спрямоване на заміну загиблих камбіальних клітин та на відновлення власних ушкоджених тканин рогівки. На сьогодні розглядаються два напрямки з відновлення структурної організації та функціональної активності ушкоджених тканин ока завдяки клітинним технологіям: по-перше, можливість стимуляції репаративної регенерації ушкодженої тканини через продукцію різноманітних нейротрофічних факторів та біологічно активних речовин, що виділяються трансплантатом; по-друге, можливість заміщення ушкоджених структур донорськими стовбуровими клітинами. Для ре-

алізації цих напрямків існують різноманітні види пересадки клітин. Одним з найсучасніших методів хірургічного лікування є аутолімбальна трансплантація, при якій клітини лімба беруться з парного здорового ока (Tsai R., 2000). Недостатньо вивчений характер перебігу рецидивуючого герпетичного кератиту, ускладненого лімбальною недостатністю, мало відомі методи виділення, культивування, фіксації аутологічних клітин лімба, як способу лікування цієї патології. Саме це й визначило актуальність теми і вибір нашого дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри офтальмології Харківського національного медичного університету «Особливості змін переднього відділу ока у хворих на цукровий діабет», № державної реєстрації 0108U005258, 2008-2010 рр. виконання, в якій автор була співвиконавцем.

Мета дослідження: підвищення ефективності лікування рецидивуючого герпетичного кератиту, ускладненого лімбальною недостатністю, шляхом пересадки аутологічних клітин лімба методами лімбокератопломбування та кон'юнктивальної імобілізації.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі **завдання:**

1. Розробити в експерименті на моделі часткової лімбальної недостатності методи фіксації аутотрансплантата – культивованих аутологічних клітин лімба.

2. Вивчити в експерименті на моделі часткової лімбальної недостатності вплив лімбокератопломбування та кон'юнктивальної імобілізації аутологічних клітин лімба на регенерацію рогівкового епітелію.

3. Визначити здатність до проліферації лімбальних епітеліоцитів здорового та ушкодженого вірусом простого герпесу очей.

4. Дослідити клінічну ефективність лімбокератопломбування та кон'юнктивальної імобілізації аутологічних клітин лімба у хворих на рецидивуючий герпетичний кератит, ускладнений лімбальною недостатністю.

5. Розробити показання до лімбокератопломбування та кон'юнктивальної імобілізації аутологічних клітин лімба у хворих на рецидивуючий герпетичний кератит, ускладнений лімбальною недостатністю.

Об'єкт дослідження: рецидивуючий герпетичний кератит, ускладнений лімбальною недостатністю.

Предмет дослідження: щільність поверхневих і базальних епітеліоцитів рогової оболонки, ступінь прозорості й ступінь неоваскуляризації рогівки, чутливість рогової оболонки, стабільність прерогівкової слізної плівки в пацієнтів; ступінь прозорості й неоваскуляризації, гістологічна будова рогівки в експерименті на моделі лімбальної недостатності.

Методи дослідження: конфокальна скануюча мікроскопія рогівки на НРТ, біомікроскопія з флюоресцеїновою пробою на щілинній лампі ЩЛ-2Б, альгезиметрія за Радзиховським, візометрія, морфологія рогівок експериментальних тварин.

Наукова новизна одержаних результатів. Доповнено наукові дані в експерименті про стимулюючий вплив субепітеліальної пересадки суспензії лімбальних клітин, культивованих *in vitro*, що містить стовбурові клітини, на лімб

парного ока із частковою лімбальною недостатністю. Це сприяє розвитку морфологічно повноцінної пошарової регенерації ушкодженого рогівкового епітелію (часткова епітелізація настає на 3,0 добу, повна – на 7,3 добу).

Уточнено наукові дані в експерименті про те, що пересадка суспензії лімбальних клітин, культивованих *in vitro*, що містить стовбурові клітини, на лімб парного ока із частковою лімбальною недостатністю та подальше покриття трансплантата аутокон'юнктивою, сприяє міграції пересаджених клітин до області рогівкового дефекту з розвитком морфологічно повноцінного рогівкового епітелію. При культивуванні лімбальних клітин відмічено збільшення їх кількості від 2300 до 7100 кл/мм².

Доповнено дані патогенеза лімбальної недостатності при рецидивуючому герпетичному кератиті. Отже, розвиток даного стану не пов'язаний із змінами в самих лімбальних епітеліоцитах, що підтверджується збереженням їх проліферативного потенціалу однаково із лімбальними епітеліоцитами здорових очей та утворенням клітинного моношару після 70 годин від початку культивування та збільшенням (за цей період) кількості клітин з 10470 до 28840 в усіх випадках.

Практичне значення одержаних результатів. Розроблено спосіб пересадки аутологічних клітин лімбу (лімбокератопломбування), що полягає у формуванні на ураженому оці лімбальної субепітеліальної кишені (у меридіані попередньо видаленого кон'юнктивального пануса) глибиною до 2 мм із наступною імплантацією туди лімбального біоптату із здорового ока розмірами 1×2×0,3 мм (патент України на винахід № 41643 від 25.05.2009).

Розроблено спосіб пересадки аутологічних клітин лімбу (кон'юнктивальна іммобілізація), що полягає в отриманні із здорового ока лімбального біоптата розмірами 1×2×0,3 мм з наступною його трансплантацією на лімб ураженого ока у меридіан попередньо видаленого кон'юнктивального пануса з подальшим його покриттям аутокон'юнктивою (патент України на винахід № 41642 від 25.05.2009).

Запропоновані способи дозволяють підвищити клінічну ефективність хірургічного лікування хворих на рецидивуючий герпетичний кератит за рахунок повноцінної регенерації епітелію пошкодженого ока, компенсації лімбальної недостатності строком до 2х років та зниження частоти рецидивів герпетичного кератиту у пацієнтів з нейротрофічною кератопатією на 32%, зі стромальним метагерпетичним кератитом на 24%.

Встановлено, що в групу ризику розвитку лімбальної недостатності входять пацієнти хворі на герпетичну нейротрофічну кератопатію та метагерпетичний кератит периферичної локалізації із тривалістю захворювання понад 7 років та частотою рецидивів 2 і більше разів на рік, що є показанням до лімбокератопломбування та кон'юнктивальної іммобілізації аутологічних клітин лімбу.

Впровадження в практику. Способи лікування герпетичних кератитів, ускладнених лімбальною недостатністю, використовуються в клінічній практиці дорослого очного відділення Харківської обласної клінічної лікарні, у Харківській міській клінічній офтальмологічній лікарні № 14 ім. Гіршмана, Доне-

цької обласної клінічної травматологічної лікарні, Донецького обласного офтальмотравматологічного центру «Мікрохірургія ока», Луганської обласної клінічної лікарні.

Особистий внесок здобувача. Вибір теми, обсяг, мета, завдання дослідження, методологічна побудова дисертації визначені науковим керівником, д. мед. н., проф. Бездітко П.А. Автор провела аналіз літератури, самостійно обґрунтувала методи дослідження, виконала клініко-діагностичне обстеження 143 хворих на герпетичний кератит. Хірургічне лікування пацієнтів проводилося разом з науковим керівником, консервативне – самостійно здобувачем в очному відділенні Харківської обласної клінічної лікарні. Конфокальна мікроскопія рогівки та лімба проводилася в Київській міській клінічній офтальмологічній лікарні "Центр мікрохірургії ока". Імунологічні дослідження й культивування лімбальних клітин були проведені в Харківській медичній академії післядипломної освіти. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі офтальмології Харківського національного медичного університету. Здобувачем самостійно були виконані експериментальні дослідження, проаналізовані отримані результати, написані всі розділи дисертації. Висновки сформульовані разом з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були викладені автором на II Всеукраїнській конференції молодих вчених офтальмологів «Сучасні методи діагностики та лікування в офтальмології» (Харків, 2008); на 106 з'їзді офтальмологів Німеччини (Берлін, 2008); на II міжнародному міждисциплінарному науковому з'їзді молодих лікарів (Харків, 2009); на міжвузівській конференції молодих вчених ХНМУ «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 2010); на IV міжнародному міждисциплінарному науковому з'їзді молодих лікарів (Харків, 2011); на Європейському офтальмологічному конгресі (Женева, 2011).

Публікації. Основні результати дисертаційної роботи опубліковані в 16 наукових працях, з них 6 статей у наукових фахових виданнях, 2 патенти України на винахід, 8 публікацій - у матеріалах та тезах науково-практичних конференцій та з'їздів.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація написана російською мовою, викладена на 158 сторінках комп'ютерного тексту. Складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел. Ілюстрована 5 таблицями та 58 рисунками, що розташовані по тексту (з них 4 рисунки на 2-х окремих аркушах). Список використаних джерел містить 174 найменувань і розміщений на 16 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Експериментальне дослідження було виконано на 42 кролях породи «шиншила», вагою 3-5 кг. Усім тваринам була змодельована правобічна часткова лімбальна недостатність без механічного

ушкодження лімбальної зони за Мілюдіним, 2006 р. Тварини були розподілені на 3 групи. Першу експериментальну групу склали 14 кролів, в яких лімбальний аутоотрансплантат був пересаджений на ділянку лімба ушкодженого ока у сформовану кишеню. Другу експериментальну групу склали 14 кролів, в яких аутоотрансплантат був пересаджений на лімбальну ділянку ушкодженого ока з наступною фіксацією аутокон'юнктивною. Третю контрольну групу склали 14 кролів, що одержували місцеве консервативне лікування змодельованої лімбальної недостатності. Аутоотрансплантат був отриманий шляхом культивування ділянки лімба парного здорового ока в експериментальних групах. Субстратом для аутоотрансплантата була фібринова плівка, отримана із сироватки крові цих же тварин. Спостереження за станом очей кроликів і відновлення цілісності рогівкового епітелію здійснювали на 3,7,14 добу методом біомікроскопії. Клінічну оцінку стану очей тварин проводили за такими ознаками: наявність перикорнеальної ін'єкції, площа дефекту рогівкового епітелію, інтенсивність помутніння й ступінь васкуляризації рогівки. Матеріал для морфологічного дослідження збирався на 7,14 добу.

Аналіз змін рогової оболонки й лімба був зроблений у 143 пацієнтів (143 ока) з одnobічним герпетичним кератитом у віці від 18 до 74 років. Згідно із класифікацією герпетичних кератитів (Robert H. Graham, American Academy of Ophthalmology, Arizona Ophthalmology Society, 2006 p.) в 64 очах (44,7%) був діагностований поверхневий епітеліальний кератит: в 6,3% випадків везикулярна його форма, у 29% - деревоподібна, у 7,7% - географічна, у 2,1% - крайова. У 19,6% пацієнтів (28 очей) була діагностована герпетична нейротрофічна кератопатія. У 30,1% пацієнтів (43 ока) мав місце глибокий герпетичний кератит, а саме: у 28% випадках метагерпетичний, в 0,7% - інтерстиціальний, у 1,4% - некротизуючий. У 5,6% пацієнтів (8 очей) був діагностований герпетичний ендотеліт: у 3,5% випадків дисциформна його форма, в 1,4% - дифузна, в 0,7% - лінійна. До дослідження були залучені пацієнти з тривалим, часто рецидивуючим герпетичним кератитом, ускладненим лімбальною недостатністю (син. кон'юнктивізація рогівки), з наявністю кон'юнктивального пануса, хронічного запалення рогової оболонки, її помутніння й неоваскуляризації, рецидивуючих ерозій та виразок, деструкції базальної мембрани. Зокрема, 29 пацієнтів із нейротрофічною кератопатією та 24 пацієнта із метагерпетичним кератитом навколлімбальної локалізації, серед яких 19 жінок (37%), 33 чоловіка (63%) у віці від 20 до 45 років. Супутня патологія спостерігалася в 4 пацієнтів (8,7%). У всіх 52 пацієнтів в анамнезі був герпетичний кератит із частими рецидивами. Тривалість захворювання в середньому склала $8,9 \pm 1,1$ років. Хворі на нейротрофічну кератопатію (28 очей - 54%) хворіли в середньому $7 \pm 0,8$ років, на стромальний метагерпетичний кератит (24 ока - 46%) - $10,2 \pm 0,2$ років. Частота рецидивів (за рахунок лімбальної недостатності) в пацієнтів з нейротрофічною кератопатією склала $8,2 \pm 0,3$ разів на рік, зі стромальним метагерпетичним кератитом $9 \pm 0,3$ разів на рік. Пацієнти були розподілені на 3 групи. Першу групу досліджуваних склали 16 осіб, яким у між рецидивному періоді було зроблено лімбокератопломбування аутологічних клітин лімба. Другу групу досліджуваних

склали 15 пацієнтів, яким у між рецидивному періоді була зроблена кон'юнктивальна імобілізація аутологічних клітин лімба. Третю групу, контрольну, склали 21 хворий, що одержали консервативне лікування герпетичного кератиту. У пацієнтів першої досліджувальної групи (n=16) з рецидивуючим герпетичним кератитом (9 очей із нейротрофічною кератопатією, 7 очей із стромальним метагерпетичним кератитом), ускладненим лімбальною недостатністю, у період ремісії було зроблено наступне хірургічне лікування: зі здорового ока методом ламелярної кератектомії був здійснений забір матеріалу (ділянка лімба з епітеліальними клітинами) розмірами 1 на 2 мм глибиною до 1/3. На хворому оці проводилося висічення кон'юнктивального пануса, з наступним формуванням у цій ділянці лімбальної кишені глибиною до 1,5 мм, куди імплантувався отриманий аутоотрансплантат. У пацієнтів другої досліджувальної групи (n=15) з рецидивуючим герпетичним кератитом, 8 очей – 53,3% з нейротрофічною кератопатією, 7 очей – 46,7% з метагерпетичним кератитом, ускладненими лімбальною недостатністю, у період ремісії герпетичної інфекції, аутоотрансплантат, отриманий, як описано вище (див. лімбокератопломбування), пересаджувався на лімб хворого ока в меридіані попередньо висіченого кон'юнктивального пануса. У цій ділянці, із двох боків, перпендикулярно лімба, проводилося висічення кон'юнктиви довжиною 3 мм і її переміщення до лімба на цю ж довжину з покриттям (іммобілізацією) аутоотрансплантата. У місці фіксації кон'юнктиви до рогівки із двох боків були накладені два вузлові шви 10/0 з нейлону. У післяопераційному періоді хворі одержували противірусне лікування препаратом «Гевіран» (діюча речовина ацикловір) у лікувальній дозі 5×400 мг усередину протягом 1 місяця, після цього в профілактичній дозі 2×400 мг 5 місяців. Також призначалися місцево препарати флоксал (для профілактики приєднання вторинної бактеріальної інфекції), відисик (кератопротектор), корнерегель (стимулятор регенерації). Здорове око після біопсії одержувало окоферон (інтерферон альфа-2β), і антибактеріальний препарат флоксал 4 рази на день протягом 3 днів. За всіма пацієнтами проводилося спостереження протягом 24 місяців після операції. За групою контролю весь цей період також проводилося спостереження. Терміни спостереження: через 1, 6, 12, 18, 24 місяців після оперативного втручання. Після операції оцінювалися наступні показники: щільність поверхневих і базальних епітеліоцитів, інтенсивність помутніння та ступінь неоваскуляризації рогової оболонки, гострота зору, чутливість рогової оболонки, стабільність слізної плівки, частота рецидивів. У 7 пацієнтів із герпетичною неротрофічною кератопатією і в 7 пацієнтів із стромальним метагерпетичним кератитом, ускладненими лімбальною недостатністю, під час проведення операції та одержання аутоотрансплантата, частина отриманого лімбального матеріалу (із здорового й із ураженого Herpes simplex очей) була доставлена в лабораторію для культивування.

Під час математичної обробки первинного матеріалу були розраховані відносні величини, середні арифметичні величини, їх середньоквадратичне відхилення й помилки середніх величин. Вірогідність відмінностей показників між групами оцінювали з використанням критерію t (Стьюдента) – для показників

щільності епітеліоцитів, чутливості рогівки, стабільності передрогівкової слізної плівки. Проводився підрахунок непараметричних критеріїв Вілкоксона, Ван дер Варден для показників ступеня помутніння, неоваскуляризації, гостроти зору й частоти рецидивів. Використовувалися: метод системного підходу й аналізу, структурно-логічний з використанням соціологічного, математичного, бібліографічного, які дозволили провести адекватну статистичну обробку матеріалу. Розробка й обробка матеріалу проводилася з використанням пакета прикладних програм „Stadia-6” (серійний номер ліцензійного паспорта 1218 від 24 травня 2000 р., версія „Prof”), Microsoft „Word”, „Access”, „Excel”.

Результати та їх обговорення. Результати експериментальних досліджень. Завдяки експерименту зі створення лімбальної недостатності можна стверджувати, що цей стан приводить до розростання на поверхні рогової оболонки клітин кон'юнктивального епітелію (у тому числі келихоподібних), проростання новоутворених судин і порушенню прозорості рогівки. А операція з фіксації культивованих клітин лімбального епітелію (аутотрансплантата) у рогівково-склерально-лімбальну кишеню й під аутокон'юнктиву відновлює повноцінний рогівковий епітелій, за рахунок стимуляції власних стовбурових клітин лімба в першому випадку, і міграції клітин аутотрансплантата в іншому. Так, при морфологічному дослідженні препаратів експериментальних груп виявилася повна епітелізація дефекту рогівки із чітким диференціюванням переднього епітелію на шари. У групі контролю морфологічно відзначалося порушення диференціювання рогівкового епітелію, з наявністю келихоподібних клітин кон'юнктивального епітелію. Визначалася дифузна лімфогістіоцитарно-макрофагальна інфільтрація верхніх відділів стромы, неоваскуляризація, з розвитком (на 14 добу спостереження) кон'юнктивального пануса й деструкції базальної мембрани. Таким чином, часткова (на $3,0 \pm 0,1$ ($2,9 \pm 0,1$) добу) і повна (на $7,3 \pm 0,2$ ($7,2 \pm 0,1$) добу) епітелізація рогівкового дефекту, що розвинулися після лімбокератопломбування (кон'юнктивальної імобілізації) аутотрансплантату у тварин експериментальних груп, та висока проліферативна здатність епітеліоцитів лімбу (кількість клітин потроїлася з 2300 ± 60 кл/мм² до 7100 ± 100 кл/мм² з утворенням моношару через $59 \pm 1,5$ годин культивування), вказує на функціональність ауто трансплантата й підтверджує відомості про регенерацію рогівкового епітелію за рахунок камбіальних клітин лімба. У контрольній групі (де експериментальна лімбальна недостатність лікувалася консервативно) часткова епітелізація рогівкового дефекту розвинулася на $6,7 \pm 0,1$ добу, повна – на $13,9 \pm 0,1$ добу, ($p < 0,001$). В експериментальних очах протягом усього періоду спостереження були відсутні помутніння рогівки й неоваскуляризація. У контрольній групі на 14 добу помутніння складало $1,3 \pm 0,3$ балів, ($p < 0,001$), неоваскуляризація $2,7 \pm 0,3$ балів ($p < 0,001$). Отримані дані клініко-морфологічного дослідження свідчать про позитивну динаміку регенераторного процесу, яка приводить до нормального функціонування переднього відділу ока.

При культивуванні лімбальних епітеліоцитів людини виявлена їх однаково висока проліферативна активність як на ушкоджених вірусом простого герпесу, так і на здорових очах. До культивування у пацієнтів з герпетичною нейротро-

фічною кератопатією було отримано 10502 ± 428 клітин, у пацієнтів із стромальним метагерпетичним кератитом 10563 ± 614 , із здорових очей 10337 ± 444 , ($p > 0,05$). При утворенні моношару (через $71,4 \pm 1,4$ годин культивування) кількість лімбальних епітеліоцитів однаково збільшилася у всіх випадках до 28973 ± 990 , 29044 ± 649 і 28491 ± 1210 клітин відповідно, ($p > 0,05$). Це дозволило зробити висновок про збереження проліферативної активності в лімбальних епітеліоцитах ушкоджених вірусом простого герпесу очей.

Результати хірургічного лікування хворих на герпетичну нейротрофічну кератопатію, ускладнену лімбальною недостатністю. У результаті проведених досліджень виявлено, що в пацієнтів з герпетичною нейротрофічною кератопатією, ускладненою лімбальною недостатністю, після трансплантації аутологічних клітин лімба на лімб ушкодженого ока (методами лімбокера-топломбування та кон'юнктивальної імобілізації) збільшилася кількість базальних і поверхневих епітеліоцитів, що привело до підвищення прозорості рогівки та зменшення неоваскуляризації.

До операції в пацієнтів спостерігалися часті рецидиви за рахунок лімбальної недостатності (під час рецидивів у мазках відбитках з рогівки методом ПЦР виявлялася ДНК ВПГ тільки в 25% випадках). Після операції ЛКП (КІ) кількість рецидивів скоротилася з $8,3 \pm 0,1$ разів на рік до $2,4 \pm 0,2$ ($2,7 \pm 0,1$) відповідно, ($p < 0,001$). На нашу думку, це відбулося за рахунок компенсації лімбальної недостатності. Відзначено оптимізацію досліджуваних показників протягом 1 – 18 місяців післяопераційного спостереження, $p < 0,001$. Так, через місяць після ЛКП (КІ) у досліджуваній групі кількість поверхневих 900 ± 85 (867 ± 73) кл/мм² і базальних 9670 ± 132 (10067 ± 242) кл/мм епітеліоцитів перевищило контроль (690 ± 54 і 6856 ± 460 кл/мм² поверхневих і базальних відповідно) у 1,3 – 1,5 рази. Відсутність клітин Лангерганса в прооперованих очах свідчила про відсутність запалення, на відміну від контролю (у базальному епітелії зустрічалися дендритичні клітини Лангерганса). Ступінь прозорості рогівки в досліджуваних пацієнтів ($0,8 \pm 0,1$ ($0,6 \pm 0,1$) балів) була вище контролю ($1,4 \pm 0,1$ балів) у 1,8 (2,3) рази. Ступінь неоваскуляризації рогової оболонки в досліджуваних пацієнтів ($0,4 \pm 0,02$ ($0,3 \pm 0,02$) балів) була менше, ніж у контрольній групі ($1,7 \pm 0,4$ балів) у 4,3 (5,7) рази. Була відзначена оптимізація функціональних характеристик рогової оболонки, таких як рогівкова чутливість і стабільність слізної плівки. Чутливість рогівки в досліджуваних пацієнтів складала ($4,9 \pm 0,2$; $5,7 \pm 0,1$; $6,6 \pm 0,2$ ($4,5 \pm 0,2$; $5,4 \pm 0,3$; $6,5 \pm 0,2$) сприйнятих торкань альгезиметрами 2,0 мг; 10,0 мг; 50,0 мг відповідно й зросла в порівнянні з контролем ($3,5 \pm 0,2$; $4,4 \pm 0,2$; $5,6 \pm 0,3$ сприйнятих торкань) в 1,2 – 1,4 рази. Показник стабільності слізної плівки в досліджуваних пацієнтів нормалізувався ($19,8 \pm 0,6$ ($18,1 \pm 0,5$) секунд) і перевищив такий у групі контролю ($7,4 \pm 0,9$ секунд) в 2,7 (2,4) рази. Гострота зору в досліджуваних $0,5$ ($0,6$) підвищилася на 30% (40%) після ЛКП (КІ) у порівнянні з контролем ($0,2$), $p > 0,05$. Через 6 – 12 місяців після операції ЛКП (КІ) кількість поверхневих і базальних епітеліоцитів в основній групі (1175 ± 24 (1203 ± 62) і 11780 ± 167 (12854 ± 129) кл/мм² відповідно) перевищила контроль (610 ± 73 і 6014 ± 113 кл/мм²) у 1,9 – 2,1 рази, ($p < 0,001$). Ступінь прозорості рогівки в дос-

ліджуваних пацієнтів ($0,8 \pm 0,2$ ($0,7 \pm 0,2$) балів) була вище контролю ($1,6 \pm 0,2$ балів) у 2 (2,3) рази, ($p < 0,001$). Ступінь неоваскуляризації рогової оболонки в досліджуваних пацієнтів ($0,3 \pm 0,02$ ($0,35 \pm 0,01$) балів) була менше, ніж в контрольній групі ($2,1 \pm 0,2$ балів) у 6,3 (7) рази, $p < 0,001$. Чутливість рогівки в досліджуваних пацієнтів складала $5,0 \pm 0,7$; $6,1 \pm 0,3$; $6,8 \pm 0,2$ ($4,8 \pm 0,4$; $5,9 \pm 0,6$; $7,1 \pm 0,2$) сприйнятих торкань альгезиметрами 2,0 мг; 10,0 мг; 50,0 мг відповідно й майже удвічі зроста в порівнянні з контролем ($2,6 \pm 0,2$; $3,6 \pm 0,1$; $4,8 \pm 0,2$ сприйнятих торкань), $p < 0,001$. Стабільність слізної плівки у 4,2(3,8) рази перевищила в досліджуваних хворих ($24,2 \pm 0,7$ ($21,5 \pm 0,3$) секунд) показник контролю ($5,7 \pm 0,8$ секунд), $p < 0,001$. Гострота зору в цей період у післяопераційних хворих ($0,5(0,6)$) на 30% - 50% перевищила контроль ($0,2 - 0,1$), $p > 0,05$. Через 1,5 року після операції ЛКП (КІ) в досліджуваних очах поверхневих і базальних епітеліоцитів рогівки (930 ± 19 (945 ± 35) кл./мм², і 10780 ± 130 (10642 ± 210) кл./мм² відповідно) у 1,6 - 1,7 разів було більше, ніж у контрольній групі (600 ± 16 і 6230 ± 156 кл./мм²), $p < 0,001$. Рогівка була прозорішою в досліджуваній групі ($1,1 \pm 0,3$ ($1,0 \pm 0,2$) балів), у 1,5 (1,6) разів, ніж у контрольній ($1,6 \pm 0,1$ балів), $p < 0,001$. У досліджуваних очах подекуди на периферії рогівки з'являлися новоутворені судини й ступінь неоваскуляризації складала $0,7 \pm 0,1$ ($0,5 \pm 0,1$) балів, що, було нижче цього ж показника в контрольній групі ($2,2 \pm 0,2$ балів) у 3,1 (4,4) рази, $p < 0,001$. Гострота зору в прооперованих очах $0,5$ ($0,4$) на 40% (30%) була вище контролю ($0,1$), $p < 0,001$. Через 2 роки після хірургічного лікування лімбаальної недостатності ЛКП (КІ) в пацієнтів з герпетичною нейротрофічною кератопатією відзначене зниження рогівкових показників практично до початкових, $p > 0,05$. Так, у досліджуваних пацієнтів поверхневих і базальних епітеліоцитів налічувалося 734 ± 13 (689 ± 46) і 6807 ± 130 (6945 ± 158) кл./мм², у групі контролю 685 ± 24 і 6589 ± 240 кл./мм². Ступінь прозорості й ступінь неоваскуляризації рогової оболонки в досліджуваних очах склали $1,4 \pm 0,2$ ($1,3 \pm 0,1$) балів і $1,5 \pm 0,1$ ($1,6 \pm 0,1$) балів відповідно, у групі контролю $1,5 \pm 0,4$ і $1,9 \pm 0,3$ балів. Чутливість рогівки в досліджуваних очах (при альгезиметрії в 2,0 мг $3,7 \pm 0,2$ ($3,6 \pm 0,3$), в 10,0 мг $4,7 \pm 0,1$ ($4,5 \pm 0,1$); в 50,0 мг $5,6 \pm 0,9$ ($5,6 \pm 0,2$) сприйнятих торкань) не перевищувала контроль ($3,3 \pm 0,1$; $4,2 \pm 0,1$; $5,2 \pm 0,3$ сприйнятих торкань відповідно вазі альгезиметрів). Час розриву слізної плівки в прооперованих очах після ЛКП і КІ дорівнював $8,1 \pm 0,4$ ($7,8 \pm 0,1$) секунд, у групі контролю $7,1 \pm 0,3$ секунд. Гострота зору в групі досліджуваних знизилася до вихідної ($0,3$) і від групи контролю ($0,25$) не відрізнялася.

Таким чином, лімбоккератопломбування й кон'юнктивальна іммобілізація аутологічних клітин лімба дозволяють досягти компенсації лімбаальної недостатності у хворих на герпетичну нейротрофічну кератопатію, ускладнену лімбаальною недостатністю, та знижують кількість рецидивів герпетичного кератиту до 2 років.

Результати хірургічного лікування хворих на стромальний метагерпетичний кератит, ускладнений лімбаальною недостатністю. У результаті проведених досліджень було виявлено, що в пацієнтів із стромальним метагерпетичним кератитом, ускладненим лімбаальною недостатністю, після трансплан-

тації аутологічних клітин лімба на лімб ушкодженого ока (методами лімбокера-топломбування та кон'юнктивальної імобілізації) збільшилася кількість базальних та поверхневих епітеліоцитів, що привело до підвищення прозорості рогівки, зменшення неоваскуляризації й оптимізації гостроти зору.

До операції в пацієнтів спостерігалися часті рецидиви за рахунок лімбальної недостатності (під час рецидивів у мазках відбитках з рогівки методом ПЦР виявлялася ДНК ВПГ у 11,1% випадках). Після операції ЛКП (КІ) кількість рецидивів скоротилася з $9,3 \pm 0,4$ до $2,0 \pm 0,2$ ($2,4 \pm 0,2$) разів на рік відповідно, $p < 0,001$. На нашу думку, це відбулося за рахунок компенсації лімбальної недостатності. Відзначена оптимізація досліджуваних показників протягом 1–18 місяців післяопераційного спостереження, $p < 0,001$. Так, через місяць після ЛКП (КІ) у досліджуваній групі кількість поверхневих 950 ± 54 (987 ± 84) кл/мм² і базальних 10047 ± 190 (10103 ± 242) кл/мм² епітеліоцитів перевищила контроль (725 ± 24 і 7130 ± 195 кл/мм²) у 1,3 – 1,4 рази, $p < 0,001$. Ступінь прозорості рогівки в групі досліджуваних $1,7 \pm 0,1$ ($1,6 \pm 0,1$) була вище показників групи контролю ($2,5 \pm 0,2$ балів) у 1,5 (1,6) рази, $p < 0,001$. Ступінь неоваскуляризації рогової оболонки в групі досліджуваних $1,0 \pm 0,1$ ($0,7 \pm 0,1$) балів зменшилася щодо контрольної групи ($2,3 \pm 0,1$ балів) у 2,3 (3,3) рази, $p < 0,001$. Чутливість рогівки в досліджуваних очах складала $5,8 \pm 0,3$; $6,5 \pm 0,3$; $7,2 \pm 0,2$ ($5,5 \pm 0,1$; $6,3 \pm 0,4$; $6,9 \pm 0,3$) сприйнятих торкань альгезиметрами 2,0 мг; 10,0 мг; 50,0 мг відповідно й зросла в порівнянні з контролем ($3,6 \pm 0,2$; $4,9 \pm 0,2$; $6,0 \pm 0,2$ сприйнятих торкань) у 1,1–1,6 рази. Показник стабільності слізної плівки в групі досліджуваних відповідав $21,2 \pm 0,9$ ($18,6 \pm 0,6$) секундам і перевищив такий у групі контролю ($8,1 \pm 0,3$ секунд) у 2,6 (2, 3) рази, $p < 0,001$. Гострота зору в досліджуваних очах дорівнювала 0,02, у той час, як у контролі – рахунок пальців, $p < 0,001$. Через 6-12 місяців після операції ЛКП (КІ) кількість поверхневих і базальних епітеліоцитів в основній групі (1240 ± 14 (1289 ± 63) і 12047 ± 150 (11980 ± 170) кл/мм² відповідно) перевищила контроль (638 ± 35 і 6350 ± 139 кл/мм²) у 1,9 – 2 рази, $p < 0,001$. Через 6 місяців спостереження в досліджуваних пацієнтів рогівка була прозоріша за контроль ($1,3 \pm 0,1$ ($1,4 \pm 0,2$) балів і $2,9 \pm 0,1$ балів відповідно) у 2,2 (2,1) рази. Через рік після ЛКП (КІ) в групі досліджуваних ($1,3 \pm 0,1$ ($1,6 \pm 0,3$) балів) показник перевищував контроль ($2,9 \pm 0,1$ балів) у 2,2 (1,8) рази, $p < 0,001$. Ступінь неоваскуляризації рогової оболонки в групі досліджуваних ($0,6 \pm 0,1$ ($0,4 \pm 0,1$) балів) зменшилася щодо контрольної групи ($2,6 \pm 0,1$ балів) у 4,3 (6,5) рази, $p < 0,001$. Рогівкова чутливість у досліджуваних очах складала $6,1 \pm 0,3$; $6,7 \pm 0,3$; $7,5 \pm 0,2$ ($5,7 \pm 0,4$; $6,5 \pm 0,2$; $7,3 \pm 0,6$) сприйнятих торкань альгезиметрами 2,0 мг; 10,0 мг; 50,0 мг відповідно й зросла в порівнянні з контролем ($2,8 \pm 0,4$; $4,1 \pm 0,3$; $4,9 \pm 0,2$ сприйнятих торкань) у 1,6–2,2 рази, $p < 0,001$. Стабільність слізної плівки в 4,1(3,7) разів була вище в досліджуваних пацієнтів ($25,0 \pm 0,4$ ($22,9 \pm 0,7$)) секунд, щодо пацієнтів з групи контролю ($5,9 \pm 0,3$ секунд), $p < 0,001$. Гострота зору в цей період у післяопераційних хворих складала в середньому 0,04, у групі контролю – рух руки, $p < 0,001$. Через 1,5 року після операції ЛКП (КІ) в досліджуваних очах поверхневих і базальних епітеліоцитів рогової оболонки (1170 ± 34 (1013 ± 73)) і 11065 ± 128 (11437 ± 109) кл/мм²) у 1,5-1,8 рази було більше, ніж у контрольній

групі (670 ± 24 і 6260 ± 310 кл/мм²), $p < 0,001$. Рогівка прооперованих пацієнтів ($1,8 \pm 0,2$ ($1,9 \pm 0,1$) балів) була прозоріша, ніж у групі контролю ($3,1 \pm 0,2$ балів) у 1,7 (1,6) рази. У досліджуваних очах ступінь неоваскуляризації складала $1,1 \pm 0,2$ ($0,9 \pm 0,1$) балів, і була нижчою цього ж показника в контролі ($2,9 \pm 0,2$ балів), $p < 0,001$. Рогівкова чутливість у групі досліджуваних пацієнтів ($5,1 \pm 0,2$; $6,3 \pm 0,4$; $6,9 \pm 0,1$ ($5,3 \pm 0,1$; $6,0 \pm 0,2$; $7,5 \pm 0,2$)) перевищила контроль ($3,1 \pm 0,5$; $4,2 \pm 0,1$; $5,0 \pm 0,1$) у 1,4 - 1,7 рази, $p < 0,001$. Гострота зору в прооперованих очах у середньому дорівнювала 0,02, у контролі – рух руки, $p < 0,001$. Через 2 роки після хірургічного лікування лімбальної недостатності в досліджуваних пацієнтів з метагерпетичним кератитом, рогівкові показники знизилися до початкових, $p > 0,05$. Так, у досліджуваних пацієнтів після ЛКП (КІ), поверхневих і базальних епітеліоцитів налічувалося 780 ± 95 (811 ± 52) і 7021 ± 26 (7138 ± 35) кл/мм², у групі контролю 735 ± 42 і 6842 ± 41 кл/мм². Ступінь прозорості й ступінь неоваскуляризації рогової оболонки в досліджуваних пацієнтів склали $2,3 \pm 0,3$ ($2,2 \pm 0,1$) балів і $2,1 \pm 0,2$ ($1,8 \pm 0,2$) балів відповідно, у групі контролю $2,7 \pm 0,2$ і $2,4 \pm 0,2$ балів. Рогівкова чутливість у досліджуваних пацієнтів (при альгезиметрії в 2,0 мг дорівнювала $3,9 \pm 0,3$ ($4,0 \pm 0,1$); в 10,0 мг $5,0 \pm 0,4$ ($5,4 \pm 0,3$); в 50,0 мг $5,8 \pm 0,1$ ($6,1 \pm 0,3$) сприйнятих торкань) та не перевищувала контроль ($3,2 \pm 0,1$; $4,5 \pm 0,1$; $5,7 \pm 0,2$ сприйнятих торкань відповідно). Час розриву слізної плівки в прооперованих очах після ЛКП і КІ дорівнював $8,7 \pm 0,6$ ($9,1 \pm 0,6$) секунд, у групі контролю $8,0 \pm 0,2$ секунд. Гострота зору в групі досліджуваних дорівнювала 0,01, у контролі – рахунок пальців.

Таким чином, лімбокератопломбування та кон'юнктивальна іммобілізація аутологічних клітин лімба, які були застосовані в лікуванні пацієнтів із стромальним метагерпетичним кератитом, ускладненим лімбальною недостатністю, підвищили основні рогівкові показники за рахунок компенсації лімбальної недостатності до 2-х років, що можна вважати профілактикою рецидивів герпетичних кератитів у даному випадку.

ВИСНОВКИ

1. Рецидивуючий герпетичний кератит становить від 20 до 50% усіх запальних рогівкових захворювань і є причиною 60% випадків сліпоти від захворювань рогівки. У результаті нейротрофічних змін відбувається тривале ушкодження епітелію рогівки, що приводить до загибелі його камбіальних клітин і розвитку лімбальної недостатності. Один із сучасних методів лікування лімбальної недостатності – аутолімбальна трансплантація. Актуальним є визначення форм герпетичного кератиту, що призводять до розвитку лімбальної недостатності й удосконалення лікування даної патології.

2. Доповнено наукові дані в експерименті про стимулюючий вплив субепітеліальної пересадки суспензії лімбальних клітин, культивованих *in vitro*, що містить стовбурові клітини, на лімб парного ока із частковою лімбальною недостатністю, а саме, виникає морфологічно повноцінна регенерація ушкодженого

рогівкового епітелію з диференціюванням по шарах (часткова епітелізація рогової оболонки на 3,0 добу, повна – на 7,3 добу).

3. Уточнено наукові дані в експерименті про те, що пересадка суспензії лімбальних клітин, культивованих *in vitro*, що містить стовбурові клітини, на лімб парного ока із частковою лімбальною недостатністю та подальше покриття трансплантата аутокон'юнктивою, сприяє міграції пересаджених клітин до області рогівкового дефекту з розвитком морфологічно повноцінного рогівкового епітелію та збільшенню кількості лімбальних клітин при культивуванні у 3 рази.

4. Доповнено дані щодо патогенеза лімбальної недостатності при рецидивуючому герпетичному кератиті. Отже, розвиток даного стану не пов'язаний із змінами в самих лімбальних епітеліоцитах, що підтверджується збереженням їх проліферативного потенціалу однаково із лімбальними епітеліоцитами здорових очей та утворенням клітинного моношару на 3 добу культивування та збільшенням кількості клітин у 2,8 рази.

5. Розроблено спосіб пересадження аутологічних клітин лімба (лімбокератопломбування), що полягає у формуванні на ушкоджену оці лімбальної субепітеліальної кишені (у меридіані попередньо висіченого кон'юнктивального пануса) глибиною до 2 мм із наступною імплантацією туди лімбального біоптату зі здорового ока розмірами $1 \times 2 \times 0,3$ мм.

6. Розроблено спосіб пересадження аутологічних клітин лімба (кон'юнктивальна імобілізація), що полягає в одержанні зі здорового ока лімбального біоптату розмірами $1 \times 2 \times 0,3$ мм з наступною його трансплантацією на лімб ушкодженого ока в ділянку висіченого кон'юнктивального пануса з наступним покриттям аутокон'юнктивою.

7. Запропоновані способи дозволяють підвищити клінічну ефективність хірургічного лікування хворих на рецидивуючий герпетичний кератит та підтверджуються повноцінною регенерацією епітелію пошкодженого ока, компенсацією лімбальної недостатності терміном до 2-х років зі зниженням частоти рецидивів герпетичного кератиту при нейротрофічній кератопатії на 32% та при стромальному метагерпетичному кератиті на 24%.

8. Встановлено, що до групи ризику розвитку лімбальної недостатності входять пацієнти з герпетичною нейротрофічною кератопатією і з метагерпетичним кератитом периферичної локалізації з тривалістю захворювання більше, ніж 7 років та частотою рецидивів 2 та більше разів на рік, що є показанням до лімбокератопломбування та кон'юнктивальної імобілізації аутологічних клітин лімба.

9. Встановлено, що після лімбокератопломбування та кон'юнктивальної імобілізації аутологічних клітин лімба в пацієнтів з герпетичною нейротрофічною кератопатією, ускладненою лімбальною недостатністю, у 2 рази збільшується кількість базальних і поверхневих епітеліоцитів рогівки, що приводить до збільшення ступеня прозорості рогівки у 2 рази й зниження ступеня неоваскуляризації в 6 разів, підвищуючи тим самим гостроту зору на 40%.

10. Встановлено, що після лімбокератопломбування та кон'юнктивальної іммобілізації аутологічних клітин лімба в пацієнтів із стромальним метагерпетичним кератитом, ускладненим лімбальною недостатністю, в 1,5 рази збільшується кількість базальних і поверхневих епітеліоцитів рогівки, що приводить до збільшення ступеня прозорості рогівки в 1,7 рази й зниження ступеня неоваскуляризації в 5 разів, підвищуючи цим гостроту зору від руху руки до 0,04.

ПЕРЕЛІК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бездетко П.А. Конъюнктивальная иммобилизация аутологических клеток лимба в лечении рецидивирующих герпетических кератитов / П.А. Бездетко, Е.Н. Ильина // Харківська хірургічна школа. – 2009. - № 4. – С. 68-71 (автор брала участь у хірургічному лікуванні хворих, аналізувала нейротрофічні фактори, висновки сформульовані разом з науковим керівником).

2. Бездетко П.А. Аутолимбокератопломбирование как метод хирургического лечения рецидивирующего герпетического кератита / П.А. Бездетко, Е.Н. Ильина, М.Г. Лысенко // Офтальмологический журнал. – 2009. - № 5. – С. 10-14 (автор обстежувала хворих, аналізувала клінічні фактори, висновки сформульовані разом з науковим керівником).

3. Бездетко П.А. Особенности формирования роговичного эпителия после пересадки аутотрансплантата при лимбальной недостаточности / П.А. Бездетко, Е.Н. Ильина, О.В. Наумова, Ю.Е. Микулинский, С.Г. Панибратцева // Офтальмологический журнал. – 2010. - № 1. – С. 64-68 (автор самостійно пересаджувала аутотрансплантат експериментальним тваринам після моделювання часткової лімбальної недостатності, аналізувала клінічні та морфологічні результати, висновки сформульовані разом з науковим керівником).

4. Ильина Е.Н. Аутолимбальная трансплантация в лечении стромальных метагерпетических кератитов, осложнённых лимбальной недостаточностью / Е.Н. Ильина // Харківська хірургічна школа. – 2010. - № 5. – С. 66-69.

5. Бездетко П.А. Регенерация переднего эпителия роговицы после трансплантации суспензии лимбальных клеток, культивированных *in vitro* на модели частичной лимбальной недостаточности / П.А. Бездетко, Е.Н. Ильина, О.В. Наумова, Ю.Е. Микулинский, С.Г. Панибратцева // Офтальмологический журнал. – 2010. - № 5. – С. 61-65 (автор самостійно пересаджувала аутотрансплантат експериментальним тваринам після моделювання часткової лімбальної недостатності, аналізувала клінічні та морфологічні результати, висновки сформульовані разом з науковим керівником).

6. Бездетко П.А. Пролиферативная активность эпителиоцитов лимба у больных рецидивирующим герпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью / П.А. Бездетко, Е.Н. Ильина, Ю.Е. Микулинский, С.Г. Панибратцева, Е.П. Мужичук // Офтальмологический журнал. – 2011. - № 3. – С. 5-7 (автор самостійно проводила забір матеріалу для культивування в 14

пацієнтів. Разом із співавторами отриманий біоптат культивованим, зроблені висновки).

7. Пат. № 41642 Україна, МПК А 61 F 9/00, А 61 F 9/08. Спосіб лікування синдрому лімбальної недостатності / Бездітко П.А., Ільїна Є.М.; заявник і патентовласник Харківський національний медичний університет. – № u 2009 01407; заявл.19.02. 2009; опубл. 25.05. 2009, Бюл. № 10 (разом з науковим керівником д. мед. н., професором П. А. Бездітко автор брала участь у розробці нового способу фіксації аутологічних клітин лімба при рецидивуючому герпетичному кератиті, ускладненому лімбальною недостатністю. Самостійно автор проводив оформлення документації і разом з науковим керівником лікування пацієнтів запропонованим способом фіксації аутологічних клітин лімба).

8. Пат. № 41643 Україна МПК А 61 F 9/00, А 61 F 9/08. Спосіб хірургічного лікування герпетичного кератиту / Бездітко П.А., Ільїна Є.М.; заявник і патентовласник Харківський національний медичний університет. - № u 2009 01411; заявл. 19.02. 2009; опубл. 25.05. 2009, Бюл. № 10 (разом з науковим керівником д. мед. н., професором Бездітко П.А. автор брала участь у розробці нового способу лікування лімбальної недостатності у хворих на рецидивуючий герпетичний кератит. Самостійно автор проводив оформлення документації і разом з науковим керівником лікував пацієнтів за запропонованим способом фіксації аутологічних клітин лімба).

9. Мужичук Е.П. Применение аутологических клеток лимба в лечении герпетических кератитов / Е.П. Мужичук, Е.Н. Ильина, Т.Н. Довжук, О.В. Заволока // Сучасні методи діагностики та лікування в офтальмології: II Всеукраїнська конференція молодих вчених офтальмологів України, 19-20 червня 2008: матеріали. – Харків, 2008. – С. 68-70.

10. Bezdetko P. Autolimbal transplantation in the treatment of the herpetic keratitis / P. Bezdetko, Y. Ilyina, E. Muzhichuck // 106th DOG-Kongress, 18-21 September 2008: Abstract book. – Berlin, 2008.

11. Бездетко П.А. Особенности повреждения лимба при рецидивирующих герпетических кератитах / П.А. Бездетко, Е.Н. Ильина, Е.П. Мужичук // Проблеми лікування кератопатій: регіональна конференція офтальмологів, 12 травня 2009: матеріали. – Харків, 2009. – С. 20-22.

12. Ильина Е.Н. Аутолимбокератопломбирование в лечении герпетической нейротрофической кератопатии, осложнённой лимбальной недостаточностью / Е.Н. Ильина // Медицина третьего тысячелетия: міжвузівська конференція молодих вчених та студентів, 19-20 січня 2010: матеріали. – Харків, 2010. – С. 176-177.

13. Bezditko P. Conjunctival covering of autologous stem cells in the treatment of the herpetic neurotrophic keratopathy / P. Bezditko, E. Ilyina // 108th DOG Congress, 5-9 June 2010: Abstract book. – Berlin, 2010. – P. 213.

14. Бездетко П. А. Культивирование клеток лимба пациентов с рецидивирующим герпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью / П.А. Бездетко, Е.Н. Ильина, Ю.Е. Микулинский, С.Г. Панибратцева // Су-

часні досягнення в офтальмохірургії: науково-практична конференція з міжнародною участю, 9-10 листопада 2010: матеріали. – Київ, 2010. – С. 148.

15. Ilyina Y. Conjunctival covering of autologous stem cells in the treatment of the herpetic stromal keratitis / Y. Ilyina, T. Storozhenko // 4th international scientific interdisciplinary conference for medical students and young doctors, 13-14 April 2011: Abstract book. – Kharkov, 2011. – P. 184.

16. Ilyina Y.N. Regeneration of corneal epithelium after autograft transplantation at the stem cell deficiency in experiment / Y.N. Ilyina, P.A. Bezditko, Zavoloka O.V. // Joint congress of SOE AAO, 4-7 June 2011: abstract. – Geneva, 2011. – P. 38.

АНОТАЦІЯ

Ільїна Є.М. Ефективність застосування аутологічних клітин лімба в лікуванні рецидивуючих герпетичних кератитів, ускладнених лімбальною недостатністю. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.18 - офтальмологія. - Державна установа «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України», Одеса, 2011.

Дисертація присвячена проблемам лікування рецидивуючих герпетичних кератитів, ускладнених лімбальною недостатністю. Доповнені дані про те, що при рецидивуючому герпетичному кератиті розвиток лімбальної недостатності пов'язаний із нейрофічними змінами строми, тому що проліферативна активність епітеліоцитів лімба однакова при герпетичній нейротрофічній кератопатії, стромальному метагерпетичному кератиті та в здорових очах. Розроблено спосіб пересадки аутологічних клітин лімба (лімбокератопломбування), що полягає у формуванні на ушкодженій оці лімбальної субепітеліальної кишені (у меридіані висіченого кон'юнктивального пануса) з наступною імплантацією туди лімбального біоптату зі здорового ока. Розроблено спосіб пересадки аутологічних клітин лімба (кон'юнктивальна іммобілізація), що полягає в отриманні зі здорового ока лімбального біоптату із подальшою його трансплантацією на лімб ушкодженого ока в ділянку висіченого кон'юнктивального пануса з наступним аутокон'юнктивальним покриттям. Запропоновані способи дозволяють підвищити ефективність лікування хворих на рецидивуючий герпетичний кератит за рахунок повноцінної регенерації епітелію ушкодженого ока, компенсації лімбальної недостатності терміном до 2-х років і зниження частоти рецидивів при нейротрофічній кератопатії на 32%, при стромальній формі герпетичного кератиту – на 24%.

Ключові слова: лімбальна недостатність, рецидивуючий герпетичний кератит, аутологічні клітини лімба, кон'юнктивальна іммобілізація, лімбокератопломбування.

АННОТАЦІЯ

Ильина Е.Н. Эффективность применения аутологичных клеток лимба в лечении рецидивирующих герпетических кератитов, осложнённых лимбальной недостаточностью. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 - офтальмология. - Государственное учреждение «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова АМН Украины», Одесса, 2011.

Диссертация посвящена повышению эффективности лечения рецидивирующего герпетического кератита, осложнённого лимбальной недостаточностью, путем пересадки аутологичных клеток лимба способами лимбокератопломбирования и конъюнктивальной иммобилизации.

Разработан способ пересадки аутологичных клеток лимба (лимбокератопломбирование), заключающийся в формировании на поражённом глазу лимбального субэпителиального кармана (в меридиане предварительно иссечённого конъюнктивального паннуса) глубиной до 2 мм с последующей имплантацией туда лимбального биоптата из здорового глаза размерами 1×2×0,3 мм.

Разработан способ пересадки аутологичных клеток лимба (конъюнктивальная иммобилизация), заключающийся в получении из здорового глаза лимбального биоптата размерами 1×2×0,3 мм с последующей его трансплантацией на лимб поражённого глаза в область иссечённого конъюнктивального паннуса и покрытием аутоконъюнктивой.

Проведены экспериментальные исследования на 42 кроликах породы Шиншилла, которым была смоделирована лимбальная недостаточность по Милюдину (Самара, 2006 г.). В соответствии с задачами опыта животные были распределены на 3 группы. Первой и второй группе были произведены лимбокератопломбирование и конъюнктивальная иммобилизация аутооттрансплантата соответственно на повреждённых глазах.

Аутооттрансплантат был получен путём культивирования лимбального биоптата из парных здоровых глаз животных. Третья группа, контрольная, получала консервативное лечение. Животные наблюдались 14 дней, после чего производились морфологические исследования роговиц экспериментальных животных, оценивались степень прозрачности и неоваскуляризации роговицы.

В ходе эксперимента было установлено, что лимбальная недостаточность приводит к разрастанию на поверхности роговой оболочки бокаловидных клеток конъюнктивального эпителия, прорастанию новообразованных сосудов и нарушению прозрачности роговицы. А лимбокератопломбирование (конъюнктивальная иммобилизация) аутологичных клеток лимба восстанавливает полноценный роговичный эпителий за счет стимуляции ростковых клеток лимба собственного поражённого глаза, по типу тканевой терапии, в первом случае, и морфологически установленной миграции клеток аутооттрансплантата в область дефекта во втором случае.

Проведены клинические исследования. Обследованы 143 пациента с рецидивирующим герпетическим кератитом. Исследования включали: визомет-

рию, биомикроскопию, исследование чувствительности роговицы, пробу Норна, конфокальную биомикроскопию с подсчётом плотности поверхностных и базальных эпителиоцитов, иммунологические исследования. Оценивалась также степень прозрачности и неоваскуляризации роговицы.

У 52 обследуемых была выявлена лимбальная недостаточность, которая развилась вследствие длительного (более 7 лет), часто рецидивирующего (2 и более раз в год) течения стромальных герпетических кератитов эпителиогенного распространения и у пациентов с герпетической нейротрофической кератопатией. Пациенты были распределены на 3 группы. Первая и вторая группы получили хирургическое лечение лимбальной недостаточности: лимбокератопломбирование и конъюнктивальную иммобилизацию аутологичных клеток лимба. Третья группа получила консервативное лечение. Пациенты наблюдались в течение 2 лет.

У 7 пациентов с герпетической нейротрофической кератопатией и у 7 пациентов со стромальным метагерпетическим кератитом, осложнёнными лимбальной недостаточностью, во время пересадки аутотрансплантата часть полученного лимбального материала (из здорового и из поражённого *Herpes simplex* глаз) была направлена в лабораторию для культивирования, в результате которой обнаружена одинаково высокая пролиферативная активность лимбальных клеток как из поражённых вирусом простого герпеса, так и из здоровых глаз. Так, до культивирования у пациентов с герпетической нейротрофической кератопатией было получено 10502 клеток, у пациентов со стромальным метагерпетическим кератитом 10563, из здоровых глаз 10337. При образовании клеточного монослоя количество лимбальных эпителиоцитов одинаково увеличилось во всех случаях до 28973, 29044 и 28491 соответственно. Это позволило судить о сохранении пролиферативной активности у лимбальных эпителиоцитов поражённых вирусом простого герпеса глаз.

Также установлено, что после лимбокератопломбирования и конъюнктивальной иммобилизации аутологичных клеток лимба у пациентов с герпетической нейротрофической кератопатией, осложнённой лимбальной недостаточностью, в 2 раза увеличивается количество базальных и поверхностных эпителиоцитов роговицы, приводя к увеличению степени прозрачности роговицы в 2 раза и снижению степени неоваскуляризации в 6 раз, повышая, тем самым, остроту зрения на 40%. После аналогичных операций у пациентов с стромальным метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью, в 1,5 раза увеличивается количество базальных и поверхностных эпителиоцитов роговицы, приводя к увеличению степени прозрачности роговицы в 1,7 раза и снижению степени неоваскуляризации в 5 раз, повышая, тем самым, остроту зрения с движения руки у лица до 0,04.

Предложенные способы позволяют повысить клиническую эффективность хирургического лечения больных с рецидивирующим герпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью, за счёт компенсации последней сроком до 2х лет и снижением частоты рецидивов при герпетиче-

ской нейротрофической кератопатии на 32% , при стромальной форме заболевания на 24%.

Таким образом, рекомендуется повторно проводить лимбокератопломбирование (конъюнктивальную иммобилизацию) аутологичных клеток лимба у пациентов с рецидивирующими герпетическими кератитами, сопровождающимися лимбальной недостаточностью, каждые 1,5 - 2 года.

Ключевые слова: лимбальная недостаточность, рецидивирующий герпетический кератит, аутологичные клетки лимба, конъюнктивальная иммобилизация, лимбокератопломбирование.

ANNOTATION

Ilyina Y.N. Efficacy of limbal autologous cells in treatment of recurrent herpetic keratitis, complicated by limbal insufficiency. - Manuscript.

Thesis for a candidate's degree by speciality 14.01.18 – ophthalmology. State Institution «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the Academy of Medical Sciences of Ukraine», Odesa, 2011.

The thesis is devoted to the treatment of recurrent herpetic keratitis, complicated by limbal insufficiency. Supplemented data that limbal insufficiency is associated with changes in neurotrophic stroma in case of recurrent herpetic keratitis, as proliferative activity of limbus epitheliocytes is the same at herpetic neurotrophic keratopathy, stromal megaherpetic keratitis and in healthy eyes. The method of autologous cells transplantation was worked out (limbokeratofilling), when limbal subepithelial flap was formed in injured eye (in the meridian of the resected conjunctival pannus), with following implantation of limbal biopsy material from the healthy eye. The method of limbal autologous cells transplantation was worked out (conjunctival immobilization), which consists in getting out limbal biopsy material from the healthy eye with its subsequent transplantation to the limbus of damaged eye into dissected conjunctival pannus with following autoconjunctival covering. The proposed methods allow to improve the patient's treatment efficacy with recurrent herpetic keratitis due to complete regeneration of the damaged eye epithelium, limbal insufficiency compensation for up to 2 years and reduced the frequency of neurotrophic keratopathy relapses by 32%, in case of stromal herpetic keratitis - by 24%.

Key words: limbal insufficiency, recurrent herpetic keratitis, limbus autologous cells, conjunctival immobilization, limbokeratofilling.

Підписано до друку 16.12.2011
Обсяг 0,9 авт. арк. формат 60x90/16
Папір офсетний. Друк різнографічний.
Тираж 100 прим. Зам № 242

Надруковано ФОП Гречко С.В.
(Свідоцтво В02 № 950192 от 31.03.2009 г.)
г. Одеса, вул. Французький бульвар, 49/51.
Тел.: (067) 559-72-39.