

Конъюнктивальная иммобилизация аутологичных клеток лимба в лечении рецидивирующих герпетических кератитов.

П.А.Бездетко, Е.Н.Ильина

Харьковский национальный медицинский университет

Введение. Рецидивирующая герпетическая инфекция представляет серьёзную проблему для здоровья населения, поскольку с ней связаны разнообразная патология и большой социальный и моральный ущерб. Более 90% людей старше 20 лет инфицированы вирусом простого герпеса, из них у 10% наблюдаются стойкие рецидивы заболевания [1,3]. Одним из проявлений герпетической инфекции является офтальмогерпес, составляющий от 20 до 50% всех воспалительных заболеваний глаз, в частности, роговицы. Герпетическая инфекция глаз является наиболее частой причиной роговичной слепоты [2]. При герпетических кератитах с рецидивирующим течением происходит длительное повреждение эпителия роговицы, что приводит к нарушению метаболизма её тканей и, как следствие, к гибели камбиальных элементов [4]. Таким образом, развивается их частичная или полная недостаточность. Доказано, что лимбальный эпителий является источником эпителиальных клеток для роговицы [5]. Неспособность лимбальных клеток образовывать в нужном количестве клетки для эпителия роговицы ведёт к врастанию сосудов и рубцовой ткани в роговую оболочку, что неизбежно ведёт к снижению её прозрачности. В итоге – резкое снижение зрения [6]. В данной ситуации выходом могут стать реконструктивные операции, направленные на замещение погибших лимбальных камбиальных клеток и/или на восстановление собственных повреждённых тканей роговицы [6,7].

Целью исследования явилось повышение эффективности лечения герпетических кератитов путём разработки метода фиксации культуры аутологичных клеток лимба.

Материалы и методы.

Под нашим наблюдением находилось 28 пациентов (28 глаз) с рецидивирующим герпетическим кератитом, сопровождающимся развитием синдрома лимбальной недостаточности. 11 с поверхностными формами герпе-

тического кератита (древовидный-8, краевой -3),17 с глубокими формами герпетического кератита (метагерпетический-6, дисковидный-5, буллёзный-2,очаговый-4) в возрасте 20 – 45 лет. Всем пациентам проводилось общеклиническое, иммунологическое, офтальмологическое обследование, которое включало: исследование зрительных функций, окрашивание роговой оболочки 0,2 % раствором флюоресцеина-натрия с последующей биомикроскопией в прямом фокальном освещении, в проходящем свете, в зеркальном поле, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия роговой оболочки, исследование чувствительности роговицы альгезиметром Радзиховского Б.Л. Использовались пробы для оценки состояния слёзной плёнки: проба по Нору (оценка стабильности прероговичной слёзной плёнки), проба по Ширмеру (оценка состояния суммарной слёзопродукции), проба по Джонес (измерение показателя основной слёзопродукции). Исследования также включали постановку иммунологических реакций (ИФА, ПЦР) в соскобах с роговицы (в месте её повреждения) и в сыворотке крови с целью выявления герпесвирусной этиологии заболевания.

У всех пациентов был диагностирован синдром лимбальной недостаточности, включающий следующие симптомы: конъюнктивальный паннус, хроническое воспаление, помутнение роговицы, неоваскуляризация, неровность поверхности роговой оболочки, рецидивирующие эрозии и/или язвы, деструкция базальной мембраны. Каждый из больных, отобранных в исследуемую группу, длительно и безуспешно лечился консервативными методами. В группу контроля вошли 14 больных (14 глаз), 7 с поверхностными формами кератита, 7 с глубокими. Все пациенты получали консервативную противовоспалительную, иммуномодулирующую терапию, и противовирусную терапию препаратами: ацикловира (Гевиран, Зовиракс), интерферон (лаферон), НПВС (индоколлир, диклофенак), при отсутствии нарушения целостности эпителия роговицы кортикостероиды (дексаметазон), витамины В6, В12,С, АТФ, реосорбилакт, супрастин, репаранты роговицы (корнергель).

В исследуемой группе, в межрецидивном периоде было произведено следующее хирургическое лечение: из здорового глаза методом ламеллярной кератэктомии был осуществлён забор материала (участок лимба с эпителиальными клетками) размерами 1 на 2 на 0,75 мм и полученный лимбальный биоптат (ауто трансплантат) был пересажен на лимб больного глаза в меридиане наибольшего роговичного повреждения. На больном глазу, с двух сторон, перпендикулярно лимбу производилась конъюнктивотомия длиной 3 мм и перемещая иссечённую конъюнктиву к лимбу на эту же длину был покрыт (иммобилизован) ауто трансплантат. В месте фиксации конъюнктивы к роговице с двух сторон были наложены два узловатых шва 10/0 (рис.1).

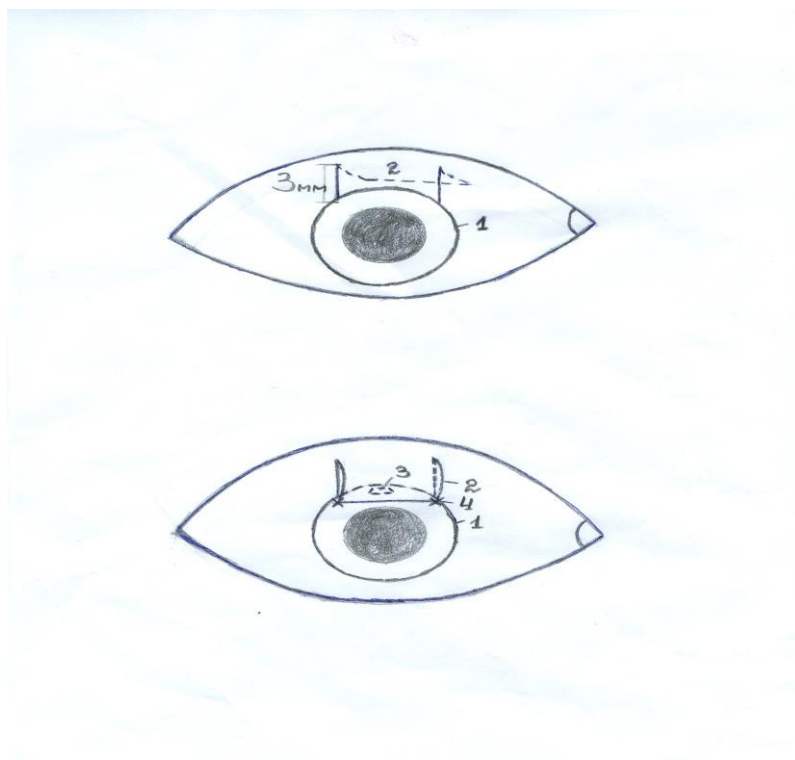


Рис.1 Ход операции конъюнктивальной иммобилизации.

- 1 – лимб.
- 2 – конъюнктивальный лоскут.
- 3 – ауто трансплантат (участок лимба, взятый из здорового глаза).
- 4 – фиксация смещённого конъюнктивального лоскута к роговице узловыми швами 10/0.

В послеоперационном периоде больные получали стандартное противовоспалительное, иммуномодулирующее лечение и противовирусное лече-

ние аналогичное с контрольной группой пациентов. Для профилактики присоединения вторичной инфекции использовался антибактериальный препарат флоксал.

Исследуемая группа пациентов наблюдалась в течение 12 месяцев. Было произведено исследование зрительных функций, окрашивание роговой оболочки 0,2 % раствором флюоресцеина-натрия с последующей биомикроскопией в прямом фокальном освещении, в проходящем свете, в зеркальном поле, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия роговой оболочки, исследование чувствительности роговицы альгезиметром Радзиховского Б. Л. Использовались пробы для оценки состояния слёзной плёнки: проба по Норну, Ширмеру, Джонес .

Результаты исследования и их обсуждение. Оценка результатов лечения осуществлялась по следующим критериям:

- эффективность купирования болевого синдрома (исчезновение перикорнеальной инъекции);
- степень неоваскуляризации;
- интенсивность помутнения роговой оболочки;
- сроки восстановления эпителия роговой оболочки;
- рецидив заболевания.

Изучение эффективности хирургического лечения эпителиальной патологии переднего сегмента глаза при рецидивирующем герпетическом кератите с синдромом лимбальной недостаточности с использованием ауто трансплантации лимбальных эпителиальных клеток и дальнейшей их фиксации аутоконъюнктивой были выполнены во взрослом глазном отделении областной клинической больницы (см. табл.1).

Таблица 1

Оценка эффективности лечения больных рецидивирующими герпетическими кератитами в исследуемой и контрольной группах (в днях)

Клинические при-	Основная группа	Контрольная	Достоверность
------------------	-----------------	-------------	---------------

знаки	(n=14)	группа (n=14)	различия между группами, p
Исчезновение перикорнеальной инъекции	12,6±0,6	14,6±0,9	p<0,001
Эпителизация роговицы	13,8±1,1	15,5±0,8	p<0,001
Неоваскуляризация роговицы	1,1±0,5	3,1±0,4	p<0,001
Интенсивность помутнения роговой оболочки	0,75±0,3	1,96±0,5	p<0,001
Частота рецидивов	0,1±0,2	1,6±0,5	p<0,001

В послеоперационном периоде роговичный синдром купировался на следующий день после операции, гиперемия и отек сохранялись в течение 7-10 дней. Перикорнеальная инъекция исчезала к 13 дню в большинстве случаев, в среднем на 12,9±0,6 день. Степень неоваскуляризации роговой оболочки оценивалась по 4х балльной шкале (Инатоми, Япония, 2006г.) и в исследуемой группе в 29% случаев она отсутствовала, а у 50% составила 1 балл, что означает незначительную неоваскуляризацию периферических отделов роговицы. Интенсивность помутнения роговицы оценивалась по 4х балльной шкале Куренкова и в исследуемой группе составила 0,75±0,3 балла, в то время, как в группе контроля 1,96±0,5 балла. После операции, частичная эпителизация наступала в течение первых 48 часов, полная эпителизация в течение 2 недель у 50% глаз, в среднем на 13,8 ± 1,1 сутки и имела место во всех случаях, тогда как в группе контроля этот процесс затягивался до 15,5 ± 0,8 суток. В 2 послеоперационных глазах в течение года возник рецидив герпетической инфекции, в остальных случаях рецидивирования не наблюдалось. В контрольной группе заболевание рецидивировало 1 раз у 36% (5 глаз), 2 раза у 28,5% (4 глаза), 3 раза у 21% (3 глаза). Лизис аутоконъюнктивального лоскута происходил постепенно и заканчивался к 10 - 14 суткам после операции с одновременным завершением эпителизации роговицы. Больные в стацио-

наре находились до 20 дней, в среднем $14 \pm 0,2$ дня. Во всех случаях хирургическое лечение было эффективно и произошло замещение дефекта эпителия на поверхности роговой оболочки. Не наблюдалось инфицирования, отторжения трансплантата, интраоперационных осложнений. Отмечалась стабильность эпителия, прозрачность, гладкость, без рецидивирования эпителиальных дефектов. Восстановление зрения после операции было во всех случаях.

В донорских глазах не отмечалось интраоперационных осложнений, хронического воспаления, постоянных эпителиальных дефектов, или роговичной неоваскуляризации. Следовательно, можно предположить высокую эффективность предлагаемого хирургического лечения у больных с рецидивирующими герпетическими кератитами. Для уточнения и обоснованности полученных результатов нами выполнено статистическое исследование. Прежде всего, было определено значение критерия Мак-Нимара для исследований типа «до-после»: Хи-квадрат = 1,71 при значении $p=0,19$.

Полученный результат указывает на достаточно высокую статистическую значимость вероятности различий при применении терапевтических методов по сравнению с использованием хирургического лечения патологии эпителия роговицы при рецидивирующем герпетическом кератите, а, именно использование конъюнктивальной иммобилизации аутологичных клеток лимба.

Риск развития неблагоприятного исхода при проведении хирургического лечения с использованием ауто трансплантации лимбальных эпителиальных клеток с последующей их фиксацией и покрытием аутоконъюнктивой = 0,15. Снижение абсолютного риска при применении предложенного нами хирургического лечения рецидивирующих герпетических кератитов с синдромом лимбальной недостаточности = 0,92.

Выводы. Замещение дефекта на поверхности роговицы происходит путем миграции эпителиоцитов (аутологичных лимбальных клеток) под конъюнктивальным лоскутом с периферии к центру. К 14 суткам, происходит лизис аутоконъюнктивального лоскута. По мере формирования 2 – 3 слоев

клеток эпителия в центральной зоне роговицы начинается лизис оставшихся участков конъюнктивального лоскута.

В течение $13,8 \pm 1,1$ суток после конъюнктивальной иммобилизации аутологичных клеток лимба дефект роговой оболочки замещается полноценным специализированным эпителиальным слоем.

В исследуемой группе отсутствовала неоваскуляризация в 29 % или была незначительна в 50%, у 86% отсутствовали рецидивы герпетического кератита.

У 86% прооперированных глаз роговица через год после операции оставалась прозрачна или незначительно помутнена, у 14% помутнение не влияло на рефракцию.

Результаты применения аутологичных лимбальных эпителиальных клеток с конъюнктивальной иммобилизацией как один из видов хирургического лечения лимбальной недостаточности при рецидивирующих герпетических кератитах подтверждают его способность усиливать репаративную активность регионарных стволовых клеток.

Литература.

1. Каспаров А.А. Офтальмогерпес. - М.: Медицина, 1994. – 224 с.
2. Майчук Ю.Ф. Вирусные заболевания глаз. - М.: Медицина, 1981. – 272 с.
3. Панченко Л.А., Кириченко И.И., Ходак Л.А. Возбудители герпесвирусных инфекций и наиболее важные клинические проявления у человека //Провизор. – 1999. – №3. – С. 28-30.
4. Прозоровский С.В., Тартаковский И.С. Возбудители оппортунистических инфекций – роль в инфекционной патологии человека и методы лабораторной диагностики //Клиническая лабораторная диагностика. – 1998. – № 2. –С. 24-33.
5. Kenyon, K.R. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. / K.R. Kenyon, S.C.G. Tseng // Ophthalmology. – 1989. – Vol. 96 – P.709 – 723.

6. Kinoshita, S. Transplantable cultivated epithelial sheet for ocular surface reconstruction / S. Kinoshita, N. Koizumi, T.Nakamura // Exp. Eye research. – 2004. – Vol. 78 – P. 483 – 491.

7. Lavker, R. Corneal epithelial stem cells at the limbus: looking at some old problems from a new angle / R.Lavker, S.Tseng, T.Sun // Experimental eye research. – 2004. – Vol. 78. – P. 433 – 446.

Кон'юнктивальна іммобілізація аутологічних клітин лімба в лікуванні рецидивуючих герпетичних кератитів.

П.А.Бездітко, Є.М.Ільїна

Харківський національний медичний університет

Ключові слова: герпетичний кератит, аутологічні клітини лімба, трансплантація.

Резюме. Прооперовано 10 пацієнтів з рецидивуючим герпетичним кератитом і розвиненою лімбальною недостатністю. Запропонований метод включає пересадку аутологічних клітин лімба зі здорового ока пацієнта з подальшою їх фіксацією на лімб хворого ока в меридіані найбільшого рогівкового пошкодження з покриванням аутокон'юнктивою (хірургічне лікування проводилося в стадії ремісії). Це дозволило уникнути подальшого розвитку кон'юнктивізації рогівки та домогтися відновлення цілісності рогівкової оболонки.

Кон'юнктивальная иммобилизация аутологических клеток лимба в лечении рецидивирующих герпетических кератитов.

П.А. Бездетко, Е.Н. Ильина

Харьковский национальный медицинский университет

Ключевые слова: герпетический кератит, аутологичные клетки лимба, трансплантация.

Резюме. Прооперировано 14 пациентов с рецидивирующим герпетическим кератитом, сопровождающимся развитием лимбальной недостаточно-

сти. Предложенный метод включил пересадку аутологичных клеток лимба, взятых из здорового глаза пациента с последующей их фиксацией на лимб поражённого глаза в меридиане наибольшего роговичного повреждения с покрытием аутоконъюнктивой (хирургическое лечение производилось в стадии ремиссии). Это позволило избежать дальнейшего развития конъюнктивизации роговицы и добиться восстановления целостности роговой оболочки.

Autolimbal transplantation with autoconjunctive covering in the treatment of the herpetic keratitis.

Bezdetko P.A., Ilyina Y.N.

Kharkiv national medical university

Key words: herpetic keratitis, the autologus limbal cells, transplantation.

Summary. The study was performed on 10 patients with recurrent herpetic keratitis and the stem cell deficiency. They received the autologous stem cells transplantation from the healthy eye on the limbus of the injured eye with autoconjunctive covering. This surgical treatment let us to stop the conjunctivization of the cornea and improve the repair of the anterior segment of the injured eye.