

Аутолимбальная трансплантация в лечении стромальных метагерпетических кератитов, осложнённых лимбальной недостаточностью.

Е.Н. Ильина

Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков

Введение. Функциональная недостаточность поверхности глаза связана с дисфункцией эпителиального покрова разной степени выраженности, которая морфологически проявляется метаплазией клеток. Одним из таких нарушений является конъюнктивальная метаплазия роговицы, или лимбальная недостаточность [1,4].

По степени выраженности выделяют частичную и тотальную лимбальную недостаточность. По патогенезу синдром лимбальной недостаточности (СЛН) может быть разделен на 2 большие группы [3,4]. Первый включает патологические состояния, обусловленные прямым разрушением лимбальных стволовых клеток. Второй тип данного синдрома вызван первичной деструкцией лимбальной стромы [4,5]. Он протекает по типу медленно прогрессирующего заболевания. К таким состояниям относят герпетический кератит [8].

При длительном рецидивирующем течении герпетического кератита развиваются нейротрофические изменения, нарушающие метаболизм роговой оболочки. Это приводит к нарушению пролиферации стволовых роговичных клеток (которыми являются базальные эпителиоциты лимба) и развитию рубцевания роговицы, истончению, неоваскуляризации [2,6,7,].

Недостаточно изучен характер течения рецидивирующего герпетического кератита, осложнённого лимбальной недостаточностью. Единичны случаи использования аутологичных лимбальных клеток в лечении лимбальной недостаточности при рецидивирующих герпетических кератитах. Именно это и определило актуальность темы и цель нашего исследования.

Целью работы явилось повышение эффективности лечения стромального герпетического кератита, осложнённого лимбальной недостаточностью, путем разработки методов фиксации аутологичных клеток лимба.

Материалы и методы. В исследовании принимали участие 24 пациента с односторонним стромальным метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью, в возрасте 20 - 45 лет. Группу исследуемых составили 14 пациентов (9 мужчин, 5 женщин). В группу контроля вошли 10 человек (8 мужчин, 2 женщины). Длительность заболевания герпетическим кератитом в среднем у исследуемых составила $10,3 \pm 0,4$ лет, в группе контроля $10,1 \pm 0,5$ лет. Частота рецидивов у исследуемых составила до $9,3 \pm 0,4$ раз в год, в группе контроля до $8,9 \pm 0,2$ раз в год.

Всем пациентам проводилось офтальмологическое обследование, которое включало: исследование зрительных функций, окрашивание роговой оболочки 0,2 % раствором флюоресцеина-натрия с последующей биомикроскопией, конфокальная лазерная сканирующая микроскопия роговой оболочки, исследование чувствительности роговицы алгезиметром Радзиховского Б.Л. Использовалась проба по Норну (оценка стабильности прероговичной слёзной плёнки). Исследования также включали постановку иммунологических реакций (ИФА, ПЦР), которые проводились в первые дни обострения герпетического кератита и перед оперативным лечением (в стадию ремиссии герпетического кератита). Во время рецидива ГК все пациенты получали консервативное лечение в стационаре. В период ремиссии, через $34 \pm 1,6$ дней после окончания консервативного лечения рецидива герпетической инфекции, в группе исследуемых была произведена операция 7 пациентам лимбокератопломбирование (7 пациентам конъюнктивальная иммобилизация) аутологичных клеток лимба.

Ход операции лимбокератопломбирования: из здорового глаза методом ламмелярной кератэктомии был осуществлён забор участка лимба размерами 1×2 мм, до $1/3$ его толщины [7]. На больном глазу в области лимба, в меридиане наибольшего роговичного помутнения и неоваскуляризации с помощью расслаивателя 2,2 мм формировался карман глубиной до 2 мм. Полученный участок лимба имплантировался в образованный карман, и, при необходимости, фиксировался одним узловатым швом 10/0 нейлон.

Ход операции конъюнктивальной иммобилизации: из здорового глаза методом ламеллярной кератэктомии был осуществлён аналогичный забор материала и полученный лимбальный биоптат (аутотрансплантат) был пересажен на лимб больного глаза, где, с двух сторон, перпендикулярно лимбу производилась конъюнктивотомия длиной 3мм с последующим её перемещением к лимбу на эту же длину и покрытием (иммобилизацией) аутотрансплантата. В месте фиксации конъюнктивы к роговице с двух сторон были наложены два узловатых шва 10/0 из нейлона.

В послеоперационном периоде больные получали противовирусное лечение препаратом гевиран (действующее вещество ацикловир) в лечебной дозе 5×400мг внутрь в течение 1 месяца, затем в профилактической дозе 2×400 мг 5 месяцев. Также назначались местно препараты флоксал (для профилактики присоединения вторичной бактериальной инфекции), видисик (кератопротектор), корнерегель (стимулятор регенерации). Здоровый глаз после биопсии получал окоферон (интерферон альфа-2β), и антибактериальный препарат флоксал 4 раза в день в течение 3 дней.

Все пациенты наблюдались в течение 24 месяцев после операции. За группой контроля весь этот период также велось наблюдение. Сроки наблюдения: через 1 месяц, 6 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 24 месяца после операции.

При математической обработке первичного материала были рассчитаны относительные величины, средние арифметические величины, их среднеквадратичное отклонение и ошибки средних величин. Достоверность различий показателей между группами оценивали с использованием критерия t (Стьюдента) – для показателей плотности эпителиоцитов, чувствительности роговицы, стабильности прероговичной слёзной плёнки; критерия Хи квадрат – для определения степени помутнения, неоваскуляризации и остроты зрения.

На таблице 1 представлены основные клинические показатели больных до операции по пересадке аутологичных клеток лимба.

Основные клинические показатели у больных стромальным метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью, перед операцией лимбокератопломбирования и конъюнктивальной иммобилизации аутологичных клеток лимба

Исследуемые показатели	Чувствительность роговицы (кол-во воспринятых касаний, 2,0 мг; 10,0мг; 50,0мг)	Стабильность слёзной плёнки, с	Плотность поверхностных (базальных) эпителиоцитов, кл./мм ²	Прозрачность роговицы (в баллах)	Неоваскуляризация роговицы (в баллах)	Острота зрения (с коррекцией)
Группа исследуемых	4,0±0,1 5,3±0,2 6,3±0,4	8,5±0,3	730±29(пов.) 7860±145(баз.)	2,3±0,1	2,6±0,4	СП ±0,1
Контрольная группа	3,8±0,4 5,5±0,4 6,2±0,6	8,9±0,5	765±15 7930±173	2,0±0,1	2,7±0,3	СП ±0,3

Примечание: при сравнении средних значений показателей двух групп они не достоверны, $p > 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. После операции оценивались: чувствительность роговицы, стабильность слёзной плёнки, степень помутнения и неоваскуляризации роговицы, плотность поверхностных и базальных клеток поверхностного эпителия роговицы, острота зрения и количество рецидивов.

После операции ЛКП исчезновение перикорнеальной инъекции в прооперированных глазах ($n=7$) произошло на $3,9\pm 0,3$ сутки; после КИ ($n=7$) на $3,2\pm 0,1$ сутки. Пациенты были выписаны на $8,9\pm 0,2$ сутки после операции ЛКП; на $7,9\pm 0,1$ сутки после КИ. Клинических проявлений герпетической инфекции и гнойно-септических осложнений во всех прооперированных глазах не наблюдалось. Инъекция здорового глаза исчезла к $2,4\pm 0,3$ суткам, осложнений и клинических проявлений герпетической инфекции в донорских глазах не отмечено.

Количество поверхностных/базальных эпителиоцитов через месяц после операции ЛКП (КИ) в основной группе превысило контроль в $1,3 / 1,4$ раз ($1,4 / 1,4$) раз соответственно. В период через 6 – 12 месяцев после ЛКП (КИ) количество эпителиоцитов поверхностных / базальных в основной группе превысило контроль в $1,9/2$ раз (в $1,9$ раз). Через 1,5 года после операции ЛКП (КИ) в $1,7 / 1,5$ раз (в $1,8$ раз) соответственно. Достоверность средних значений у пациентов исследуемых групп по отношению к контролю (в периоды наблюдения с 1 по 18 месяцы, $p<0,001$). В период 24 месяца после операции различия не достоверны, $p >0,05$.

Через месяц после операции ЛКП (КИ) степень прозрачности роговицы превысила контроль в $1,5(1,6)$ раз. Через 6 – 12 месяцев наблюдения после ЛКП (КИ) в $2,2 (2,1 – 1,8)$ раз. Через 1,5 года после ЛКП (КИ) в $1,6$ раз, $p<0,001$. Через 2 года после операции различия не достоверны, $p >0,05$.

Неоваскуляризация роговой оболочки через месяц после ЛКП (КИ) уменьшилась по отношению к контролю в $2,3(3,3)$ раза соответственно. Через 6 месяцев в $4,3 (6,5)$ раз. Через 12 месяцев в $4,5 (6,8)$ раз. Через 1,5 года после ЛКП (КИ) в $2,6 (3,2)$ раза, $p<0,001$. Через 2 года после операции различия не достоверны, $p >0,05$.

Была отмечена оптимизация функциональных характеристик роговой оболочки, таких как чувствительность и стабильность слёзной плёнки.

Через месяц после операции ЛКП (КИ) чувствительность роговицы у исследуемых возросла по сравнению с контролем в $1,6; 1,3; 1,2$ раз (в $1,5;$

1,3; 1,1 раз) при альгезиметрии весом в 2,0мг; 10,0мг; 50,0мг соответственно). Через 6 месяцев в 2,2; 1,6; 1,5 раз (в 2,0; 1,6; 1,5 раз). Через год в 2,1; 1,7; 1,6 раз (в 2,2; 1,8; 1,6 раз) соответственно. Через 1,5 года в 1,6; 1,5; 1,4 (в 1,7; 1,4; 1,5 раз), $p < 0,001$. Через 2 года после операции различия не достоверны, $p > 0,05$.

Через месяц после ЛКП (КИ) стабильность слёзной плёнки у исследуемых превысила контроль в 2,6 (2,3) раз. Через 6 месяцев в 4,2 (3,9) раз. Через год в 4,1(3,7) раз. Через 1,5 года после ЛКП (КИ) у исследуемых наблюдалась разница в показателях стабильности слёзной плёнки в 3,4 (3,1) раз, $p < 0,001$. Через 2 года после операции различия не достоверны, $p > 0,05$.

Показатели остроты зрения у пациентов в динамике отображены на рисунке 1.

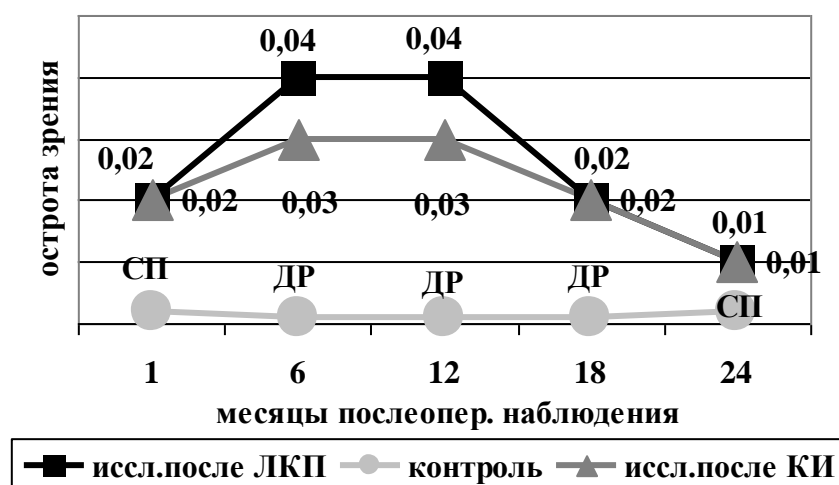


Рис. 1. Динамика остроты зрения после лимбокератопломбирования, конъюнктивальной иммобилизации аутологичных клеток лимба и в контрольной группе у пациентов со стромальным метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью.

Примечание: различия в средних показателях исследуемых групп при сравнении с контролем достоверны в периодах с 1 по 18 месяцы наблюдения, $p < 0,01$. Различия не достоверны через 24 месяца наблюдения, $p > 0,05$.

Через месяц после операции ЛКП (КИ) у исследуемых острота зрения была равна 0,02. В группе контроля счёт пальцев у лица, $p < 0,01$.

Через 6 – 12 месяцев после операции ЛКП (КИ) в группе исследуемых острота зрения была равна 0,04(0,03), в группе контроля движение руки у лица, $p < 0,01$. Через 1,5 года после ЛКП (КИ) в группе исследуемых острота зрения составила 0,02; в группе контроля движение руки у лица, $p < 0,01$. Через 2 года после ЛКП (КИ) в группе исследуемых острота зрения равна 0,01; в группе контроля счёт пальцев у лица, различия не достоверны, $p > 0,05$.

Частота рецидивов. У пациентов со стромальным метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью, после лимбокератопломбирования аутологичных клеток лимба частота рецидивов составила $3,0 \pm 0,2$ раза в год, после конъюнктивальной иммобилизации $3,4 \pm 0,2$ раз в год. В группе контроля частота рецидивов по-прежнему оставалась на высоком уровне до $9,1 \pm 0,2$ раз в год, различия между контролем и исследуемыми достоверны, $p < 0,0001$. Данные представлены на рисунке 2.

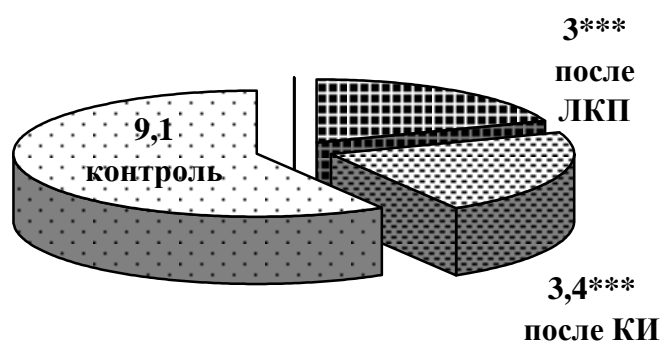


Рис.2. Частота рецидивов у пациентов со стромальным метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью, после лимбокератопломбирования и конъюнктивальной иммобилизации аутологичных клеток лимба.

Примечание: *** - достоверность различий средних значений исследуемых групп по отношению к среднему значению в контрольной группе.

Выводы.

1. Лимбокератопломбирование (конъюнктивальная иммобилизация) аутологичных клеток лимба у пациентов с метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью увеличивают количество поверх-

ностных и базальных эпителиоцитов роговой оболочки в 1,3 – 1,9 раза, повышают прозрачность роговицы в 1,5 – 2,2 раза и снижают неоваскуляризацию (до 0,4 балла). Зафиксированы нормализация стабильности слёзной плёнки и повышение чувствительности роговой оболочки в 1, 2 – 1,6 раз. Все указанные изменения ведут к повышению остроты зрения на 10 – 25%.

2. Операция по пересадке аутолимбальных клеток методами лимбокератопломбирования и конъюнктивальной иммобилизации у пациентов с стромальным метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью, сокращает количество рецидивов герпетического кератита в 2,7 – 3 раза.

3. Лимбокератопломбирование и конъюнктивальная иммобилизация аутологичных клеток лимба у больных стромальным метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью, компенсируют лимбальную недостаточность на 1,5 – 2 года.

Литература.

1. Вит В.В. Строение зрительной системы человека. Одесса: «Астропринт», 2003. – 475с.

2. Исаков В.А. Лабораторная диагностика герпесвирусных инфекций / Исаков В.А., Борисова В.В. // Неизвестная эпидемия: герпес. – Смоленск, 1997. – 31с.

3. Лазерная сканирующая томография глаза :передний и задний сегмент. Азнабаев Б.М. – М.: Август Борг, 2008. – 51с.

4. Ситник Г.В. Современные клеточные биотехнологии в офтальмологии. Амниотическая мембрана как субстрат для культивирования стволовых эпителиальных клеток // Белор. Мед. Журнал. – 2005. - № 3. – С.13 – 16.

5. Стволовые клетки и перспективы их применения в офтальмологии: материалы научно – практической конференции [«Регенеративная медицина и трансплантация тканей в офтальмологии»], (Москва, 16 – 17 марта 2005 г.) / М-во здравоохранения и соц. развития Российской Федерации, Моск. науч. – иссл. ин-т им. Гельмгольца, 2005. – С. 2 – 5.

6. Сулайман А. Новые терапевтические аспекты заболеваний роговицы, характеризующиеся поверхностными дефектами: Автореф. дисс. канд. мед. н. - Кишинёв, 2008. – 21 с.

7. Chen J. J. Abnormal corneal epithelial wound healing in partial-thickness removal of limbal epithelium. / Chen J. J., Tseng S. C. // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 1991. – Vol. 32. – P. 2219–2233.

Аутолімбальна трансплантація в лікуванні стромальних метагерпетичних кератитів, ускладнених лімбальною недостатністю.

Є.М.Ільїна

Харківський національний медичний університет

Ключові слова: рецидивуючий герпетичний кератит, лімбальна недостатність, аутолімбальна трансплантація.

Резюме. Проведена пересадка аутологічних клітин лімба у 14 хворих на стромальний метагерпетичний кератит, ускладнений лімбальною недостатністю. Було розроблено 2 методи фіксації аутоотрансплантата: лімбокератопломбування – субепітеліально, у лімбальну кишеню, сформовану в меридіані рогівкового ураження; кон'юнктивальна імобілізація – на область лімба ураженого ока з кон'юнктивальним покриттям. Операція дозволила знизити кількість рецидивів герпетичного кератита у 2,7 – 3 рази та компенсувати лімбальну недостатність строком на 1,5 – 2 роки.

Аутолимбальная трансплантация в лечении стромальных метагерпетических кератитов, осложнённых лимбальной недостаточностью.

Е.Н. Ильина

Харьковский национальный медицинский университет

Ключевые слова: рецидивирующий герпетический кератит, лимбальная недостаточность, аутолимбальная трансплантация.

Произведена пересадка аутологичных клеток лимба у 14 больных стромальным метагерпетическим кератитом, осложнённым лимбальной недостаточностью. Разработаны 2 метода фиксации аутотрансплантата: лимбокератопломбирование – субэпителиально, в лимбальный карман, сформированный в меридиане роговичного повреждения; конъюнктивальная иммобилизация – на область лимба повреждённого глаза с покрытием аутоконъюнктивой. Операция позволила сократить количество рецидивов герпетического кератита в 2,7 – 3 раза и компенсировать лимбальную недостаточность на 1,5 – 2 года.

Autolimbal transplantation in the treatment of the stromal herpetic keratitis with the stem cells defficiency.

Ilyina Y.N.

Kharkiv national medical university

Key words: the recurrence herpetic keratitis, the stem cells defficiency, the autolimbal transplantation.

Summary. The study was performed on 14 patients with the recurrence stromal herpetic keratitis and the stem cell defficiency. The 7 patients received the autologous stem cells transplantation from the healthy eye on the limbus of injuring eye with autoconjunctive covering, and the last 7 patients received the autologous stem cells in the pocket, formed between the limbal tissue and corneal tissue. This surgical treatment allows to compensate the limbal stem cell defficiency on 1,5 – 2 years and reduce the number of relapses of herpetic keratitis in 2,7 – 3 times.