

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИНАМИКИ РЕГЕНЕРАЦИИ РОГОВИЦЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНФИЦИРОВАННОЙ ТРАВМЫ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ

Д.М. Ярмамедов¹, М.А. Затолокина², В.А. Липатов³, М.В. Медведева¹, А.И. Бежин³

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, ¹кафедра офтальмологии;
²кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии;
³кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии

Актуальной проблемой в современной офтальмологии является большое количество инфицированных травматических поражений роговицы. Данное исследование было проведено на 90 половозрелых кроликах-самцах породы шиншилла, из которых были сформированы 3 экспериментальные группы по 30 животных (60 глаз) в каждой группе. С целью изучения структурных изменений глаза у кроликов проводилось морфологическое исследование. По результатам исследования было выявлено, что использование антибактериальных полимерных мембран при применении их после инфицированной травмы роговицы позволяет добиться наиболее быстрого восстановления (на 5-е сутки) морфологических параметров роговицы до нормальных значений. При использовании стандартной схемы антибактериальной терапии полное восстановление роговицы наступает на 7-е сутки.

Ключевые слова: офтальмология, гистология, травма роговицы, регенерация роговицы, антибактериальная терапия.

DOI 10.19163/1994-9480-2018-4(68)-73-76

MORPHOLOGICAL ASPECTS OF THE DYNAMICS OF REGENERATION CORNEA IN TREATMENT OF INFECTED INJURIES OF VARYING METHODS

D.M. Yarmamedov¹, M.A. Zatolokina², V.A. Lipatov³, M.V. Medvedeva¹, A.I. Bezhin³

FSBEI HE «Kursk State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation,
¹department of ophthalmology; ²department of histology, embryology, cytology;
³department of operative surgery and topographic anatomy

An actual problem in modern ophthalmology is the large number of infected traumatic lesions of the cornea. The study was carried out on 90 mature rabbits of the chinchilla breed, of which experimental groups were formed, included 30 animals (60 eyes) in each group. In order to study the structural changes in the eyes, a morphological study was performed in rabbits. According to the results of the study, it was found that the use of antibacterial polymer membranes when used after an infected trauma can be achieved by rapid restoration (on day 5) of the morphological parameters of the cornea to normal values. With the use of standard antibiotic regimens, complete restoration of the cornea occurs on day 7.

Key words: ophthalmology, histology, cornea trauma, cornea regeneration, antibacterial therapy.

В настоящее время большое количество травм роговицы происходит в бытовых условиях, вследствие различных факторов [1, 4]. Эрозии роговицы склонны к бактериальному обсеменению, что при отсутствии соответствующего лечения грозит образованием язв роговицы, бельма, перфораций роговицы и др. [5]. Современная антибактериальная терапия должна не только способствовать наиболее быстрой регенерации роговицы, препятствовать развитию осложнений, но и выпускаться в лекарственной форме, удобной для применения среди различных возрастных групп пациентов [3]. Одним из перспективных способов лечения инфицированных травматических поражений роговицы является использование антибактериальных полимерных мембран с иммуномодулирующим эффектом [2].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

В сравнительном аспекте изучить темпы регенерации роговицы после инфицированного травмирования с использованием различных способов лечения.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на 90 половозрелых кроликах породы шиншилла, из которых были сформированы три экспериментальные группы, в которые входили самцы весом 3000–3500 г. по 30 животных (30 пар глаз 60 глаз) в каждой группе. В контрольной группе лечение не проводилось, в группе сравнения – стандартная терапия, которая состоит в инсталлировании левофлоксацина 0,5%-го 4 раза в сутки, в экспериментальной группе лечение проводилось с использованием антибактериальных полимерных мембран с иммуномодулирующим эффектом на основе Натрий карбоксиметил-целлюлозы, в состав которых внесен левофлоксацин и препарат «Полудан» (комплекс полиадениловой и полиуридилевой кислот 100 ЕД.). После двукратной инсталляции инокаина 0,4%-го у животных проводилась аппликация на роговицу диска фильтровальной бумаги диаметром 10 мм, пропитанного 20%-м раствором этилового спирта, на 15–20 с. Затем при помощи пипетки в область конъюнктивального мешка вносилась взвесь

микроорганизмов в количестве 1 млн колоний *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Морфологическое исследование проводилось на следующих сроках: непосредственно после травмирования роговицы, через 1 ч, 1 сут., 2 сут., 3 сут., 5 сут., 7 сут. с момента введения животного в опыт. При морфологическом изучении проводилось измерение толщины роговицы и стромы роговицы. Исследована толщина многоядерного наружного эпителия, эндотелия и десцеметовой мембраны. Подсчитано количество клеток и измерена площадь их ядер в базальном, шиповатом и плоском слоях наружного эпителия и эндотелии роговицы. Полученный биоматериал фиксировали в 10%-м нейтральном растворе формалина. По стандартной методике проводили срезы с различных участков переднего отдела каждого глазного яблока, которые окрашивали гематоксилин-эозином. Изучение микропрепаратов приводили с помощью светового лабораторного микроскопа Levenhuk D320L на увеличениях $\times 80$ и $\times 320$.

Все исследования с лабораторными животными проводились в соответствии с конвенцией «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных целях», принятой Советом Европы (г. Страсбург, Франция 1986 г.), и директивой Совета 86/609/еес от 24.11.86. Статистическая обработка данных проводилась методом доверительных интервалов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уменьшение толщины роговицы было выявлено через 1 сут. после травмирования и инфицирования, при этом также снизилась толщина стромы. Значения в группах с лечением достоверно выше значений в контрольной группе (рис. 1). На вторые сутки выявлена динамика утолщения роговицы, схожая динамика выявлена в изменениях стромы. На третьи сутки эксперимента толщина роговицы в группе с лечением антибак-

териальными каплями составила – $(305,29 \pm 26,546)$ мкм, а в группе с лечением антибактериальными мембранами – $(329,33 \pm 28,637)$ мкм, что статистически достоверно отличается от контрольной группы без лечения, в которой показатель составил $(285,71 \pm 24,844)$ мкм.

Таким образом, непосредственно после травмирования и инфицирования роговицы был выявлен отек, который сменился дистрофией роговицы на 1-е сутки наблюдения. Применение антибактериальных мембран способствует ускорению возвращения толщины роговицы к показателям нормального глаза. Изменения в толщине роговицы вследствие травмирования и инфицирования раны происходят, главным образом, за счет изменения толщины стромы. Дальнейший процесс регенерации вне зависимости от способа лечения влияет на восстановление толщины стромы роговицы.

Непосредственно после нанесения травмы и введения 1 млрд *Staphylococcus aureus* выявлено увеличение толщины наружного эпителия на 14,45 % во всех экспериментальных группах по сравнению с нормальным эпителием. При исследовании через час было выявлено увеличение толщины наружного многослойного неороговевающего эпителия на 29,51 % во всех 3 группах. На 1-е сутки наблюдения было выявлено уменьшение толщины эпителия на 2,23 мкм в 1-й группе, на 1,95 мкм в группе с традиционным лечением и на 2,39 мкм в группе с лечением антибактериальными мембранами (рис. 2). Через 2-е суток после начала эксперимента сохраняется тенденция уменьшения толщины, так, в контрольной группе показатель уменьшился на 6,1 %, в группе с классическим лечением на 9,47 %, а в группе с экспериментальным лечением на 11,83 %.

На 3-и сутки наблюдения в контрольной группе толщина составила $(24,38 \pm 2,120)$ мкм, в группе с лечением антибактериальными каплями – $(21,09 \pm 1,834)$ мкм, а в группе с лечением антибактериальными мембранами была наиболее низкой – $(20,37 \pm 1,771)$ мкм. На 5-е сутки

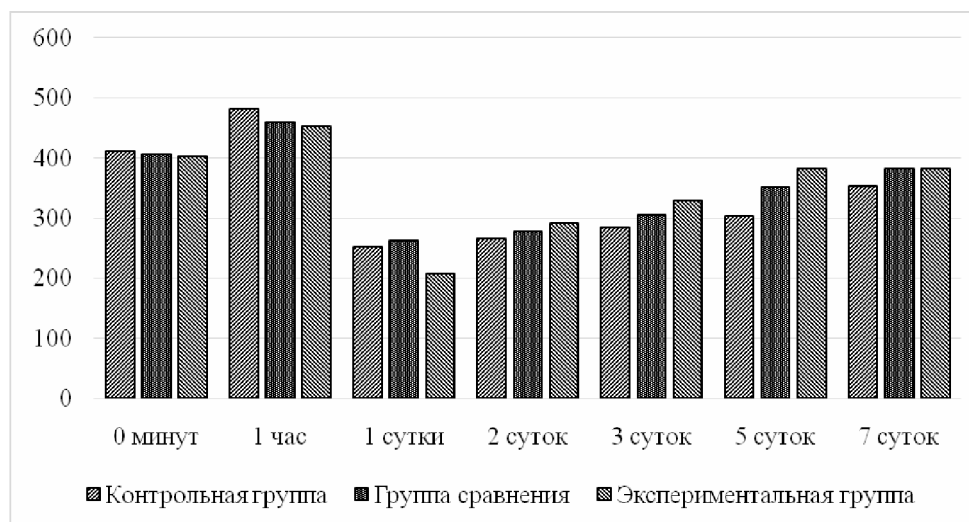
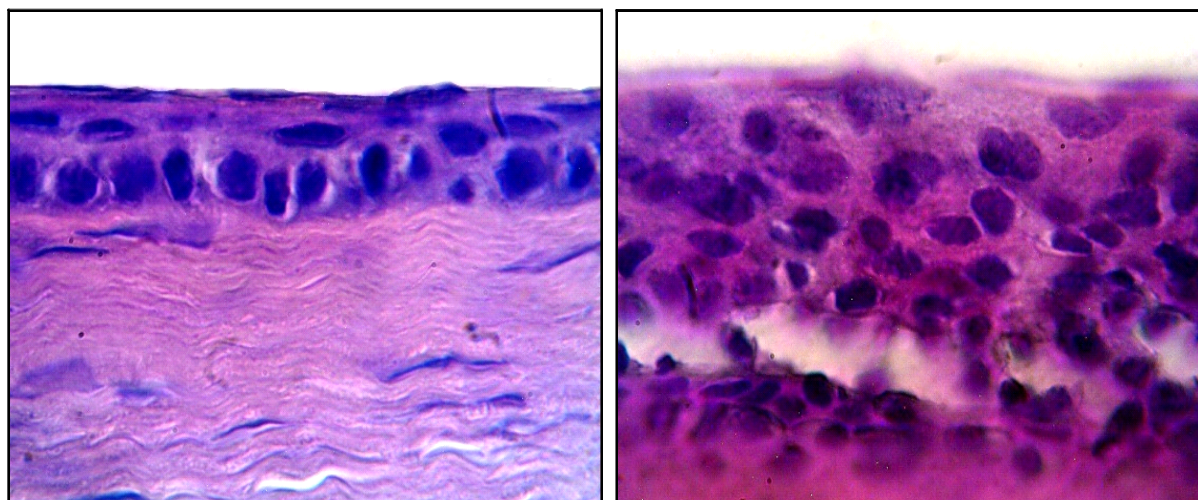


Рис. 1. Динамика изменения толщины роговицы при лечении инфицированной травмы роговицы с использованием различных способов лечения, мкм



А

Б

Рис. 2. А – нормальное строение поверхностного эпителия роговицы кролика. Микрофото.

Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 800$. Хорошо визуализируются слои переднего эпителия: базальный, шиповатый и плоский, расположенные на базальной мембране. Строма роговицы образована соединительной тканью.

Б – выраженная клеточная пролиферация в контрольной группе на 1-е сутки наблюдения. Микрофото.

Окраска гематоксилин-эозином. Ув. $\times 800$

наблюдения была зафиксирована нормализация параметра как в группе с экспериментальным лечением – $(17,74 \pm 1,542)$ мкм, так и в группе с традиционным лечением – $(18,22 \pm 1,584)$ мкм, в контрольной группе толщина наружного эпителия роговицы составила $(21,87 \pm 1,902)$ мкм. На 7-е сутки выявлена нормализация толщины наружного неороговевающего эпителия во всех экспериментальных группах. Было выявлено, что толщина эндотелия роговицы кролика в норме составляет $(2,31 \pm 0,200)$ мкм, при этом не выявлено статистически значимых отличий на всех сроках при различных способах лечения. Таким образом, эндотелий роговицы не подвергается воздействию при травматическом инфицированном поражении наружного эпителия и стромы роговицы. При исследовании толщины десцеметовой мембраны роговицы кролика было выявлено, что в глазах без какого-либо воздействия она составляет $(2,19 \pm 0,190)$ мкм, что достоверно не отличается от всех 3 экспериментальных групп. Было подсчитано количество клеток в базальном, шиповатом и плоском слоях наружного эпителия роговицы. Непосредственно после инфицированного травматического повреждения количество клеток в базальном, шиповатом, плоском слоях наружного эпителия роговицы во всех трех группах не имело статистически значимых отличий. Спустя 1 час наблюдения было выявлено увеличение количества клеток в базальном слое эпителия на 6,63 % в контрольной группе, аналогичная динамика была выявлена во 2-й и 3-й экспериментальных группах. Количество клеток в переходном слое поверхностного эпителия увеличилось на 9,07 % в контрольной группе. При этом количество клеток в плоском слое поверхностного эпителия осталось на прежнем уровне. Статистически значимых отличий выявлено не было.

Через сутки от начала эксперимента количество клеток в базальном слое в поле зрения в контрольной группе составило $20,5 \pm 1,225$, в группе с лечением антибактериальными каплями – $20,53 \pm 1,252$, в группе с лечением антимикробными полимерными мембранами – $20,7 \pm 1,264$. В переходном слое также выявлено увеличение количества клеток. Наиболее выраженное увеличение наблюдалось в 3-й экспериментальной группе – $15 \pm 0,587$. Количество клеток в плоском слое наружного эпителия роговицы увеличилось, показатель несколько выше, чем в других группах, был зафиксирован в группе с лечением антимикробными полимерными мембранами – $6,17 \pm 0,950$. На вторые сутки наблюдения также прослеживалась динамика увеличения количества клеток всех трех слоев поверхностного эпителия роговицы в 3 экспериментальных группах. На 5-е сутки наблюдения количество клеток во всех трех слоях нормализовалось в экспериментальной группе с лечением антимикробными мембранами, в остальных экспериментальных группах количество клеток было повышенным. На 7-е сутки эксперимента показатели нормы достигла экспериментальная группа с лечением по стандартной методике. При анализе площади ядер клеток эндотелия роговицы было выявлено, что статистически значимые отличия отсутствуют во всех 3 экспериментальных группах на всех сроках по сравнению с нормальным глазом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование антибактериальных полимерных мембран при применении их после инфицированной травмы роговицы позволяет добиться наиболее быстрого восстановления (на 5-е сутки) морфологических параметров роговицы до нормальных значений. При использовании

стандартной схемы антибактериальной терапии полное восстановление роговицы наступает на 7-е сутки. В экспериментальной группе без применения антибактериального лечения процесс склонен к самоограничению, но полная регенерация эпителия не наступает.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов В.И., Медведева М.В., Липатов В.А., Новикова А.А., Ярмамедов Д.М. Современные аспекты в лечении инфекционных заболеваний переднего отрезка глаза (обзор литературы) // Электронный научный журнал «Innova». – 2016. – № 2 (3). – С. 60–63.
2. Фокин В.П., Солодкова Е.Г., Балалин С.В., Загребин В.Л. Насыщение роговицы рибофлавином при проведении кросслинкинга роговичного коллагена // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2017. – № 1 (61). – С. 87–91.
3. Chang V.S., Dhaliwal D.K., Raju L., Kowalski R.P. Antibiotic resistance in the treatment of staphylococcus aureus keratitis: a 20-Year Review // Cornea. – 2015. – № 34 (6). – P. 698–703. doi: 10.1097/ICO.0000000000000431.
4. Chen C.J., Huang Y.C. New epidemiology of Staphylococcus aureus infection in Asia // Clinical Microbiology and Infection. – 2014. – № 20 (7). – P. 605–623. doi: 10.1111/1469-0691.12705.
5. Deguchi H., Kitazawa K., Kayukawa K. et al. The trend of resistance to antibiotics for ocular infection of Staphylococcus aureus, coagulase-negative staphylococci, and Corynebacterium compared with 10-years previous: A retrospective observational study // PLOS ONE. – 2018. – № 13 (9). doi: 10.1371/journal.pone.0203705.
6. Flaxman S.R., Bourne R.R.A., Resnikoff S. et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis // The Lancet Global Health. – 2017. – № 5 (12). – P. 1221–1234. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30393-5.
7. Hiramatsu K., Ito T., Tsubakishita S. et al. Genomic Basis for Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus // Infection & Chemotherapy. – 2013. – № 45 (2). – P. 117–36. doi: 10.3947/ic.2013.45.2.117.
8. Vos T., Abajobir A.A., Abate K.H. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 // Lancet. – 2017. – № 390 (10100). – P. 1211–1259. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32154-2.

REFERENCES

1. Baranov V.I., Medvedeva M.V., Lipatov V.A., Novikova A.A., Yarmamedov D.M. Sovremennye aspekty v lechenii infekcionnyh zabolevanij perednego otrezka glaza (obzor literatury) [Modern aspects in the treatment of infectious diseases of the anterior segment of the eye (review of the literature)] // *Ehlektronnyj nauchnyj zhurnal «Innova»* [Electronic scientific journal «Innova»], 2016, no. 2 (3), pp. 60–63. (In Russ.; abstr. in Engl.).
2. Fokin V.P., Solodkova E.G., Balalin S.V., Zagrebin V.L. Nasyshchenie rogovicy riboflavinom pri provedenii krosslinkinga rogovichnogo kollagena [Riboflavin cornea saturation during corneal collagen crosslinking]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Volgograd State Medical University], 2017, no. 1 (61), pp. 87–91. (In Russ.; abstr. in Engl.).
3. Chang V.S., Dhaliwal D.K., Raju L., Kowalski R.P. Antibiotic resistance in the treatment of staphylococcus aureus keratitis: a 20-Year Review. *Cornea*, 2015, no. 34 (6), pp. 698–703. doi: 10.1097/ICO.0000000000000431.
4. Chen C.J., Huang Y.C. New epidemiology of Staphylococcus aureus infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014, no. 20 (7), pp. 605–623. doi: 10.1111/1469-0691.12705.
5. Deguchi H., Kitazawa K., Kayukawa K. et al. The trend of resistance to antibiotics for ocular infection of Staphylococcus aureus, coagulase-negative staphylococci, and Corynebacterium compared with 10-years previous: A retrospective observational study. *PLOS ONE*, 2018, no. 13 (9). doi: 10.1371/journal.pone.0203705.
6. Flaxman S.R., Bourne R.R.A., Resnikoff S. et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*, 2017, no. 5 (12), pp. 1221–1234. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30393-5.
7. Hiramatsu K., Ito T., Tsubakishita S. et al. Genomic Basis for Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus. *Infection & Chemotherapy*, 2013, no. 45 (2), pp. 117–36. doi: 10.3947/ic.2013.45.2.117.
8. Vos T., Abajobir A.A., Abate K.H. et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 2017, no. 390 (10100), pp. 1211–1259. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32154-2.

Контактная информация

Ярмамедов Дмитрий Муталифович – ассистент кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет, e-mail: d-yarmamedov@yandex.ru