

УДК 617.711–089.843:621.791.7–092.9

Вплив високочастотного електрозварювання та шовної фіксації тканин кон'юнктиви на післяопераційний процес при фіксуванні лімбально-кон'юнктивального аутотрансплантата після видалення експериментального птеригіуму

Е. В. Мальцев, д-р мед. наук., проф., В. Я. Усов, д-р мед. наук., Н. Ю. Крицун, асп.

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім.

В. П. Філатова АМН України»; Одеса (Україна)

E-mail: Natalya1979@ukr.net

Ключові слова: птеригіум, шви, електрозварювання, аутотрансплантат.

Ключевые слова: птеригиум, швы, электросварка, аутотрансплантат.

Цель исследования: выявить гистологические особенности лимбально-роговичной зоны у экспериментальных животных в разные периоды эксперимента, при фиксации лимбально-конъюнктивального аутотрансплантата с помощью высокочастотной электросварки или швов после удаления моделированного дегенеративно-пролиферативного процесса, связанного с нарастанием конъюнктивы на роговицу, максимально приближенного к клиническим проявлениям птеригиума.

Результаты: в эксперименте на 20 глазах 10 кроликов породы шиншилла изучены патоморфологические особенности влияния фиксации аутотрансплантата с помощью высокочастотной электросварки биологических тканей конъюнктивы в сравнении с шовной фиксацией. Установлено, что электросваривание сокращает время операции, уменьшает отек и васкуляризацию тканей травмированной зоны.

Usage of high-frequency electric stream in fixation of limbal-conjunctival autotransplant after removal of pterygium (experimental study)

E. V. Maltsev, V. Ya. Usov, N. Yu. Krytsun

State Institution The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the NAMS of Ukraine; Odessa, (Ukraine)

Key words: pterygium, joints, electric welding, autograft.

Objective: to identify histological features of limbal-corneal zone in experimental animals at different periods of the experiment, when fixating limbal conjunctival autograft, with use of a high-frequency electric welding or sutures after the removal of the simulated degenerative and proliferative process associated with the growth of the conjunctiva on the cornea most similar to the clinical manifestations of pterygium.

Results: In an experiment on 20 eyes of 10 chinchilla rabbits there were studied pathological features of influence of graft fixation using a high-frequency electric welding of biological tissues of the conjunctiva compared to suture fixation. It was established that electric welding shortens operation time, swelling of tissues and vascularization of injury zone.

Вступ. За даними більшості авторів, лікування птеригіуму зводиться до його хірургічного видалення [2, 3, 9, 11]. Спосіб оперативного втручання повинен визначатись в залежності від ступеня птеригіуму (протяжності наростання на рогівку). Метою хірургічного втручання є повне видалення голівки, ший та тіла птеригіуму.

Не дивлячись на ретельно розроблену техніку різних операцій, жодна з них на 100 % не виключає післяопераційних ускладнень, а саме — неповноцінної адаптації кон'юнктиви на місці видаленого птеригіуму, розвитку післяопераційного астигматизму та розвитку так званого рецидивуючого птеригіуму [2, 3, 7]. Рецидив птеригіуму настає зазвичай протягом першого року після операції, частіше

в перші 6 місяців. Рецидивування, за даними різних авторів, виникає більш ніж в 40–70 % випадків [9, 11]. В підтвердження цьому в закордонній літературі зустрічаються статті про порівняльне дослідження операцій по видаленню птеригіуму за різними сучасними методиками, які не тільки не виключають рецидивування птеригіуму, а й приблизно вказують його час [5].

В 1985 році був запропонований кон'юнктивальний аутотрансплантат. Він поступово став популярним у лікуванні птеригіуму. Покривання «голої» склери за допомогою використання ауто-

логічної кон'юнктивальної тканини виконується первинним закриттям за допомогою зміщеного кон'юнктивального клаптя, який переміщується, чи за допомогою вільного кон'юнктивального аутотрансплантата. Вільний трансплантат звичайно забирається із верхньої бульбарної кон'юнктиви та пришивається, або переважніше, приклеюється до дефекту голої склери після видалення птеригіуму. Переміщений та вільний трансплантати є однаково ефективними. Кон'юнктивальний аутотрансплантат більш безпечний і ефективний, ніж радіо- чи хіміотерапія, оскільки він не викликає від будь-яких серйозних побічних ефектів [8, 10]. Відсотки рецидиву (до 39 %) по суті схожі до тих, які спостерігаються після використання Мітоміцину С чи бета-опромінення.

Враховуючи роль стовбурових клітин лімба в патогенезі первинного птеригіуму, багато авторів пропонують спосіб хірургічного лікування, що полягає в аутотрансплантації стовбурових клітин лімба — лімбально-кон'юнктивальну аутопластику. Автори відзначають, що лімбальна трансплантація забезпечує стійку нормальну епітелізацію рогики і може бути рекомендована як метод лікування первинного та рецидивуючого птеригіуму. У зарубіжних роботах також показано, що лімбально-кон'юнктивальна аутопластика вільним клаптом — безпечна і ефективна техніка лікування птеригіуму, яка знижує ризик рецидивування. При лімбально-кон'юнктивальній трансплантації відзначається менша частота рецидивів птеригіуму порівняно з видаленням птеригіуму по Арльту [5]. Але використання лімбально-кон'юнктивального аутотрансплантату технічно збільшує час операції. Крім того, головними недоліками аутотрансплантації є обмежена можливість забору тканин і додаткова травма, що наноситься хворому при цій маніпуляції [1].

Великий відсоток рецидивів змушує шукати нові й удосконалювати вже існуючі методики оперативного втручання [1]. На сьогоднішній день існує ще один спосіб з'єднання тканин — це метод високочастотного електрозварювання біологічних тканин (ВЕБТ), який у загальній хірургії здійснюється за допомогою серійного генератора струму високої частоти ЕК-300М1 та інструментів серійного виробництва [4]. Нами, спільно з інженерами Інституту електрозварювання ім. Е. О. Патона НАН України був розроблений оригінальний біполярний пінцет (з площею робочої поверхні 0,07 мм²), який ми успішно випробували на модифікованому апараті ЕК-300М1 для з'єднання країв хірургічної рани кон'юнктиви [4, 6].

Мета дослідження: виявити гістологічні особливості в лімбально-рогівковій зоні у експериментальних тварин в різні періоди експерименту після фіксації лімбально-кон'юнктивального аутотрансплантата за допомогою високочастотного електро-

зварювання біологічних тканин або швів після попереднього видалення модельованого птеригіуму.

Матеріал і методи

Експеримент проведений на 20 очках 10 кроликів породи шиншила масою 2,5–3,5 кг. На всіх очках після моделювання птеригіуму за запропонованим нами методом [Патент України № 78113, опублікований 11.03.2013р], експериментальний дегенеративно-проліферативний процес привів до наростання кон'юнктиви на рогику. Через 1 місяць, після видалення модельованого птеригіуму в цьому ж місці на «оголену» склеру був пересаджений вільний лімбально-кон'юнктивальний аутотрансплантат, який був фіксований двома способами — швами або електрозварюванням. Операції проводилися з використанням операційного мікроскопа і мікрохірургічного інструментарію під комбінованим наркозом (загальним тіопенталовим знеболенням і місцевою анестезією 0,5 % розчином Алкаїна). Очі кроликів були розділені на дві групи, в яких ліві очі склали дослідну групу, де вільний лімбально-кон'юнктивальний аутотрансплантат фіксувався за допомогою високочастотного електрозварювання, а праві — контрольну, де він був фіксований швами. Експериментальне моделювання проводили на базі віварію ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України». Спостереження і догляд, оперативне втручання на тваринах, а також виведення їх з експерименту виконувалися відповідно до міжнародних правил по роботі з досліджуваними тваринами.

Морфологічне дослідження очних яблук експериментальних тварин було проведено через 1 та 3 місяці після аутотрансплантації. Матеріал фіксували в 10 % розчині формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, обробляли в ксилолі, ущільнювали і заливали в парафін. З парафінових блоків робили зрізи товщиною (5±1) мкм, які фарбували гематоксилін-еозином або ставили гістохімічну ШИК-реакцію.

Вивчення препаратів проводилось на мікроскопі «Laboval 4, Carl Zeiss, Jena», а їх мікрофотографування — за допомогою цифрової фотокамери «Canon Power Shot A480» з використанням зумування, на малюнках вказані відповідні збільшення (об'єкти та окуляр).

Результати та їх обговорення

Через 1 місяць після операції з фіксацією аутотрансплантата швами строма рогики має звичайну будову, епітелізована багатопшаровим плоским епітелієм. На неоперованій стороні чітко візуалізуються пігментовані епітеліальні клітини, які позначають зону лімба (цей признак характерний для пігментованих кроликів, до яких відносяться і кролики породи шиншила).

При цьому зі сторони, де проводилась операція, таких пігментованих клітин інколи не спостерігається (вони були видалені під час операції). Епітелій цієї ділянки рогики диференційований до плоских клітин.

Трансплантована тканина кон'юнктиви масивно васкуляризована і набрякла, серед клітин переважають фіброласти і інколи зустрічаються клітини лімфоїдного ряду. Між кон'юнктивальним епітелієм та нижче розташованою рихлою сполучною тка-

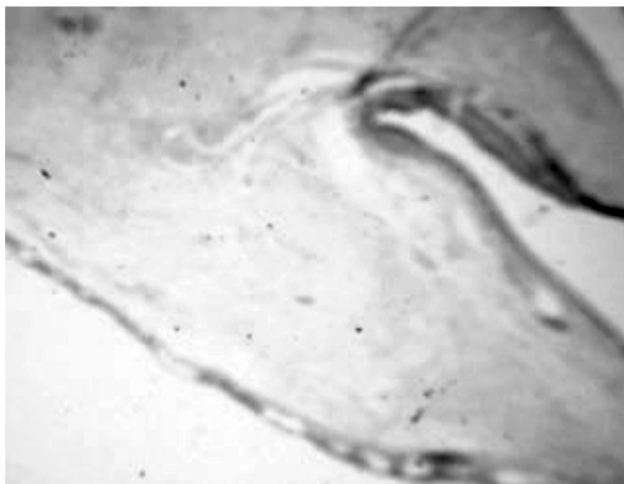


Рис. 1. Трансплантат в лімбальній області рогівки фіксований швами — 1 місяць після операції — набряклий васкуляризований, містить невелику кількість клітинних елементів. Фарбування гематоксиліном еозином. Об. 3,2. Ок. 7 Рис.

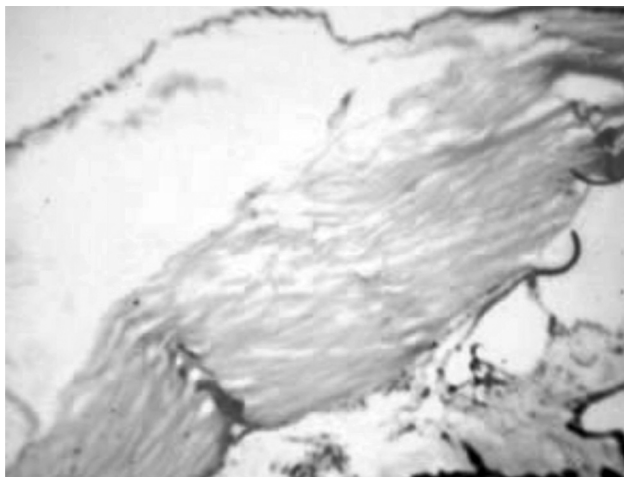


Рис. 2. ШИК-реакція, в трансплантаті кон'юнктиви позитивний матеріал майже відсутній, виключаючи епітелій і, особливо, келихоподібні клітини у ньому. Фіксація швами, 1 місяць після операції. ШИК-реакція. Об. 3,2. Ок. 16

ниною зустрічаються набрякові порожнини овальної або витягнутої форми (рис.1). ШИК — реакція в ділянці трансплантату дуже слабка, за виключенням келихоподібних клітин, які добре контрастуються в співставленні з рогівкою (рис. 2).

Через 1 місяць після оперативного втручання на очах кроликів з фіксацією трансплантату методом електрозварювання кон'юнктиви встановлено, що трансплантат без ознак набрякості, але спостерігається його васкуляризація. Серед неправильно розташованих волокнистих структур кон'юнктиви розміщуються фіброцити (фібробласти) та поодинокі клітини лімфоцитарного ряду. Епітелій, який вкриває трансплантат, має ознаки акантозу та має невелику кількість плоских поверхневих

клітин і майже позбавлений грушеподібних клітин, які зустрічаються по периферії трансплантата, оберненого до склери (рис. 3). У тому випадку, коли трансплантат кон'юнктиви розташовується своїм краєм поверх краю тканини рогівки, вкритої її переднім епітелієм, внаслідок трансформації кон'юнктивального епітелію трансплантата, плоскі епітеліальні клітини розміщуються як в поверхневих шарах епітелію рогівки, так і на самому трансплантаті. Можливо, це явище відображає трансдиференціацію кон'юнктивального епітелію (рис. 4).

Що стосується власної речовини рогівки лімбальної зони, то вона васкуляризована як в поверхневих його шарах, так і в глибоких. Якщо трансплантат чітко стикається з тканиною рогівки, то можна побачити, як кон'юнктивальний епітелій звичайної будови переходить в передній епітелій рогівки (рис. 5).

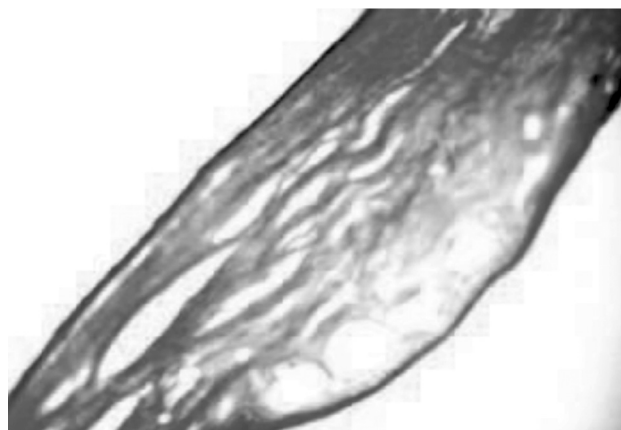


Рис. 3. Відсутність ШИК- позитивного матеріалу в трансплантаті, виключаючи епітелій і, особливо, келихоподібні клітини у ньому. Фіксація електрозварюванням, 1 місяць після операції. ШИК-реакція. Об. 10. Ок. 7

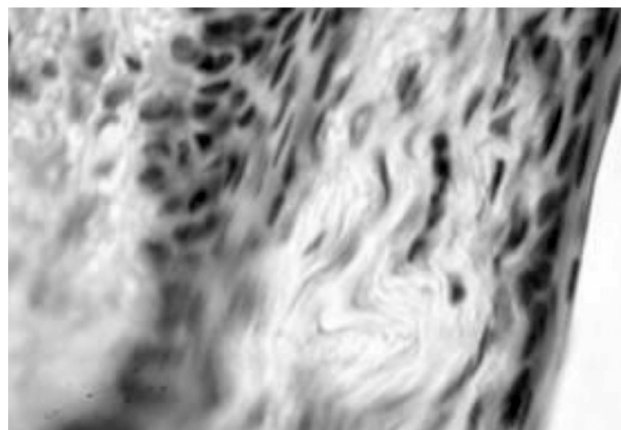


Рис. 4. Край трансплантата вкритий епітелієм з плоскими поверхневими клітинами розташований поверх переднього епітелія рогівки, який має поверхневі плоскі клітини. Фіксація електрозварюванням, 1 місяць після операції. Фарбування гематоксиліном — еозином. Об.40. Ок. 16

ступається келихоподібним клітинам. Райдужка без ознак запалення.

Що стосується тих очей, на яких трансплантат кон'юнктиви фіксувався шляхом ВЕБТ, то через 3 місяці після операції у зрізах все ж він чітко визначається. Він прилягає до рогівки, набряклість його не виражена, в його сполучнотканинній основі визначаються мілкі судини, а поверхня епітелізована кон'юнктивальним епітелієм зі значною кількістю келихоподібних клітин (рис. 9).

Останні особливо виділяються при виконанні на препаратах ШИК-реакції, в дуже незначній кількості, у порівнянні з трансплантатом, їх можна побачити на передньому епітелії рогівки. Це добре помітно на рис. 10. На цьому ж малюнку можна легко зауважити, що інтенсивність ШИК-реакції більш виражена у власній речовині рогівки у порівнянні зі сполучнотканинною основою трансплантата кон'юнктиви. Найменша її інтенсивність легко по-

мітна там, де тканина трансплантата переходить у власну речовину рогівки. Також ми бачимо присутність ШИК-позитивного матеріалу і в невеликих ділянках акантотичного занурення переднього епітелію рогівки в підлеглу до нього строму, причому у цих зануреннях відсутні келихоподібні клітини. На оглядових, тобто зафарбованих гематоксиліном-еозином препаратах, такі акантотичні тяжі в передньому епітелії рогівки помітні краще. Крім того, слід підкреслити, що мають місце ще два цікаві факти. По-перше, кров'яні судини з трансплантата кон'юнктиви слабо врастають (або зовсім не врастають) у прилеглу до нього рогівку, чого ми добиваємось, проводячи ауто трансплантацію при птеригіумі (рис. 11).

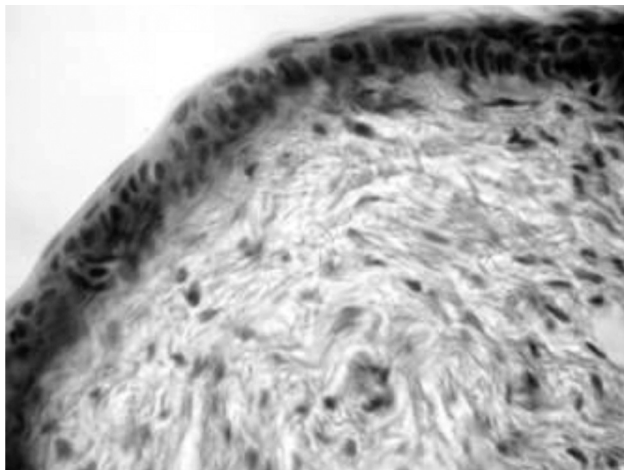


Рис. 8. Плоскі клітини в епітелії трансплантата кон'юнктиви через 3 місяці після операції. Фіксація швами. Фарбування гематоксиліном — еозином. Об. 40. Ок.7

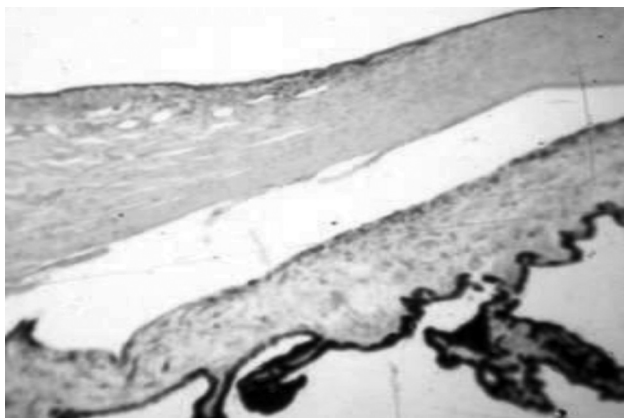


Рис. 9. Трансплантат кон'юнктиви біля рогівки. Фіксація електроваруванням. 3 місяці після операції. Фарбування гематоксиліном — еозином. Об. 3,2. Ок. 16

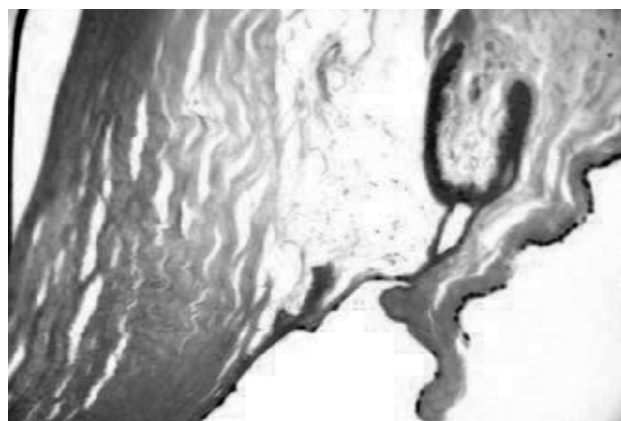


Рис. 10. Поодинокі келихоподібні клітини, які поширились в епітелій рогівки з епітелія трансплантата. Фіксація електроваруванням. 3 місяці після операції. ШИК-реакція. Об. 10. Ок. 16

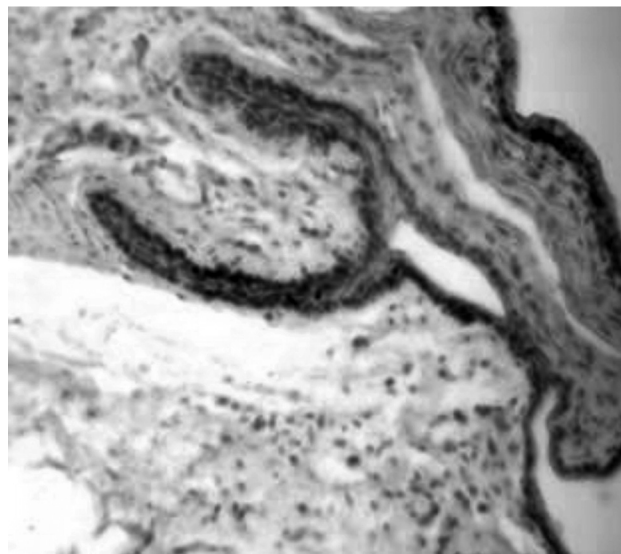


Рис. 11. Відсутність вrostання судин в строму рогівки, прилягаючу до трансплантату. Фіксація електроваруванням. 3 місяці після операції. Фарбування гематоксиліном — еозином. Об. 10. Ок. 16

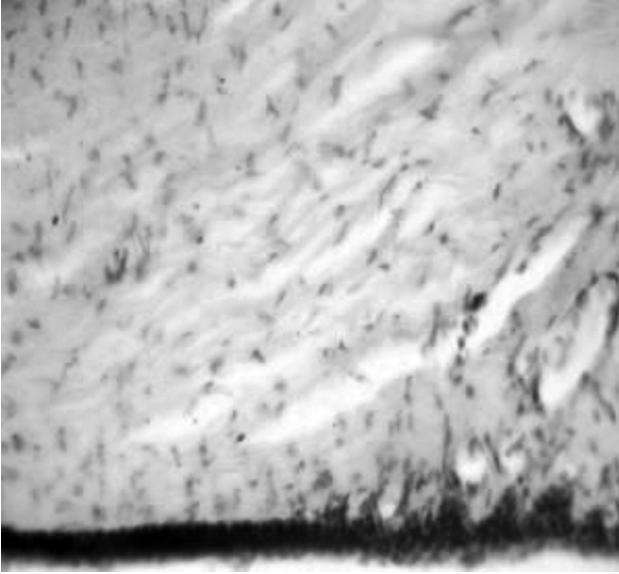


Рис. 12. Перехід кон'юнктивального епітелія, який утворює акантотичні вросання, в епітелій рогівки, який містить меланін (межа лімба і рогівки). Фіксація електрозварюванням. 3 місяці після операції. Фарбування гематоксилином — еозином. Об. 10. Ок. 16

По-друге, що також добре видно на цьому ж фото, меланінвмісні клітини, які відмежовують у не оперованого кролика перехід тканини рогівки в лімбальну зону, мігрували і розташувались переважно в базальних шарах переднього епітелію рогівки (диференційованого до плоских клітин) і переходячого в нього кон'юнктивального епітелію.

Література

1. **Бакбардина Л. М.** Периферическая барьерная кератопластика с биологической защитой тканевого ложа в лечении рецидивирующего пterygium // Офтальмол. журн. — 2004. — № 5. — С. 83–85.
2. **Бородин Ю. И.** Отдаленные результаты комбинированного лечения рецидивирующего пterygium / Ю. И. Бородин и др. // Офтальмология. — 2007. — Том 4, № 3. — С. 29–33.
3. **Веселовська З. Ф.** Метод мікрохірургічного лікування пterygium / З. Ф. Веселовська та ін. // Друга Міжнар. наук. конф. офтальмологів Причорномор'я 8–10 вересня 2004 р. — Одеса, 2004. — С. 18–19.
4. **Уманец Н. Н.** Влияние высокочастотной электросварки биологических тканей (модифицированный генератор ЭК-300М1) на длительность кровотечения из магистральных сосудов сетчатки при моделировании внутриглазного кровотечения у кроликов по сравнению с диатермокоагуляцией / Н. Н. Уманец. // Офтальмол. журн. — 2012. — № 4. — С. 88–91.
5. **Мальцев Е. В.** Сучасні методи лікування пterygium / Е. В. Мальцев, В. Я. Усов, Н. Ю. Крицун // Офтальмол. журн. — 2012. — № 3. — С. 72–80.
6. **Мальцев Е. В.** Визначення оптимальних параметрів електричного струму при використанні високо-частотного електрозварювання біологічних тканин для з'єднання країв хірургічної рани кон'юнктиви / Е. В. Мальцев, В. Я. Усов, Н. Ю. Крицун // Офтальмол. журн. — 2013. — № 3. — С. 78–82.
7. **Якименко С. А.** Хирургическое лечение упорно рецидивирующего пterygium / С. А. Якименко // Здоров'я Туркменистана. — 1983. — № 11(287). — С. 41–42.
8. **Gris O., Guell J. L., Campo Z.** Limbal-conjunctival autograph transplantation for the treatment of recurrent pterygium // Ophthalmology. — 2000. — Vol. 107. — P. 270–273.
9. **Isyaku M.** Treatment of pterygium // Annals African Medicine — 2011. — Vol. 10, No3 — P. 197–203.
10. **Wit D. D., Athanasiadis I., Sharma A., Moore J.** Sutureless and glue-free conjunctival auto graft in pterygium surgery: a case series // Eye. — 2010. — Vol. — 24. — P. 1474–1477.
11. **Ye J., Kook K. H., Yao K.** Temporary amniotic membrane patch for the treatment of primary pterygium: mechanism of reducing the recurrence rate // Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmology — 2006. — Vol. 244. — P. 583–588.

Поступила 17.09.2014

References

1. **Bakbardina LM** Peripheral barrier keratoplasty with biological shielding fabric bed in the treatment of recurrent pterygium. *Oftalmol Zh.* 2004; 5: 83–85. Ukrainian.
2. **Borodin YI** The long-term result of the combination treatment of recurrent pterygium. *Ophthalmology.* 2007; 4(3): 29–33. Russian.
3. **Veselovska ZF** The method of microsurgical treatment of pterygium. Second International Science. conf. *Ophthalmologists Black Sea.* 2004, 18–19. Ukrainian.
4. **Umanets NN** bleeding Effect of high-frequency electric welding of biological tissues (modified generator EK-300M1) for the duration of bleeding great vessels of the retina in the simulation of intraocular bleeding in rabbits compared with diathermocoagulation. *Oftalmol. Zh.* 2012; 4: 88–91. Ukrainian.
5. **Maltsev EV, Usov VYa, Kritsun NYu.** The pterygium modeling. *Oftalmol Zh.* 2013; 2:79- 82. Ukrainian.
6. **Maltsev EV** Determining the optimal parameters of electric current when using electric high biological tissue to connect the edges of the surgical wound of the conjunctiva. *Ophtalmological. Zh.* 2013; 3: 78–82. Ukrainian
7. **Yakymenko SA** Surgical treatment of recurrent pterygium hard. *Zdravohr. Turkmenistan.* 1983;11 (287). 41–42. Russian
8. **Gris O., Guell J. L., Campo Z.** Limbal-conjunctival autograph transplantation for the treatment of recurrent pterygium. *Ophthalmology.* 2000. 107:270–273.
9. **Isyaku M.** Treatment of pterygium. *Ann. Afr. Medicine.* 2011; 10(3):197–203.
10. **Wit D. D., Athanasiadis I., Sharma A., Moore J.** Sutureless and glue-free conjunctival auto graft in pterygium surgery: a case series. *Eye.* 2010; 24.1474–1477.
11. **Ye J., Kook K. H., Yao K.** Temporary amniotic membrane patch for the treatment of primary pterygium: mechanism of reducing the recurrence rate. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmology* 2006; 244. 583–588.

Received 17.09.2014