

АУТОЛИМБОКЕРАТОПЛОМБИРОВАНИЕ КАК МЕТОД ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ РЕЦИДИВИРУЮЩЕГО ГЕРПЕТИЧЕСКОГО КЕРАТИТА.

П. А. Бездетко, проф., д-р мед. наук, **Е. Н. Ильина**, аспирант, **М. Г. Лысенко**, врач

Харьковский национальный медицинский университет
Киевская городская клиническая офтальмологическая больница «Центр микрохирургии глаза».

Прооперовано 11 пацієнтів, хворих на рецидивуючий герпетичний кератит із розвиненим синдромом лімбальної недостатності. В міжрецидивному періоді із здорового ока було здійснено забір ділянки лімба із епітеліальними клітинами, які надалі імплантувалися в кишеню, сформовану на хворому оці в області лімба, в меридіані рогівкового дефекту. Це дозволило уникнути подальшого розвитку кон'юнктивізації рогівки, досягти відновлення цілісності рогівкової оболонки та знизити частоту рецидивів. Констатовано покращення в групі прооперованих за запропонованою методикою пацієнтів (у порівнянні із пацієнтами, які отримували лише консервативну терапію) наступних показників: час зникнення перикорнеальної ін'єкції, строки епітелізації рогівки, ступінь неоваскуляризації, інтенсивність помутніння рогової оболонки та гострота зору.

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

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

Герпетическая инфекция (син.: простой герпес) — собирательное название для инфекций, вызываемых вирусом простого герпеса первого типа (ВПГ-I) и вирусом простого герпеса второго типа (ВПГ-II). Одной из самых распространенных вирусных инфекций человека является простой герпес, представляющий собой серьезную медико-социальную проблему [5]. Около 90% людей на земном шаре инфицированы ВПГ и около 20% имеют какие-либо клинические проявления инфекции [6]. Наиболее важным биологическим свойством герпесвирусов в патогенезе заболеваний является их способность к латентному существованию. Герпесвирусы способны пожизненно персистировать в организме человека и вызывать заболевания с многообразными клиническими проявлениями [4].

Среди **вирусных кератитов** наиболее часто роговицу поражает вирус простого герпеса 1 типа. Инфицирование происходит в раннем детском возрасте [2,3]. Между вирусом и клетками хозяина существует биологическое равновесие, нарушение которого приводит к рецидиву офтальмогерпеса [2]. Вирусные кератиты всегда сопровождаются поражением нервной ткани, что проявляется нарушением иннервации роговицы и снижением ее чувствительности, зачастую приводя к развитию нейротрофического кератита [1,3]. Это заболевание протекает длительно и очень часто рецидивирует, при этом происходит постепенное повреждение эпителия роговицы, приводящее к истощению и гибели её клеточных ростковых структур [1]. Доказано, что источником эпителиальных клеток для роговицы является лимбальный эпителий [10].

Регенерация роговичного эпителия обеспечивается размножением базальных эпителиальных клеток с их постепенным перемещением в супрабазальные слои, а также делением лимбальных стволовых клеток и последовательной центрипетальной миграцией от периферии роговицы в базальный слой [7, 11].

Неспособность лимбальных клеток в нужном количестве образовывать клетки для эпителия роговицы (в результате повреждения лимбального субстрата) ведёт к развитию их недостаточности. Вследствие этого происходит замещение роговичного эпителия конъюнктивальным с развитием новообразованных сосудов, ведущее к нарушению прозрачности роговой оболочки и значительному снижению остроты зрения [11].

Применяемое в практике консервативное лечение с использованием лекарственных средств не всегда является эффективным. Выходом могут стать операции, направленные на замещение погибших лимбальных камбиальных клеток и на восстановление собственных повреждённых тканей роговицы [9,10].

Целью исследования явилось повышение эффективности лечения рецидивирующих герпетических кератитов, сопровождающихся синдромом лимбальной недостаточности, путём разработки метода фиксации культуры аутологичных клеток лимба.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Всего в клиническую группу было включено 11 пациентов (11 глаз) с рециди-

вирующим герпетическим кератитом: 1 с поверхностным краевым, 4 со смешанными формами герпетического кератита (древовидный с поражением стромы), 6 с глубокими формами герпетического кератита (метагерпетический — 3, дисковидный — 2, буллезный — 1,) в возрасте 20 — 45 лет. В группу контроля вошли 11 больных (11 глаз) — 4 со смешанными формами кератита (древовидный с поражением стромы) и 7 с глубокими.

Всем пациентам проводилось общеклиническое, иммунологическое, офтальмологическое обследование, включавшее: исследование зрительных функций, окрашивание роговой оболочки 0,2 % раствором флюоресцеина-натрия с последующей биомикроскопией, конфокальную лазерную сканирующую микроскопию роговой оболочки (для определения количества поверхностных и базальных эпителиоцитов), исследование чувствительности роговицы альгезиметром Б. Л. Радзиховского. Использовались пробы для оценки состояния слезной пленки: проба по Норну (оценка стабильности прероговичной слезной пленки), проба по Ширмеру (оценка состояния суммарной слезопродукции), проба по Джонес (измерение показателя основной слезопродукции). Кроме того, проведены иммунологические реакции (ИФА, ПЦР) в соскобах с роговицы (в месте её повреждения) и в сыворотке крови с целью выявления герпесвирусной этиологии заболевания.

У всех пациентов наблюдались длительно незаживающие и рецидивирующие дефекты эпителия роговицы. Каждый из больных, отобранных в исследуемую группу, безуспешно лечился консервативными методами. Причиной патологических изменений у пациентов были нейротрофические нарушения, приведшие к развитию недостаточности камбиальных клеток роговичного эпителия:

Интенсивность помутнения роговицы оценивалась по 4-х балльной шкале [Куренков В.В., 1998г.]:

- 0 баллов — роговица прозрачна;
- 0,5 баллов — начальное помутнение;
- 1,0 балл — флёр не влияет на рефракцию;
- 2,0 балла — помутнение изменяет преломляющую силу роговицы;

3,0 балла — вследствие флёра не определяются детали радужной оболочки;

- 4,0 балла — радужка не видна.

Помутнения роговой оболочки до лечения в среднем составляли (1,8±0,6) баллов в обеих группах.

Степень неоваскуляризации также оценивалась по 4-х балльной шкале [Инатоми Т., Япония, 2006 г.]: 0 — отсутствие неоваскуляризации;

- 1 — периферическая васкуляризация (в области лимба);
- 2 — пери- и околомимбальная васкуляризация;
- 3 — массивная васкуляризация лимба с начальной васкуляризацией всей поверхности роговицы;
- 4 — массивная васкуляризация всей поверхности роговицы.

У пациентов до лечения неоваскуляризация в среднем составляла (2,5±0,6) баллов в основной группе и (2,7±0,3) баллов в контрольной.

Чувствительность роговицы до лечения составляла в среднем в контрольной группе: альгезиметром 2,0 мг 0,5±0,3 воспринятых касаний; альгезиметром 10,0 мг 1,2±0,5 воспринятых касаний; альгезиметром 50,0 мг 2,5±0,7 воспринятых касаний. Чувствительность роговой оболочки в основной группе до лечения составляла в среднем 0,66±0,5; 2,6±0,8; 4,0±1,03 воспринятых касаний соответственно.

При исследовании эпителия роговицы конфокальным микроскопом поверхностные клетки эпителия роговой оболочки здорового глаза имеют полигональную (гексагональную) форму, с чётко визуализирующимся ядром, перинуклеарным тёмным кольцом. В норме средняя плотность 900 клеток на 1 мм², варьирует от 624±109 до 1213±370 [12]. Базальные клетки, локализующиеся непосредственно над боуеновой мембраной, имеют хорошо определяемые светлые границы, ядер не видно. Диаметр базальных клеток меньше, соответственно плотность их выше, чем у поверхностных и промежуточных клеток. Средняя плотность в норме 9000 мм². Соотношение по плотности между поверхностными и базальными клетками роговичного эпителия 1:10 [8].

В данном исследовании количество поверхностных эпителиоцитов в основной группе до операции составило 611±45 на 1мм², а в группе контроля — (600±37) клеток на 1 мм². Количество базальных эпителиоцитов до лечения в основной группе составило 6442±345 на 1 мм², в группе контроля — 6532±396 на 1 мм².

Количество рецидивов в среднем доходило до 3,4±0,4 раз в год в исследуемой группе и до 3,1±0,8 раз в год в группе контроля. Острота зрения в основной группе в среднем равнялась 0,03±0,03, в группе контроля 0,02±0,01.

У всех пациентов была диагностирована лимбальная недостаточность на основании наличия конъюнктивального паннуса, хронического воспаления, помутнения роговицы, неоваскуляризации, неровной поверхности роговой оболочки, рецидивирующих эрозий и/или язв, деструкции базальной мембраны.

Комплексная терапия основной (до хирургического лечения) и контрольной групп включала: внутрь гевиран (ацикловир) по 800 мг/5раз в сутки 7 дней, затем по 400 мг 5 раз в сутки до 14 дней, с/к лаферон по 400 тыс. ед через день № 5-7, местно зовиракс, полудан, окоферон, корнергель, индоколлор до 5 раз в сутки. В/в капельно ресорбилакт по 200,0 мл № 5-10, в/м диклофенак (мовалис) № 5-10, циклоферон по схеме. Для профилактики присоединения вторичной бактериальной инфекции использовался препарат флоксал в инстилляциях до 4 раз в сутки. Длительность лечения в стационаре была индивидуальна, колебалась от 14 до 40 дней, в среднем составила (24±3,2) дня.

В исследуемой группе, в межрецидивном периоде было проведено 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 (рис. 1, А). На больном глазу в области лимба, в меридиане роговичного дефекта, с помощью расслаивателя 2,2 мм формировался карман глубиной 2 мм (рис. 1, В).

Полученный участок лимба из здорового глаза имплантировался в образованный карман и при необходимости фиксировался одним узловатым швом 10/0 (рис. 1).

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

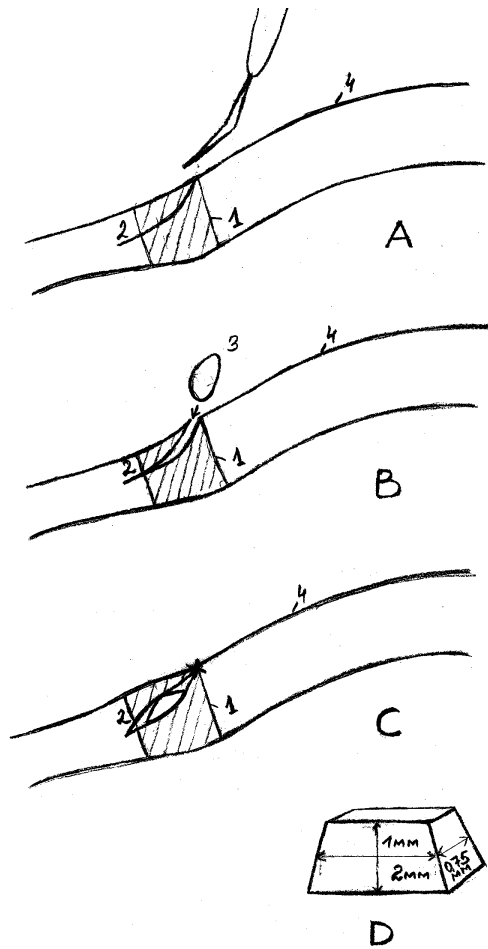


Рис. 1. Схема хирургического лечения: А — формирование корнеосклерального кармана. В — имплантация ауто трансплантата в карман. С — ушивание краёв сформированного кармана. D — ауто трансплантат (участок лимба, взятый из здорового глаза). 1 — лимб; 2 — корнеосклеральный карман; 3 — ауто трансплантат; 4 — роговая оболочка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Для сравнительной оценки эффективности лечения в обеих группах учитывали сроки исчезновения перикорнеальной инъекции, эпителизации роговицы, чувствительность роговой оболочки, морфологические изменения поверхностного и базального эпителия роговицы до и после лечения, степень неоваскуляризации, интенсивность помутнения роговой оболочки и частоту возникновения рецидивов (табл. 1). Также учитывалось состояние остроты зрения до и после лечения (табл. 2). Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

В послеоперационном периоде гиперемия и отек роговицы сохранялись в течение 7-10 дней. Перикорнеальная инъекция в группе больных, где применяли лимбокератопломбирование, исчезла на $(12,5 \pm 0,6)$ день, а при применении только консервативной терапии — на $(14,1 \pm 0,7)$ день; $p < 0,001$.

После операции частичная эпителизация наступала в течение первых 48 часов, полная эпителизация в течение двух недель (в исследуемой группе на $(13,2 \pm 0,9)$ день, в контрольной — на $14,4 \pm 0,9$; $p < 0,001$).

Таблица 1

Клиническая оценка эффективности лечения больных герпетическими кератитами в основной и контрольной группах

Клинические признаки	Основная группа (n=11)	Контрольная группа (n=11)	Достоверность различия между группами
Исчезновение перикорнеальной инъекции (дни)	$12,5 \pm 0,6$	$14,1 \pm 0,7$	$p < 0,001$
Эпителизация роговицы (дни)	$13,2 \pm 0,9$	$14,4 \pm 0,9$	$p < 0,001$
Неоваскуляризация роговицы (баллы)	$0,2 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,5$	$p < 0,001$
Интенсивность помутнения роговой оболочки (баллы)	$0,95 \pm 0,4$	$1,7 \pm 0,5$	$p < 0,001$
Частота рецидивов (в год)		$1,5 \pm 0,4$	$p < 0,001$
Кол-во поверхностных эпителиоцитов роговицы (на 1 мм ²)	1077 ± 87	765 ± 54	$p < 0,001$
Кол-во базальных эпителиоцитов роговицы (на 1 мм ²)	10133 ± 435	8055 ± 782	$p < 0,001$
Чувствительность роговой оболочки (кол-во воспринятых касаний альгезиметрами 2,0 мг; 10,0 мг; 50,0 мг)	$5,9 \pm 0,8$; $7,7 \pm 0,6$; $8,7 \pm 0,4$	$4,0 \pm 0,5$; $5,7 \pm 0,7$; $6,9 \pm 0,6$	$p < 0,001$

Чувствительность роговицы в группе исследования после лечения составила в среднем: $5,9 \pm 0,8$ воспринятых касаний альгезиметром 2,0 мг ; $7,7 \pm 0,6$ воспринятых касаний альгезиметром 10,0 мг ; $8,7 \pm 0,4$ воспринятых касаний альгезиметром 50,0 мг .

В группе контроля показатели были следующие: $4,0 \pm 0,5$; $5,7 \pm 0,7$; $6,9 \pm 0,6$ воспринятых касаний альгезиметрами 2,0 мг; 10,0 мг; 50,0 мг соответственно.

Количество поверхностных эпителиоцитов после хирургического лечения в среднем составляло (1077 ± 87) на 1 мм², после курса консервативной терапии (765 ± 54) клеток на 1 мм² ($p < 0,001$). Базальные эпителиоциты в основной группе пациентов составляли (10133 ± 435) на 1 мм², в группе контроля (8055 ± 782) на 1 мм² ($p < 0,001$).

Таблица 2

Острота зрения у больных герпетическим кератитом.

Острота зрения	Исследуемая группа (n=11)		Группа контроля (n=11)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Правильная светопроекция	1(9%)		3(27%)	
Движение руки у лица	5(45%)		1(9%)	2(18%)
Счёт пальцев (0,002)	2(18%)	1(9%)	2(18%)	1(9%)
0,01–0,04			1(9%)	1(9%)
0,05–0,09	1(9%)	1(9%)	3(27%)	3(27%)
0,1–0,4	2(18%)	4(36%)	1(9%)	3(27%)
0,5–1,0		5(45%)		1(9%)
Среднее значение	0,035±0,03	0,4±0,2	0,02±0,01	0,1±0,07

Степень неоваскуляризации в послеоперационной группе у 18% пациентов соответствовала 1 баллу, у 82% — 0 баллов. В группе контроля этот показатель варьировал от 2 до 3 баллов, в среднем 2,6 ± 0,5, p < 0,001).

У большинства пациентов (64%) исследуемой группы имелось небольшое полупрозрачное помутнение, не влияющее на рефракцию и в среднем соответствовало (0,95±0,4) баллам. Интенсивность помутнения у 45% пациентов из группы контроля соответствовала двум баллам, у 18% 3 балла, у 18% 1 балл и в среднем оценивалась в (1,7±0,5) балла.

Больные наблюдались 15 месяцев. За этот период не отмечалось инфицирования, отторжения трансплантата, интраоперационных осложнений. В донорских глазах не зарегистрировано интраоперационных осложнений, хронического воспаления, постоянных эпителиальных дефектов, или роговичной неоваскуляризации.

В исследуемой группе за период наблюдения рецидивы отсутствовали, в группе контроля у 64% был один рецидив герпетического кератита, у 27% рецидивы имели место дважды, у 9% 3 раза. В среднем частота рецидивов у пациентов, получавших консервативное лечение, составила (1,5±0,4) раз в год.

Острота зрения при герпетических кератитах зависела от расположения воспалительных инфильтратов на роговой оболочке глаза (центральное, парацентральное), от их размеров, степени выраженности отека роговицы. Повышение остроты зрения сопровождалось регрессией воспалительных явлений, рассасыванием инфильтратов, уменьшением отека роговицы. В процессе лечения у всех больных постепенно повышалась острота зрения, в основной группе высокие зрительные функции (0,5 — 1,0) после проведенной терапии наблюдались в 45% случаев, в контрольной — только в 9% (табл. 2). Таким образом, успех лечения и высокие функциональные результаты при рецидивирующем офтальмогерпесе зависят от своевременной диагностики синдрома лимбальной недостаточности и правильного выбора метода лечения. Проведенное исследование позволяет сделать заключение о целесообразности применения реконструктивной операции с использованием аутолимбальных эпителиальных клеток по предложенному методу, который эффективно и достоверно ускоряет эпителизацию пораженной роговицы за счёт увеличения количества базальных и поверхностных эпителиоцитов. При этом повышается чувствительность роговой оболочки, сокращается частота рецидивов с отсутствием неоваскуляризации и помутнения роговицы в послеоперационном периоде. При этом также улучшается динамика остроты зрения.

ВЫВОДЫ

1. Эффективность применения лимбокератопломбирования в лечении рецидивирующих герпетических кератитов высока и сводится к уменьшению частоты рецидив и улучшению показателей чувствительности роговой оболочки и остроты зрения.

2. Лимбокератопломбирование достоверно способствует увеличению количества поверхностных и базальных эпителиоцитов, восстанавливая целостность роговой оболочки.

3. Предложенный метод хирургического лечения лимбальной недостаточности у больных герпетическими кератитами позволяет избежать дальнейшего развития процессов неоваскуляризации, инфильтрации, помутнения роговой оболочки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайдамака Т. Б., Андрюкова Л. Н., Красичкова Е. А. Определение специфической активности глазных капель на основе лаферона (Окоферон) на модели вирусного кератита // Офтальмологический журнал. — 2001. — № 4. — С. 62-67.
2. Каспаров А. А. Офтальмогерпес. — М.: Медицина, 1994. — 224 с.
3. Майчук Ю. Ф. Вирусные заболевания глаз. — М.: Медицина, 1981. — 272 с.
4. Прозоровский С. В., Таргаковский И. С. Возбудители оппортунистических инфекций — роль в инфекционной патологии человека и методы лабораторной диагностики // Клиническая лабораторная диагностика. — 1998. — № 2. — С. 24-33.
5. Семенов В. М., Козин В. М., Акулич Н. Ф. Клиника, диагностика и лечение рецидивирующей герпетической инфекции // Методические рекомендации для инфекционных и вирусологических лабораторий. — Витебск, 1999. — 6 с.

6. Детские инфекционные болезни. Часть I. / Под ред. профессоров В. В. Фомина, М. О. Гаспарян, Э. Л. Кашубы, В. Клиника, лечение и лабораторная диагностика герпесвирусных заболеваний человека: Руководство для врачей / Нестеренко В. Г., Бехало В. А., Ловенецкий А. Н. — М., 1998. — 46 с. И. Шилко. — Екатеринбург, 1992.
7. **Grueterich M.** Ex Vivo Expansion of Limbal Epithelial Stem Cell: Amniotic Membrane Serving as a Stem Cell Niche / M. Grueterich, E.M Espana., S.C.G. Tseng // Survey of Ophthalmol. — 2003. — Vol. 48, № 6. — P. 631 — 646.
8. **Guthoff R. F., Baudouin C., Stave J.** Atlas of Confocal Laser Scanning in vivo Microscopy in Ophthalmology. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 2006. — P.200.
9. **Kenyon K. R.** Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. / K.R. Kenyon, S.C.G. Tseng // Ophthalmology. — 1989. — Vol. 96 — P.709 — 723.
10. **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.
11. **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.
12. **Mustonen R. K., McDonald M. B.** Normal human corneal cell populations evaluated by in vivo scanning slit confocal microscopy // Cornea. — 1998. — 17[5]. —P.485-492.

Поступила 29.05.2009.

Рецензенты д-р мед. наук Г. И. Дрожжина,
канд. мед. наук Т. Б. Гайдамака

AUTOLIMBOKERATOFILLING IS THE ONE OF THE SURGICAL METHODS OF THE HERPETIC KERATITIS TREATMENT.

P. Bezdetko, E. Ilyina, M. Lisenko

Ukraine

There were operated 11 patients with recurrent herpetic keratitis, accompanied by the syndrome of limbic insufficiency. There was taken a section of the limb with the epithelial cells from the healthy eye in the period between recurrences, with its subsequent implantation in the pocket, formed on the sick eye in the limb region in the meridian of the corneal defect. This allowed to avoid further development of conjunctivization of the cornea, to reach the restoration of the cornea integrity and to reduce the frequency of relapses. An improvement in the following indices in the group of the operated patients in comparison with the control group, which obtained only conservative therapy, is reliable: the period of disappearance of pericorneal injection, the period of the cornea epithelization, the degree of neovascularization, the intensity of keratoleukoma and visual acuity.



УДК 617.751:617.753.319-073

ВЛИЯНИЕ АБЕРРАЦИЙ ВЫСШИХ ПОРЯДКОВ НА ОСТРОТУ ЗРЕНИЯ

Д. В. Владимиров, Н. М. Сергиенко, В. В. Молебный

КГКОБ «Центр микрохирургии глаза»

Обстежено 26 чоловіків-волонтерів у віці 23-35 років без виявленої офтальмологічної патології та з рефракцією, близькою до еметропії. Аберометрія виконувалась рейтрейсинговим методом. Коефіцієнт кореляції між гостротою зору та аберациями вищих порядків становив 0,4. Важливим фактором виміру такої кореляційної залежності слід вважати виконання умов відповідності між діаметром зіниці, при якому досліджувалась гострота зору, та діаметром оптичної зони, в якій реєструються хвильові аберації.

Ключевые слова: острота зрения, аберрации.

Ключові слова: гострота зору, аберації.

Введение. Недостатки оптической системы человеческого глаза были хорошо известны еще Гельмгольцу, однако количественную оценку оптических аберраций глаза удалось выполнить только в 60-х годах XX столетия. В короткий промежуток времени независимо друг от друга опубликовали свои работы М. С. Смирнов [6], Van den Brink

[15] и Н. М. Сергиенко [3]. То были чисто научные исследования с использованием трудоемких, но субъективных методов. Следует отдать должное публикации М. С. Смирнова, который ввел понятие «волновые аберрации», как сумму монохро-

© Д. В. Владимиров, Н. М. Сергиенко, В. В. Молебный, 2009.