УДК 617.713-001.5-089.84

ВІДНОВЛЕННЯ УЛЬТРАСТРУКТУРИ РОГІВКИ ПІСЛЯ ПЕРВИННОЇ ХІРУРГІЧНОЇ ОБРОБКИ ПРОНИКАЮЧИХ ПОРАНЕНЬ РОГІВКИ НАСКРІЗНИМИ ШВАМИ ТА НА 2/3 ЇЇ ГЛИБИНИ.

Н. Ф. Боброва, д. м. н., проф., **Н. Е. Думброва**, д. м. н., проф.,

Н. І. Молчанюк, к. біол. н, **В. І. Шевчик**, аспірант

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України»

С помощью электронно–микроскопических исследований показано, что при первичной хирургической обработке (ПХО) проникающих ранений роговицы сквозными швами процесс регенерации во многом напоминает регенерацию при ПХО швами на 2/3 глубины роговицы. Но в первом случае к 7 послеоперационному дню отмечается более выраженная активация поза- и внутриклеточных восстановительных процессов в клетках переднего эпителия, элементах соединительной ткани стромы и заднем эпителии. В результате через 1 месяц ультраструктура клеток и волокнистых структур роговицы почти идентична интактной. В то же время при проведении ПХО швами на 2/3 в этот период отмечается ряд альтеративных изменений в ткани роговицы. Лучшее заживление раны роговицы при проведении ПХО швами на всю толщину может быть связано с повышенным функционированием заднего эпителия в этих условиях как структуры, владеющей высокими полипотентными способностями, мощными насосными функциями, в результате чего в ткань роговицы более активно транспортируются вещества необходимые для её нормальной жизнедеятельности. Можно предположить, что условия, созданные проведением швов на всю толщину создают дополнительные условия для быстрой и качественной репарации ткани роговицы

Ключові слова: Ультраструктура рогівки, травма, методики ПХО

Ключевые слова: Ультраструктура роговицы, травма, методики ПХО

Актуальність: Проблема попередження сліпоти та значного зниження гостроти зору є однією із пріоритетних програм ВООЗ. За її даними, 135 мілліонів людей мають значне зниження гостроти зору та більше 45 мілліонів є сліпими (Cunningham, 2001). Біля 1,6 млн людей вже є сліпими на обидва ока та щорічно 500 000 стають сліпими на одне око внаслідок травми ока. В світі нараховується 2,3 млн людей з двохстороннім значним зниженням гостроти зору та 19 млн сліпих на одне око внаслідок травми (Serrano,2003).

Проникаючі поранення ока залишаються найбільш розповсюдженими та важкими по наслідкам пошкодженнями, займаючи лідируюче положення серед причин інвалідності. Проникаюче поранення переднього відділу очного яблука складає 75% — 92,6 % від загальної кількості проникаючих травм ока (Сусайкова М. С., 2005, Гундорова,2009, Panda A.,1984, F.Kuhn,2004, Kim JH, 2007). Поранення рогівки становить 55-65% всіх випадків (Южаков А. М., 1999, Гундорова,2009, Maltzman,1976, Panda A.,1984, May,2000, Koo,2005, Kim,2007).

Мета. Встановити особливості регенерації та структурні зміни травмованої рогівки при проведенні рогівкових швів різної глибини.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Робота виконана на 30 очах 15 дорослих кроликів породи шиншила масою 2-3,5 кг. Моделювання проникаючого поранення рогівки проводилось в асептичних умовах за допомогою розробленого нами пристрою (Патент України №40150 від 25.03.2009), що дозволяє наносити стандартизовану рану рогівки з елементами контузії, заданими параметрами та безпечно для глибинних структур ока.

Наносилась наскрізна лінійна рана рогівки з різано — рваними краями та елементами контузії довжиною 6 мм по розробленій нами методиці з використанням даного пристрою (Патент України № 40227 від 25.03.09). Наскрізна рогівкова рана ушивалась за допомогою вузлуватих швів з нейлону 10/00, на правих очах — швами на всю товщину рогівки, а на лівих — на її 2/3. Вузлики від швів у всіх випадках занурювались в товщу строми. В післяопераційному періоді тварини отримували інстиляції протизапальних та антибактеріальних капель в обидва ока.

Тварини були поділені на три групи по 5 тварин (10 очей): I група виводились з експерименту на 3 день; II група на 7 день, а III — через місяць після нанесення проникаючого поранення рогівки.

Об'єктом дослідження була структура рогівки. Евтаназія тварин здійснювалась методом повітряної емболії під рауш — наркозом в відповідності до »Вимог біоетики

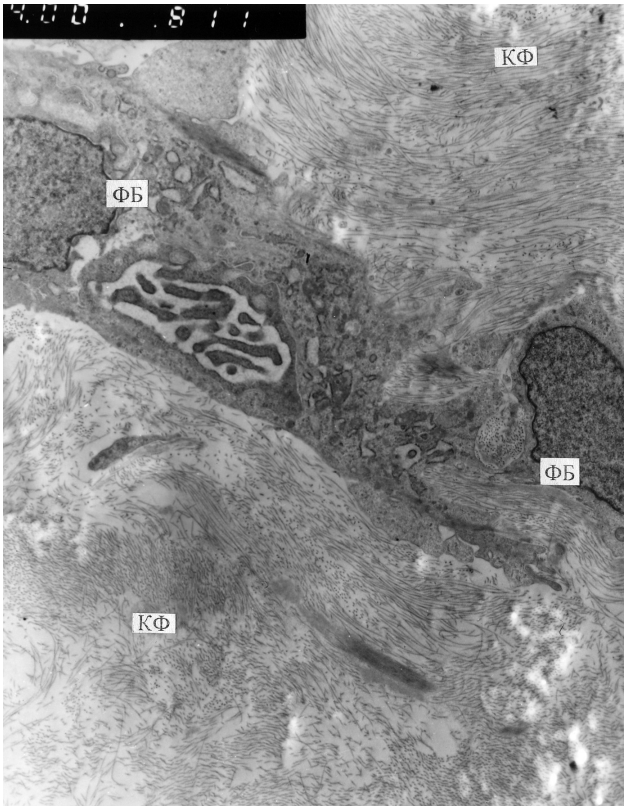
© Н. Ф. Боброва, Н. Е. Думброва, Н. І. Молчанюк, В. І. Шевчик,, 2010

Хельсинської декларації про етичне регулювання медичних досліджень» Norman H. — J, 1985. (Хроника ВОЗ-1985. — Т.39, № 3. — С.3-9).

Для електронно-мікроскопічного дослідження шматочки тканини фіксувались в 2,5% розчині глютаральдегіду на фосфатному буфері при рН — 7,4 з наступною до фіксацією 1% розчином осмієвої кислоти при тому ж значенні рН буферного розчину. Потім зразки зневоднювались в спиртах наростаючої міцності та ацетоні. Насичення матеріалу та його завершення виконувалось в суміші епон — аралдіт. Ультратонкі зрізи зафарбовувались розчинами уранілацетату та цитрату свинцю. Перегляд та фотографування зрізів виконувалось на електронному мікроскопі ЕМ-100-01. Отримано 320 електронних фотографій.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ: Через 3 доби після операції (п\о), при закритті швами на 2\3 товщі рогівки, електронномікроскопічне дослідження показало, що формується передній епітелій рогівки. Він складається з декількох шарів клітин, в котрих виражені як процеси альтерації, так і ознаки відновлення внутрішньоклітинних структур: збільшення вмісту в цитоплазмі вільних рибосом та полісом, поява невеликої кількості елементів зернистої ендоплазматичної сітки (ЗЕС). Але в стромі рогівки велика кількість електронно- прозорих ділянок, що не заповнені сполучною тканиною. Остання в ділянці рубця що формується, дезорганізована. Колагенові фібрили фрагментовані, пучки їх розрихлені (мал.1). Відмічаються скупчення фібрину. Кількість фібробластів збільшена. Частина їх з елементами альтерації або деструкції. Разом з тим зустрічаються клітини, що містять збільшену кількість білоксинтезуючих органел: рибосом, полісом та, особливо, елементів ЗЕС, що вказує на появу фібробластів з вираженою внутрішньоклітинною регенерацією. В тканині строми навколо травми зустрічаються плазматичні клітини та макрофаги.

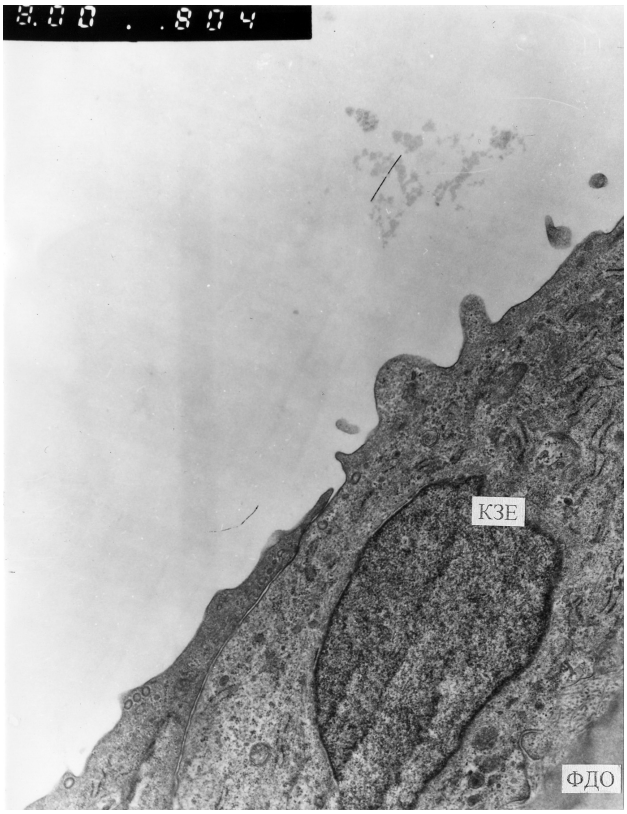
Через 3 доби п\о, при закритті рани наскрізними швами, ультраструктурними дослідженнями встановлено, що передній епітелій в більшості сформований. Частина базальних клітин містить велике ядро та багато цитоплазми, в якій міститься підвищена кількість вільних рибосом та полісом. Це свідчіть про активність відновних процесів в клітинах переднього епітелію. Базальний комплекс (плазматична мембрана базального епітелію, напівдесмосоми, базальна мембрана) також відновлений майже повністю в ділянці формування рубця. В передній та середній третині строми рогівки на окремих ділянках порушена її архітектоніка, пучки колагенових фібрил короткі, різнонаправлені, місцями з ознаками деструкції. порушена її архітектоніка, пучки колагенових фібрил короткі, різнонаправлені, місцями з ознаками деструкції. Навколо міститься велика кількість активних фібробластів та макрофаги. В задніх відділах строми в ділянці рубця відмічається дезорганізація сполучнотканинних елементів. Десцеметова оболонка складається із щільних коротких осміофільних фрагментів, між якими проглядається фібрілярна структура. Клітини заднього епітелію в сусідній зоні мають багато цитоплазми, в котрій превалюють ознаки відновних процесів, як то збільшення кількості цитоплазматичних органел, особливо білковосинтезуючої системи (мал.2). Здебільше ці клітини розташовані не лінійно, а у вигляді скупчень. Навколо по периферії розрізу десцеметова оболонка не змінена, але клітини заднього епітелію на цих ділянках мають ознаки внутрішньоклітинної альтерації.



Мал. 1. 3 доби після операції (п/о), закриття швами на 2/3. Дезорганізація та деструкція строми рогівки в ділянці рубця. Електронна мікрофотографія Х 4 000. Позначення: ФБ — фібробласт; КФ — колагенові фібрили.

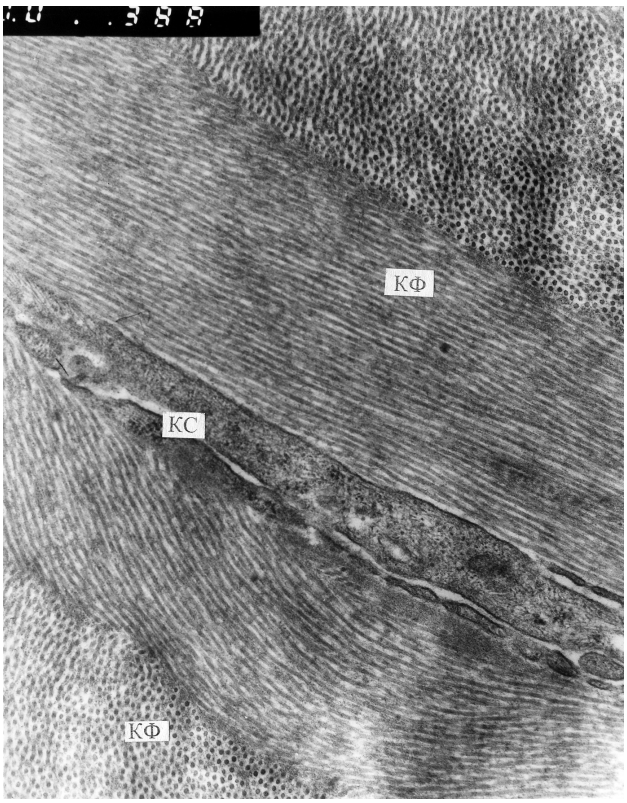
На 7 добу п\о при закритті швами на 2\3 товщі рогівки встановлено, що клітини переднього епітелію рогівки здебільшого в стані активації, особливо це стосується клітин базального епітелію. Базальний комплекс добре сформований на окремих ділянках. В ділянці рубця строма рогівки складається із різнонаправлених тонких пучків колагенових фібрил, розміщених дуже рихло. В оточуючій тканині зустрічаються ділянки деструкції сполучної тканини, а також пучки колагенових фібрил із фрагментованих стоншених елементів. Клітинні елементи — фібробласти, частково з ознаками активної синтетичної діяльності, крупні, округлі, розміщуються групами. Навколо них відмічається майже електронно-щільний простір. Лише місцями коло

клітин видно ніжні новоутворені колагенові фібрили. Частина стромальних клітин з оточуючої тканини має різний ступінь альтерації. Зустрічаються плазматичні клітини та макрофаги.



Мал. 2. 3 доба п/о, закриття наскрізними швам. Клітина заднього епітелію з значно збільшеним вмістом білковосинтезуючих органел. Електронна мікрофотографія Х 8 000. Позначення: ФДО –фрагмент десцеметової оболонки; КЗЕ — клітина заднього епітелію.

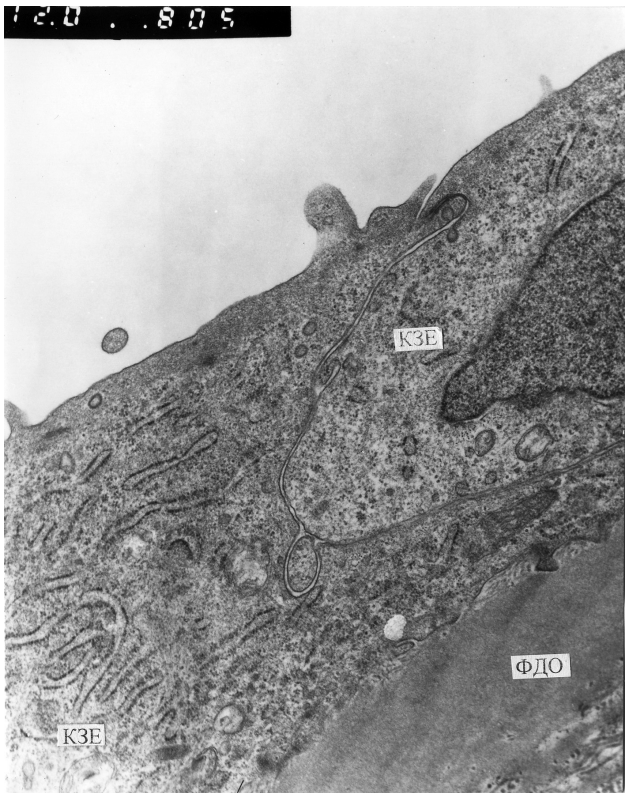
При закритті рани наскрізними швами на 7 добу п\о електронно-мікроскопічне дослідження встановило, що шар переднього епітелію сформований. Базальні клітини з ознаками активної білоксінтезуючої діяльності. В передніх і середніх відділах строми рогівки в ділянці рубця колагенові фібрили тонкі, але вже формують ділянки типові для тканини строми рогівки (мал.3). В задній третині строми, в основному, формуються колагенові пластини також з тонких фібрил. Відмічається підвищена кількість фібробластів з внутрішньоклітинними відновними та синтетичними процесами по виробленню колагену. Клітини крупні, з великими округлими чи овальними ядрами. Ядерна мембрана багата на пори. Ядерний хроматин рівномірно диспергований В цитоплазмі багато розвинута ЗЕС, а також рибосоми та полісоми, що заповнюють її майже повністю В тісному контакті з елементами ЗЕС розміщуються крупні мітохондрії в стані набухання. Біля зовнішньої мембрани цих клітин зустрічаються ділянки з ніжною фібрилярною тканиною, яка складається із тонких коротких фібрил — попередників колагенових волокон сполучної тканини строми рогівки. Остання представлена організованими пучками тонких колагенових фібрил. Місцями вони формують пластини, місцями розташовані рихло та мають різноманітну орієнтацію. Десцеметова мембрана формується набуваючи типового вигляду по периферії травми. Клітини заднього епітелію крупні, містять типові органели та ядра з кількома дольками (мал.4). В зоні рубця вони розміщуються не лінійно, зустрічається двухшарова їх організація. Клітини заднього епітелію, що збереглися після травми, розташовані коло десцеметової оболонки в один шар. Цитоплазма у них щільна, в ній лише зустрічаються поодинокі вакуолізовані мембранні органели. У той же час частина клітин зберігає нормальну ультраструктуру.



Мал. 3. 7 доба п/о, закриття наскрізними швами. Формування типової структури строми рогівки в передній її третині. Електронна мікрофотографія Х 6 000. Позначення: КС — клітина строми; КФ- колагенові фібрили.

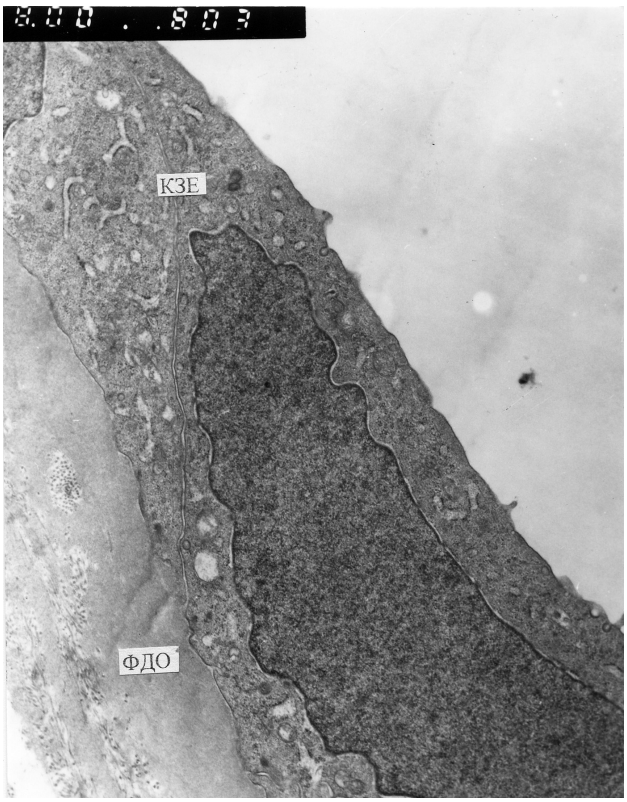
Через 1 місяць п\о закриття рани швами на 2\3 ультраструктура переднього епітелію рогівки подібна до нормальної. В стромі серед наближених до норми сполучнотканинних структур зустрічаються ділянки рихло розташованих пучків колагенових фібрил, фрагментація та гомогенізація частини їх. В цих ділянках збільшена кількість фібробластів, що містять крупне ядро з 1-2 ядерцями та цитоплазму багату на елементи ЗЕС. В цілому в ділянці рубця тканина строми місцями дезорганізова-

на, місцями її архітектоніка більш наближена до звичайної будови сполучної тканини строми. Дані отримані в ході експерименту подібні до наведених в літературі (Cintron C., 1982, Melles G. R. J., 1990, Hammond C. J., 1996, Connon , 2004)



Мал. 4. 7доба п/о, закриття наскрізними швами. Фрагмент клітини заднього епітелію з великим об'ємом цитоплазми та збільшеним числом внутрішньоклітинних органел в ділянці відновлення структури рогівки. Електронна мікрофотографія Х 1 000 Позначення: ФДО –фрагмент десцеметової оболонки; КЗЕ — клітина заднього епітелію.

При закритті рани наскрізними швами через 1 місяць показано, що всі шари клітин переднього епітелію сформовані, утворюючи типовий багатошаровий пласт. Базальний комплекс добре виражений. Строма в ділянці травми складається із впорядкованих сполучнотканинних пластин, місцями деформованих та більш щільних, ніж звичайно. Колагенові фібрили з'єднані в пучки. Між ними розміщені сплощені клітини строми з нормальною ультраструктурою. Зустрічаються також клітини з великим об'ємом цитоплазми, що містить підвищену кількість вільних рибосом, полісом та елементів ЗЕС. Ядра цих клітин також крупні, овальні, з невеликою маргінацією хроматину. Клітини заднього епітелію покривають зону рубця. В них відмічається підвищена кількість внутрішньоклітинних органел, велике ядро та нерівномірність плазматичної мембрани з боку передньої камери (мал.5). Далі від рубця шар клітин за ультраструктурою наближений до норми. Десцеметова оболонка сформована. В епіцентрі рубця в ній зустрічаються короткі пучки осміофільних фібрил.



Мал. 5. 1місяць п/о, закриття наскрізними швами. Нормальна ультраструктура десцеметової оболонки та клітин заднього епітелію. Електронна мікрофотографія Х8 000 Позначення: ФДО –фрагмент десцеметової оболонки; КЗЕ — клітина заднього епітелію.

Заключення: При проведенні ушиття рани рогівки наскрізними швами процес відновлення структури тканини багато в чому є подібним до ушиття її швами на 2/3 глибини. Але в першому випадку до 7 післяопераційної доби виражена більш значна активація поза — та внутрішньоклітинних відновних процесів в клітинах переднього епітелію, сполучнотканинних елементах строми та задньому епітелії. В результаті через 1 місяць ультраструктурна анатомія клітин та волокнистих компонентів рогівки майже ідентична до інтактної. В той же час при ушиванні на 2/3 в цей період ще спостерігається ряд альтеративних змін в тканинах рогівки. Найбільш суттєві відмінності встановлені на 7 добу після операції. При ушиванні наскрізними швами в ділянці формування рубця спостерігається велика кількість фібробластів в активованому стані, пучків тонких новоутворених колагенових фібрил, ділянок організованої сполучнотканинної строми рогівки.

Більш сприятливе загоєння травми рогівки при ушитті наскрізними швами може бути пов'язане з підвищеним функціонуванням заднього епітелію в цих умовах як структур, що володіють дуже високими регенеративними та поліпотентними властивос-

тями, потужними насосними функціями, завдяки яким в тканини рогівки більш активно транспортуються речовини необхідні для її нормальної діяльності. Можна припустити, що умови, створені проведенням наскрізних швів, створюють додаткові можливості для прискореного та покращеного здійснення організації відновного процесу тканин рогівки.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Гундорова Р. А.** Травмы глаза / Р. А. Гундорова, В. В. Нероева, В. В. Кашникова. — М. издательская группа «ГЭОТАР — Медиа», 2009. — С34-65.
2. **Cintron C.** Scanning electron microscopy of rabbit corneal scars / C. Cintron, R. B. Szamier, L. C. Hassinger // Claire Kublin. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — July 1982. — Vol. 23, № 1. — P. 50- 63.
3. Connon. The structure and swelling of corneal scar tissue in penetrating full-thickness wounds / Connon, C. J. Meek, M. Keith // Cornea. — March 2004. — Vol. 23 (2). — P. 165-171.
4. **Hammond C. J.** Scanning electron microscopic study of monofilament suture knots / C. J. Hammond, W. Y. Chan, C. S. Liu // Br. J. Ophthalmol. — 1996. — Vol. 80. — P. 164-167.
5. **Kim, J. H.** Fourteen-Year Review of Open Globe Injuries in an Urban Korean Population / J. H. Kim, Y. S. Jae, D. Soo, Y. Y. Hee // The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care. — March 2007. — Vol. 62 (3). — P. 746-749.
6. **McCally R. L.** Light- Scattering and ultrastructure of healed penetrating corneal wounds / R. L. McCally, D. E. Freund, Z. Andrew [et al.] // IOVS. — January 2007. — Vol. 48, № 1. — P. 157- 165.
7. **Mcdonnel P. J.** Corneal surgery. Theory, technique and tissue / P. J. Mcdonnel, C. N. J. Mcghee, A. A. Farjo, O. N. Serdarevic // Elsevier, 2009. — P. 620-622.
8. **Melles G. R.** J. A comparison of wound healing in sutured and unsutured corneal wounds / G. R. J. Melles, P. S. Binder // Arch. Ophthalmol. — Vol. 108. — October 1990. — P. 1460-1569.
9. **Soong K.** Late dehiscence of healed corneal scars / K. Soong, F. Qais, A. Sugar // Br. J. Ophthalmol. — 1999. — Vol. 83. — P. 987.
10. **Serrano J. C.** Epidemiology of childhood ocular trauma in a Northeastern Columbian Region / J. C. Serrano, P. Chalera, J. D. Arias // Arch. Ophthalmol. — 2003. — Vol. 121. — P. 1439-1445.

Поступила 25.12.2009.
Рецензент д-р мед. наук, проф. В. В. Вит.

A COMPARISON OF WOUND HEALING IN FULL-THICKNESS AND 2/3 DEPTH SUTURED CORNEAL WOUNDS

Bobrova N. F., Dumbrova N. E., Molchanyuk N. I., Shevchik V. I.

Odessa, Ukraine

There was discovered by electron microscope that during the suturing of the corneal wound by 100%-sutures a reparation process is similar to suturing by 2/3 depth suture. But in the first case more significant activation of the extra- and intracellular reparation process in the epithelium, stroma elements and endothelium was observed by the 7 postoperative day. As a result, the ultrastructure of the corneal wound was almost identical to the unwounded cornea in 1 month. At the same time, alterative changes were observed in cases with 2/3 depth suture. These results can be explained by better functional conditions of the endothelium (in the full-thickness sutured cornea), as the structure with considerable regeneration, polypotential properties and potent pump function.