

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН**

ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

На правах рукописи
УДК:617-089.843:617.713-053.3

Искандарова Малика Алишеровна

**ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АМНИОТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ ПРИ
ПАТОЛОГИИ РОГОВИЦЫ У ДЕТЕЙ**

14.00.08 – глазные болезни

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ташкент – 2012

Работа выполнена в Ташкентском педиатрическом медицинском институте

Научный руководитель: кандидат медицинских наук, доцент
Захидов Босит Обидович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Бахритдинова Фазилят Арифовна

доктор медицинских наук, доцент
Касымова Мунирахон Садикжановна

Ведущая организация: Башкирский государственный медицинский университет

Защита состоится «__» _____ 2012г. в __ часов на заседании Специализированного Совета Д. 087.01.02 при Ташкентской медицинской академии (100047, Ташкент, ул. Таракиёт, 103).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ташкентской медицинской академии.

Автореферат разослан «__» _____ 2012 г.

**Ученый секретарь
Специализированного Совета**
д.м.н.

У.С. Хасанов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность работы. В настоящее время одной из наиболее актуальных проблем в детской офтальмологии являются заболевания роговицы, сопровождающиеся резким истончением стромы роговицы, либо ее перфорацией, результатом которых являются остаточные помутнения, приводящие к стойкому снижению зрения, что, в свою очередь, приводит к слепоте и слабовидению - до 20% случаев (Майчук Ю.Ф. 2001; Shimazaki J. et al. 2002).

Постоянные или рецидивирующие дефекты роговичного эпителия сопровождаются выраженным роговичным синдромом и снижением зрения. Консервативное лечение данных состояний направлено на стимуляцию регенераторной активности камбиальных клеток. При значительных по площади и часто рецидивирующих дефектах роговичного эпителия, одного терапевтического воздействия недостаточно для обеспечения восстановительных процессов. Более эффективно хирургическое лечение, которое заключается в ауто- или аллогенной трансплантации лимбальной ткани (Basti S., Rao S.K. 2000; Pires F. et al. 2000; Shimazaki J. 2000; Милюдин Е.С. 2007).

Аутоотрансплантация возможна лишь в случаях, когда на парном глазу отсутствуют патологические изменения. Однако, имеющаяся при этом вероятность развития патологических изменений после хирургического иссечения участка лимба, ограничивает показания к выполнению данной операции. При использовании аллогенного трансплантата необходимо применение иммунодепрессантов с целью предотвращения реакции отторжения аллотрансплантата (Prabhasawat P. et al. 1997; Shimazaki J. 2000; Милюдин Е.С. 2007).

Альтернативным методом может быть амниопластика, стимулирующая репаративную активность камбиальных клеток роговичного эпителия. Имеющиеся в структуре амниона факторы роста, ламинины и другие биологически активные вещества, уменьшают процессы апоптоза, способствуют обновлению и увеличению регенераторной активности сохранившихся региональных стволовых клеток, способствуют перемещению и фиксации на поверхности роговой оболочки зрелых эпителиоцитов (Keelan J.A. 1997; Pires F. et al. 2000; Милюдин Е.С. 2007).

До сих пор пересадка амниона использовалась только у взрослых при лечении различных заболеваний роговицы и некоторых её травмах (Батманов Ю.Е., Егорова К.С. 1990; Демин Ю.А.с соавт. 2002; Новицкий И.Я., Сарахман М.Н. 2003).

Между тем, амниотическая мембрана (АМ) имеет ряд преимуществ перед вышеуказанными материалами, обладает дополнительным лечебным эффектом, наложение амниона не вызывает иммунологических реакций, а следовательно трансплантация ее при патологиях роговицы у детей является

актуальной проблемой.

Степень изученности проблемы. Проблема оптимизации методов лечения воспалительных заболеваний роговицы в современных условиях приобретает особую актуальность в связи с широкой их распространённостью (Майчук Ю.Ф.2001). Параллельно сдвигам в этиологических факторах развития инфекции меняются и сами возбудители – растёт число резистентных штаммов микроорганизмов ко многим, наиболее часто применяемым, антибактериальным препаратам (S.T. Azuara-Blanco et al.1999). В связи с этим, сегодня течение воспалительного процесса в роговице, как правило, приобретает затяжной характер и вызывает большие затруднения при его лечении, что заставляет офтальмологов искать новые комплексные пути воздействия на него.

Среди хирургических методов лечения инфекционных заболеваний роговицы ведущее место принадлежит лечебной кератопластике. В качестве биологического покрытия наиболее подходящим является амниотическая мембрана человека, обладающая высокой прочностью и пластичностью. Она не препятствует прохождению лекарственных веществ из конъюнктивальной полости, что даёт возможность использовать её в качестве универсального биологически активного барьера. Кроме того, АМ является полупрозрачной и позволяет беспрепятственно наблюдать за динамикой патологического процесса в роговице. Доказана способность амниотической мембраны активизировать процессы репаративной регенерации в роговице посредством содержащихся в ней биологически активных энзимов (Каспаров А.А., Труфанов С.В. 2003).

В настоящее время аллогенные материалы с успехом применяются в лечении таких заболеваний, как прогрессирующая близорукость, помутнение роговицы, травмы и ожоги глаз (E.R.Muldashew, R.T.Vulatov et al. 1990).

С другой стороны, актуальную проблему представляют собой заболевания глаз дегенеративно-дистрофического характера, имеющие наследственную или приобретённую природу. Традиционно используемое медикаментозное лечение обеспечивает лишь кратковременный или недостаточный эффект, что побуждает исследователей к поискам новых методов.

Особую актуальность приобретает поиск естественных биологически активных веществ (или их стимуляторов), способных модулировать процесс заживления раны, обеспечивать образование рубца, содержащего незначительный объём новообразованной ткани, и обладающих большой проницаемостью. С этой целью в последние годы широко стала применяться трансплантация амниона.

Совершенствование методов амниопластики в лечении заболеваний роговицы у детей, разработка методов консервации АМ для применения в офтальмохирургии, также является актуальной проблемой.

Связь диссертационной работы с тематическими планами научно-исследовательских работ. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ кафедры офтальмологии, детской офтальмологии ТашПМИ (номер госрегистрации: 01.980006703. «Врожденная патология органа зрения»).

Цель исследования: усовершенствование хирургического метода лечения дефектов поверхностных и глубоких слоев роговицы у детей с применением консервированной амниотической мембраны.

Задачи исследования:

1. Дать морфологическую характеристику амниотической мембране после консервации её в растворах формалина различной концентрации, определить преимущества консервации в 0,25% растворе формалина и обосновать возможность ее использования для трансплантации.

2. Определить эффективность применения консервированной амниотической мембраны при усовершенствованном методе хирургического лечения язв роговицы у детей, обусловленных кератитами вирусной, бактериальной, травматической и аллергической этиологий.

3. Определить сравнительную эффективность амниопластики дефектов роговицы с результатами кератоластики аутоконъюнктивой у детей.

Объект и предмет исследования. Объектом исследования служили 60 пациентов (62 глаза), с различными патологическими состояниями роговицы (кератиты вирусной, травматической, бактериальной и аллергической этиологии) с дефектами поверхностных и глубоких слоёв роговицы.

Методы исследования: морфологические, офтальмологические, общеклинические, статистические.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Установлена полная сохранность морфологии всех структур амниотической мембраны при консервации её в 0,25% растворе формалина, а также длительность ее хранения и жизнеспособности в течение 30 суток.

2. Разработанный метод амниопластики поверхностных и глубоких дефектов ткани роговицы у детей, обусловленных кератитами вирусной, бактериальной, травматической и аллергической этиологий обеспечивает эпителизацию язв роговицы на 7-10-е сутки и купирование воспалительных процессов в течение 10-30 суток.

3. Лечебная кератоластика консервированной АМ сокращает сроки эпителизации дефектов роговицы и восстановления ее свойства на 15-20 суток, а также восстанавливает зрительные функции на 30% выше в сравнении с кератопластикой аутоконъюнктивой.

Научная новизна работы:

1. Впервые дана морфологическая характеристика амниотической мембраны после консервации в 0,25% и 0,75% растворах формалина.

2. Уточнены и обоснованы преимущества использования амниотической мембраны после консервации в 0,25% растворе формалина.

Морфологическими и клиническими исследованиями обосновано, что амниотическая мембрана служит основой для роста роговичного эпителия, обеспечивающего устойчивую и равномерную эпителизацию роговичного дефекта.

3. Рекомендован усовершенствованный метод лечебной кератопластики с применением консервированной амниотической мембраны при лечении дефектов роговицы у детей.

Научная и практическая значимость результатов работы:

1. Предложен доступный метод консервации АМ в 0,25% растворе формалина, который позволяет трансплантату сохранить высокую степень биостимуляции и исключает угрозу заражения инфекциями.

2. Трансплантация АМ при различных патологических состояниях роговицы у детей (кератиты вирусной, травматической, бактериальной и аллергической этиологий) позволяет добиться стойкого эпителизирующего эффекта за счет замещения АМ поверхностных и глубоких дефектов слоев роговицы, стимуляции процессов репарации, активизации клеток роста лимбальной зоны.

3. Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что усовершенствованный метод одноразовой трансплантации избавляет больных детей от многократных и малоэффективных консервативных методов терапии, ускоряет процесс реабилитации и, таким образом, даёт возможность получить социально-экономический эффект.

Реализация результатов. Основные результаты исследования внедрены в клиническую практику и учебный процесс для студентов 5-7 курсов глазного отделения клиники, кафедры «Офтальмология, детская офтальмология» ТашПМИ, Республиканской офтальмологической больницы Республики Каракалпакстан (г. Нукус), «Офтальмология, Патологическая анатомия, ОХТА, Судебная медицина» Нукусского филиала ТашПМИ (акты внедрения от 24.12.10 № 6, 26.12.10 № 336, 18.01.12 № 5; поданы 2 заявки на изобретения в Государственное патентное ведомство Республики Узбекистан «Способ консервации амниотической мембраны» № IAP 20110294 от 11.07.2011, «Способ хирургического лечения повреждений и заболеваний глаза» № IAP 20110320 от 20.07.2011).

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на Международном конгрессе в Санкт-Петербурге (Санкт-Петербург, 2005), Научно-практической конференции с международным участием «Перспективы развития детской офтальмологической службы» (Ташкент 2005, 4-5 мая), Республиканской научно-практической конференции «Современные аспекты судебно-медицинской экспертизы и криминалистики» (Ташкент, 2006), а также на кафедральном научном заседании (8 ноября 2011), заседании межкафедрального хирургического апробационного совета ТашПМИ (12 ноября 2011) и заседании научного семинара при Специализированном Совете Д.087.01.02 при ТМА (19 декабря

2011).

Опубликованность результатов. По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ: 3 журнальные статьи (1 за рубежом), 10 тезисов, и поданы 2 заявки на изобретения № IAP 20110294 от 11.07.2011 «Способ консервации амниотической мембраны», № IAP 20110320 от 20.07.2011 «Способ хирургического лечения повреждений и заболеваний глаза» в Государственное патентное ведомство Республики Узбекистан.

Структура и объем диссертации. Диссертация написана на русском языке, изложена на 96 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, 3-х глав собственных наблюдений, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя, содержащего 112 литературных источников - СНГ и 93 источников - дальнего зарубежья. Диссертация иллюстрирована 19 таблицами, 37 диаграммами и 22 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Введение. Раскрыта актуальность темы, определены цели и задачи, научная и практическая значимость диссертационной работы, обоснованы основные положения, выносимые на защиту, а также приведены данные об апробации результатов исследования и сведения о публикации основных полученных результатов. Освещены структура и объем диссертации.

Глава 1. «Анатомо-морфологическое, клинико-экспериментальное обоснование применения амниона в офтальмохирургии». Приведён анализ современной научной литературы, посвящённой этой проблеме. Подробно изложены результаты исследований анатомо-физиологических особенностей амниона. Приведены краткие сведения о методах консервации амниотической мембраны. Проанализированы экспериментальные исследования по изучению свойств амниотической ткани. Приведены доказательства, свидетельствующие о преимуществе трансплантации амниотической мембраны как биологического метода стимуляции репаративной регенерации в офтальмохирургии.

Глава 2. «Материалы и методы исследования». Подробно излагается процесс заготовки и консервации амниотической мембраны, детально описываются морфологические методы исследования консервированной амниотической мембраны, излагаются офтальмологические методы исследования, даётся клиническая характеристика обследованных больных: анализируется общий материал, который рассматривается по полу и возрасту, времени получения травмы и др. Всего рассмотрено 60 случаев (62 глаза) с язвами роговицы различной этиологии.

Приводится описание, использованных при проведении исследования, статистических методов обработки результатов исследования.

Клиническую группу составили 60 пациентов (62 глаза), находившихся на стационарном лечении в глазном отделении клиники ТашПМИ в период с

2005 по 2010 годы. Среди общего числа пациентов с язвами роговицы бактериальной этиологии было 19 больных (21 глаз), из них с перфорацией -- 8 больных (9 глаз); вирусной этиологии – 10 больных (10 глаз), из них с перфорацией – 2 больных (2 глаза); травматической этиологии – 24 пациента (24 глаза), из них с перфорацией – 9 человек (9 глаз); аллергической этиологии 3 пациента (3 глаза) из них с перфорацией – 1 (1 глаз).

По методу лечения дети распределялись следующим образом: в I-ю группу (основную) вошли 41 пациент (41 глаз), которым проводили амниопластику роговицы. Во II-ю группу (контрольную) 19 пациентов (21 глаз), получивших хирургическое лечение – покрытие язвы роговицы аутоконъюнктивой по Кунту (модифицированная методика).

Распределение детей основной и контрольной группы в зависимости от патологических состояний роговицы показано в таблице 1.

Таблица 1.

Распределение детей в зависимости от патологических состояний роговицы

п/п	Наименование патологических состояний роговицы	Кол-во случаев абс (%)	Кол-во глаз абс (%)
Основная группа			
1.	Язвы роговицы бактериальной этиологии	11(26,8%)	11(26,8%)
	с перфорацией	5(12,2%)	5(12,2%)
	без перфорации	6(14,6%)	6(14,6%)
2.	Язвы роговицы вирусной этиологии	8(19,5%)	8(19,5%)
	с перфорацией	2(4,9%)	2(4,9%)
	без перфорации	6(14,6%)	6(14,6%)
3.	Язвы роговицы травматической этиологии	19(46,4%)	19(46,4%)
	с перфорацией	7(17,1%)	7(17,1%)
	без перфорации	12(29,3%)	12(29,3%)
4.	Язвы роговицы аллергической этиологии	3(7,3%)	3(7,3%)
	с перфорацией	1(2,4%)	1(2,4%)
	без перфорации	2(4,9%)	2(4,9%)
	Всего	41(100%)	41(100%)
Контрольная группа			
1.	Язвы роговицы бактериальной этиологии	8(47,6%)	10(47,6%)

Продолжение

	с перфорацией	3(19%)	4(19%)
	без перфорации	5(26,3%)	6(28,6%)
2.	Язвы роговицы вирусной этиологии	3(15,8%)	3(14,3%)
	с перфорацией	-	-
	без перфорации	3(15,8%)	3(14,3%)
3.	Язвы роговицы травматической этиологии	5(26,3%)	5(23,8%)
	с перфорацией	2(10,5%)	2(9,5%)
	без перфорации	3(15,8%)	3(14,3%)
4.	Язвы роговицы аллергической этиологии	3(15,8%)	3(14,3%)
	с перфорацией	-	-
	без перфорации	3(15,8%)	3(14,3%)
	Всего	19(100%)	21(100%)

Среди всех обследованных больных основной группы количество мальчиков составляло 21(51,2%) случаев, девочек – 20 (48,8%)

В группе контроля количество мальчиков составляло 7 (45,7%) случаев, девочек – 8 (53,3%).

Распределение детей по возрасту проводилось в соответствии с классификацией ВОЗ [2005]. Возраст больных варьировал от 1 недели до 14 лет и, в среднем, составлял $6,3 \pm 0,63$ лет. В основной группе средний возраст больных составлял $6,9 \pm 0,78$ лет, в контрольной группе – $4,8 \pm 0,90$ года. Распределение больных детей по полу и возрасту на рисунках 1 и 2.

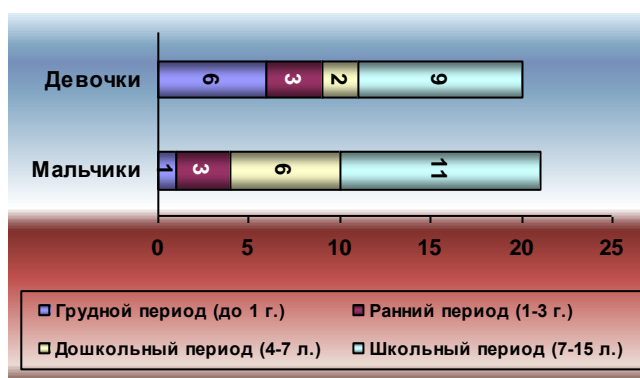


Рис. 1. Распределение пациентов по полу и возрасту (основная группа)

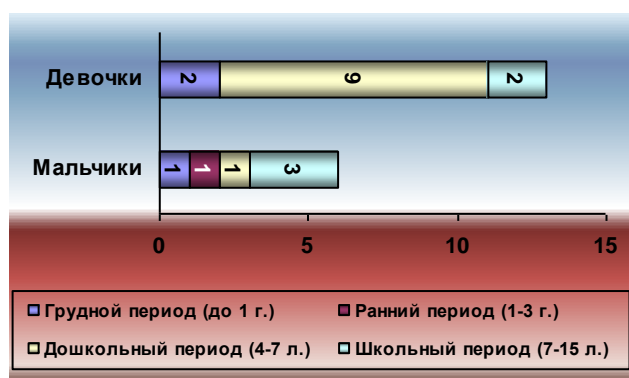


Рис. 2. Распределение пациентов по полу и возрасту (контрольная группа)

В основной группе средние показатели возраста в грудном периоде были $0,4 \pm 0,08$ (мес.), в раннем периоде – $1,7 \pm 0,33$ (года), в дошкольном периоде – $5,3 \pm 0,31$ (лет) и в школьном периоде – $11,4 \pm 0,54$ (лет). В контрольной группе эти показатели составляли, соответственно, $0,5 \pm 0,27$

(мес.), $1,0 \pm 0,5$ (года) и $8,4 \pm 0,6$ (лет).

В среднем пациенты находились в клинике $15,4 \pm 1,0$ койко-дней. При этом средний показатель пребывания в клинике в основной группе составил $15,0 \pm 1,3$, а в контрольной группе – $16,7 \pm 1,6$ койко-дней соответственно.

Обследование больных детей включало как общепринятые офтальмологические, так и функциональные, лабораторные методы исследования.

Глава 3. «Морфологическая характеристика амниотической мембраны после консервации». Представлены морфологические параметры свежей амниотической мембраны, а также после консервации в 0,25% и в 0,75% растворах формалина.

В ходе исследования изучалась структура каждого слоя АМ: эпителия, основной мембраны, бесклеточной зоны, соединительнотканной стромы. Исследования проводились в сравнительном аспекте: изучали морфологию нормальной свежей АМ; затем АМ консервированной в 0,25% растворе формалина в течение 1 месяца, а также АМ, консервированной в 0,75% растворе формалина в течение 1 месяца.

При микроскопическом исследовании АМ, консервированной в течение месяца в 0,25% растворе формалина отмечается полная сохранность структуры и тинкториальных свойств амниотической мембраны. Обнаружены одинаковые клетки овальной формы, с крупными, неравномерно окрашенными ядрами. Отмечается незначительный перицеллюлярный отёк клеточных структур (рис. 3).

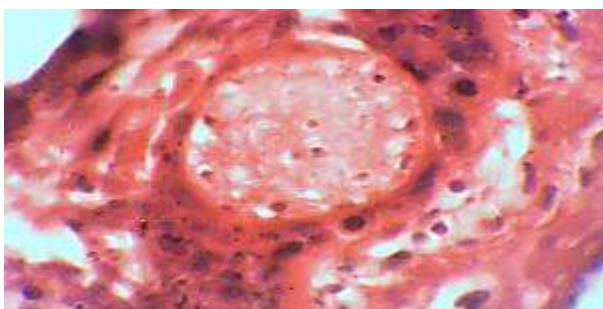


Рис. 3. Сохранность структуры амниотической оболочки через 1 месяц после консервации в 0,25% растворе формалина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x40.

Клеточные структуры базальной мембраны амниотической оболочки, после консервации в 0,25% растворе формалина сохранены, в большинстве своём многоядерные, ядра неравномерно окрашены, местами определяется незначительный перицеллюлярный отёк клеточных структур (рис. 4).

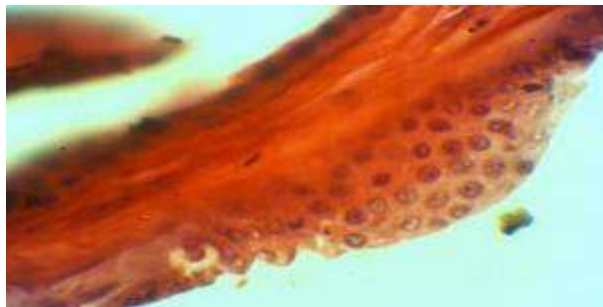


Рис. 4. Сохранность клеточных структур базальной мембраны после консервации в 0,25% растворе формалина. Гиперхромия ядер и незначительный перицеллюлярный отёк базальных клеток. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x40.

Губчатый слой образован рыхлой волокнистой соединительной тканью, где отмечается отёчное разволокнение коллагеновых и ретикулярных структур, среди которых выявляются единичные гипохромно окрашенные фибробласты (рис. 5).

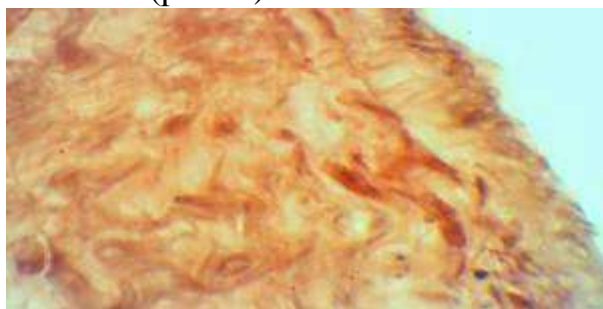


Рис. 5. Строение губчатого слоя амниотической оболочки после консервации в 0,25% растворе формалина, выявлено незначительное разволокнение и гомогенизация коллагеновых структур. Окраска по Ван-Гизону. Увеличение 10x40

Спонгиозный слой построен из ретикулярных волокон, между полями которых отмечается накопление жидкости, а также встречаются отдельные гипохромно окрашенные фибробласты и единичные макрофаги (рис. 6).

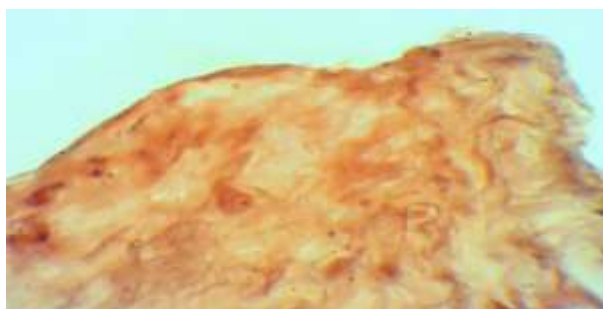


Рис. 6. Спонгиозный слой амниотической оболочки. Сохранность структуры слоя после консервации в 0,25% растворе формалина. Окраска по Ван-Гизону. Увеличение 10x40

На отдельных участках препарата, на поверхности базальной мембраны, наряду с вакуолизированными клеточными структурами, определяются микроворсины (рис. 7).

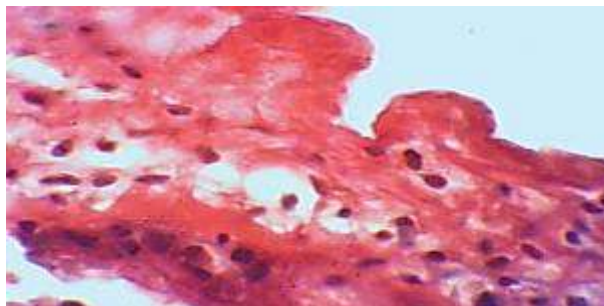


Рис. 7. Вакуолизация клеток базальной мембраны с образованием микроворсинок после консервации в 0,25% растворе формалина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x40.

Эпителий амниона плацентарного диска имеет характерную структуру, образованную из однослойных призматических клеток, а местами обнаруживаются многорядные клетки. Ядра их неравномерно окрашены, подлежащая ткань состоит из гомогенизированных коллагеновых структур, где выявляются отдельные, слабо окрашенные фибробласты (рис. 8).



Рис. 8. Эпителий амниона в области плацентарного диска после консервации в 0,25% растворе формалина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x40

Через 1 месяц после консервации в 0,75% растворе формалина микроструктура амниотической оболочки сохранилась. В соединительнотканной строме и базальной мембране чётко выявлялись клеточные структуры с гиперхромно окрашенными ядрами (рис. 9).

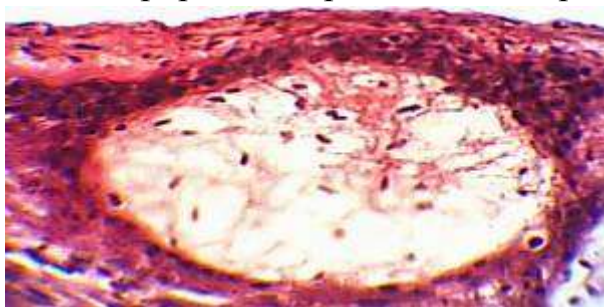


Рис. 9. Сохранность структуры амниотической оболочки через 1 месяц после консервации в 0,75% растворе формалина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x40

Клеточные элементы имели овально-вытянутые формы, их ядра в большей части препарата хорошо окрашивались, были гиперхромными, местами клетки были вакуолизированы (рис. 10).

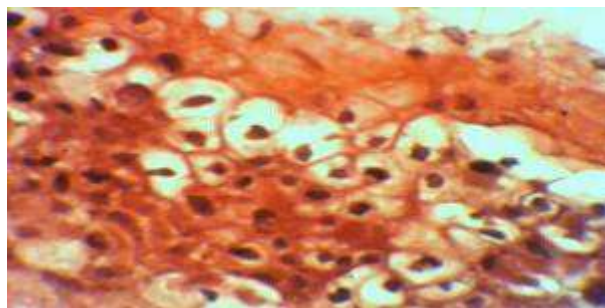


Рис. 10. Вакуолизация клеточных структур базальной мембраны амниотической оболочки после консервации в 0,75% растворе формалина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x40

Отмечалась полная сохранность клеточных структур эпителия амниотической оболочки в области плацентарного диска. Клетки в большей части препарата были однослойными, призматическими, ядра их были гиперхромными, подлежащая ткань была гомогенизирована. Наряду с этим отмечались дистрофические изменения клетки (рис. 11).

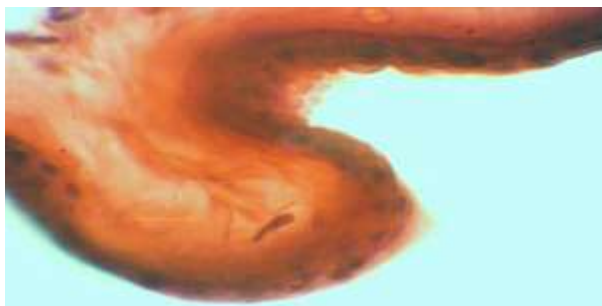


Рис. 11. Сохранность микроскопических структур эпителия амниона в области плацентарного диска: единичные дистрофические очаги после консервации в 0,75% растворе формалина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 10x40.

Таким образом, наши исследования показали, что, после консервации амниотической оболочки вышеуказанными методами, во всех случаях сохраняются её микроскопическая структура и тинкториальные свойства. Однако, после консервации амниотической оболочки в 0,75% растворе формалина, имеют место дегенеративные изменения, хотя и её морфологическая структура сохраняется довольно хорошо, что, по-видимому, связано с явлениями фиксации.

Морфологические данные амниотической оболочки, после консервации в 0,25% растворе формалина указывают на сохранность не только пластических структурных свойств, но и биологической активности АМ.

Глава 4. «Хирургическое лечение различных патологических состояний роговицы у детей». Изложены результаты лечения язв роговицы у детей традиционным методом по Кунту и разработанным при проведении исследования методом трансплантации амниотической мембраны.

Подробно излагаются результаты традиционного хирургического лечения роговицы у детей.

Под наблюдением находилось 19 детей (21 глаз) получавших традиционное хирургическое лечение (группа контроля). Данное лечение включало в себя операцию покрытие роговицы аутоконъюнктивой по Кунту (в модификации). Возраст больных в среднем составил $5,2 \pm 0,7$ лет; мальчиков было 11 (57,9%), девочек – 8 (42,1%).

Все пациенты получали длительное (в течение 15-45 суток) консервативное лечение по месту жительства, которое было неэффективно, а в 26,3% случаях патологический процесс углубился до эндотелиального слоя роговицы и привел к его разрыву.

Больным с перфорацией роговицы в первые сутки поступления в экстренном порядке проводили операцию покрытие роговицы аутоконъюнктивой по Кунту (в модификации) с блефарорафией. Остальным больным, после 3-5 дневной предоперационной подготовки, также проводили аналогичную операцию. Швы с блефарорафии снимали через 15 суток, эффективность хирургического лечения определялась по уменьшению воспалительных реакций, срокам эпителизации язвы, восстановлению свойств роговицы и зрительных функций, отсутствию рецидивов и осложнений. Осмотр проводился на 3-и, 5-е, 10-е сутки, через 1 месяц, 6 месяцев и через 12 месяцев после операции.

Для комплексной и объективной оценки происходящих биомикроскопических изменений в переднем отрезке глаза была разработана таблица критериев степени поражения роговицы (табл. 2), согласно которой 11-ти признакам, отражающим тяжесть патологического процесса, была присвоена соответствующая шкала баллов. По этой шкале наибольшими значениями баллов оценивались наиболее важные диагностические критерии. Количественное значение баллов соответствовало степени выраженности того или иного клинического признака. Это позволило определить динамику патологического процесса и эффективность лечения.

Таблица 2.

Диагностические критерии оценки степени тяжести поражения роговицы

№	Критерии оценки и их градация	Балл
1	2	3
1.	Синдром воспаления	
	Нет	0
	Слабо выражен	1
	Есть	2
2.	Инъекция сосудов склеры	
	Нет	0

Продолжение

	Перикорнеальная	1
	Смешанная	2
3.	Отёк роговицы	
	Нет	0
	Умеренно отёчная	3
	Есть	6
4.	Зона локализации язвы	
	Оптическая	1
	Параоптическая	2
	Оптикопараоптическая	3
5.	Прозрачность	
	Прозрачная	0
	Умеренно мутная	5
	Мутная	10
6.	Площадь (d) язвы роговицы	
	Отсутствует	0
	d = 1-3 мм	1
	d = 3-4 мм	5
	d > 4 мм	10
7.	Глубина язвы роговицы	
	Отсутствует	0
	До стромы	1
	До десцеметовой оболочки	5
	Перфорация	10
8.	Васкуляризация	
	Нет	0
	Единичная	3
	Выражена	6
9.	Эпителизация	
	Выражена	0
	Замедленная	5
	Отсутствует	10
10.	Чувствительность роговицы	
	Есть	0
	Снижена	3
	Нет	6
11.	Наличие осложнений	
	Осложнений нет	0
	Неоваскуляризация	1

Наличие хотя бы одного из следующих признаков: офтальмогипертензия, травматическая катаракта, бомбаж радужки, ущемление радужки в ране	5
Эндофтальмит, факогенный увеит, рецидив язвы и т.д.	10

У детей из группы контроля после операции болевой синдром уменьшался на 5-е сутки. Болевые ощущения мы могли оценивать только у детей старшей возрастной группы после установления доверительных отношений. Симптомы воспаления достоверно уменьшались к одному месяцу и полностью исчезали к 5-6 месяцам; инъекция сосудов эписклеры, отёк роговицы держались до 1 месяца; эпителизация язвы начиналась с 10-го дня и завершалась, в среднем, по истечении полугодового периода; чувствительность роговицы в динамике частично восстанавливалась к 6-и месяцам, а при вирусных кератитах была снижена в течение года; васкуляризация уменьшалась к концу полугодия, но, при вирусных кератитах, полностью не исчезала в течение года; прозрачность роговой оболочки, к сожалению, не восстанавливалась, что было связано с васкуляризацией, врастанием аутоконъюнктивы в строму роговицы. Среди нежелательных исходов в 19 (100%) случаях отмечалась васкуляризация трансплантированной аутоконъюнктивы. При этом васкуляризация отмечена во всех группах с кератитами бактериальной, вирусной, аллергической и травматической этиологии.

Острота зрения, в среднем, до операции составила $0,03 \pm 0,01$, на 10-й день после операции – $0,05 \pm 0,02$, через месяц – $0,05 \pm 0,01$, через 6 месяцев – $0,10 \pm 0,03$, в год – $0,11 \pm 0,03$. Из осложнений до операции отмечены ущемления радужки в ране в 2-х (9,5 %) случаях, которые были устранены в ходе пластики роговицы. Данные УЗИ обследования, тонометрии, офтальмоскопии изменений не выявлено.

Синдром воспаления во всех группах был практически одинаков, наиболее высокие баллы зарегистрированы у детей с язвами вирусной и аллергической этиологий, глубина поражения роговицы была более выражена у детей с язвами бактериальной и травматической этиологий. В послеоперационном периоде время регенерации язвы и стихания воспалительных процессов также были практически идентичными, но у детей с язвами роговицы вирусной, бактериальной и травматической этиологий это время было наиболее продолжительным.

Далее подробно излагаются результаты хирургического лечения заболеваний роговицы у детей с применением консервированной амниотической мембраны.

Для хирургического лечения патологии роговицы у детей основной группы нами была использована консервированная в 0,25% растворе формалина АМ.

Под наблюдением находился 41 ребёнок (41 глаз).

Возраст больных в среднем составил $6,9 \pm 0,78$ лет; мальчиков было 21 (57,9%), девочек – 20 (42,1%).

Из всех наблюдаемых 6 (14,6%) пациентов лечились от 20-ти до 53-х суток, 30 (73,2%) – от 10-ти до 20-ти суток и 5 (12,2%) – от 5-ти до 9-ти суток консервативно, что оказалось неэффективным.

Всем больным с перфоративной язвой роговицы произведена экстренная лечебная кератопластика консервированной АМ, остальным детям амниопластика была произведена через 3-5 суток после госпитализации в плановом порядке. Техника операции у всех больных была идентичной.

У 3-х больных с симблефароном после ожогов II, III степени были дополнительно применены элементы пластической хирургии.

До операции у детей острота зрения составила в среднем $0,06 \pm 0,02$. Явления воспаления составили $1,71 \pm 0,1$ балла. Эпителизация начиналась с 3-го дня после операции, и заканчивалась у больных с язвами роговицы аллергической и бактериальной этиологии к 10-му дню, у детей с язвами роговицы травматической и вирусной этиологий – к 1 месяцу после операции. Чувствительность роговицы у больных с язвами бактериальной, травматической и аллергической этиологий полностью восстанавливалась к 1 месяцу со дня операции, при язвах вирусной этиологии – к полугодовому сроку. Прозрачность роговицы, хотя и частично, только в группе больных с язвами роговицы аллергической и бактериальной этиологии восстанавливалась к 1 месяцу, а у детей с вирусными и травматическими кератитами к 6-му месяцу. Васкуляризация роговицы полностью исчезала в течении 10-30 суток у всех пациентов основной группы.

Из осложнений до операции нами были отмечены: симблефарон (3 случая), ущемление радужки в ране роговицы (3 случая), которые были устранены в ходе амниокератопластики.

Особенностью лечебной кератопластики при помощи АМ является то, что на 9-10 сутки АМ «сползает» с поверхности роговицы, оставляя после себя полностью восстановленный дефект в слоях роговицы.

Явления васкуляризации достаточно быстро исчезали, что свидетельствовало о благоприятном влиянии АМ на процесс репарации и уменьшения воспалительной реакции. До операции острота зрения составляла в среднем $0,06 \pm 0,02$, после операции через 10 дней $0,18 \pm 0,03$; через 1 месяц $0,23 \pm 0,04$; через 6 месяцев $0,32 \pm 0,04$; через 1 год $0,4 \pm 0,04$.

В заключении третьей главы дана сравнительная характеристика результатов кератопластики традиционным методом и с применением консервированной амниотической мембраны.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выводы:

1. После консервации в 0,25% растворе формалина

морфологические данные амниотической оболочки указывают на сохранность не только пластических, микроскопических, тинкториальных структурных свойств, но и биологической активности АМ. При консервации АМ в 0,75% растворе формалина отмечены дегенеративные изменения.

2. Сохранение биологической активности АМ, отсутствие инфекционных агентов в АМ, длительность сохранения жизнеспособности, биологической активности АМ после консервации в 0,25% растворе формалина обосновывает преимущества и возможность применения данной АМ для трансплантации.

3. Доказана эффективность лечебной кератопластики консервированной в 0,25% растворе формалина АМ при дефектах роговицы у детей, обусловленных кератитами вирусной, бактериальной, травматической и аллергической этиологий.

4. Выявлены преимущества лечебной кератопластики консервированной АМ перед кератопластикой аутоконъюнктивой, которые заключаются в сокращении сроков эпителизации дефектов роговицы и восстановления ее свойств на 15-20 суток, а также в повышении зрительных функций на 30%.

Практические рекомендации:

1. Наиболее оптимальным способом консервации амниотической мембраны для последующего применения её в офтальмохирургии является её консервация в 0,25% растворе формалина.

2. Наиболее оптимальный срок хранения амниотической мембраны, консервированной в 0,25% растворе формалина, составляет 30 суток.

3. Использование амниотической мембраны в качестве биологической повязки при язвах роговицы различной этиологии позволяет восстанавливать дефекты роговицы без дополнительного применения местных инстилляций.

4. Наиболее эффективным и экономически выгодным методом лечения язв роговицы различной этиологии у детей является амниопластика с применением амниотической мембраны, консервированной в 0,25% растворе формалина

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ:

1. Искандарова М.А. Трансплантация амниотической мембраны в детской офтальмологии. //Сб. тезисов 5-го съезда педиатров Узбекистана. – Ташкент, 2004. – С.343.

2. Искандарова М.А., Захидов Б.О. Трансплантация амниотической мембраны при абсцессах роговицы у детей. //Научно-практическая конференция с международным участием: Перспективы развития детской офтальмологической службы. – Ташкент, 2005. – С.29-31.

3. Искандарова М.А., Захидов Б.О., Саидова Д.Т. Применение амниотической мембраны при патологиях роговицы. //Научно-практическая конференция с международным участием: Перспективы развития детской офтальмологической службы. – Ташкент, 2005. – С.31-33.

4. Искандарова М.А., Захидов Б.О., Бабаджанова Л.Д. Использование амниотической оболочки при патологиях роговицы и конъюнктивы у детей. //Сб. тезисов, посвященный 70-летнему юбилею кафедры детской офтальмологии Российской медицинской академии. – СПб., 2005. – С.84-85.

5. Искандарова М.А., Захидов Б.О., Бабаджанова Л.Д., Хамраева Л.С. Использование амниотической мембраны в экстренной аутокератопластики. //Педиатрия. – Ташкент, 2006. – № 1. – С.79-80.

6. Искандарова М.А., Захидов Б.О., Бабаджанова Л.Д., Хамраева Л.С., Саидова Д.Т. Применение амниотической мембраны при лечении язвы роговицы у ребёнка грудного возраста после удаления инородного тела. //Педиатрия. – Ташкент, 2006. – №2. – С.95-97.

7. Искандарова М.А., Таиров А.Р. Вопросы консервации амниотической мембраны при использовании в детской офтальмологии //Сб. тезисов 1-ой Республиканской научно-практической конференции: Актуальные проблемы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. – Ташкент, 2006. – С.96-97.

8. Искандарова М.А., Хамраева Л.С., Захидов Б.О., Мавлянова Д.А. Применение биоматериалов в пластической реконструктивной хирургии ожогов глаз у детей. //Сб. тезисов научно-практической конференции: Актуальные проблемы пластической хирургии. – Ташкент, 2008. – С.57-59.

9. Искандарова М.А., Бабаджанова Л.Д., Хамраева Л.С. Амниопластика при посттравматическом кератите с синдромом Гольденара. //Здравоохранение. – Минск, 2011. – № 7. – С.51-52.

10. Искандарова М.А., Султанова З.Ш. Применение амниопластики при хирургическом лечении посттравматической язвы роговицы. //ТошПТИ, магистратура резидентлари ва клиник ординаторларнинг 9-илмий-амалий анжумани. – Тошкент, 2011. – С.161-162 б.

11. Искандарова М.А., Турсунова Ф.А. Поражение органа зрения у детей с синдромом Гольденара. //ТошПТИ, талабалар 39-илмий назарий анжуман тўплами. – Тошкент, 2011. – 173 б.

12. Патент РУз №IAP 20110320. Способ хирургического лечения повреждений и заболеваний глаза / Искандарова М.А., Захидов Б.О., Таиров А.Р. – Расмий ахборотнома. – 2011. (сдана в печать).

13. Патент РУз №IAP 20110294. Способ консервации амниотической мембраны /Искандарова М.А., Кулдашев Д.Р. - Расмий ахборотнома. – 2011. (сдана в печать).

Автор выражает глубокую благодарность профессору Кулдашеву Давлату Расуловичу за практическую помощь в проведении морфологической части исследования.

РЕЗЮМЕ

диссертации **Искандаровой Малики Алишеровны** на тему: «Трансплантация амниотической мембраны при патологии роговицы у детей» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности **14.00.08 – Глазные болезни**.

Ключевые слова: патология роговицы у детей, консервация амниотической мембраны, трансплантация амниотической мембраны.

Объект исследования: 60 больных (62 глаза) с патологиями роговицы.

Цель работы: усовершенствование хирургического метода лечения дефектов поверхностного и глубоких слоев роговицы у детей с применением консервированной амниотической мембраны.

Методы исследования: общеклинические, офтальмологические, морфологические, статистические.

Полученные результаты и их новизна: впервые дана морфологическая характеристика АМ после консервации в 0,25% и 0,75% растворах формалина. Уточнены и обоснованы преимущества использования АМ после консервации в 0,25% растворе формалина. Обосновано, что АМ служит основой для роста роговичного эпителия. Разработан усовершенствованный метод хирургического лечения кератитов у детей с применением консервированной АМ.

Практическая значимость: предложен доступный метод консервации АМ в 0,25% растворе формалина, позволяющий трансплантату сохранить высокую степень биостимуляции и исключаящий угрозу заражения инфекциями и передачи генетических заболеваний. Достигнут стойкий эпителизирующий эффект за счет замещения АМ поверхностных и глубоких дефектов слоев роговицы, стимуляции процессов репарации, активизации клеток роста лимбальной зоны. Усовершенствован метод одноразовой трансплантации АМ.

Степень внедрения и экономическая эффективность: результаты исследования внедрены в клиническую практику и учебный процесс для студентов 5-7 курсов кафедры «Офтальмология, детская офтальмология» ТашПМИ, Республиканской офтальмологической больницы Республики Каракалпакстан (г. Нукус), «Офтальмология, Патологическая анатомия, ОХТА, Судебная медицина» Нукусского филиала ТашПМИ. Поданы 2 заявки на изобретения в Государственное патентное ведомство Республики Узбекистан.

Применение метода трансплантации избавляет больных детей от многократных и малоэффективных консервативных методов терапии, ускоряет процесс реабилитации, таким образом, даёт возможность получить социально-экономический эффект.

Область применения: офтальмология, детская офтальмология.

Тиббиёт фанлари номзоди илмий даражасига талабгор Искандарова Малика Алишеровнанинг 14.00.08 – Кўз касалликлари ихтисослиги бўйича «Болаларда шох парда касалликларида амниотик мембрана трансплантацияси» мавзусидаги диссертациясининг

РЕЗЮМЕСИ

Таянч сўзлар: болаларда шох парда касалликлари амниотик мембрана консервацияси, амниотик мембрана трансплантацияси.

Тадқиқот объектлари: шох парда касалликлари билан оғриган 60 бемор (62 та кўз).

Ишнинг мақсади: болалардаги шох парданинг юзаки ва чуқур қатламлари нуқсонларини консервацияланган амниотик мембранадан фойдаланган ҳолда хирургик даволаш усулини такомиллаштириш.

Тадқиқот усуллари: умумклиник, офтальмологик, морфологик, статистик текширув услублари.

Олинган натижалар ва уларнинг янгилиги: биринчи марта амниотик мембранани 0,25% ва 0,75% ли формалин эритмаларида консервациялашдан кейинги морфологик тавсифи берилди. Амниотик мембрананинг 0,25% ли формалин эритмасида консервациялашдан кейин фойдаланишнинг афзалликлари аниқланди ва асослаб берилди. Шох парда эпителийсининг ўсиши учун амниотик мембрана асос бўлиб хизмат қилиши исботланди. Болаларда кератитларни консервацияланган амниотик мембранадан фойдаланган ҳолда жарроҳлик усулида даволашнинг такомиллашган усули тавсия этилди.

Амалий аҳамияти: АМни формалиннинг 0,25% ли эритмасида консервациялашнинг қўлай усули таклиф этилди, бу усул трансплантатга юқори биостимуляция даражасини сақлаш имконини беради ва инфекциялар юқиш хавфини ҳамда ирсий касалликларнинг ўтишини бартараф этади. Шох парда қатламларининг юзаки ва чуқур нуқсонларини АМ билан алмаштириш ҳисобига турғун эпителизацияланиш самарасига эришиш, репаратив жараёнларни стимуляциялаш, лимбал зона ўсиш хужайраларини фаоллаштиришга эришилди. Трансплантатнинг бир марталик имплантация усули такомиллаштирилди.

Татбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги: тадқиқотнинг натижалари ТошПТИ, Қорақалпоғистон Республикаси Республика кўз касалликлари касалхонаси (Нукус шаҳри) клиник амалиётига ва ТошПТИ “Кўз касалликлари, болалар кўз касалликлари” кафедраси, ТошПТИ Нукус филиалининг “Кўз касалликлари, Патологик анатомия, ОХТА, Суд-тиббиёти” кафедраси 5-7 курс талабалар ўқув жараёнига татбиқ этилган. Ўзбекистон Республикаси Давлат патент идораси ихтирога 2 талабнома берилган.

Трансплантация усули бемор болаларни кўп марталик ва кам самарали консерватив даволаш усулларида холос этади, реабилитация жараёнини тезлаштиради, вақтни тежайди ва ижтимоий-иқтисодий самара олиш имконини беради.

Қўлланиш соҳаси: офтальмология, болалар офтальмологияси.

RESUME

Thesis of Iskandarova Malika Alisherovna on the scientific degree competition of the doctor of philosophy in medicine on speciality 14.00.08 – eye diseases. Subject: “Amniotic membrane transplantation at corneal pathology in children”

Key words: corneal pathologies in children, conservation of amniotic membrane.

Subjects of the research: 60 patients (62 eyes) with corneal pathologies were examined.

Purpose of work: Improving of surgical methods for defects treatment of surface and deep layers in cornea at children with use conserved amniotic membrane.

Methods of research: general clinical, ophthalmological, morphological, statistics.

The results achieved and their novelty: for the first time it was given morphologic characteristics of AM after conservation in 0,25% and 0,75% of formalin solutions. The advantages of AM use in 0,25% formalin’s concentration were specified and proved. It was based that AM is the ground for the growth of corneal epithelium. The improved method of surgical treatment keratitis in children with use conserved AM was carried out.

Practical value: the accessible method of AM conservation in 0,25% formalin solution, allowing to keep transplantation with very high level of bio stimulation, and, to exclude the threat of infections and transfer the genetic diseases. The stable epithelial effect on the account of AM replacement of surface and deep defects of corneal layers, stimulation the processes of reparation, activation cells’ growth for limbic zone, were reached. The method of once used implantation of transplant ant was improved.

Degree of embed and economic efficiency: the main results of study were put into practice and academic process for students of eye departments at Tashkent Pediatric Medical Institute (TashPMI), Republican ophthalmic hospital of the Republic of Karakalpakstan (Nukus city), “Ophthalmology, child’s ophthalmology” departments in TashPMI, “Ophthalmology”, “Pathological anatomy”, “OSTA”, “Forensic medicine” of Nukus branch in TashPMI. It is got 2 tenders for patents of the State Patent Office of the Republic of Uzbekistan. Use the method of once used implantation gets rid of sick children from repeated and small effective conservative ways of therapy; it accelerates the process of rehabilitation, keeps time and gives possibility to get social economic effect.

Field of application: ophthalmology, children’s ophthalmology.