

УДК 617.7-002-02:616-022-085.849.19-091.8

© О.В. Зборовська, 2012.

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТКАНИН ОКА ПРИ ВИКОРИСТАННІ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ З 0,1% МЕТИЛЕНОВИМ СИНІМ В КОМБІНАЦІЇ З 10% ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДОМ У ЛІКУВАННІ ЕНДОФТАЛЬМІТІВ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

О.В. Зборовська

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМНУ», м. Одеса

MORFOLOGICAL CHANGES OF EYE TISSUES USING PHOTODYNAMIC THERAPY WITH 0,1% METHYLENE BLUE IN COMBINATION WITH 10% DIMEXIDE IN TREATMENT OF ENDOFTALMITIS WITH BACTERIAL ETIOLOGY

A. V. Zborovskaya

SUMMARY

Experimental studies conducted on 50 eyes of 25 rabbits in the first group of 28 eyes (14 rabbits) - PDT started on the second day from the moment of infection, in animals the second group of 22 eyes (11 rabbits) - PDT started on the fourth day from the moment of infection. Both groups noted a significant decrease in intensity and timing of all phases of inflammation. In the first group eye structure nearly reaches to the tissues intact with minor final productive symptoms after the treatment and at the final of inflammation process. Animals of the second group had significant structural changes of tissues of the eyeball, with a predominance of dystrophic and destructive phenomena in all tissues of the eye, especially the retina at the end of the inflammatory process.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ ГЛАЗА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ С 0,1% МЕТИЛЕНОВЫМ СИНІМ В КОМБИНАЦИИ С 10% ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДОМ В ЛЕЧЕНИИ ЭНДОФТАЛЬМИТОВ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ

А .В. Зборовская

РЕЗЮМЕ

Экспериментальное исследование проведено на 50 глазах 25 кроликов, в первой группе 28 глаз (14 кроликов) – ФДТ начиналась на вторые сутки от момента инфицирования, у животных второй группы 22 глаза (11 кроликов) – ФДТ было начато на четвертые сутки от момента инфицирования.

В обеих группах отмечено значительное уменьшение интенсивности и сроков всех фаз воспаления. В первой группе после проведенного лечения по завершению воспалительного процесса структура глаза и его тканей почти приближается к интактной с небольшими остаточными продуктивными проявлениями. У животных второй группы, по окончании воспалительного процесса отмечено значимые структурные изменения тканей глазного яблока, с преобладанием деструктивных и дистрофических явлений во всех тканях глаза, особенно сетчатки.

Ключові слова: енд офтальміт, морфологічні дослідження, фотодинамічна терапія, метиленовий синій.

Бактеріальні енд офтальміти – це запалення, які виникають в результаті потрапляння інфекційного агенту в порожнину стекловидного тіла, що виникає внаслідок хірургічних втручань та проникаючих травм очей [3]. Серед всіх випадків бактеріального енд офтальміту післяопераційний енд офтальміт складає 56-63 %, травматичний - 22-44 % і лише одиничні випадки зв'язані з прогресуванням і поширенням в порожнину ока інфекції рогівки та склери. Фактично будь-яка операція, що супроводжується розкриттям порожнини ока, може призвести до розвитку внутрішньоочної інфекції [5].

Бактеріальні енд офтальміти залишаються одними з найбільш складних проблем в офтальмології, не зважаючи на наявність широкого спектру антибіотиків та вітреоретинальної хірургії. Антибактеріальне лікування проводиться за допомогою інтравітре-

ального введення антибіотиків, однак прогноз по зору, як правило поганий, що пов'язано з ураженням нейросенсорної частини та пігментного епітелію сітківки. Окрім цього використання антибіотиків нерідко малоефективне в зв'язку із резистентністю збудника та значною нейротоксичністю багатьох препаратів. Актуальним на даний час є пошук методів лікування енд офтальмітів не лише для збереження ураженого ока як органу, але й для відновлення зорових функцій.

Альтернативним методом лікування локальних інфекційних процесів є фотодеструкція інфекційних агентів. Фотодеструкція інфекційних агентів (фотодинамічна антимікробна хімотерапія) - це знищення мікроорганізмів за допомогою фотосенсибілізаторів при опроміненні світлом визначеної довжини хвилі [4,6].

Диметилсульфоксид (ДМСО) вперше був отриманий в 1866 році, але лише на початку 60-х років ХХ

ст. з'явилися повідомлення про використання ДМСО в фармакології та медицині. Було встановлено, що ДМСО володіє протизапальною та антимікробною дією за рахунок здатності добре проникати через біологічні мембрани [2].

Метою дослідження було вивчити в експерименті на модифікованій моделі бактеріального ендодфальміту (*Staphylococcus aureus* та *Escherichia coli*) структурні зміни тканин ока при проведенні фотодинамічної терапії (0,1% метиленовий синій в комбінації з 10% диметилсульфоксидом) в різні терміни.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальне дослідження проведено на 50 очагах 25 кроликів породи шиншила масою 2,5-3,0 кг, самців. Модель бактеріального ендодфальміту та методика проведення ФДТ з метиленовим синім в комбінації з 10% ДМСО описана раніше [1]. Кролики були розділені на 2 групи. В першій групі 28 очей (14 кроликів) – ФДТ починалась на другу добу від моменту інфікування, у тварин другої групи 22 ока (11 кроликів) – ФДТ починалась на четверту добу від моменту інфікування. Забір очей проводився в 1-й групі на 8-ту та 22-гу добу експерименту (6-ту добу та 20-ту добу від початку лікування відповідно). В другій групі забір очей проводився на 10-ту та 24-ту добу експерименту (6-ту добу та 20-ту добу від початку лікування відповідно).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ефективність антибактеріального лікування та збереження структур залежать від терміну терапевтичного втручання. У першій серії дослідів, де лікування було розпочате на 2-у добу розвитку інфекційного процесу, стан тканин ока помітно поліпшений в порівнянні з контролем. Так, вже через 6 днів від початку лікування (8-а доба експерименту) значно зменшуються запальні та деструктивні явища. Рогівка має вигляд, близький до інтактного: лейкоцитарна інфільтрація стріми практично відсутня, зберігається легкий набряк з розшаруванням колагенових пластинок. Передній та задній епітелій звичайної товщи-

ни, внутрішньоклітинного та міжклітинного набряку немає. Ядра епітеліоцитів зберігають ознаки низької функціональної активності (відсутні ядрця, не визначається структура хроматину). У зоні лімбу між тим виявляються ознаки бактеріального запалення, проте у значно меншій мірі, порівняно з контролем: помірна моноклеарна інфільтрація стріми, повнокров'я судин. Епітелій інтактний. Те ж саме можна сказати і про перилімбальну конюнктиву: набряк сполучної тканини, інфільтрація, повнокров'я мікросудин. Дренажні отвори венозного синусу дещо звужені. Кут передньої камери вільний. У передній камері ока на поверхні райдужки подекуди групки лейкоцитів, переважно поліморфноядерних. Райдужна оболонка потовщена, міжклітинний матрикс набряклий, (прозорий, ніби вимитий). Просвіти судин широкі, повнокровні. Лейкоцитарна інфільтрація не виявляється. Між тим стріма відростків війчастого тіла нерівномірно осередково інфільтрована, повнокровна, набрякла. Лейкоцити виявляються також у просторах між відростками. У скловидному тілі лейкоцитарна інфільтрація змішаного характеру незрівняно менша ніж на початку лікування. При цьому лейкоцити «свіжі» - нова генерація, мало деструктивно змінених, розташовуються групами або тяжками ближче до сітківки.

Сітчаста оболонка має типову гістоархітектоніку (рис. 1), подекуди визначається ексудативне відшарування її на рівні фотосенсорного шару (можливо, це артефакт, що виник у процесі обробки матеріалу). Виявляються незначні альтеративні явища у вигляді набряку окремих тіл нейронів, частіше гангліонарних та біполярних, та невеликих ділянок у сітчастих шарах. Лейкоцити у межах сітківки не виявляються. Подекуди зустрічаються більш виразні ознаки запалення. Зокрема, у шарі нервових волокон локально в одному місці визначається волокниста, досить товста структура до якої зі сторони скловидного тіла прилягають зяючі судини з великою кількістю лейкоцитів у просвітах та власне у судинній стінці. Далі сітківка має звичайну будову, але з деструкцією ядер, набряком та ін., лейкоцити поодинокі.

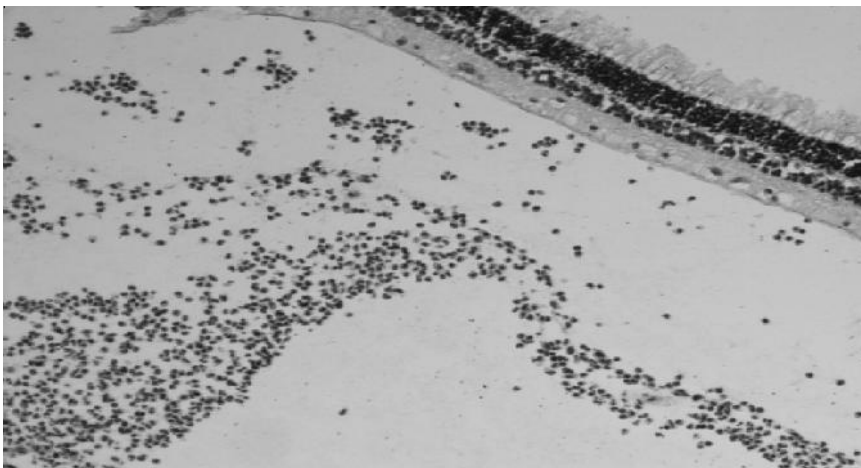


Рис. 1. I основна група. Сітківка. Скловидне тіло. 8-ма доба спостереження. X100.

Власне судинна оболонка помірно набрякла, місцями помірно розшарована, судини дилатовані, повнокровні. Невелика мононуклеарна інфільтрація виявляється лише на рівні хоріокапілярів, інші шари вільні від лейкоцитів. Склера має загалом інтактний вигляд, інколи виявляється незначний набряк епісклери. Ретробульбарна клітковина без особливостей, великі судини повнокровні. Нервові волокна зорового нерва та його оболонки дещо набрякли.

Через 3 тижні лікування (22-а доба спостереження) у тварин цієї групи будова тканин ока максимально наближається до інтактної. Деструктивні та набрякові явища зникають. Строма увеального тракту та фіброзної оболонки ущільнюється. Лейкоцити виявляються лише у скловидному тілі на межі з війчастим тілом в дуже незначних кількостях. Скупчення лімфо- і плазмочитів, що виявляється в сполучній тканині кон'юнктиви перилімбальної зони, характерне і для інтактних тварин. Це своєрідний імунний кордон на межі з безсудинною рогівкою.

Отже, своєчасне застосування ФДТ на фоні традиційної терапії сприяє повному відновленню структури ока.

У другій групі спостереження, коли терапевтичні заходи починали застосовувати у розпалі інфекційного процесу, тобто з 4-ї доби від МТ, результати значно відрізняються. Так, на 6-ту добу лікування (10-та доба спостереження) деструктивні та запальні процеси в усіх тканинах ока зберігаються, але виражені в значно меншій мірі, ніж в кролів при нативному перебігу запального процесу. В першу чергу помітно зменшується інтенсивність лейкоцитарної інфільтрації, зменшується кількість деструктивно змінених клітин та некротичних мас, очевидно за рахунок посиленої діяльності макрофагів, популяція яких стає більш чисельною. Зменшуються набрякові явища. Разом з тим посилюються продуктивні процеси, зокрема проліферація фібробластів, фіброге-

нез у скловидному тілі та порожнинах передньої та задньої камер, неоангіогенез. Новоутворені судини виявляються у скловидному тілі на задній стінці ока, між відростками циліарного тіла та у стромі рогівки. В просвітах судин кількість лейкоцитів залишається збільшеною, це переважно мононуклеари. Сітківка на цей час практично не виявляється. Строма власне судинної оболонки ущільнена. Розшарувань майже немає. Лейкоцитарна інфільтрація відсутня. Судини повнокровні, кількість лейкоцитів у просвітах судин помірна. Війчасте тіло містить залишки мононуклеарної інфільтрації. Зберігається помірна деструкція пігментного епітелію. Строма відростків ущільнюється. Гіперемія та набряк не визначаються. Теж саме можна сказати і про райдужну оболонку. Склера близька до інтактної, ознак запалення чи альтерації майже немає. Внутрішній її шар більш щільний, зовнішній – дещо набряклий. Судини ретробульбарної клітковини повнокровні, визначається помірна периваскулярна інфільтрація мононуклеарами. В перилімбальній кон'юнктиві відмічається помірна поліморфноядерна інфільтрація епітелію та строми. Матрикс останньої розріджений внаслідок набряку. Клітини поверхневого шару деструктивно змінені.

У пізні терміни спостереження (на 24-ту добу, 20-а доба від початку лікування) у тканинах в тій чи іншій мірі виявляються ознаки продуктивної фази запалення. Ущільнення сполучнотканинної строми всіх відділів увеального тракту: райдужки, війчастого тіла, власне судинної оболонки. Ознаки лейкоцитарної інфільтрації практично відсутні. Натомість у скловидному тілі утворюються синехії.

У тканинах ока тварин 2-ої групи на 24-ту добу спостереження виявляються ознаки продуктивної фази запалення: проліферація фібробластів, фіброгенез, утворення синехій у передньому відділі скловидного тіла (рис.2).

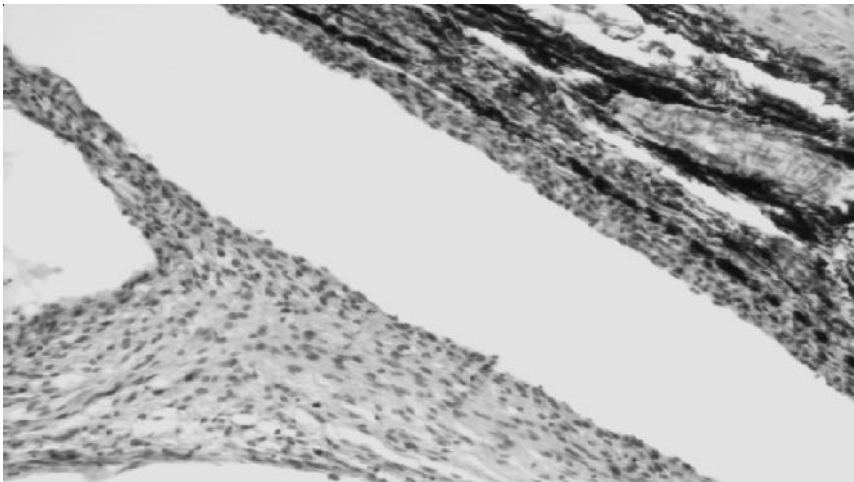


Рис. 2. II група. Синехії у скловидному тілі. 24-та доба спостереження. X100.

Ознак бактеріального запалення практично немає, але суттєві деструктивні зміни залишаються.

Сітківка в препаратах не виявляється. Відбувається її повний лізис бактеріальними ферментами. Судинна

оболонка часто потовщена внаслідок продуктивних процесів. У ряді випадків зберігається набрякове розшарування її тканини. Судини розширені, повнокровні. Лейкоцитарна інфільтрація в цілому незначна і неоднорідна, проте виявляються осередкові скупчення лімфоцитів. Потужний інфільтрат у зоні хоріокапілярів, що виявлявся у попередній термін дослідження, розсмоктується, але в передньому відділі ока, позаду циліарного кільця, трансформується в грануляційну тканину, від якої відходять синехії. На внутрішній поверхні судинної оболонки подекуди виявляються острівці поліморфноядерних клітин. Склера без ознак запалення, внутрішній її шар ущільнений, зовнішній – з легким розшаруванням колагенових пластинок. Інших деструктивних явищ не спостерігається. Ретробульбарна клітковина має звичайний вигляд. Ретробульбарна порція зорового нерву зберігає типове взаєморозташування волокон та нейроглії, проте нервові волокна перебувають у стані набряку.

У передньому відділі ока на фоні пригнічення запальних процесів відмічається дистрофія рогівки – епітелій низький, ущільнений, строма помітно стоншена. Судини в стромі не визначаються. Лейкоцитарна інфільтрація відсутня, окрім лімбальної зони, де спостерігаються дифузно розташовані всі види лейкоцитів та помірний набряк строми. Лише в одному випадку поліморфноядерна інфільтрація була визначена у епітелії кон'юнктиви. Кут ока чистий, вільний, проте вузький, так само як і передня камера, що може вказувати на гіпотонію ока. В тканинах райдужки ознак бактеріального запалення немає, проте строма дещо ущільнена. Інколи спостерігається значне потовщення судинних стінок (плазматичне просякання), гіаліноз. Строма циліарних відростків також ущільнена, васкуляризація помірна і навіть збіднена. Подекуди зберігаються осередки інфільтрації, як всередині відростків, так і між ними.

Таким чином, структурні зміни ока та його тканин, за умов застосування для лікування експериментального бактеріального ендодфальміту ФДТ з МС та ДМСО в ранні терміни (на другу добу від інокуляції збудника), на 6-ту добу від початку лікування характеризуються незначним набряком війчастого тіла з невираженою лейкоцитарною інфільтрацією між відростками війчастого тіла та в скловидному тілі. Гістоархітектоніка сітківки збережена, наявний незначний набряк хоріоїдеї. Кон'юнктива, склера та рогівка майже інтактні. Через 20 діб після початку лікування (22-га доба експерименту) будова тканин ока майже не відрізняється від нормальної, наявні остаточні зміни, характерні для продуктивної фази запалення.

Структурні зміни ока та його тканин, при умові застосування для лікування експериментального бактеріального ендодфальміту ФДТ з МС та ДМСО в пізні терміни (на четверту добу від інокуляції збудника), на 6-ту добу від початку лікування характеризуються значними запальними змінами всіх структур ока зі значною лейкоцитарною інфільтрацією та значними деструктивними явищами, особливо в сітківці. Через 20 діб

після початку лікування виявляються ущільнення сполучнотканинної строми всіх відділів увеального тракту: райдужки, війчастого тіла, власне судинної оболонки; дистрофічні зміни рогівки, війчастого тіла та райдужки, фіброз та синехії в скловидному тілі, глибокі деструктивні зміни сітківки майже до її повної відсутності.

ВИСНОВКИ

1. Застосування ФДТ з МС та ДМСО на 2-у добу від інокуляції збудників при моделюванні бактеріального ендодфальміту призводить до значного зменшення інтенсивності та термінів всіх фаз запалення, особливо альтераційної та ексудативної. По закінченню запального процесу структура ока та його тканин майже наближається до інтактної, з невеликими залишковими продуктивними проявами.

2. Застосування ФДТ з МС та ДМСО на 4-у добу від інокуляції збудників при моделюванні бактеріального ендодфальміту, призводить до зменшення інтенсивності та термінів всіх фаз запалення, в порівнянні з нативним перебігом процесу. Однак, запалення призводить до значних деструктивних явищ у всіх тканинах ока, особливо сітківки. По закінченню запального процесу структура ока та його тканин значно змінені, з переважанням деструктивних та дистрофічних явищ.

3. Застосування ФДТ з МС в комбінації з ДМСО в лікуванні бактеріальних ендодфальмітів в ранні терміни призводить до збереження структури тканин ока, та їх майже повного відновлення.

ЛІТЕРАТУРА

1. Зборовская А.В. Структурные изменения тканей глаза при использовании ФТД с 0,1% метиленовым синим в комбинации с 10% диметилсульфоксидом в лечении эндодфальмита бактериальной этиологии/ А.В. Зборовская, В.В. Вит, И.О. Насинник// Київ-Луганськ, Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології, Збірник праць, – 2011 - Випуск 3 (105) – С. 346-354.
2. Фиалков Ю.Я. Растворитель как средство управления химическим процессом/ Ю.Я. Фиалков // Л., Химия, 1990.
3. Ermis SS. Treatment of Staphylococcus epidermidis endophthalmitis with intravitreal moxifloxacin in a rabbit model / SS Ermis, ZCetinkaya, H Kiyici, F Ozturk // Tohoku J Exp Med. - 2005 Mar. – Vol. 205(3). - P. 223-9.
4. Mellish K.J. In vitro photodynamic activity of a series of methylene blue analogues/ K.J. Mellish, R.D. Cox, D.I. Vernon, J. Griffiths, S.B. Brown // Journal of Photochemistry and Photobiology. - 2002 Apr. – vol. 75. - Issue 4. – P. 392-7.
5. Schein O.D. Panophthalmitis after penetrating keratoplasty / O.D. Schein, J.W. Miller, M.D. Wagener // Arch. Ophthalmol. – 1989. – Vol. 107(1). – P. 21.
6. Usacheva M.N. Comparison of the methylene blue and toluidine blue photobactericidal efficacy against gram-positive and gram-negative microorganisms/ M.N. Usacheva, M.C. Teichert, M.A. Biel // Lasers in Surgery and Medicine. - 2001. – vol. 29. – Issue 2. – P.165-73.