

УДК 617.714.6-089.87

## Укрепление орбитальной культи с помощью аутологичных моноклеарных клеток крови в эксперименте

И.В. Запускалов, Е.А. Горбунова, О.И. Кривошеина

*Сибирский государственный медицинский университет, Томск*

### РЕФЕРАТ

**Цель.** В эксперименте изучить морфологические особенности течения воспалительно-репаративного процесса при формировании орбитальной культи с помощью биоинженерного комплекса из никелида титана и аутологичных моноклеаров крови.

**Материал и методы.** Выполнена серия экспериментов на 36 половозрелых крысах породы Wistar весом 200-250 г. После эфирного наркоза каждому животному выполнялась эвисцероэнуклеация с последующим помещением имплантата непосредственно в склеральный мешок. Животным основной группы вводили инсулиновым шприцом в структуру имплантата свежeweделенную культуру аутологичных моноклеарных клеток крови. Забор материала производился на 7, 14, 21-е сутки от начала эксперимента.

**Результаты.** Полученные результаты показали, что удельный объем соединительной ткани, начиная с 7 суток после оператив-

ного вмешательства, преобладал в основной группе животных и во все сроки эксперимента был значительно выше такового в группе сравнения. В основной группе, в отличие от группы сравнения, также обнаруживалось значительно большее количество новообразованных капилляров с широким просветом.

**Выводы.** Таким образом, в ходе экспериментального исследования установлено, что имплантация биоинженерного комплекса из пористого никелида титана и аутологичных моноклеаров крови в полость орбиты после эвисцероэнуклеации стимулирует выраженное коллагенообразование и ангиогенез. Это, в свою очередь, способствует укреплению и более прочному удержанию имплантата в орбитальной полости. Разработанный способ укрепления орбитальной культи может быть рекомендован к клиническим исследованиям.

**Ключевые слова:** никелид титана, орбитальная культя, моноклеары крови, эвисцероэнуклеация. ■

Офтальмохирургия. – 2014. – № 2. – С. 62-65.

### ABSTRACT

## Strengthening of orbital stump using autologous blood mononuclear cells in experiment

I.V. Zapuskalov, E.A. Gorbunova, O.I. Krivosheina

*The Siberian State Medical University, the Ophthalmology Department, Tomsk, Russia*

**Purpose.** To study the morphological characteristics of a course of inflammatory and reparative processes in the formation of the orbital stump with a bioengineered complex of nickel titanium and autologous blood mononuclear cells in experiment.

**Material and methods.** A series of experiments was performed in 36 adult Wistar rats (weight: 200-250g). After an ether anesthesia, each animal underwent evisceroenucleation followed by insertion of the implant directly into the scleral bag. In the main group of animals the culture of autologous blood mononuclear cells was injected into the structure of implant. The material sampling was carried out on 7, 14, 21 days from the start of the experiment.

**Results.** The obtained results showed that the specific volume of connective tissue, starting from 7 days after surgery

prevailed in the main group and in all periods of the experiment were significantly higher than those in the comparative group. A significantly higher quantity of neo-capillaries with a wide lumen was also detected in the main group, unlike the comparative group.

**Conclusions.** Thus, the study showed that the mononuclear cells stimulate fibroblast proliferation and connection to the reparative processes, angiogenesis and pronounced collagen formation in the orbital cavity, which promotes a more robust strengthening and retain of the implant in the orbital cavity. Consequently, the proposed method is a new and effective option to promote orbital stump in less time and requires significantly lower material costs and can be recommended for clinical trials.

**Key words:** titanium nickellide, orbital stump, mononuclear cells, evisceroenucleation. ■

Офтальмохирургия. – 2014. – № 2. – С. 62-65.

Современная офтальмология достигла значительных успехов в лечении глазных заболеваний, тем не менее тяжелая патология и травмы органа зрения нередко приводят к слепоте и требуют радикального хирургического лечения – удаления глазного яблока.

В случае потери зрения и глаза как органа пациентам требуются косметическая и социальная реабилитация. Ежегодно в России свыше 12 тыс. больных нуждаются в проведении подобных операций, 58% из них составляют лица трудоспособного возраста, в связи с чем необходимо получение максимального косметического эффекта после хирургического вмешательства [8]. Однако, по данным ряда авторов, в 75% случаев энуклеация производится без формирования опорно-двигательной культи [7, 8, 10, 11]. Это, безусловно, снижает качество производимых операций и последующую медико-социальную реабилитацию пациентов.

Для получения хорошего косметического результата при протезировании после энуклеации необходимо создание объёмной выпуклой культи, поэтому пространство, освободившееся после удаления глаза, должно быть заполнено каким-либо пластическим материалом, что невозможно без использования вкладышей-имплантатов [11]. Однако офтальмохирурги не всегда используют орбитальные имплантаты после энуклеации, а в случае применения многих из них возможно развитие таких осложнений, как смещение, обнажение и отторжение имплантатов, а также получение неудовлетворительного косметического эффекта из-за резорбции биологического и малого объема небиологического материала [2, 4].

Для укрепления орбитальной культи используются различные материалы: кожно-жировой лоскут, апонев-

роз с височной зоны, донорская склера, твёрдая мозговая оболочка и др. [1, 3, 7-9, 12-19]. Однако есть предположение, что покрытие имплантата может препятствовать васкуляризации, имеется опасность передачи реципиенту различных инфекций [18, 20]. Всё вышеизложенное служит основанием для поиска и разработки нового эффективного способа укрепления орбитальной культи после энуклеации.

## ЦЕЛЬ

В эксперименте изучить морфологические особенности течения воспалительно-репаративного процесса при формировании орбитальной культи с помощью биоинженерного комплекса из никелида титана и аутологических мононуклеаров крови.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Выполнена серия экспериментов на 36 половозрелых крысах породы Wistar весом 200-250 г, которые в зависимости от способа лечения были разделены на 2 группы:

- основная (n=18) – у животных данной группы орбитальная культи формировалась с использованием имплантата из никелида титана и аутологических мононуклеаров крови (рис. 1);



Рис. 1. Биоинженерный комплекс (имплантат из никелида титана и аутологических мононуклеарных клеток крови)

- группа сравнения (n=18) – формирование орбитальной культи осуществлялось с помощью имплантата из никелида титана без применения мононуклеарных клеток крови.

Имплантат изготавливался из нити пористого никелида титана толщиной 100 мкм, имел округлую форму диаметром 4 мм (сертификат соответствия № РОСС RU.АЯ79.Н09637 от 15.04.2011 г.).

После эфирного наркоза каждому животному выполнялась экзисцероэнуклеация с последующим помещением имплантата непосредственно в склеральный мешок. При этом крысам основной группы вводили инсулиновым шприцом в структуру имплантата свежесыведенную культуру аутологических мононуклеарных клеток крови, полученную методом фракционирования по стандартной методике в градиенте плотности на разделяющем растворе фикоколл-верографина [5]. Далее накладывались полипропиленовые узловые швы на склеру, кисетный кетгутовый шов на теноновую оболочку, непрерывный капроновый шов на конъюктиву склеры. В послеоперационном периоде животным обеих групп выполнялись только инстилляции раствора Ципролета с частотой 6 раз в день.

Общая продолжительность эксперимента – 21 сутки, этого времени достаточно для формирования зрелой соединительной ткани, согласно литературным данным [6].

В ходе эксперимента выполняли наружный осмотр, фоторегистрацию. Забор материала для гистологического исследования производился на 7, 14, 21-е сутки от начала эксперимента. Подсчет удельных объемов стромы и сосудов осуществляли с помощью окулярной сетки Автандилова на 50 точках. Клеточную плотность в 1 мм<sup>2</sup> рассчитывали при помощи окулярной вставки с известной площадью. Полученные данные были обработаны с использованием пакета программ «Statistica for Windows».

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе морфологических исследований через 7 суток после оперативного вмешательства у животных

### Для корреспонденции:

Запускалов Игорь Викторович, докт. мед. наук, профессор, зав. кафедрой офтальмологии;  
Горбунова Евгения Александровна, ассистент и аспирант кафедры офтальмологии;  
Кривошеина Ольга Ивановна, докт. мед. наук, профессор кафедры офтальмологии  
ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет  
Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, 2

**Количественное соотношение клеточно-стромальных элементов и новообразованных сосудов в 1 мм<sup>2</sup> среза орбитальной культи у экспериментальных животных**

Таблица

Сроки наблюдения	Моноциты-макрофаги		Объем стромы, %		Численная плотность сосудов, %	
	основная группа	группа сравнения	основная группа	группа сравнения	основная группа	группа сравнения
7-е сутки	35977,3 (51%)	10788,5 (44,8%)	0,79	0,1	0,2	0,1
14-е сутки	61112,2 (96%)	27319,6 (53,2%)	95*	0,75	10*	0,2
21-е сутки	29077,6 (62,8%)	9856,8 (48,8%)	80	94	21*	10

Примечание: \*  $p < 0,01$  (статистически значимые отличия).

основной группы в полости глазного яблока наблюдалось очаговое скопление лимфомакрофагальных элементов с небольшим количеством плазмочитов и единичными полиморфоядерными лейкоцитами. В окружающих тканях был выражен отек, отмечались множественные очаговые скопления фибробластоподобных клеток. Обнаруживалось большое количество новообразованных капилляров с широким просветом (см. табл.).

В группе сравнения наблюдались умеренно выраженный отек ткани культи, мелкоочаговые кровоизлияния, а также диффузная, равномерно распространенная лейкоцитарная инфильтрация, скопление фибробластоподобных клеток. В строме обнаруживались отдельные новообразованные капилляры со щелевидным или округлым просветом (см. табл.).

Через 14 суток в основной группе в полости глазного яблока наблюдалось разрастание соединительной ткани со значительными скоплениями лимфомоноцитарных клеток, обнаруживались коллагеновые волокна, которые начинали приобретать упорядоченное направление. В участках, расположенных по краю имплантата, отмечалось скопление новообразованных сосудов, большинство из которых начинало преобразовываться в артериолы и венулы (см. табл.).

В группе сравнения в полости глазного яблока наблюдалось разрастание рыхлой волокнистой соединительной ткани, характеризовавшейся умеренно выраженной клеточной инфильтрацией с преобладанием мононуклеарных фагоцитов (см. табл.). Клетки фибробластического ряда формировали тон-

кие, хаотично расположенные коллагеновые волокна, между которыми определялись множественные тонкостенные капилляры, появлялись единичные артериолы и венулы.

Через 21 сутки в основной группе животных отмечалось формирование толстых упорядоченно расположенных пучков коллагеновых волокон. Среди коллагеновых волокон обнаруживались множественные новообразованные артериолы и венулы (рис. 2, табл.). Лимфомоноцитарная инфильтрация встречалась в виде мелкоочаговых скоплений, разделенных участками зрелой соединительной ткани, что препятствовало четкой визуализации элементов имплантата.

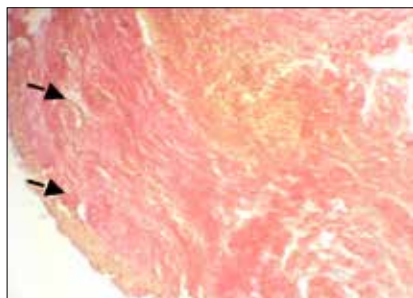
В группе сравнения наблюдалось разрастание рыхлой волокнистой соединительной ткани с тонкими хаотично расположенными коллагеновыми волокнами, среди которых встречались единичные новообразованные сосуды (рис. 3).

## ВЫВОДЫ

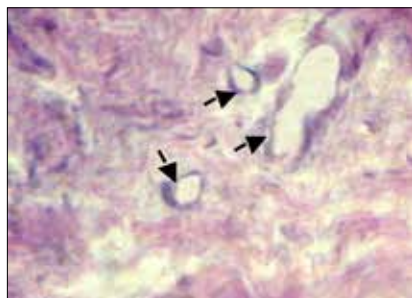
Таким образом, в ходе экспериментального исследования установлено, что имплантация биоинженерного комплекса из пористого никелида титана и аутологичных мононуклеаров крови в полость орбиты после эквисцероэнуклеации стимулирует выраженное коллагенообразование и ангиогенез. Это, в свою очередь, способствует укреплению и более прочному удержанию имплантата в орбитальной полости. Разработанный способ укрепления орбитальной культи с помощью биоинженерного комплекса из никелида титана и аутологичных мононуклеаров крови может быть рекомендован к клиническим исследованиям.

## ЛИТЕРАТУРА

- Бакаева Т.В., Груша Я.О. Материалы, применяемые в хирургии орбиты // Вестн. офтальмологии. – 2010. – № 2. – С. 46-50.
- Винькова Г.А. К вопросу о несостоятельности конъюнктивальной раны у больных с анофтальмом // Глазное протезирование и пластическая хирургия в области орбиты: Сб. научных трудов. – М., 1987. – С. 52-53.



**Рис. 2.** Зрелая соединительная ткань с новообразованными сосудами (указаны стрелками) через 21 сутки после оперативного вмешательства. Основная группа. Окраска гематоксилином и пикрофуксином по Ван Гизону, увеличение  $\times 300$



**Рис. 3.** Разрастание рыхлой соединительной ткани и новообразованные сосуды (указаны стрелками) через 21 сутки после оперативного вмешательства. Группа сравнения. Окраска гематоксилином и эозином, увеличение  $\times 400$

3. Груша Я.О., Федоров А.А., Дземешкевич В.В., Блинова И.В. Клинико-морфологические особенности использования ксеноперикарда при пластике век и орбиты // Вестн. офтальмологии. – 2004. – № 5. – С. 19-21.
4. Милудин Е.С. Применение соединительнотканых аллоплантов в пластической хирургии // Избранные вопросы офтальмохирургии: Сб. научных трудов. – Самара, 1992. – С. 59-61.
5. Новиков Д.К., Новикова В.И. Клеточные методы иммунодиагностики. – Минск: Беларусь, 1979. – 222 с.
6. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). – М.: Медицина, 1981. – 312 с.
7. Филатова И. А. Анофтальм. Патология и лечение. – М., 2007. – 214 с.
8. Филатова И.А. Современные аспекты хирургического лечения при анофтальме // Вестн. офтальмологии. – 2002. – № 1. – С. 20-25.
9. Филатова И. А., Катаев М. Г., Харб Али Хабиб. Обнажение орбитальных имплантатов: причины и лечение // Вестн. офтальмологии. – 2008. – № 3. – С. 36-41.
10. Филатова И.А., Катаев М.Г., Харлампиди М.П. Сравнительный анализ результатов удаления глазного яблока различными способами // Современные технологии диагностики и хирургического лечения осколочных ранениях глаза и орбиты: Тезисы научн.-практич. конференции. – М., 2000. – С. 141-143.
11. Шиф Л.В. Улучшение косметических результатов протезирования после энуклеации (имплантация некоторых полимеров): Дис. ... канд. мед. наук. – М., 1968.
12. Arat Y.O., Sbetlar D.J., Boniuk M. Bovine pericardium versus homologous sclera as a wrapping for hydroxyapatite orbital implants // Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg. – 2003. – Vol. 19, № 3. – P. 189-193.
13. Gayre G.S., Debacker C., Lipbam W., Tawfik H.A. et al. Bovine pericardium as a wrapping for orbital implants // Ophthalm. Plast. And Reconstructive Surgery. – 2001. – Vol. 17, № 5. – P. 381-387.
14. Hong-guang Cui and Hui-yan Li. Effect of basic fibroblast growth factor (bFGF) on the treatment of exposure of the orbital implants // J. Zhejiang Univ. Sci. B. – 2007. – Vol. 8, №9. – P. 620-625.
15. Jordan D.R., Allen L.H., Allis A. et al. The use of Vycril mash (polygalastin 910) for implantation of hydroxyapatite orbital // Ophthalm. Plast. Reconstructive Surg. – 1995. – Vol. 11. – P. 95-99.
16. Jordan D.R., Klapper S.R., Gilberg S.M. The use of vicryl mesh in 200 porous orbital implants: a technique with few exposures // Ophthalm. Plast. Reconstr Surg. – 2003. – Vol. 19. – P. 53-61.
17. Jordan D.R., Klapper S.R. Wrapping Hydroxyapatite Implants // Ophthalmic Surgery and Lasers. – 1999. – Vol. 30, № 5. – P. 403-407.
18. Reza Vagefi M., Tristan F.W. McMullan et al. Autologous dermis graft at the time of evisceration or enucleation // Br. J. Ophthalmol. – 2007. – Vol. 91, № 11. – P. 1528-1531.
19. Tambe K., Hardeep S. Mudbar, Sandramouli S. A histopathologic study of orbital implant vascularization // Orbit. – 2009. – Vol. 28. – P. 50-57.
20. Viswanathan P., Mandeep S. Sagoo, Jane M. Olver. UK national survey of enucleation, evisceration and orbital implant trends // Br. J. Ophthalmol. – 2007. – Vol. 91, № 5. – P. 616-619.

Поступила 20.01.2014

# НОВОЕ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

Электронная версия [www.eyepress.ru](http://www.eyepress.ru)

**РЕФЕРАТИВНО-ИНФОРМАЦИОННЫЙ ЖУРНАЛ**