

УЛЬТРАФІОЛЕТОВЕ ОПРОМІНЕННЯ В КОМПЛЕКСНОМУ ЛІКУВАННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ РОГІВКИ

Салдан Ю.Й.

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова, кафедра очних хвороб
21018 Україна, м. Вінниця, вул. Пирогова, 46,
тел.: +38(0432) 50-94-92, e-mail: saldanyulia@mail.ru

Представлено результати лікування експериментальної бактеріальної виразки рогівки традиційними медикаментами та в комбінації з застосуванням фототерапії рогівки ока ультрафіолетовим (УФ) опроміненням після насичення її строми рибофлавіном. Клінічними, мікробіологічними, гістоморфологічними методами доведено перевагу комбінованого методу лікування бактеріальної виразки рогівки. Встановлено, що УФ опромінення в поєднанні з рибофлавіном має виражені антибактеріальні властивості, прискорює процеси репарації, пригнічує неоваскуляризацію та зменшує помутніння рогівки.

Ключові слова: бактеріальна виразка рогівки, ультрафіолетове випромінювання, рибофлавін, зшивка колагену.

Вступ

В Україні на амбулаторному прийомі діагностуються запалення поверхні ока в 40-60% випадків звернень. Вони складають до 80% тимчасової непрацездатності серед хворих з захворюваннями очей [1]. Первинні бактеріальні кератити зустрічаються в 36,2% випадків, а вторинні - у 39,1%, що разом складає 75,3%. Вторинні бактеріальні кератити найчастіше виникають на тлі загострення вірусної інфекції (постпервинні герпетичні кератити), ускладнюють важкі випадки «синдрому сухого ока», травматичні кератити, а також кератити, спричинені носінням контактних лінз.

Не дивлячись на те, що в офтальмологічну практику щороку впроваджуються високоефективні лікарські засоби, у частини пацієнтів ми не отримуємо бажаних результатів в консервативному лікуванні інфекційних кератитів. Безуспішність консервативних методів лікування часто пов'язана з появою нових штамів мікроорганізмів і порушенням репаративно - регенеративних процесів, послабленням тектонічної функції рогівки, що призводить до її витончення, ектазії і перфорації [2, 3].

В останні роки процеси фотополімеризації колагенових структур стали використовуватися в офтальмології для лікування різних форм ектазії рогівки ока, - таких, як кератоконус, кератоглобус, маргінальна дегенерація рогівки, ятрогенна кератоектазія. Як відомо, під дією ультрафіоле-

тового (УФ) випромінювання в речовинах виникають нові хімічні зв'язки, змінюються їх біохімічні, оптичні та інші властивості. Фототерапія захворювань рогівки ока УФ випромінюванням з довжиною хвилі 365 нм після насичення її строми рибофлавіном в літературі отримала назву «зшивка колагену» (collagen-crosslinking). Інший напрямок використання фототерапії відомий ще з стародавніх часів - це антимікробна, противірусна та протигрибкова дія УФ опромінення. Теоретичне обґрунтування застосування фототерапії захворювань рогівки ока УФ випромінюванням після насичення її строми рибофлавіном наведено в нашій попередній публікації [7].

Мета роботи: вивчення терапевтичної та протимікробної ефективності фототерапії УФ випромінюванням (довжина хвилі 365 нм) після насичення строми рогівки ока рибофлавіном в поєднанні з медикаментозною терапією при лікуванні бактеріальної виразки рогівки в експерименті.

Матеріал та методи дослідження

Модель виразкового кератиту відтворили на 40 очах 20 кролів породи Шиншила, масою тіла 1,5-2 кг, віком 7-8 місяців, яких утримували в однакових умовах звичайного раціону віварію. Виразковий бактеріальний кератит моделювали за запропонованою нами методикою [4]. Використовували завісь добової культури *Staphylococcus aureus* штаму АТСС 252923, отриманого з музею живих культур

мікроорганізмів Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова.

В залежності від способу лікування тварин розділили на чотири групи. П'ять кролів (10 очей) I групи отримували стандартне медикаментозне лікування (закапування 1% атропіну сульфату два рази на день, 0,25% розчину левоміцетину шість разів на день та закладання 1% тетрациклінової мазі тричі на день), яке було розпочато на другу добу експерименту. П'ять кролів (10 очей) II групи лікувалися з другої доби дослідження УФ опроміненням після насичення виразки 0,1% розчином рибофлавіну, який перед процедурою закапували протягом 30 хвилин тричі. Процедура проводилась один раз на день і тривала 20 хвилин, очна щілина утримувалась відкритою за допомогою повікорозширювача, кожні п'ять хвилин рогівку зволожували 0,1 % розчином рибофлавіну. П'ять кролів (10 очей) III групи отримували комбіноване лікування, яке поєднувало застосування медикаментів та фотодинамічну терапію. Лікування тривало протягом десяти діб. Три кролі (шість очей) IV групи, які не отримували лікування, склали контрольну групу.

Пристрій для проведення УФ терапії виготовлено в Інституті фотоніки та оптоелектроніки Вінницького національного технічного університету [6]. Опромінення проводилось ультрафіолетовим випромінюванням з довжиною хвилі 365 нм, густина потужності 3 мВт/см² на відстані двох сантиметрів від поверхні рогівки, що забезпечує глибину проникнення в строму на 250-300 нм, при цьому ендотелій, кришталик і сітківка ока не ушкоджуються.

Спостереження за динамікою виразкового процесу проводили кожну добу протягом 14 діб з моменту початку лікування бактеріальної виразки рогівки. Для цього застосовували зовнішній огляд, метод бокового освітлення, біомікроскопію переднього відділу ока, флюоресцеїнову пробу, фотодокументацію. Оцінку клінічного перебігу та ефективності лікування бактеріальної виразки рогівки у всіх групах проводили за наявністю ускладнень, тривалості епітелізації, інтенсивності васкуляризації рогівки, яку визначали за власним методом [5]. Інтенсивність помутніння рогівки визначили за допомогою кольорових тестів за п'ятибальною системою.

Бактеріологічне дослідження мазків з поверхні виразки рогівки проводили перед лікуванням та на сьому добу лікування у всіх тварин. Після місцевої анестезії 0,5% розчином алкаїну з поверхні виразки рогівки та з кон'юнктивальної порожнини стерильним тампоном брали мазки та занурювали

їх в пробірку зі стерильним м'ясо-пептонним бульйоном, який інкубували в термостаті при температурі +37°C протягом 24 годин. Через добу колонії мікроскопували, забарвлювали за методом Грама, пересівали на кров'яний м'ясо-пептонний агар. Через дві доби знову вивчали морфологію вирощеної культури бактерій і тенкторіальні властивості мікроорганізмів, забарвлених по Граму.

Гістологічне дослідження рогівки очей тварин із бактеріальною виразкою рогівки, яких лікували різними способами, проводили на чотирнадцяту добу експерименту. Видалені очі фіксували в 10% нейтральному розчині формаліну, потім промивали в проточній воді з наступною проводкою через спирти зростаючої концентрації, та заливали в парафін. Гістопрепарати рогівки фарбували гематоксилін-еозином, проводили їх мікроскопію та фотографування.

Результати експериментальних досліджень оброблено з використанням статистичних програм Statistica для Windows 5.5. Для прийняття рішення про вид розподілу груп використовували критерій Шапіро-Уїлкса.

Результати дослідження та обговорення

На другу добу експерименту на всіх очах спостерігали клінічну картину типового бактеріального кератиту з виразкуванням: рогівковий синдром на всіх очах; набряк рогівки на 20 очах займав половину всієї площі рогівки; на 16 очах відмічали тотальний набряк рогівки. Дві тварини були виведені з дослідження в зв'язку з перфорацією виразки рогівки та розвитком ендoftальміту на одному з очей. Виразкування інфільтрату, яке спостерігалось на всіх очах, було підтверджено флюоресцеїновою пробою. Виразка мала діаметр 2,5-3 мм (середнє значення 2,8±0,3 мм). Гіпопійон до 2-3 мм був на трьох очах, фібрин в передній камері був на двох очах, преципітати спостерігали на п'яти очах. Що стосується васкуляризації рогівки, то одиничні новоутворені в ній судини відмічено на всіх очах. Малюнок райдужок був стушований, колір змінний, реакція зіниці на світло була відсутня на п'яти очах. На двох очах кролів зіниця мала неправильну форму. При мікробіологічному дослідженні матеріалу, взятого з кон'юнктивальної порожнини та з поверхні виразки було виявлено золотистий стафілокок в 70% випадків (на 28 очах), змішану флору - в 30% (на 8 очах).

В контрольній групі при бактеріологічному дослідженні мікрофлори кон'юнктивальної порожнини на сьому добу експерименту виявлено асоціацію золотистого стафілококу з грам-негативними бактеріями на всіх очах.

Результати бактеріологічного дослідження мазків з поверхні виразки рогівки були в I групі наступними: на сьому добу лікування відсутність росту флори встановили на п'яти очах з десяти (5/10), чисту культуру золотистого стафілококу - на двох очах (2/10) та змішану флору - на трьох очах (3/10).

При бактеріологічному дослідженні мікрофлори кон'юнктивальної порожнини кролів II групи проведено на сьому добу експерименту встановлено відсутність росту бактерій на семи очах (7/10), грамнегативні бактерії в асоціації з золотистим стафілококом виявили на двох очах (2/10), золотистий стафілокок - на одному оці (1/10).

рогівки (I група) інтенсивність помутніння рогівки дещо зменшувалась, але найкращі результати спостерігались в III групі тварин, де використовували комбінацію медикаментозного лікування в поєднанні з УФ опроміненням після насичення виразки розчином рибофлавіну.

Гістоморфологічне дослідження, проведене на чотирнадцяту добу експерименту, показало відновлення гістоструктури рогівки тільки в III групі тварин, де проводили комбіноване лікування з використанням медикаментів і УФ опромінення після насичення виразки розчином рибофлавіну. Відновлення структури рогівки з явищами рубцювання та хронізації запалення встановлено в групах з медикаментозною терапією (I група) та

Таблиця 1

Площа неоваскуляризації та інтенсивність помутніння рогівки в різних групах тварин (M±SD) на чотирнадцяту добу дослідження

Групи тварин	Площа неоваскуляризації рогівки, мм ²	Інтенсивність помутніння, бали
I	30,85±0,83, p=0,028	3,3±0,5, p=0,018)
II	16,36±0,87, p*=0,028	1,5±0,6, p*=0,012
III	12,60±0,18, p**=0,028	0,6±0,4, p**=0,012
IV	51,8±0,49	4,7±0,5

p - достовірність відмінності між I групою лікування та контролем;

p* - достовірність відмінності між I та II групами лікування;

p** - достовірність відмінності між II та III групами лікування

У кролів III групи патогенної мікрофлори не було виявлено на всіх очах (0/10).

Таким чином, найкращі результати в санації виразки рогівки і кон'юнктивальної порожнини виявилися в III групі тварин.

При порівняльній характеристиці способів лікування бактеріальної виразки рогівки ми отримали найкращі клінічні результати при комбінації медикаментозного лікування з фототерапією (табл. 1). Слід зазначити, що повна епітелізація рогівки на чотирнадцяту добу дослідження спостерігалась на всіх очах експериментальних тварин, крім групи контролю.

В I групі тварин, де для лікування бактеріальної виразки рогівки були використані медикаменти, площа неоваскуляризації рогівки на чотирнадцяту добу була більш вираженою в порівнянні з групами тварин, де використовували комбіноване лікування (III) та монотерапію УФ опроміненням після насичення виразки розчином рибофлавіну (II). Найбільша площа неоваскуляризації рогівки була в контрольній IV групі.

Інтенсивність помутніння рогівки також була найбільшою у тварин контрольної групи. При медикаментозній терапії бактеріальної виразки

монотерапією УФ опроміненням після насичення виразки розчином рибофлавіну (II група). Встановлено некротичні зміни кератоцитів рогівки в препаратах контрольної групи.

Таким чином, УФ опромінення, поєднане з насиченням виразки розчином рибофлавіну, має виражену антибактеріальну дію. Ми вважаємо, що цей вплив на грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми є опосередкованим, та швидше за все пов'язаний з утворенням активних форм кисню. Рибофлавін в цьому випадку не тільки захищає глибоше розташовані структури ока, а і під впливом УФ випромінювання сам виділяє активні форми кисню. Покращення оптичних властивостей рогівки пояснюється тим, що колаген під впливом рибофлавіну та опромінення набуває нових властивостей, які свідчать про виникнення додаткових міжмолекулярних зв'язків та резистентності до дії ферментів, зокрема протеолітичних ферментів патогенних мікробів.

Висновки

Використання запропонованого комбінованого способу лікування призвело до повної санації виразки рогівки і кон'юнктивальної порожнини

від мікробних агентів на сьому добу лікування. Застосування комбінованої фототерапії дозволило прискорити процеси репарації, зменшити вас-

куляризацію і інтенсивність помутніння рогівки, досягти відновлення гістологічної структури тканини в зоні виразкування.

Литература

1. Анина Е.И. Патология роговой оболочки среди взрослого населения Украины / Е.И.Анина, К.В. Мартопляс // Матеріали XII з'їзду офтальмологів України, 26-28 травня 2010 р.– Одеса, 2010.– С.5.
2. Гундарева Р.А. Реконструктивные операции на глазном яблоке / Р.А.Гундарева, Г.Г.Бордюгова, А.Г.Травкин.- М.: Медицина, 1983.- 224 с.
3. Майчук Ю.Ф. Терапевтический алгоритм при инфекционных язвах роговицы // Вестник офтальмологии.– 2000.- №3.– С.35-37.
4. Патент №35998 UA, МКВ А61F9/007 G09B23/00. Спосіб моделювання виразки рогівки / Ю.Й.Салдан, С.В.Присяжна.- №200806082; заявл. 12.05.2008; опубл. 10.10.2008, Бюл. №9.– 3 с.
5. Патент №56506A, UA МКВ А61F5/00. Спосіб оптико-електронного контролю неоваскуляризації рогової оболонки / Й.Р.Салдан, С.В.Павлов, О.М.Семенець, Ю.Й.Салдан, Хані Аль-Зубі, Дуд Амар Алі.- №u2002075356; заявл. 01.07.2002; опубл. 15.05.2003, Бюл. №5.– 3 с.
6. Патент №43610 UA, А61В3/06. Оптико-електронний пристрій для фототерапії ока / Й.Р.Салдан, С.В.Павлов, Ю.Й.Салдан, М.П.Бокало.- Заявл. 23.03.2009; опубл. 25.08.2009; Бюл. №16.– 3 с.
7. Салдан Й.Р. Фототерапія захворювань рогівки ока / Й.Р.Салдан, М.Б.Луцок, Ю.Й.Салдан та ін. // Фотобіологія та фотомедицина.– 2009.– Т.VI, №2-3.– С. 107-111.

УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЕ ОБЛУЧЕНИЕ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЯЗВЫ РОГОВИЦЫ

Салдан Ю.Й.

Винницкий национальный медицинский университет имени Н.И.Пирогова,
кафедра глазных болезней
21018 Украина, г. Винница, ул. Пирогова, 46,
тел.: +38(0432) 50-94-92, e-mail: saldanyulia@mail.ru

Представлены результаты лечения экспериментальной бактериальной язвы роговицы традиционными медикаментами и в комбинации с использованием фототерапии роговицы глаза ультрафиолетовым (УФ) излучением после насыщения ее стромы рибофлавином. Клиническими, микробиологическими, гистоморфологическими методами доказано преимущество комбинированного метода лечения бактериальной язвы роговицы. Установлено, что УФ излучение в сочетании с рибофлавином имеет выраженное антибактериальное действие, ускоряет процессы репарации, угнетает неоваскуляризацию и уменьшает интенсивность помутнения роговицы.

Ключевые слова: бактериальная язва роговицы, ультрафиолетовое излучение, рибофлавин, сшивка коллагена.

ULTRAVIOLET IRRADIATION IN COMPLEX TREATMENT OF EXPERIMENTAL BACTERIAL CORNEAL ULCER

Saldan Yu.J.

N.I.Pirogov Vinnitsa National Medical University, department of Ophthalmology
21018 Ukraine, Vinnitsa, st. Pirogov, 46,
tel.: +38(0432) 50-94-92, e-mail: saldanyulia@mail.ru

The results of the experimental treatment of bacterial corneal ulcer with traditional medicine in combination with ultraviolet radiation phototherapy of cornea are shown. Clinical, microbiological and hystomorphological methods proved the benefit of combined treatment of bacterial corneal ulcer. It was found that ultraviolet radiation in combination with riboflavin has strong antibacterial effect, accelerates repair, inhibits neovascularization and decreases the intensity of corneal clouding.

Keywords: bacterial corneal ulcer, ultraviolet radiation, riboflavin, collagen-crosslinking.