



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **66507** (13) **U**
(51) МПК (2011.01)
A61B 3/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ НЕЙРОТРОФІЧНОГО КЕРАТИТУ

1

2

(21) u201106827

(22) 31.05.2011

(24) 10.01.2012

(46) 10.01.2012, Бюл.№ 1, 2012 р.

(72) ДРОЖЖИНА ГАЛИНА ІВАНІВНА, ІВАНОВА
ОЛЬГА МИКОЛАЇВНА, ГАЙДАМАКА ТЕТЯНА БО-
РИСІВНА(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ОЧНИХ
ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ ІМ.
В.П.ФІЛАТОВА"

(57) Спосіб моделювання нейротрофічного кера-
титу, що включає видалення епітелію рогівки, який
відрізняється тим, що проводять циркулярний
яблука (передавлювання задніх довгих циліарних
судин і нервів) силіконовою стрічкою 4,5 мм під
зовнішніми прямими м'язами, після чого в центра-
льній зоні рогівки формують дефект епітелію і
строми рогівки діаметром 6 мм завглибшки 1/3
товщини рогівки.

Корисна модель належить до медицини, конк-
ретно до офтальмології, і може бути використана
для створення моделі нейротрофічного кератиту в
експерименті in vivo, максимально наближеною до
клінічних умов, для вивчення регенерації тканини
рогівки і оптимізації методів лікування нейротро-
фічних кератитів.

Одним з механізмів фізіологічної регенерації
рогівки є взаємодія чутливої, парасимпатичної і
симпатичної іннервації, яку забезпечують перша і
друга гілки трійчастого нерва. Дегенеративні за-
хворювання, що індукують порушення взаємодії
іннервації рогівки призводять до зниження чутли-
вості, зменшення слюзопродукції, що потенціює
порушення регенерації поверхні рогівки і розвиток
нейротрофічної кератопатії. (Юмашева А.А., Авто-
реф. кандидатської дисертації - Одеса, 1979. - 178
с.; Bonini S. et al, 2003, Kinoshita S, Kiritoshi A, Ohji
M, Ohashi Y, Manabe R. Disappearance of palisades
of Vogt in ocular surface diseases. Jpn J Clin
Ophthalmol 1986; 40:363-6 Kinoshita, S.
Transplantable cultivated epithelial sheet for ocular
surface reconstruction / S. Kinoshita, N. Koizumi, T.
Nakamura // Exp. Eye research, - 2004. - Vol. 78. P.
483-49 і Pfister, R.R. Corneal stem cell disease:
concepts, categorization, and treatment by auto- and
homotransplantation of limbal stem cells / R.R. Pfister
// CLAO-J. - 1994. - V. 20. - №1. - P. 64-72. Tseng
SGC, Tsubota K. 1997.) Патогенез розвитку ней-
ротрофічної кератопатії є складним і багатокомпо-
нентним. Лікування нейротрофічних кератитів за-
лишається одним з найбільш складних серед
захворювань рогівки і є важливим напрямом опти-

мізації лікування цієї важкої патології. (Каспарова
Е.А. Лечение рецидивирующей эрозии роговицы //
Вестник офтальмологии №3. - 2009. - С. 55-57;
Матевосова Е. А., Луцевич Е.Е., Сафоно Т.Н. Сов-
ременные методы лечения синдрома сухого глаза.
// Вестник офтальмологии №2. - 2009. - С. 43-47;
Павлів О.Б. Синдром Шегрена: Патоморфологи-
ческие, иммуногистохимические и патоморфоло-
гические критерии диагностики. // Автореф. канди-
датской диссертации - Одесса, 2005. - 156 с.;
Tsubota K, Satake Y, Shimazaki J. Treatment of
severe dry eye. Lancet 1996. - 348: 123; Motoko
Kawashima, MD; Tetsuya Kawakita, MD; Yoshiyuki
Satake, MD; Kazunari Higa, PHD; Jun Shimazaki,
MD. Phenotypic Study After Cultivated Limbal
Epithelial Transplantation for Limbal Stem Cell
Deficiency. Arch Ophthalmol. 2007; 125(10): 1337-
1344). Складності лікування нейротрофічної кера-
топатії зв'язані з різноманітними етіологічними
чинниками, особливостями патогенезу і клінічних
проявів, довготривалою і багатокомпонентною
терапією, а також розвитком важких ускладнень.

Для вивчення регенерації тканини рогівки і оп-
тимізації методів лікування були запропоновані
різні експериментальні моделі формування нейро-
трофічного кератиту. Зокрема застосовувалися:
кільцеподібна електрокоагуляція (Беляєв В.С.
Операції на роговій оболонці і склері / В.С. Беляєв.
- М.: Медицина, 1984. - 144 с.), проте ця модель
опікового походження; експериментальна тоталь-
на хірургічна резекція лімбальної зони (Макаров
П.В., Макаров П.В. До хірургічної тактики лікування
важкої і особливо важкої опікової травми очей (по-

(19) **UA** (11) **66507** (13) **U**

відомлення 2) - / П.В. Макаров // Вестн. офтальмол. - 2002. - Т. 118. - №4. - С. 8-10 має посттравматичне походження; відтворення в експерименті деепітелізації рогівки 20 % розчином етилового спирту, з подальшою аплікацією 0,04 % мітоміцину-С на ділянку лімба (Милюдин Е.С. Экспериментальная модель недостаточности региональных стволовых клеток эпителия роговицы. Вестник САМГУ - Естественнаучная серия. 2006. №9. - 49. - Из. 219-226), - надає хімічний опіковий ефект на тканини рогівки, денервацію рогівки шляхом термокоагуляції очної гілки трійчастого нерва (Takashi Nagano et all., 2007), проте ця модель важка при відтворенні в експерименті.

Найбільш близькою моделлю до запропонованого нами способу є спосіб моделювання нейротрофічної кератопатії без механічного пошкодження зони лімба, який полягає у видаленні епітелію рогівки шляхом аплікації диска фільтрувального паперу діаметром 10 мм, просоченого 20 % розчином етилового спирту, з подальшою аплікацією на область лімба 0,04 % розчину мітоміцину-С протягом 4 хвилин, який як відомо достовірно пригнічує процес ділення клітин (Милюдин Е.С. Экспериментальная модель недостаточности региональных стволовых клеток эпителия роговицы. Вестник САМГУ - Естественнаучная серия. 2006. №9. - 49. - Из. 219-226). Однак описана модель більше наближена до травматичного, хімічного пошкодження рогівки і недостатньо відображує патогенетичну і клінічну картину

нейротрофічного кератиту, що не дозволяє вирішити поставлену задачу.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалення способу моделювання нейротрофічної кератопатії шляхом поєднання чинників порушення кровообігу і іннервації рогівки і формування дефекту строми рогівки, за рахунок чого стає можливим розвиток нейротрофічного процесу в рогівці експериментальних тварин, що дозволить отримати модель нейротрофічного кератиту максимально наближеною до багатокомпонентних клінічних проявів нейротрофічної кератопатії.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі моделювання нейротрофічного кератиту, який включає видалення епітелію рогівки, згідно з корисною моделлю проводять циркляж очного яблука (передавлювання задніх довгих циліарних судин і нервів) силіконовою стрічкою 4,5 мм під зовнішніми прямими м'язами, після чого в центральній зоні рогівки формують дефект епітелію і строми рогівки діаметром 6 мм на глибину 1/3 товщини рогівки.

Практична реалізація цього способу моделювання можлива при використанні в умовах експерименту *in vivo* циркляжа очного яблука силіконовою стрічкою 4,5 мм, як елемента, гальмуючого регенерацію рогівки дефекту епітелію і строми тканини рогівки в оптичній зоні діаметром 6,0 мм, завглибшки на 1/3 товщини рогівки.

Причинно-наслідкові зв'язки:

Причина	Наслідок
Здійснення циркляжа очного яблука силіконовою стрічкою (передавлювання задніх довгих циліарних нервів)	Відбувається досягнення симптомокомплексу нейротрофічної кератопатії - порушується загоєння зони лімба з розвитком синдрому лімбальної недостатності, що перешкоджає нормальному відновленню поверхневих шарів рогівки
Формування дефекту епітелію і строми рогівки діаметром 6,0 мм, на 1/3 товщини тканини рогівки	Відбувається підсилення ефекту гальмування регенерації епітеліально-стромального дефекту рогівки

Переваги розробленої експериментальної моделі полягають в дії на ланки патогенетичного ланцюжка розвитку нейротрофічного процесу в рогівці, яка максимально наближена до клінічних умов розвитку нейротрофічного ураження рогівки з проявом виражених стадій нейротрофічного процесу. Таким чином, як видно з проведеного аналізу, кінцева мета корисної моделі забезпечується сукупністю істотних відмітних ознак: порушення живлення зони лімба передавлюванням задніх довгих циліарних нервів силіконовим циркляжем, уповільненням регенерації її поверхні в результаті формування дефекту епітелію і передніх шарів строми рогівки.

Опис пропонованого нами способу.

Для моделювання нейротрофічного кератиту в умовах *in vivo* використовували кроликів шиншила вагою 2-3,5 кг, після введення тварини в наркоз (відповідно до міжнародних правил по роботі з досліджуваними тваринами). Після здійснення попередньої інстиляції в кон'юнктивальну порожнину розчину алкаїну, тонометром Маклакова (7,5 гр.) вимірювали внутрішньоочний тиск (М - 16,5

мм.рт.ст.). Кон'юнктиву відсепаровували по колу від лімба. Виділялися зовнішні прямі м'язи, під якими проводилася силіконова стрічка, фіксувалася швами (шовк 5/0) і натягувалася до підвищення цифр офтальмотонуса на 2-3 мм.рт.ст. (проводилася під контролем тонометрії з використанням грузика вагою 7,5 гр.). Трепаном ФМУ діаметром 6,0 мм у центральній зоні рогівки виконували насічку епітелію і поверхневих шарів рогівки завглибшки на 1/3 товщини, потім проводили стромектомію за допомогою круглого ножа і ножиць Кастров'єхо. На кон'юнктиву накладали вузлові шви (шовк 5/0). У кон'юнктивальну порожнину заклапували розчин антисептиків (30 % альбуцид). Спостереження за станом рогівки проводилося в динаміці за допомогою бічного фокального освітлення, біомікроскопії з флюоресцеїновим тестом, фотореєстрації.

Лабораторні дослідження проводилися у віварії ГУ "Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова" АМН України. Приводимо характерний приклад запропонованого способу моделювання нейротрофічного кератиту. Для моделі ви-

користували кролика породи Шиншила вагою 2,5-3 кг. Тварину вводили в наркоз. Після попередньої інстиляції в кон'юнктивальну порожнину розчину алкаїну, тонометром Маклакова (7,5 гр.) вимірювалося внутрішньоочний тиск (М - 16,5 мм.рт.ст.). Кон'юнктиву відсепаровували по колу від лімба. Виділялися зовнішні прямі м'язи, під якими проводилася силіконова стрічка, фіксувалася швами (шовк 5/0) і затягувалася до підвищення цифр офтальмотонуса на 3-4 мм.рт.ст. (проводилася під контролем тонометрії з використанням грузика вагою 7,5 гр.). Трепаном OMV діаметром 6,0 мм у центральній зоні рогівки проводили насічку епітелію і поверхневих шарів рогівки завглибшки на 1/3 товщини, потім виконувалася стромектомія за допомогою круглого ножа і ножиць Кастров'єхо. На кон'юнктиву накладалися вузлові шви (шовк 5/0). У кон'юнктивальну порожнину закапували розчин антисептиків (30 % альбucid).

Спостереження за твариною проводили в динаміці, використовуючи бічне фокальне освітлення, біомікроскопію з флюоресцентним тестом, фотореєстрацію. Через одну добу від початку експерименту біомікроскопічна картина виявила наявність світлобоязні, мізерного слизистого відокремлюваного, фарбування рогівки в області стромектомії та за її межами до 7 мм у діаметрі. Навколишні тканини залишалися прозорими. До 3 діб - світлобоязнь збереглася, слизисте відокремлюване збільшилося, дефект рогівки в межах стромектомії обмежився, з фарбуванням до 5 мм у діаметрі, поверхня навколишньої рогівки просочувалася за типом епітеліопатії, з ніжною розрядкою тканини в шарах. Через 5 діб у експериментальної тварини збереглася світлобоязнь, знизилася сльозопродукція, помірно виражене слизисте ниткопо-

дібне відокремлювання, стромальний дефект майже повністю заепітелізувався з точковим фарбуванням в оптичній зоні з просоченням флюоресцину на решті протягу за типом епітеліопатії. Навколишні тканини рогівки залишалися майже прозорими. На 8 добу від початку експерименту проба Ширмера складала близько 5 мм, вся поверхня рогівки кролика заепітелізувалася, поверхня епітелію була іррегулярною, в нижньому відділі по ходу прикордонного кільця стромектомії просочувалася флюоресцином по типу епітеліопатії. На 14 добу після завершення епітелізації дефекту строми почали формуватися нейротрофічні зміни, які біомікроскопічно виражалися у вигляді: зниження сльозопродукції, слизистого нитчастого відокремлювання в кон'юнктивальній порожнині, точковій кератопатії, гіперплазії і іррегулярності епітелію. Через 19 діб від початку експерименту з'являлися персистуючі дефекти епітелію рогівки, з набряком і помутнінням строми. До 29 діб - при біомікроскопії рогівки експериментальної тварини до раніше описаних трофічних змін приєдналися ніжні складки десцеметової оболонки, ефект Тіндала у волозі передньої камери.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що завдяки поєднанню чинників порушення іннервації і живлення зони лімба (передавлювання силіконовим циркуляжем задніх циліарних артерій), гальмування регенерації поверхні рогівки в результаті дефекту епітелію і передніх шарів строми тканини рогівки, в експерименті *in vivo*, відтворена модель нейротрофічної кератопатії максимально наближена до клінічних умов розвитку нейротрофічного ураження рогівки з проявом виражених стадій нейротрофічного процесу.