

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ ОЧНИХ ХВОРОБ І ТКАНИННОЇ ТЕРАПІЇ
ім. В. П. ФІЛАТОВА НАМН УКРАЇНИ»



СЕРЕДА КАТЕРИНА ВІТАЛІЇВНА

УДК 617.713-002.9-089.843:618.446].168

**ЕФЕКТИВНІСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ АМНІОТИЧНОЇ МЕМБРАНИ
ПРИ БАКТЕРІАЛЬНИХ КЕРАТИТАХ**

14.01.18 – Офтальмологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Одеса - 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України».

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Дрожжина Галина Іванівна**, ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України», керівник відділу патології рогівки ока

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор **Завгородня Наталія Григорівна**, Запорізький державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри офтальмології

доктор медичних наук, професор **Скрипник Рімма Леонідівна**, Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, професор кафедри офтальмології

Захист відбудеться «2» лютого 2018 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.556.01 в ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України» за адресою: 65061, Україна, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України» (65061, Україна, м. Одеса, Французький бульвар, 49/51).

Автореферат розісланий «28» грудня 2017 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор медичних наук



О. В. Зборовська

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Бактеріальні кератити (БК) є тяжкими запальними захворюваннями, які зустрічаються в 13–20% випадків серед всієї патології рогівки і продовжують являти загрозу для зору, незважаючи на розробку нових потужних антибактеріальних засобів (Dahlgren M.A., 2007).

Навіть при інтенсивному лікуванні антибіотиками, ушкодження рогівки може відбуватися в результаті кератолітичних і запальних процесів, спричинених інфекцією або в результаті рубцювання і неоваскуляризації, пов'язаних із процесом репарації (Nordlund M.L., 2005; Nordlund M.L., 2016).

За даними M. D. Green (2007), частота несприятливих кінців бактеріальних кератитів сягає 54,2%, в 5–48,9% випадків вони мають ускладнений перебіг (десцеметоцеле, перфорація рогівки, ендoftальміт), а в 1,2–23,7% захворювання закінчується енуклеацією або евісцерацією, що істотно знижує якість життя пацієнтів і утруднює їхню соціальну адаптацію (Шаимова В. А., 2007; Ibrahim Y. W., 2009; Kaliyamurthy J., 2013; Wang N., 2016).

Консервативне лікування бактеріального кератиту не завжди виявляється ефективним. У таких випадках для лікування використовують місцеві тканини ока, а також аутологічні й донорські трансплантати. Через величезний дефіцит донорських тканин для трансплантації й, зокрема, рогівки, відбувається постійний пошук альтернативних матеріалів, які можна використовувати з лікувальною й оптичною метою.

Одним із таких матеріалів є амніотична мембрана (АМ), яка має багато унікальних властивостей та застосовується у офтальмохірургії (Liu J., 2010; Grau A. E., 2012; Hoffmann S., 2013; Abdulhalim B. E., 2015). Амніотична мембрана вперше використана в офтальмології понад 70 років тому (De Rotth A., 1940; Sorsby A., 1946). Однак широке використання трансплантації амніотичної мембрани (ТАМ) у пацієнтів з різною патологією переднього відділу ока розпочалося з 1995 р. (Kim J. C., 1995; Труфанов С. В., 2004; Федорова Е. А., 2004). Сьогодні завдяки своїм унікальним властивостям ТАМ посіла важливе місце в реконструктивній хірургії очної поверхні (Arvola R., 2015; Morikawa K., 2016; Paolin A., 2016).

Сьогодні виробника, що виготовляє амніотичну мембрану для офтальмології, в Україні немає. Враховуючи великий дефіцит донорського матеріалу для пересадки рогівки в Україні, а також наявність значної кількості пацієнтів, які потребують кератопластики з лікувальною метою (більше третини пацієнтів, яким рекомендована кератопластика), вітчизняна амніотична мембрана стане альтернативним матеріалом для лікувальної кератопластики, що дозволить істотно підвищити якість хірургічної допомоги хворим з патологією рогівки. Відповідно до клінічних протоколів в Україні трансплантація амніотичної мембрани затверджена як хірургічний метод лікування тільки при опіковій патології очей.

У численних зарубіжних експериментальних і клінічних дослідженнях доведена ефективність ТАМ при різних запальних, дистрофічних і дегенеративних захворюваннях рогівки (Muqit M. M., 2007; Shortt A. J., 2007; Nubile M., 2008; Seitz B., 2009; Kim H. K., 2009). Однак патоморфологічні механізми її дії вивчені недостатньо і потребують детального дослідження (Gris O., 2002; Said D. G., 2009). Більшість експериментальних досліджень присвячено вивченню впливу ТАМ на перебіг герпетичного і нейротрофічного кератитів, а також опіків очей. У літературі зустрічаються нечисленні роботи, присвячені вивченню впливу ТАМ на запальні процеси в рогівці при бактеріальних кератитах, а ефективність ТАМ при даній патології найменше вивчена (Kim J. S., 2001; Gicquel J. J., 2007; Barequet I. S., 2008; Thatte S., 2011; Hoffmann S., 2013).

Сьогодні амніотична мембрана використовується в клініці як біологічне покриття та у вигляді поширеного трансплантата або як їх комбінація (Espana E. M., 2002; Seitz B., 2007). Існує безліч суперечливих публікацій з приводу правильного розташування амніону на поверхні ока. Саме тому клінічний інтерес являє порівняльне вивчення ефективності вищезазначених хірургічних методик з метою вибору оптимальної тактики лікування.

Молекулярні механізми впливу АМ на перебіг запального процесу й регенерації рогівки сьогодні інтенсивно вивчаються з використанням різних біологічних маркерів, і зокрема ІЛ-6, ІЛ-10, фактора росту пухлин (TNF- α), галектину-1, PCNA-білка, матриксних металопротеїназ (Bromley M. A., 1996; Bauer D., 2012; Heiligenhaus A., 2004; Smorodina N., 2015). Однак більшість робіт присвячена вивченню впливу ТАМ на перебіг герпетичного і нейротрофічного кератитів, а деякі біологічні маркери (епітеліальний Ki-67, макрофагальний CD68, запальний MMP-9, мезенхімальний віментин) залишаються маловивченими.

Таким чином, вивчення впливу трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої з максимальним збереженням життєдіяльності клітин, на особливості перебігу запального процесу рогівки при модельованому бактеріальному кератиті з використанням маркерів репарації (Ki-67, CD68, MMP-9, віментин) є актуальним і має науковий і практичний інтерес.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Виконана робота була частиною затвердженої НАМН України науково-дослідної роботи ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України»: «Розробити оптимальні методи використання трансплантації кріоконсервованої амніотичної мембрани й алогенних лімбальних стовбурових клітин рогівки на підставі вивчення механізмів їх впливу на особливості перебігу запального процесу й регенерації рогівки в лікуванні патології рогівки і визначення їх ефективності» (2014–2016), № державної реєстрації 0114U002512), в якій дисертант була співвиконавцем.

Мета дослідження: оптимізувати методи трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, на основі вивчення в експерименті механізмів її впливу на особливості перебігу запального процесу і регенерації рогівки при бактеріальному кератиті.

Завдання дослідження:

1. Вивчити за даними архівного матеріалу ефективність різних технік трансплантації кріоконсервованої амніотичної мембрани «платекс амніотичний» у хворих із запальною та дистрофічною патологією рогівки.

2. Розробити модель бактеріального кератиту, найбільш оптимальну для вивчення впливу трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, на перебіг запального процесу в рогівці.

3. На розробленій моделі бактеріального кератиту вивчити вплив трансплантації амніотичної мембрани на запальний процес і регенерацію рогівки шляхом дослідження рівня експресії маркера проліферації Ki-67, макрофагального маркера CD68, матриксної металопротеїнази MMP-9 і мезенхімального фактора віментину.

4. В експерименті вивчити особливості клінічного перебігу запального процесу і його результат залежно від хірургічної техніки трансплантації амніотичної мембрани (біологічне покриття, поширова трансплантація).

5. Розробити рекомендації до вибору оптимальної хірургічної техніки трансплантації амніотичної мембрани при бактеріальному кератиті.

Об'єкт дослідження – бактеріальний кератит.

Предмет дослідження – особливості впливу трансплантації амніотичної мембрани на перебіг запального процесу в рогівці кролика при бактеріальному кератиті.

Методи дослідження: візометрія, біомікроскопія, флюоресцеїновий тест, фотореєстрація змін рогової оболонки, гістоморфологічні та імуногістохімічні дослідження тканин рогівки, статистичні методи, які включають визначення параметричних критеріїв Фішера, χ^2 , непараметричного критерію Вілкоксона - Манна – Уїтні.

Наукова новизна отриманих результатів. Розроблено модель бактеріального кератиту, що дозволяє отримати стандартну клінічну картину бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості у 100% експериментальних тварин, яку можна використовувати для вивчення ефективності ТАМ, а також механізмів її впливу на перебіг кератиту (Патент України № UA87119U від 27.01.2014).

Вперше вивчено взаємозв'язок між запаленням і проліферативною активністю епітеліоцитів і кератоцитів на розробленій моделі бактеріального кератиту з використанням імуногістохімічних маркерів, який проявляється наявністю зворотного зв'язку між проліферативною активністю клітин переднього епітелію рогової оболонки (відсутність експресії Ki-67) та інтенсивністю запальної інфільтрації стромы рогівки (наявність експресії CD68 і MMP-9).

Розширено знання про вплив трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, на процеси регенерації рогової оболонки, що полягають у збільшенні кількості стовбурових клітин лімбальної зони (наявність експресії віментину) та їх проліферації за участі в епітелізації рогової оболонки (наявність експресії Ki-67).

Вперше на розробленій моделі бактеріального кератиту показано протизапальні властивості амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, що підтверджується епітелізацією поверхні рогівки в 73,3% тварин незалежно від техніки фіксації трансплантата на 7-му добу, резорбцією запальної інфільтрації в тканині рогівки на 14-ту добу в 90% тварин у групі з біологічним покриттям і в 70% тварин – у групі з пошаровою трансплантацією амніотичної мембрани.

Практичне значення отриманих результатів. Використання трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, при застосуванні техніки біологічного покриття більш ефективно порівняно з технікою пошарової трансплантації. Виражається це в тому, що на 30-ту добу експерименту у всіх тварин відсутні запальна інфільтрація, васкуляризація і формування інтенсивного помутніння рогівки, тимчасом як при використанні техніки пошарової трансплантації перераховані клінічні ознаки спостерігаються в 40% тварин.

Порівняльне вивчення двох технік фіксації амніотичної мембрани, проведене на моделі бактеріального кератиту, дозволяє рекомендувати у випадку виразок рогівки глибиною до 1/3 строми застосування трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, з використанням техніки біологічного покриття.

На підставі проведених експериментальних досліджень отримано дозвіл Координаційного центру трансплантації органів, тканин і клітин України на вивчення ефективності ТАМ у пацієнтів з патологією рогівки в клініці (протокол № 1 від 24 січня 2017 року).

Впровадження в практику. Розроблена модель бактеріального кератиту застосовувалася для експериментальних досліджень на базі віварію ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМНУ» згідно до наукової тематики лабораторії імунологічних досліджень. Результати дослідження впроваджені в лікувальну роботу відділу патології рогівки ока ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМНУ».

Особистий внесок здобувача в одержання наукових результатів. Вибір теми дисертації, напрямку дослідження й методологічна побудова роботи виконані разом із науковим керівником, д.мед.н., проф. Г.І. Дрожжиною. Аспірантом самостійно виконано патентно-інформаційне обґрунтування теми дисертації й експериментальних досліджень. Самостійно проведено моделювання бактеріального кератиту й трансплантація кріоконсервованої амніотичної мембрани в експерименті, вивчено клінічні особливості перебігу запального процесу рогової оболонки після ТАМ у тварин на базі віварію ДУ

«Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України». Аналіз архівних історій хвороби відділення мікрохірургічного лікування патології рогівки виконано аспірантом самостійно. Світлооптичні дослідження структури рогівки в експерименті й інтерпретація даних проведені при консультативній допомозі д. мед. н., проф. В. В. Віта. Імуногістохімічні дослідження рівня експресії досліджуваних маркерів та інтерпретація даних виконані при консультативній допомозі д. мед. н., проф., зав. лабораторії патоморфології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології НАМН України» Т. Д. Задорожної. Статистична обробка даних виконана самостійно при консультативній допомозі н.с. О.І. Драгомирецької. Дисертантом самостійно проведено аналіз і узагальнення отриманих результатів, написано всі розділи дисертаційної роботи. Наукова новизна, практична значимість і висновки дисертації сформульовані разом із науковим керівником.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення і результати досліджень повідомлені та обговорені на XIII з'їзді офтальмологів України (Одеса, 2014), XII Всеросійській міжнародній науково-практичній конференції «Федоровские чтения» (Москва, 2014), науково-практичній конференції «Трансплантація: Сьогодення, минуле та майбутнє» (Київ, 2014), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Філатовські читання 2015», присвяченій 140-річчю від дня народження академіка Філатова (Одеса, 2015), VI конгресі EuCornea (Барселона, Іспанія, 2015), 113-му й 114-му конгресах німецького товариства офтальмологів DOG (Берлін, Німеччина, 2015, 2016), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Філатовські читання 2016», присвяченій 80-річчю з дня заснування Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова (Одеса, 2016), VII конгресі EuCornea (Копенгаген, Данія, 2016), X Республіканській конференції з міжнародною участю «Актуальные вопросы офтальмологии» (Мінськ, 2016), науково-практичній конференції офтальмологів Полтавської, Кіровоградської, Сумської, Черкаської, Чернігівської, Харківської областей України «Актуальні питання офтальмології» (Полтава, 2016), Європейському товаристві офтальмології SOE (Барселона, Іспанія, 2017).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових робіт, в тому числі 7 статей в наукових журналах і збірниках, рекомендованих ДАК України (з них 2 у міжнародних виданнях), одержано 1 патент України, 12 – в матеріалах і тезах науково-практичних конференцій, з'їздів, конгресів.

Структура та обсяг дисертації. Робота викладена українською мовою на 176 сторінках комп'ютерного тексту. Складається зі вступу, семи розділів власних досліджень, висновків, списку використаних літературних джерел, двох додатків. Матеріали дисертації ілюстровано 14 таблицями та 64 рисунками (5 рисунків та 1 таблиця займають 3 окремі сторінки). Список використаних літературних джерел включає 247 найменувань і представлений на 29 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. На першому етапі дослідження було проведено аналіз ефективності різних технік трансплантації кріоконсервованої амніотичної мембрани «платекс амніотичний» у хворих із запальною та дистрофічною патологією рогівки за даними архівного матеріалу (65 хворих). Під час проведення ТАМ використовували одну з трьох хірургічних методик: пошарова трансплантація, біологічне покриття або комбінована (сендвіч) техніка. Після завершення операції поверхню рогівки з АМ вкривали бандажною лікувальною МКЛ.

Експериментальне дослідження проведено на 60 очях 60 кроликів породи шиншила. Оперативні втручання виконували на базі віварію ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України» в умовах асептики й антисептики. Експеримент проводили з дотриманням етичних норм, передбачених міжнародними принципами Європейської конвенції «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів і в інших наукових цілях» (Страсбург, 1986) і норм біомедичної етики, схвалених першим національним конгресом України з біоетики (2001), а також Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Київ, 2006).

Моделювання бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості проводили за запропонованим нами способом. Всім експериментальним тваринам в оптичній зоні виконували пошарову трепанацію рогівки трепаном діаметром 6,0 мм до 2/3 товщини стріми. Далі проводили інфікування рогівки шляхом двократної інстиляції в кон'юнктивальну порожнину 1 мл бактеріальної суспензії патогенного штаму *Staphylococcus aureus* (10^9 клітин/мл), виділеного від хворого. Наприкінці оперативного втручання виконувалась субкон'юнктивальна ін'єкція 0,2 мл дипроспану. Протягом наступних 14 днів проводили щоденні трикратні інстиляції 0,1%-го розчину дексаметазону.

Через 2 тижні після моделювання бактеріального кератиту у 60 тварин (60 очей) проводили трансплантацію амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, яка передбачає максимальне збереження життєздатності клітин амніону. У першій групі експериментальних тварин (30 очей) використовували техніку біологічного покриття onlay (1 шар) з епісклеральною фіксацією амніона через кон'юнктиву вузлуватими швами шовк 8/00. У другій групі тварин (30 очей) застосовували пошарову техніку трансплантації inlay (1 шар) з фіксацією амніона до рогівки в межах дефекту тканини вузлуватими швами нейлон 10/00. Повіки тварин зшивали двома П-подібними швами, залишаючи в медіальному куті щілину для огляду. Термін спостереження становив 1 міс. Групу контролю склали 10 кроликів з модельованим бактеріальним кератитом, які одержували традиційну консервативну терапію.

Оцінку стану рогівки кроликів в післяопераційному періоді проводили зв допомогою розробленої рангової шкали: виділення в кон'юнктивальній порожнині, ступінь гіперемії кон'юнктиви очного яблука, набряк рогівки,

запальна інфільтрація, флюоресцеїновий тест, стан рогівки, що оточує запальне вогнище, стан амніотичної мембрани, ступінь помутніння рогівки, васкуляризація рогівки.

Імуногістохімічні дослідження. З метою визначення експресії проліферативного маркера Ki-67, макрофагального маркера CD68, матриксної металопротеїнази MMP-9 і мезенхімального маркера віментину використовувався непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії моноклональних антитіл до перерахованих маркерів.

Морфологічні дослідження. Енуклеовані очні яблука фіксували в 10%-му нейтральному формаліні, заливали в парафін. Зрізи зафарбовували гематоксилін-еозином за ван Гізоном і досліджували з використанням мікроскопу Jenamed-2.

Методи статистичних досліджень. Статистичний аналіз полягав у порівнянні клінічного стану ока тварини і АМ при використанні двох хірургічних технік ТАМ. При цьому аналізували таблиці спряженості з використанням χ^2 -критерію. У разі потреби, при мало насичених таблицях спряженості, використовували також точний критерій Фішера. Для статистичного аналізу розбіжностей стану ока при використанні різних технік ТАМ застосовували також непараметричний критерій Манна–Уїтні для кожного терміну спостереження. Для ілюстрації розбіжностей за всіма клінічними ознаками на рисунках представляли суму рангів, які використовує критерій Манна–Уїтні.

Результати дослідження та їх обговорення. Ефективність різних хірургічних технік трансплантації амніотичної мембрани у хворих із запальними і дистрофічними захворюваннями рогівки за даними аналізу архівного матеріалу. В результаті проведеного аналізу була визначена висока ефективність застосування трансплантації амніотичної мембрани «платекс амніотичний» у хворих з різною патологією рогівки: рецидивуючий птеригіум, бульозна форма ендотеліально-епітеліальної дистрофії (ЕЕД) рогівки, кератити (бактеріальні, нейротрофічні, герпетичні та аутоімунні) й опіки рогівки. У 62 (95,4 %) хворих було отримано позитивний терапевтичний ефект незалежно від етіології захворювання з прискоренням процесів епітелізації поверхні рогівки, купіруванням запалення і больового синдрому, а також відсутністю рецидивування птеригіуму. Тенденція до найбільшої ефективності при використанні пошарової техніки спостерігалася в пацієнтів з бактеріальним і герпетичним кератитами, техніки біологічного покриття – у пацієнтів з нейротрофічним кератитом і ендотеліально-епітеліальною дистрофією рогівки, а комбінованої техніки – у пацієнтів з аутоімунними кератитами.

Моделювання бактеріального кератиту. Через 24 год після інфікування бактеріальною культурою у всіх експериментальних тварин діагностували бактеріальний кератит середнього ступеня тяжкості (рис. 1).



Рис. 1. Око кролика через 24 год після моделювання кератиту.

Спостерігали рясні слизисто-гнійні виділення з кон'юнктивальної порожнини, виразку рогівки $d=5,0-6,0$ мм, що забарвлюється флюоресцеїном, виражений набряк з інтенсивною інфільтрацією в стромі рогівки.

На 14-ту добу в 93,4% кроликів (28 очей) характерною була наявність виразки рогівки 2,0–4,0 мм у діаметрі, набряк з явищами осередкової інфільтрації в передніх шарах стромі рогівки.

Клінічні особливості впливу трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою. Через 2 тижні після моделювання бактеріального кератиту в 60 кроликів породи шиншила (60 очей) проводили трансплантацію амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, з використанням техніки біологічного покриття або пошарової трансплантації. На 7-му добу після трансплантації амніотичної мембрани виразність запального процесу в рогівці експериментальних тварин була вірогідно нижчою в групі з біологічним покриттям АМ за такими показниками: кількість виділення в кон'юнктивальній порожнині ($p=0,03$), ступінь набряку стромі рогівки ($p=0,01$) і стан оточуючої рогівки ($p=0,002$) (рис. 2).

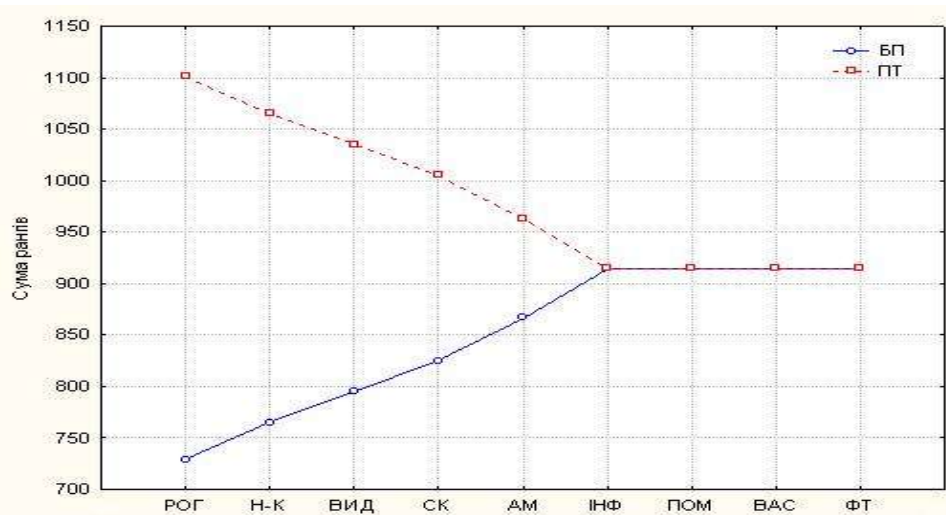


Рис. 2. Рівень розбіжностей за всіма досліджуваними клінічними критеріями на 7-му добу.

На 30-ту добу в порівнюваних групах з різною технікою ТАМ прояви запального процесу в рогівці тварин були вірогідно нижчими в групі із застосуванням техніки біологічного покриття за критеріями: ступінь гіперемії кон'юнктиви ($p=0,03$), запальна інфільтрація строми рогівки ($p=0,03$), ступінь забарвлення рогівки флюоресцеїном ($p=0,03$), збереженість АМ ($p=0,02$), васкуляризація рогівки ($p=0,03$) (рис. 3).

Проведені дослідження показали, що в групі експериментальних тварин, у яких застосовували пошарову техніку трансплантації амніотичної мембрани, через місяць в 40% випадків спостерігали наявність інфільтрації й васкуляризації рогівки з формуванням інтенсивного помутніння. У групі з біологічним покриттям амніотичною мембраною інфільтрація й васкуляризація рогівки не спостерігались. В 40% випадків характерною була наявність прозорої рогівки та у 60% – формування хмароподібного помутніння.

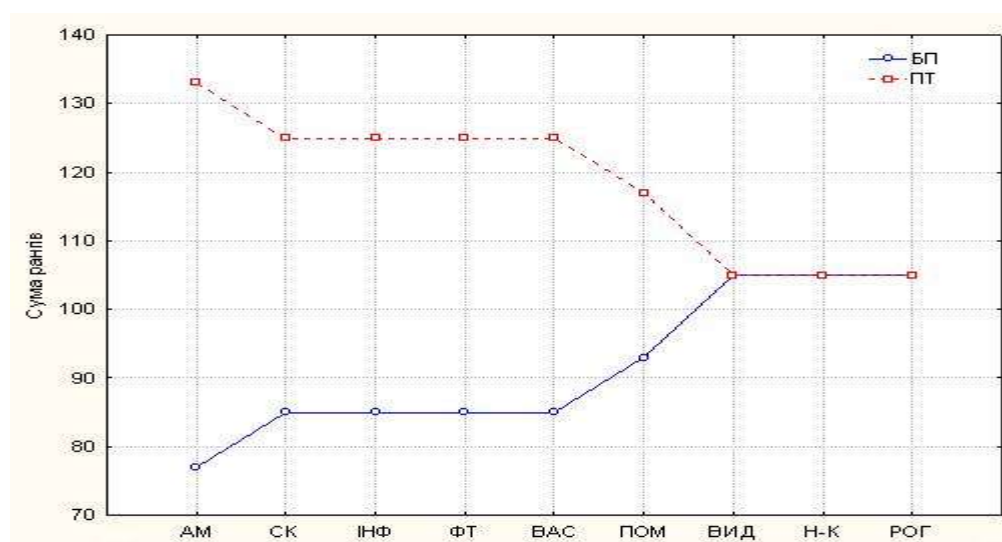


Рис.3. Рівень розбіжностей за всіма досліджуваними клінічними критеріями на 30-ту добу.

Морфологічні прояви впливу трансплантації кріоконсервованої амніотичної мембрани на особливості перебігу модельованого бактеріального кератиту. Для проведення морфологічного дослідження тварин з модельованим БК після ТАМ виводили з експериментального дослідження на 7, 14 і 30-ту добу. Була доведена ефективність техніки біологічного покриття АМ у лікуванні експериментального бактеріального кератиту. Про це свідчить повна епітелізація поверхні рогівки експериментальних тварин на 7-му добу після операції з диференціацією кліток за шарами, що настає до 30-ї доби (рис. 4).



Рис. 4. Особливості будови рогівки кролика на 30-ту добу після трансплантації амніотичної мембрани, техніка біологічного покриття (гематоксилін-еозин, $\times 40$).

В групі тварин, у яких застосовували техніку пошарової трансплантації АМ, поблизу шовного матеріалу епітеліальний шар був стоншений, а епітеліоцити були дегенеративно змінені. У цих місцях зберігався набряк строми рогової оболонки. Необхідно відзначити, що всюди, де проходив крізь строму шовний матеріал, відзначалися дегенеративні зміни (рис. 5 а, б). При цьому в ділянці внутрішніх шарів строми рогової оболонки поблизу шовного матеріалу відзначалася реактивна проліферація ендотеліальних клітин з утворенням багатошарової волокнистої тканини. У деяких випадках відзначалися явища початкової васкуляризації строми рогової оболонки, особливо у поверхневих шарах і поблизу шовного матеріалу.

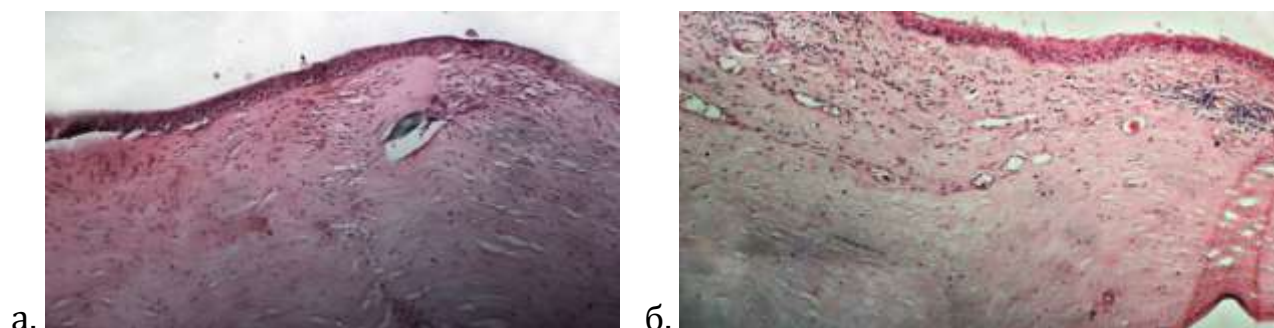


Рис. 5. Особливості будови рогівки кролика на 30-ту добу після трансплантації амніотичної мембрани, техніка пошарової трансплантації (гематоксилін-еозин, $\times 70$): а) відсутність кератоцитів і гомогенізація колагенових волокон уздовж проходження шовного матеріалу; б) васкуляризація поверхневих шарів строми рогівки.

Запалення рогової оболонки і проліферативна активність клітин переднього епітелію при модельованому бактеріальному кератиті та використанні амніотичної мембрани з різним типом її фіксації. В результаті проведеного імуногістохімічного дослідження було відзначено наявність зворотного зв'язку між проліферативною активністю клітин переднього епітелію рогової оболонки і ступенем запальної інфільтрації строми рогівки. За

наявності запалення відзначалося зниження проліферативної активності епітеліоцитів переднього епітелію, що істотно знижувало швидкість епітелізації та наступної диференціації клітин за шарами.

Нами були відзначені подібні особливості експресії досліджуваних імуногістохімічних маркерів (Ki-67, CD68, MMP-9) рогівки в групі з біологічним покриттям і пошаровою трансплантацією (рис. 6,7). Принципові відмінності експресії спостерігалися лише в місцях розташування шовного матеріалу.

Експресія глікопротеїну CD68 виявлялась в поверхневих шарах строми рогової оболонки, а також у вигляді муфт навколо кровоносних судин різного ступеня диференціації й ендотеліоцитах (рис. 7) у групі тварин з пошаровою ТАМ.

У більшості випадків експресія металопротеїнази виявлялась в епітеліоцитах переднього епітелію незалежно від ступеня його диференціації, а також у стромальних кератоцитах і клітинах амніотичної мембрани в обох групах (рис. 8).

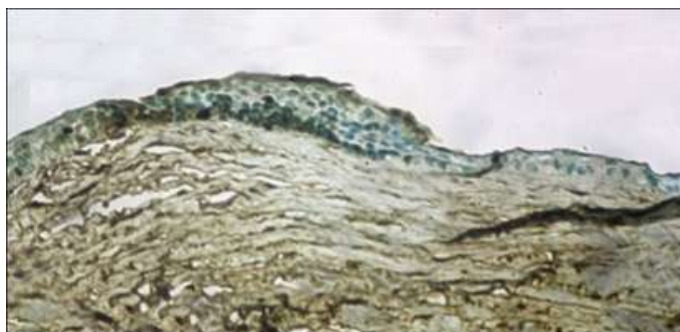


Рис. 6. Особливості експресії Ki-67 на 7-му добу після трансплантації амніотичної мембрани (непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії МКАТ до Ki-67, $\times 70$).



Рис. 7. Експресія CD68 лімфоцитами й макрофагами (непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії МКАТ до CD68, $\times 70$).



Рис. 8. Особливості експресії ММР-9 на 7-му добу після трансплантації амніотичної мембрани (непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії МКАТ до ММР-9, $\times 70$).

При вивченні рівня експресії віментину була виявлена участь стовбурових клітин у процесах регенерації рогової оболонки кроликів при використанні ТАМ. При цьому відзначалась певна динаміка їх участі залежно від стадії розвитку процесу регенерації переднього епітелію рогівки. Найбільша кількість стовбурових клітин визначалась в процесі міграції епітелію на поверхню рани та проліферації клітин, що спричиняло формування багат шарового, але не диференційованого за шарами епітелію (рис. 9).

По ходу диференціації епітелію за шарами їх кількість зменшувалась та при будові епітелію, що наближався до норми, стовбурові клітини визначались тільки в базальному шарі.



Рис. 9. Особливості експресії віментину на 14-ту добу після трансплантації амніотичної мембрани (непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії МКАТ до віментину, $\times 120$).

ВИСНОВКИ

1. Бактеріальні кератити є тяжкими запальними захворюваннями, в 5–48,9% мають ускладнений перебіг і потребують хірургічного лікування. Через дефіцит донорської рогівки для лікувальної кератопластики альтернативною тканиною є амніотична мембрана, механізми впливу якої активно вивчаються. Однак сьогодні виробника, що виготовляє амніотичну

мембрану, в Україні немає. У зв'язку з цим вивчення властивостей амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, а також механізмів її впливу на особливості перебігу запального процесу й регенерації рогівки при модельованому бактеріальному кератиті є актуальним.

2. При аналізі архівного матеріалу встановлено високу ефективність трансплантації амніотичної мембрани «платекс амніотичний» у хворих із запальною та дистрофічною патологією рогівки: в 62 (95,4%) хворих було отримано позитивний терапевтичний ефект незалежно від типу хірургічної техніки (біологічне покриття, пошарова трансплантація) й етіології захворювання, що підтверджувалося прискоренням процесів епітелізації поверхні рогівки, купіруванням запалення й больового синдрому.

3. Розроблена модель дозволяє в 100% кроликів відтворити довгостроково існуючий (14 діб) бактеріальний кератит середнього ступеня тяжкості, найбільш оптимальний для вивчення впливу трансплантації амніотичної мембрани на перебіг запального процесу в рогівці, що полягає в пошаровій трепанації рогівки до 2/3 товщини стромы, додатковій субкон'юнктивальній ін'єкції 0,2 мл дипроспану після інфікування культурою *Staphylococcus aureus* і триразовими інстиляціями 0,1%-го розчину дексаметазону.

4. Трансплантація амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, сприяє епітелізації рогівки на 7-му добу в 73,3% тварин у групах з біологічним покриттям і пошаровою трансплантацією й зниженню інтенсивності запальної реакції на 14-ту добу в 90% тварин у групі з біологічним покриттям і в 70 % тварин – у групі пошарової трансплантації.

5. При бактеріальному кератиті в експерименті з використанням техніки біологічного покриття амніотичною мембраною відзначено більш успішний результат (імовірність і ступінь помутніння) порівняно з технікою пошарової трансплантації:

а) на 30-ту добу в групі тварин із застосуванням техніки біологічного покриття спостерігали формування помутніння стромы рогівки легкого ступеня в 60% випадків і його відсутність – в 40% випадків;

б) на 30-ту добу в групі тварин із застосуванням техніки пошарової трансплантації спостерігали формування помутніння стромы рогівки легкого ступеня в 20% випадків і середнього ступеня – в 40 % випадків.

6. На моделі бактеріального кератиту після застосування трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, виявлено зворотний зв'язок між проліферативною активністю клітин переднього епітелію рогової оболонки й ступенем запальної інфільтрації стромы рогівки, що підтверджується рівнем експресії маркерів репарації (Ki-67, CD68 і MMP-9).

7. Трансплантація амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, сприяє активації стовбурових клітин лімбальної зони, що підтверджується максимальним рівнем експресії маркера мезодермальних тканин (віментину) на 7-му добу експерименту.

8. Застосування техніки поширової трансплантації амніотичної мембрани з її шовною фіксацією супроводжується дегенеративними змінами строми рогової оболонки на всьому протязі проходження шва з формуванням запальних гранулем і проліферацією ендотеліальних клітин.

9. Проведене експериментальне дослідження дозволяє рекомендувати у хворих з бактеріальним кератитом застосування трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, з використанням техніки біологічного покриття у випадку ураження строми рогівки глибиною до 1/3 строми.

10. Розроблена модель бактеріального кератиту застосовувалася для наукових досліджень на базі відділу патології рогівки й лабораторії імунологічних досліджень ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМНУ». На підставі проведених експериментальних досліджень отримано дозвіл Координаційного центру трансплантації органів, тканин і клітин України на вивчення ефективності трансплантації амніотичної мембрани у пацієнтів з патологією рогівки в клініці (протокол № 1 від 24 січня 2017 року).

ПЕРЕЛІК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Дрожжина Г. И. Влияние биологического покрытия роговицы жизнеспособной кріоконсервированной амниотической мембраной на особенности течения моделированного бактериального кератита / Г. И. Дрожжина, Е. В. Середя, Т. Б. Гайдамака, В. В. Вит, В. А. Шаблій, Г. С. Лобынцева // Офтальмол. журн. - 2015. - № 1. - С.103-109. (Автором особисто були проведені експериментальні дослідження, збір, підготовка матеріалу, написана стаття).

2. Середя Е. В. Экспериментальная модель бактериального кератита средней степени тяжести / Е. В. Середя, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака // Офтальмология. Восточная Европа. – 2015. - № 2 (25). – С.41-48. (Автором самостійно проведено патентний пошук, оформлена патентна документація).

3. Середя Е. В. Воспаление роговой оболочки и пролиферативная активность клеток переднего эпителия при моделировании бактериального кератита и использовании амниотической мембраны с различным типом ее фиксации / Е. В. Середя, В. В. Вит, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака // Офтальмол. журн. - 2016. - №1. - С.36-42. (Автором особисто були проведені експериментальні дослідження; спільно з д-р мед. наук., проф. В.В. Вітом описано гістологічні препарати).

4. Середя К. В. Особливості впливу кріоконсервованої амніотичної мембрани людини в залежності від типу її фіксації на моделі бактеріального кератиту / К. В. Середя, Г. І. Дрожжина Т. Б. Гайдамака, В. В. Віт, В. А. Шаблій, Г. С. Лобинцева // Вісник Вінницького національного медичного

університету. – 2016. – №1, Ч.1 (Т.20). – С. 21-27. (Автором особисто були проведені експериментальні дослідження, збір, підготовка матеріалу, написана стаття; спільно з д-р мед. наук., проф. Г. І. Дрожжиною сформульовано висновки).

5. Середа Е. В. Влияние различных техник трансплантации криоконсервированной амниотической мембраны на процессы репарации роговицы на модели бактериального кератита / Е. В. Середа, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака // Офтальмология. Восточная Европа, – 2016. – Т. 6, № 2. – С.229-239. (Автором особисто були проведені експериментальні дослідження, збір, підготовка матеріалу, написана стаття).

6. Середа Е. В. Особенности экспрессии виментина структурными элементами роговицы кроликов при применении амниотической мембраны с различными методами ее фиксации на модели бактериального кератита / Е. В. Середа, В. В. Вит, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака // Офтальмология. - 2016. - № 1 (03). – С.31-40. (Автором особисто були проведені експериментальні дослідження, збір, підготовка матеріалу, написана стаття; спільно з д-р мед. наук., проф. Г. І. Дрожжиною сформульовано висновки).

7. Середа Е. В. Эффективность различных хирургических методов трансплантации амниотической мембраны / Е. В. Середа, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака, Е. В. Ивановская, В. Л. Остафьевский, О.Н. Иванова, Б. М. Коган // Офтальмол. журн. – 2016. - № 4. – С.3-10. (Автор приймала участь у проведенні клінічних досліджень та самостійно провела аналіз архівного матеріалу історій хвороб).

8. Патент № 87119 Україна, МПК (2014.01) А61К 35/00. Спосіб моделювання бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості / Г. І. Дрожжина, К. В. Вансович *, Т. Б. Гайдамака; власник ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» – u 2013 0880; заявл. 15.07.2013, опубл. 27.01.2014, Бюл. № 2. (Автором самостійно проведено патентний пошук, оформлена патентна документація).

9. Дрожжина Г. И. Изучение влияния жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраны человека на особенности клинического течения воспалительного процесса в роговице кроликов / Г. И. Дрожжина, Е. В. Вансович (Середа), Т. Б. Гайдамака, В. А. Шаблий, Т. В. Стасевич, З. А. Тимкина // XIII з'їзд офтальмологів України, 21–23 травня 2014 р. : матеріали. – Одеса, 2014. – С. 12-13.

10. Середа Е. В. Изучение влияния жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраны человека на особенности клинического течения воспалительного процесса в роговице кроликов / Е. В. Середа, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака, В. А. Шаблий, Г. С. Лобынцева, Т. В. Стасевич, З. А. Тимкина // Федоровские чтения : XII Всероссийская международн. научно-практ. конф., Москва, 19-20 июня 2014 г. : материалы. – Москва, 2014. - С. 31-32.

11. Середа Е. В. Изучение влияния трансплантации жизнеспособной криоконсервированной амниотической мембраны человека на особенности

клинического течения воспалительного процесса в роговице кроликов / Е. В. Середа, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака, В. А. Шаблій, Т. В. Стасевич, З. А. Тимкина // Трансплантація : Сьогодення, минуле та майбутнє : наук.-практ. конф., Київ, 7 листопада 2014 р. : тези. – Київ, 2014. - С. 18.

12. Середа Е. В. Сравнительная оценка различных техник трансплантации амниотической мембраны на модели бактериального кератита / Е. В. Середа, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака, В. А. Шаблій, Г. С. Лобынцева // Філатовські читання-2015 : наук.-практ. конф. з міжнародною участю, присвячена 140-річчю від дня народження академіка В. П. Філатова, Одеса, 21–22 травня 2015 р. : матеріали. – Одеса, 2015. - С. 26-27.

13. Sereda K. V. Comparative evaluation of amniotic membrane transplantation techniques on the bacterial keratitis model / K. V. Sereda, G. I. Drozhzhyna, T. B. Gaidamaka, V. A. Shablii, G. S. Lobintseva // 6th EuCornea Congress, 4–5 September 2015 : e. poster. – POS-7082. - Barcelona, 2015.

14. Sereda K. V. Cryopreserved amniotic membrane transplantation on the bacterial keratitis model / K. V. Sereda, G. I. Drozhzhyna, T. B. Gaidamaka, V. A. Shablii, G. S. Lobintseva // 113th DOG Congress, 1–4 October 2015 : e. poster. - PFr02-09. – Berlin, 2015.

Примітка * - прізвище автора Вансович змінено на Середа

15. Середа Е. В. Воспаление роговой оболочки и пролиферативная активность клеток переднего эпителия при моделировании бактериального кератита и использовании амниотической мембраны с различным типом ее фиксации / Е. В. Середа, В. В. Вит, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака // Філатовські читання-2016 : XIV конгрес офтальмологів Причорномор'я, Одеса, 19–20 травня 2016 р. : матеріали. - Одеса, 2016. - С. 32-33.

16. Sereda K. V. Corneal inflammation and proliferative activity of the anterior epithelium cells on the bacterial keratitis model with amniotic membrane transplantation using different types of its fixation / K. V. Sereda, V. V. Vit, G. I. Drozhzhyna, T. B. Gaidamaka // 7th EuCornea Congress, 9–10 September 2016 : e. poster. - POS-27146. – Copenhagen, 2016.

17. Sereda K. V. Proliferative activity of the anterior epithelium cells on the bacterial keratitis model with amniotic membrane transplantation using different types of its fixation / K. V. Sereda, G. I. Drozhzhyna, T. B. Gaidamaka // 114th DOG Congress, 28 September–2 October 2016 : e. poster. - PFr 03-983. – Berlin, 2016.

18. Середа Е. В. Особенности течения воспалительного процесса и репарации роговой оболочки при моделировании бактериального кератита и использовании амниотической мембраны с различным типом ее фиксации / Е. В. Середа, Г. И. Дрожжина, Т. Б. Гайдамака // Актуальні питання офтальмології : наук.-практ. конф. офтальмологів Полтавської, Кіровоградської, Сумської, Черкаської, Чернігівської, Харківської областей України, Полтава, 5–6 жовтня 2016 р. : матеріали. – Полтава, 2016. - С. 164-166.

19. Середа Е. В. Эффективность различных хирургических методов фиксации амниотической мембраны / Е. В. Середа, Г. И. Дрожжина, Т. Б.

Гайдамака, Е. В. Ивановская // Актуальные вопросы офтальмологии : X Республ. конф. с международным участием, Минск, 9–10 декабря 2016 г. : материалы. – Минск, 2016. – С. 566-567.

20. Sereda K. V. The efficacy of different surgical methods of the amniotic membrane fixation / K. V. Sereda, G. I. Drozhzhyna, T. B. Gaidamaka // SOE, 10-13 June 2017 : e. poster. – EP-COR-236. – Barcelona, 2017.

АНОТАЦІЯ

Середа К. В. Ефективність трансплантації амніотичної мембрани при бактеріальних кератитах. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.18 «Офтальмологія». – ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України», Одеса, 2017.

Дисертаційна робота присвячена оптимізації методів трансплантації амніотичної мембрани, кріоконсервованої за новою методикою, на основі вивчення в експерименті механізмів її впливу на особливості перебігу запального процесу і регенерації рогівки при бактеріальному кератиті.

Розроблено модель бактеріального кератиту, що дозволяє отримати стандартну клінічну картину бактеріального кератиту середнього ступеня тяжкості. Вперше вивчено взаємозв'язок між запаленням і проліферативною активністю епітеліоцитів з використанням імуногістохімічних маркерів (Ki-67, CD68, MMP-9). Розширено знання про вплив трансплантації амніотичної мембрани на процеси регенерації рогівки на підставі визначення рівнів експресії мезенхімального маркера віментину.

Порівняльне вивчення двох технік фіксації амніотичної мембрани дозволяє рекомендувати у випадку виразок рогівки глибиною до 1/3 строми застосування трансплантації амніотичної мембрани з використанням техніки біологічного покриття. На підставі проведених досліджень отримано дозвіл Координаційного центру трансплантації органів, тканин і клітин України на вивчення ефективності трансплантації амніотичної мембрани у пацієнтів з патологією рогівки.

Ключові слова: бактеріальний кератит, амніотична мембрана, кріоконсервація, трансплантація, експериментальне дослідження, біологічне покриття, пошарова трансплантація.

АННОТАЦИЯ

Середа Е.В. Эффективность трансплантации амниотической мембраны при бактериальных кератитах. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 «Офтальмология». – ГУ «Институт глазных

болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова НАМН Украины», Одесса, 2017.

Диссертационная работа посвящена оптимизации методов трансплантации амниотической мембраны, криоконсервированной по новой методике, на основании изучения в эксперименте механизмов ее влияния на особенности течения воспалительного процесса и регенерации роговицы при бактериальном кератите.

Проведенный сравнительный анализ эффективности различных техник трансплантации амниотической мембраны «платекс амниотический» у пациентов с воспалительной и дистрофической патологией роговицы, согласно данным архивных историй болезни, достоверных различий в сроках купирования воспалительного процесса и отека стромы роговицы, резорбции воспалительной инфильтрации, а также эпителизации поверхности роговицы не выявил.

Разработана модель бактериального кератита, позволяющая получить стандартную клиническую картину бактериального кератита средней степени тяжести у 100% экспериментальных животных, которую можно использовать для изучения эффективности ТАМ, а также механизмов её влияния на течение кератита.

У 60 кроликов породы Шиншилла (60 глаз) через две недели после моделирования бактериального кератита проводили трансплантацию амниотической мембраны, криоконсервированной по новой методике с максимальным сохранением жизнеспособности клеток амниона. Для трансплантации использовали две хирургические техники – послойную трансплантацию и биологическое покрытие. На 30-е сутки эксперимента в группе животных с применением техники биологического покрытия трансплантации амниотической мембраны у всех 10 (100,0%) животных отмечено отсутствие инфильтрации и васкуляризации роговицы. У 4 (40,0%) животных роговица была прозрачной и у 6 (60,0%) животных отмечали формирование нежного облачковидного помутнения роговицы. В группе животных, у которых применяли технику послойной трансплантации амниотической мембраны, точечная инфильтрация роговицы была отмечена у 4 (40,0%) кроликов. У 2 (20,0%) кроликов наблюдали формирование облачковидного и у 4 (40,0%) - интенсивного помутнения роговицы. У 4 (40,0%) животных наблюдали васкуляризацию роговицы в пределах одного квадранта.

Впервые изучены взаимосвязь между воспалением и пролиферативной активностью эпителиоцитов и кератоцитов на разработанной модели бактериального кератита с использованием иммуногистохимических маркеров, которые проявляются наличием обратной связи между пролиферативной активностью клеток переднего эпителия роговой оболочки (степень экспрессии Ki-67) и интенсивностью воспалительной инфильтрации стромы роговицы (степень экспрессии CD 68 и MMP-9).

Расширены знания о влиянии трансплантации амниотической мембраны, криоконсервированной по новой методике, на процессы регенерации роговой оболочки, заключающиеся в увеличении количества стволовых клеток лимбальной зоны (степень экспрессии виментина) и их пролиферации с участием в эпителизации роговой оболочки (степень экспрессии Ki-67).

Впервые показано, что при использовании послойной трансплантации амниотической мембраны с её шовной фиксацией к ткани роговицы, по сравнению с биологическим покрытием и эписклеральной фиксацией, эффективность ниже в связи с развитием гранулематозной воспалительной реакции по ходу швов.

Впервые на разработанной модели бактериального кератита показаны противовоспалительные свойства амниотической мембраны, криоконсервированной по новой методике, что подтверждается эпителизацией поверхности роговицы у 73,3% животных независимо от техники фиксации трансплантата на 7 сутки, резорбцией воспалительной инфильтрации в ткани роговицы на 14 сутки у 90% животных в группе с биологическим покрытием и у 70% животных в группе послойной трансплантацией амниотической мембраны.

Получены новые знания о том, что использование трансплантации амниотической мембраны, криоконсервированной по новой методике, при использовании техники биологического покрытия более эффективно по сравнению с техникой послойной трансплантации. Выражается это в том, что на 30 сутки эксперимента у всех животных отсутствует воспалительная инфильтрация, васкуляризация и формирование интенсивного помутнения роговицы, в то время как при использовании техники послойной трансплантации перечисленные клинические признаки наблюдаются у 40% животных.

Сравнительное изучение двух техник фиксации амниотической мембраны, проведенное на модели бактериального кератита, позволяет рекомендовать в случае язв роговицы глубиной до 1/3 стромы применение трансплантации амниотической мембраны, криоконсервированной по новой методике, с использованием техники биологического покрытия.

На основании проведенных экспериментальных исследований получено разрешение Координационного центра трансплантации органов, тканей и клеток Украины на изучение эффективности ТАМ у пациентов с патологией роговицы в клинике.

Ключевые слова: бактериальный кератит, амниотическая мембрана, криоконсервация, трансплантация, экспериментальное исследование, биологическое покрытие, послойная трансплантация.

SUMMARY

Sereda K. V. The efficacy of the amniotic membrane transplantation in bacterial keratitis. - Manuscript.

Thesis for a Candidate Degree in Medicine. Specialty 14.01.18 «Ophthalmology». – State Institution «The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the NAMS of Ukraine», Odesa, 2017.

The thesis is devoted to the optimization of the transplantation methods of amniotic membrane, cryopreserved by a new technique, based on the study of the mechanisms of its influence on the peculiarities of inflammatory process and corneal regeneration in bacterial keratitis.

The developed model of moderate bacterial keratitis is comparable with the clinical course of the disease in humans. For the first time the interconnection between inflammation and proliferative activity of epithelial cells, using immunohistochemical markers (Ki-67, CD68, MMP-9), is studied. Knowledge about the effect of amniotic membrane transplantation on the processes of corneal regeneration on the basis of vimentin expression is extended.

The comparative study of the two techniques of amniotic membrane fixation allows us to recommend application of the amniotic membrane transplantation using biological covering technique in case of corneal ulcers up to 1/3 of the stroma in depth. On the basis of the conducted studies we were given a license from the Coordination Center of Organ, Tissue and Cell Transplantation of Ukraine for studying effectiveness of amniotic membrane transplantation in patients with corneal pathology.

Key words: bacterial keratitis, amniotic membrane, cryopreservation, transplantation, experimental research, biological covering, graft transplantation.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АМ	– амніотична мембрана
БК	– бактеріальний кератит
МКАТ	– моноклональні антитіла
ТАМ	– трансплантація амніотичної мембрани

Підписано до друку 22.11.2017
Обсяг 0,8 авт. арк. формат 60х90/16
Папір офсетний. Друк різнографічний.
Тираж 100 прим. Зам № 624

Надруковано ФОП Гречко С.В.
(Свідоцтво В02 № 950192 от 31.03.2009 г.)
г. Одеса, вул. Французький бульвар, 49/51.
Тел.: (067) 559-72-39.