

МОДИФИЦИРОВАННАЯ ИМПРЕССИОННАЯ ЦИТОЛОГИЯ У БОЛЬНЫХ ВТОРИЧНЫМ СИНДРОМОМ «СУХОГО ГЛАЗА», ОБУСЛОВЛЕННЫМ ИНСТИЛЛЯЦИЯМИ ГЛАЗНЫХ КАПЕЛЬ С НАЛИЧИЕМ КОНСЕРВАНТА

*Кафедра глазных болезней Кубанского государственного медицинского университета,
Россия, 350089, г. Краснодар, ул. Седина, 4. E-mail: vlyan2000@mail.ru*

Модифицированная импрессионная цитология (с использованием инструмента для дозированного забора клеточного материала конъюнктивы и проведением компьютерного морфологического анализа микроизображений) была выполнена у 38 больных вторичным синдромом «сухого глаза» (В-ССГ), обусловленным длительными инстилляциями глазных капель с наличием консерванта бензалкония гидрохлорида, а также у 20 добровольцев без признаков офтальмопатологии. У больных В-ССГ было отмечено достоверное уменьшение среднего количества эпителиоцитов конъюнктивы без признаков повреждения (на 62%; $p < 0,001$), увеличение среднего количества повреждённых эпителиоцитов (в 1,9 раза; $p < 0,001$) и уменьшение количества бокаловидных клеток (в 2 раза; $p < 0,001$) в расчёте на одно поле зрения. Наиболее выраженным было увеличение интегрального коэффициента энтропии (по Автандилову), отражающего уровень общей дезорганизации ткани (в 2,5 раза; $p < 0,001$).

Ключевые слова: синдром «сухого глаза», модифицированная импрессионная цитология.

A. I. EREMENKO, S. V. YANCHENKO, A. V. KISELYOV

MODIFIED IMPRESSION CYTOLOGY AT THE PATIENTS WITH THE «DRY EYE», CAUSED PRESERVATIVE CONTAINING EYE DROPS

*Department of Ophthalmology of the Kuban State Medical University,
Russia, Krasnodar, 350089, Sedin St., 4. E-mail: vlyan2000@mail.ru*

Modified impression cytology (with the use of the instrument for the dosed out fence of a cellular material of the conjunctiva, and carrying out of the computer morphological analysis of microimages) was applied to 38 patients with the dry eye, caused preservative containing eye drops and to 20 healthy persons. Decrease of notaltered conjunctival cells quantity (on 62%; $p < 0,001$), increase of altered conjunctival cells quantity (in 1,9 times; $p < 0,001$), and decrease of goblet cells quantity (in 2,0 times; $p < 0,001$) were noted in dry eye patients (counting on one field of vision). The increase of the integrated entropy coefficient was the most expressed (in 2,5 times; $p < 0,001$).

Key words: dry eye, modified impression cytology.

Введение

В течение последних десятилетий были получены данные о токсическом действии консерванта глазных капель бензалкония гидрохлорида (в концентрации, превышающей 0,005%) на эпителиальную выстилку глазной поверхности [5], а также о роли длительных инстилляций капель, содержащих значительное количество указанного консерванта, в патогенезе вторичного синдрома «сухого глаза» (В-ССГ) [2, 7]. Для верификации морфологических изменений в тканях конъюнктивы и роговицы, в том числе и при В-ССГ, может применяться способ импрессионной цитологии [2, 4, 9]. Однако при использовании классической техники [9] не всегда возможна однозначная трактовка результатов исследования, что связано с недостаточной стандартизацией усилия компрессии при заборе клеточного материала, а также с субъективностью описательного морфологического анализа [3]. Приведенные факты определяют актуальность дальнейшего изучения цитоморфологии конъюнктивы у больных вторичным синдромом «сухого глаза», развившимся на фоне длительной инстилляционной терапии каплями, содержащими консервант.

Цель исследования – изучить морфологический статус эпителиальной выстилки конъюнктивы у больных

вторичным синдромом «сухого глаза», обусловленным длительными инстилляциями капель с наличием консерванта, путём использования модифицированной импрессионной цитологии.

Методика исследования

Под наблюдением были 58 человек (мужчин – 27; женщин – 31) пожилого возраста ($65 \pm 2,9$ года). В первую группу (контроль) вошли 20 человек (40 глаз) без признаков офтальмологической патологии. Вторая группа включала 38 больных (76 глаз) В-ССГ средней тяжести [2] и первичной открытоугольной II «А» стабилизированной глаукомой. Все пациенты имели «стаж» глаукомы более 3 лет, офтальмохирургические вмешательства не выполнялись. Внутриглазное давление было нормализовано путём проведения длительных инстилляций (не менее 3 лет) одного из вариантов офтальмологического раствора 0,5%-ного тимолола малеата с содержанием консерванта бензалкония гидрохлорида 0,1 мг два раза в сутки. Не представляется возможным исключить наличие у пациентов данной группы синдрома «сухого глаза» до начала инстилляционной терапии. Тем не менее клиническая манифестация ксероза у всех наблюдавшихся произошла на фоне длительного использования капель, содер-

жащих значительное количество бензалкония гидрохлорида. Третью группу сформировали больные второй группы после проведения слёзозаместительной терапии (4–6 инстилляций в сутки, в течение 30 дней) 0,15%-ным офтальмологическим раствором гиалуроновой кислоты, содержащим минимальное количество консерванта, подверженного быстрому биологическому распаду при контакте со слёзной жидкостью (оксид). Помимо вышеуказанного выбор препарата для слёзозамещения был обусловлен данными научной литературы о способности гипотоничного раствора гиалуроновой кислоты восстанавливать морфофункциональное состояние эпителия глазной поверхности [4]. Начиная с 10-х суток терапии необходимое количество инстилляций пациенты определяли самостоятельно, ориентируясь на купирование субъективных проявлений «сухого глаза». К критериям исключения пациентов относились: системные заболевания соединительной ткани; воспалительное, дегенеративное, рубцовое поражение глазной поверхности; офтальмохирургия в анамнезе; отсутствие приверженности рекомендованной схеме терапии.

Методы исследования включали: рутинный офтальмологический осмотр; компьютерную периметрию; пневмотонометрию; учёт субъективных проявлений ССГ; офтальмомобиомикроскопию с витальными красителями (флюоресцин, лиссаминовый зелёный); определение индекса слёзного мениска [2]; оценку выраженности конъюнктивальной складки, параллельной нижнему краю века [6]; функциональные тесты слёзопродукции (тесты Ширмера-1, Ширмера-2, Норна).

Морфологический статус эпителиальной выстилки конъюнктивы оценивали путём использования собственной модификации способа импрессионной цитологии [3]. Взятие эпителия внутреннего квадранта бульбарной конъюнктивы на целлюлозно-ацетатный фильтр с размером поры 0,47 мкм (марка HATH, «Millipore») проводили путём использования оригинального инструмента для дозированного забора клеточного материала, позволяющего дозировать усилие компрессии и повысить воспроизводимость результатов исследования в 7,8 раза сравнительно с традиционной техникой [3, 9]. Отпечатки конъюнктивы переносили на предметное стекло, фиксировали, окрашивали по Май-Грюнвальду [8] и фотографировали при помощи цифровой микрофотоустановки «Imprint-104» при увеличении 600х. В отпечатках (в расчёте на 100 случайно отобранных цитологических объектов) определяли: среднее количество эпителиоцитов без признаков повреждения, среднее число эпителиоцитов с признаками кариопикноза и кариорексиса и среднее количество бокаловидных клеток в одном поле зрения. Случайность выборки обеспечивалась тотальным подсчетом объектов при просмотре каждого отпечатка П-образными параллельными галсами. Также у всех наблюдавшихся проводили компьютерную морфометрию микроизображений эпителия конъюнктивы, позволяющую повысить точность выявления ксероза по сравнению с традиционным морфологическим анализом в 1,5 раза [3, 9]. Для этого изображения эпителия с увеличением 600х сохраняли в персональном компьютере (в виде графического файла формата PCX, режим «серая шкала», разрешение 640x480 пикселей) и подвергали их морфометрическому анализу с помощью программы для ЭВМ «M-SCAN». Методом компьютерной морфометрии в автоматическом режиме определяли интегральный коэффициент энтропии (по Г. Г. Автандилову, 1990) [1], позволяющий объективно судить об уровне структурной дезорганизации ткани. Все полученные результаты подвергали обработке методами

вариационной статистики с вычислением среднего арифметического значения (M) и среднеквадратического отклонения (s). Для оценки достоверности различий использовали критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. При исследовании связи двух признаков применяли коэффициент Пирсона. Статистический анализ проводили с использованием программы SPSS 12.0.2.

Результаты исследования

У офтальмологически здоровых лиц 1-й группы (контроль) субъективные, объективные и функциональные проявления В-ССГ отсутствовали. Индекс слёзного мениска составил $2,2 \pm 0,1$. Функциональные тесты слёзопродукции не отличались от показателей возрастной нормы [2]. Описательный визуальный анализ микроизображений конъюнктивы показал, что эпителиоциты, выстилающие её поверхность, располагаются группами в виде пластов, включающих 7–8 клеток округлой формы. Их цитоплазма имеет мелкодисперсную организацию, слабо базофильна. Ядра эпителиоцитов имеют округлую или овоидную форму, занимающую большую часть клетки, их хроматин умеренно деконденсирован. Среди эпителиоцитов встречаются бокаловидные муцинопродуцирующие клетки. Количественный визуальный анализ отпечатков позволил установить, что среднее количество эпителиоцитов без признаков альтерации в расчёте на одно поле зрения составляет $18,3 \pm 0,01$. Вместе с тем в отпечатках присутствуют единичные эпителиоциты с конденсированным хроматином в ядрах и признаками кариопикноза ($2,2 \pm 0,02$). Среднее количество бокаловидных клеток (БК) составило $5,1 \pm 0,04$. Компьютерный морфометрический анализ продемонстрировал, что величина интегрального коэффициента тканевой энтропии (КТЭ) у лиц пожилого возраста в условиях отсутствия офтальмопатологии составила $1,3 \pm 0,001$ условные единицы.

Все пациенты 2-й группы (В-ССГ на фоне длительных инстилляций капель с консервантом) отмечали ощущения жжения и дискомфорта, усиливающиеся после инстилляций, а также чувство инородного тела и сухости в глазах в течение нескольких последних лет. Объективно были зафиксированы уменьшение индекса слёзного мениска (до $1,1 \pm 0,06$; $p < 0,05$), наличие выраженной складки бульбарной конъюнктивы ($1,7 \pm 0,08$; $p < 0,05$), присутствие эпителиопатии конъюнктивы в пределах экспонируемой глазной щели. Функциональные тесты слёзопродукции достоверно отличались от данных контроля и показателей возрастной нормы (тест Ширмера-1 составил $4,5 \pm 0,1$ мм; тест Ширмера-2 – $1,1 \pm 0,05$; тест Норна – $5,9 \pm 0,2$ с; $p < 0,001$) [2]. Описательный визуальный патоморфологический анализ отпечатков конъюнктивы позволил выявить лишь некоторые незначительные отличия от группы контроля, выражающиеся в уменьшении количества клеток в пласте эпителия, а также в изменении формы эпителиоцитов на более полигональную. В то же время количественный визуальный анализ микроизображений эпителия конъюнктивы выявил значительные изменения её морфологического статуса. Среднее количество эпителиоцитов без признаков альтерации составило 62% от уровня контроля ($p < 0,001$). Среднее количество эпителиоцитов с признаками альтерации сравнительно с данными контроля увеличилось в 1,9 раза ($p < 0,001$). Количество БК было снижено относительно контроля в 2 раза ($p < 0,001$). Однако наиболее выраженные изменения были обнаружены при компьютерной морфометрии микроизображений конъюнктивы. Так, интегральный коэффициент тканевой энтропии увеличился до $3,2 \pm 0,08$, что превышало показатели контроля в 2,5 раза ($p < 0,001$).

У больных 3-й группы (слёзозаместительная терапия) субъективные проявления ССГ были в значительной степени купированы к десятым суткам наблюдения (при $4,4 \pm 0,3$ инстилляции искусственной слезы в течение суток). К 30-м суткам отмечено достоверное и значительное улучшение теста Норна (до $8,1 \pm 0,1$; $p < 0,05$) при достоверном, но незначительном увеличении объёма суммарной слёзопродукции (до $5,6 \pm 0,1$ мм; $p < 0,05$). У всех пациентов к концу срока наблюдения отмечено умеренное увеличение индекса слёзного мениска (до $1,7 \pm 0,1$; $p < 0,05$) и незначительное, но достоверное уменьшение складки бульбарной конъюнктивы (до $1,6 \pm 0,05$; $p < 0,05$). Описательный визуальный анализ микроизображений конъюнктивы (на 30-е сутки терапии) не позволил выявить выраженных отличий от состояния до начала терапии. Напротив, при количественном визуальном и компьютерном анализе была зафиксирована отчётливая положительная динамика морфологического статуса эпителия конъюнктивы. Так, относительно исходного уровня среднее количество эпителиоцитов с признаками альтерации снизилось на 14% ($p < 0,05$), количество БК увеличилось на 48% ($p < 0,001$), КТЭ снизился на 35% ($p < 0,05$). Однако указанные показатели оставались достоверно ниже аналогичных показателей группы контроля.

Обсуждение

Модифицированная импрессионная цитология при проведении визуально-количественного анализа позволила выявить у больных В-ССГ, манифестировавших на фоне длительных инстилляций капель с консервантом, наличие достоверных изменений морфологического статуса конъюнктивы сравнительно со здоровыми лицами той же возрастной группы. Данные изменения были представлены снижением среднего количества эпителиоцитов без признаков альтерации, увеличением количества повреждённых эпителиоцитов, уменьшением количества бокаловидных клеток в отпечатках конъюнктивы. Вместе с тем наиболее выраженные изменения морфологии конъюнктивы у больных В-ССГ сравнительно со здоровыми добровольцами были выявлены при проведении компьютерной морфометрии (увеличение интегрального коэффициента тканевой энтропии в 2,5 раза). Необходимо отметить, что между отдельными вышеуказанными визуально-количественными показателями, характеризующими морфологический статус конъюнктивы, и интегральным коэффициентом тканевой энтропии было выявлено наличие сильных корреляционных связей. С другой стороны, указанные визуально-количественные показатели и интегральный коэффициент тканевой энтропии коррелировали с объективными признаками ССГ (индекс слёзного мениска, выраженность складки конъюнктивы, параллельной краю века) и функциональными тестами (Ширмера-1, Ширмера-2). Напротив, описательный визуальный анализ позволил выявить лишь некоторые незначительные отличия морфологического статуса конъюнктивы у больных В-ССГ, развившимся на фоне длительных инстилляций препаратами с наличием эпителиотоксичного консерванта, сравнительно со здоровыми добровольцами той же возрастной группы.

Модифицированная импрессионная цитология позволила установить, что проведение слёзозамещения 0,15%-ным раствором гиалуроновой кислоты у больных В-ССГ (4 раза в сутки, в течение 30 дней) позволяет улучшить морфологический статус конъюнктивы. Улуч-

шение морфологических показателей коррелировало с положительной динамикой функциональных тестов слёзопродукции и достоверным уменьшением выраженности объективных проявлений ксероза. В то же время описательный визуальный анализ не позволил выявить наличие отчётливой динамики морфологического статуса эпителия «глазной поверхности» до и после проведенной слёзозаместительной терапии. Необходимо отметить, что при практически полном купировании субъективных проявлений «сухого глаза» всё же не наблюдалось полного восстановления функциональных тестов слёзопродукции, редукции объективных проявлений ксероза и нормализации морфологического статуса конъюнктивы до показателей возрастной нормы. Вышеизложенное определяет необходимость проведения длительной «терапии прикрытия» у данной категории больных, особенно при отсутствии возможности «перевода» пациентов на инстилляционную терапию каплями без консерванта.

Таким образом, модифицированная импрессионная цитология (с использованием инструмента для дозированного забора клеточного материала, проведением визуально-количественной и компьютерной морфометрии) позволяет в отличие от традиционного визуально-описательного анализа выявить отчётливые изменения в состоянии эпителиальной выстилки конъюнктивы у больных В-ССГ, обусловленным эпителиотоксичным воздействием консерванта глазных капель. Наличие сильных корреляционных связей между интегральным коэффициентом тканевой энтропии и данными визуально-количественной морфометрии, а также объективными и функциональными признаками «сухого глаза» позволяет рекомендовать использование указанного показателя для объективной диагностики В-ССГ и осуществления контроля за эффективностью терапевтических мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. А. Медицинская морфометрия. – М.: «Медицина», 1990. – 384 с.
2. Бржеский В. В., Сомов Е. Е. Роговично-конъюнктивальный ксероз (диагностика, клиника, лечение). – Изд. 2-е, част. перераб. и доп. – СПб: «Левша», 2003. – 157 с.
3. Янченко С. В., Ерёмко А. И., Евлевский А. А. Возможности инструмента для дозированного забора клеточного материала конъюнктивы глазной поверхности и компьютерной морфометрии микроизображений конъюнктивы в повышении точности способа импрессионной цитологии и оптимизации диагностики синдрома сухого глаза // Вестн. новых мед. технологий. – 2008. – Т. XV, № 4. – С. 127–128.
4. Aragona P. et al. Sodium hyaluronate eye drops of different osmolarity for the treatment of dry eye in Sjogren's syndrome patients // Br. J. of Ophthalmol. – 2002. – Vol. 86, № 8. – P. 879–884.
5. Brodway D. et al. Adverse effects of topical antiglaucomatous medications on the conjunctiva // Br. J. of Ophthalmol. – 1993. – Vol. 77. – P. 590–596.
6. Höh H. Lidkantenparallele konjunktivale falten. Trockenes Auge. – Heidelberg: Kaden, 2001. – P. 110.
7. Manni G. et al. Interleukin-1 beta tear concentration in glaucomatous and ocular hypertensive patients treated with preservative-free nonselective beta-blockers // Am. J. Ophthalmol. – 2005. – Vol. 139. № 1. – P. 72–77.
8. Pears A. G. E. Histochemistry, theoretical and applied. – Ed II-a.- «Little Brown». – Boston, 1961. – P. 395.
9. Singh R. et al. Impression cytology of the ocular surface // Br. J. Ophthalmol. – 2005. – Vol. 89. № 12. – P. 1655–1659.

Поступила 27.08.2009

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОФИЛАКТИКИ РАННИХ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

¹Курс анестезиологии и реаниматологии кафедры хирургических болезней № 1
ГОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет»
Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию,
Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, тел. (8863) 2632391;
²Адыгейский республиканский клинический онкологический диспансер,
Россия, 385017, Адыгея, г. Майкоп, ул. 2-я Короткая, 6. E-mail: windsdof@list.ru, тел. (8928) 4703975

Улучшение результатов лечения больных раком ободочной и прямой кишок – одна из актуальных проблем современной абдоминальной хирургии и онкологии. Гнойно-воспалительные осложнения у больных онкологического профиля являются одной из основных причин смертности пациентов. Их частота составляет 14,2–31,5%, а в структуре причин смертности онкопроктологических больных входят в первую пятерку. Послеоперационные гнойные осложнения влияют на исход хирургических операций, пролонгируя сроки послеоперационного периода и в значительной мере определяя исход хирургического заболевания. Мы стремились оценить воздействие цитофлавина и экстракорпоральной иммунофармакотерапии ронколейкином® на иммунный статус, состояние цитокинового профиля, антиоксидантной системы и частоту развития гнойных осложнений в послеоперационном периоде и разработать способ профилактики интенсивной терапии гнойно-септических осложнений у онкопроктологических больных на основе проведенных исследований.

Ключевые слова: Колоректальный рак, гнойно-воспалительные осложнения, профилактика, ронколейкин, цитофлавин.

V. M. ZHENILO¹, N. N. POPOVA²

OPTIMIZATION PREVENT EARLY POSTOPERATIVE PURULENT-INFLAMMATORY COMPLICATIONS PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

¹Course of anesthesiology and reanimatology of chair of Surgical Diseases № 1
«Rostov State Medical University»
Federal Agency for Health and Social Development,
Russia, 344022, Rostov-na-Donu, the lane Nakhichevan, 29, tel. (8863) 2632391;
²Adygea, a Republican Clinical Oncology Center,
Russia, 385017, Adygea, Maikop, 2 nd Short, 6. E-mail: windsdof@list.ru, tel. (8928) 4703975

Improved results of treatment of patients with cancer of the colon and rectum – one of the relevance governmental problems of modern abdominal surgery and oncology. Pyo-inflammatory complications in cancer patients represent an important medical and social problem, because they are now one of the main causes of mortality of patients. Their frequency is 14,2–31,5%, and in the structure of causes of death onkoproktology patients included in the top five. Postoperative septic complications affect the outcome of surgical operations, extending the duration of the postoperative period and to a large extent determine the outcome of surgical diseases. We sought to evaluate the impact of citoflavina and extracorporeal immunofarmakoterapy Roncoleukin on immune status, the state of cytokine profile, antioxidant status and the incidence of suppurative complications in the postoperative period and to develop a method of prevention and intensive therapy of pyo-septic complications in onkoproktology patients on the basis of the studies.

Keywords: akolorektal a cancer, pyoinflammatory complications, preventive maintenance, interleukin-2, Citoflavin.

Рак прямой и ободочной кишок является одной из распространенных форм злокачественных новообразований, при этом тенденция роста заболеваемости раком толстой кишки продолжается [1]. Пик заболеваемости колоректальным раком приходится на возраст 50–80 лет [2]. Известно, что у лиц пожилого возраста имеются органические и функциональные изменения, а нередко сопутствующие заболевания с той или иной степенью недостаточности функций органов и систем [3]. Многими исследователями была показана сопряженность развития опухолевого процесса с нарушениями в иммунной системе, касающимися как количества иммунокомпетентных клеток, так и их функциональной активности [4], детерминирующая возникновение и определяющая характер течения послеоперационных инфекционных осложнений. Максимальная выражен-

ность лабораторных проявлений иммунодефицита наблюдается, как правило, на 2–3-и сутки послеоперационного периода, тогда как его продолжительность может варьировать от 7 до 28 дней, что зависит главным образом от характера оперативного вмешательства и исходного состояния больного [5]. Проводимое противоопухолевое лечение у онкологических больных приводит к иммуносупрессии, радиодерматитам, а инфекционные осложнения у онкологических больных не только возникают чаще, но и протекают тяжелее, чем у больных с другой патологией [6].

Улучшение результатов лечения больных раком ободочной и прямой кишок – одна из актуальных проблем современной абдоминальной хирургии и онкологии. Гнойно-воспалительные осложнения у больных онкологического профиля являются одной из основных