



Научная статья

УДК 617.711

DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2022-2-34-39>

Особенности морфологических изменений биоптатов конъюнктивы, полученных с использованием фемтосекундного лазера

Р.А. Казакбаев¹, В.К. Суркова¹, С.А. Муслимов², А.Р. Халимов¹

¹Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ, Уфа

²Всероссийский центр глазной и пластической хирургии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Уфа

РЕФЕРАТ

Цель. Дать морфологическую оценку биоптатов конъюнктивы человека, полученных вручную и с помощью фемтосекундного лазера. **Материал и методы.** Морфологические исследования проведены в 4 группах пациентов с птеригиумом, которым была произведена аутопластика лоскутом бульбарной конъюнктивы. В 1–3-й группах биоптаты конъюнктивы толщиной 70, 80 и 100 мкм соответственно были получены с помощью фемтосекундного лазера, в 4-й группе лоскут минимально возможной толщины выкраивали вручную. Применяли общепринятые методы подготовки гистопрепаратов с окрашиванием гематоксилином и эозином и по методу Ван Гизона. **Результаты.** Особенностью ручной техники подготовки конъюнктивального трансплантата является формирование лоскута с недостаточно ровными краями, неравномерной и непрогнозируемой толщиной. В структуре таких биоптатов отмечали нарушение непрерывности клеточных слоев, участки разрыва эпителия. При формировании лоскута толщиной 80 и 100 мкм с помощью фемтолазера отмечали морфологические изменения в виде деструкции клеток эпителия, появления очагов коагуляции в эпителиальном слое и кавитационных пузырьков в соединительнотканной строме. Выраженность патологических изменений возрастала по мере увеличения глубины реза конъюнктивы, что может быть связано с использованием для этой цели более высокой мощности энергетического воздействия фемтолазера. Наименьшие патогистологические изменения в биоптатах конъюнктивы глазного яблока наблюдали при получении фемтолооскута толщиной 70 мкм. **Заключение.** Использование различных способов (ручная техника или с помощью фемтолазера) получения трансплантата конъюнктивы не исключает применения каждого из них в практической медицине. Фемтолазер-ассистированная техника позволяет получать ультратонкие лоскуты, которые могут фиксироваться бесшовно, в частности, фибриновым клеем.

Ключевые слова: биоптат конъюнктивы, морфологическое исследование, фемтосекундный лазер, птеригиум

Для цитирования: Казакбаев Р.А., Суркова В.К., Муслимов С.А., Халимов А.Р. Особенности морфологических изменений биоптатов конъюнктивы, полученных с использованием фемтосекундного лазера. Точка зрения. Восток – Запад. 2022;2: 34–39. <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2022-2-34-39>

Автор, ответственный за переписку: Ренат Амирович Казакбаев, l_c_u@mail.ru

Original article

Features of morphological changes in conjunctival biopsies after femtosecond laser

R.A. Kazakbaev¹, V.K. Surkova¹, S.A. Muslimov², A.R. Halimov¹

¹Ufa Eye Research Institute, Ufa, Russian Federation

²Russian Center for Eye and Plastic Surgery of Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose. To give a morphological assessment of human conjunctival biopsies obtained manually and using a femtosecond laser. **Material and methods.** Morphological studies were carried out in 4 groups of patients with pterygium who underwent autoplasty with a bulbar conjunctival flap. In groups 1–3 conjunctival biopsies with a thickness of 70, 80 and 100 microns respectively, were obtained using a femtosecond laser, in group 4 – a flap of the minimum possible thickness was cut out manually. Conventional methods of preparing histopreparations with hematoxylin-eosin staining and the Van Gieson method were used. **Results.** A feature of the manual technique for preparing a conjunctival graft is the formation of a flap with insufficiently smooth edges, uneven and unpredictable thickness. In the structure of such biopsies, violations of the continuity of cell layers, areas of epithelial rupture were noted. During the formation of a flap with a thickness of 80 and 100 microns using a femtolaser, morphological changes were noted in the form of destruction of epithelial cells, the appearance of

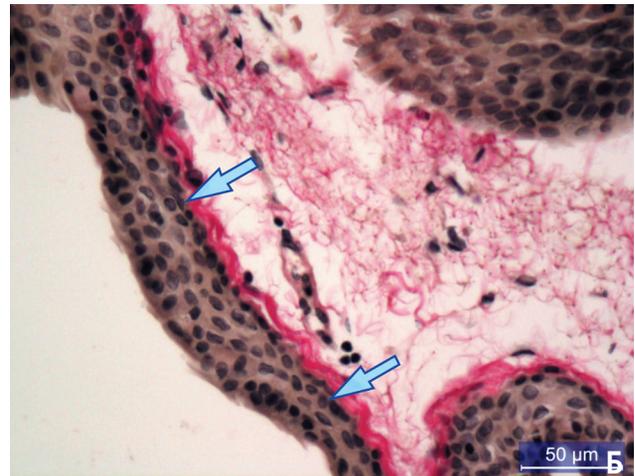
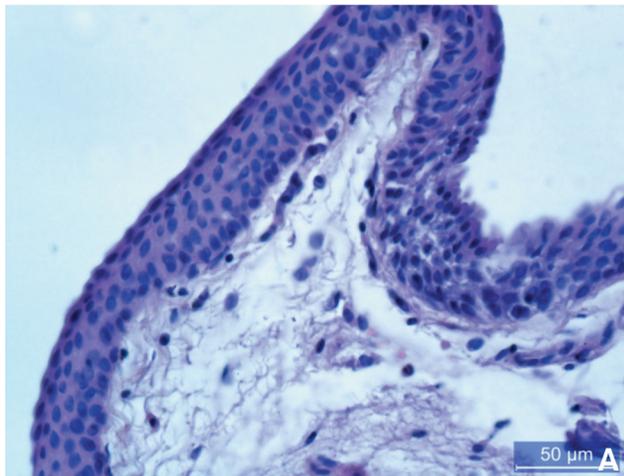


Рис. 1. Гистологическая картина биоптата конъюнктивы человека толщиной 70 мкм, полученного фемтолазером (1-я группа). А. Сохраненная архитектура клеток в эпителии конъюнктивы. Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином. Б. Фуксинофилия коллагеновых волокон базальной пластинки эпителия (отмечено стрелками). Микрофотография. Окраска по Ван Гизону

Fig. 1. Histological picture of a human conjunctiva biopsy 70 μm thick obtained with a femtolasер (Group 1). A. Preserved cell architectonics in the conjunctival epithelium. Micrograph. Stained with hematoxylin and eosin. B. Fuchsinophilia of collagen fibers of the basal lamina of the epithelium (marked by arrows). Micrograph. Coloring according to Van Gieson

непрерывность базального слоя эпителия и состоятельность клеточной архитектоники в целом (рис. 1А).

Обращает на себя внимание уплотнение базальной подэпителиальной пластинки, о чем свидетельствует выраженная фуксинофилия коллагеновых волокон (рис. 1Б). В соединительнотканной строме, так же как и в эпителиальном слое конъюнктивы, признаки деструкции, характерные для коагуляционных изменений, не выявлялись, каких-либо патоморфологических изменений не обнаружено.

В фемтолооскутах конъюнктивы толщиной 80 мкм (2-я группа) определяли слабовыраженные деструктивные изменения в эпителиальном слое, на некоторых участках которого визуализировали эпителиоциты, включающие своеобразные пустоты в цитоплазме (рис. 2А).

Поверхностные слои эпителия были уплотнены, что является характерным признаком коагуляционных изменений. На рисунке 2Б показаны единичные кавитационные пузырьки, характерные для лазерного воздействия, которые в ряде гистопрепаратов визуализировали на участках утолщенной базальной пластинки.

Воздействие фемтосекундного лазера при формировании лоскута конъюнктивы толщиной 100 мкм (3-я группа) приводило к более выраженным морфологическим изменениям в структуре биоптата (рис. 3А). В толще эпителия отмечали локальные мелкоочаговые зоны коагуляции, в поверхностных слоях эпителия наблюдали широкие коагуляционные участки. В подэпителиальной соединительнотканной пластинке определяли кавитационные пузырьки (рис. 3Б).

При использовании мануальной методики получения трансплантата конъюнктивы наблюдали следующие изменения: в эпителиальном покрове регистрировали нарушение непрерывности клеточных слоев, вплоть до отрыва отдельных фрагментов эпителия (рис. 4А).

В подлежащей соединительнотканной строме отмечали некоторую фрагментацию и расслоение волокнистых пучков с явлениями отека. Обнаруживались несколько расширенные микрососуды, что также служит признаком реактивного отека (рис. 4Б). Тинкториальные свойства коллагеновых волокон, клеток эпителия и стромы сохранены.

ОБСУЖДЕНИЕ

Использование фемтосекундного лазера, несмотря на достаточно щадящий режим локального энергетического воздействия по отношению к биотканям, способно вызывать некоторые незначительные морфологические изменения в структуре биоптата конъюнктивы. Имеются различные варианты энергетического воздействия на орган зрения. Так, было показано влияние энергии ультрафиолета 5,4 Дж/см² длиной волны 370 нм, оказываемое ультрафиолетовым кросслинкингом роговичного коллагена, на строение роговицы. При этом кросслинкинг-индуцированные клинические признаки носили транзиторный характер и проходили в среднем в течение 7 дней, тогда как морфологические и ультраструктурные изменения (снижение популяции кератоцитов,

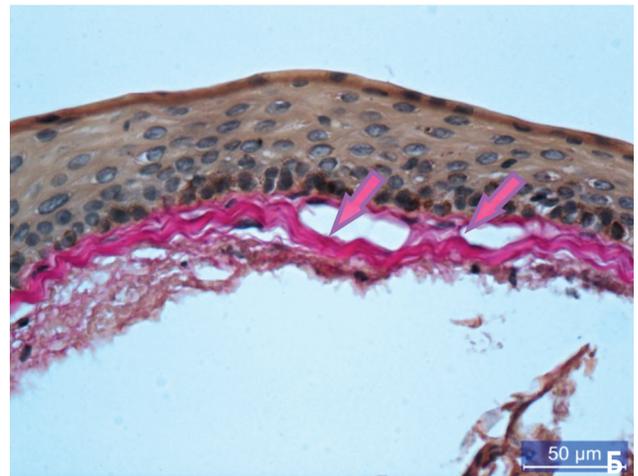
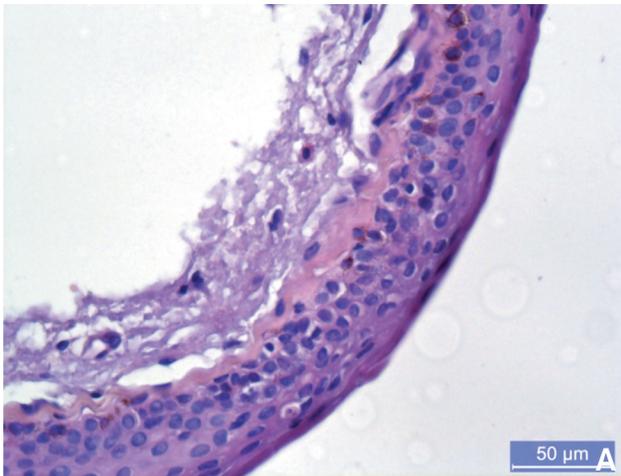


Рис. 2. Гистологическая картина биоптата конъюнктивы человека толщиной 80 мкм, полученного фемтолазером (2-я группа). А. Признаки деструкции поверхностных слоев эпителия. Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином. Б. Кавитационные пузырьки (отмечено стрелками) в базальной соединительнотканной пластинке эпителия конъюнктивы. Микрофотография. Окраска по Ван Гизону

Fig. 2. Histological picture of a human conjunctiva biopsy 80 μm thick, obtained with a femtolasers (group 2). A. Signs of destruction of the surface layers of the epithelium. Micrograph. Stained with hematoxylin and eosin. B. Cavitation vesicles (marked by arrows) in the basal connective tissue plate of the conjunctival epithelium. Micrograph. Coloring according to Van Gieson

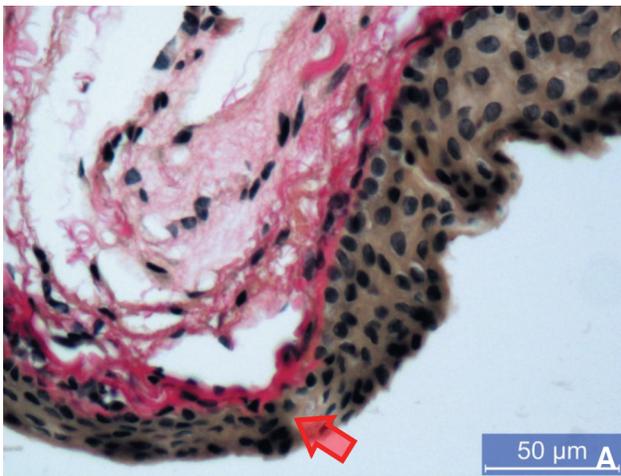


Рис. 3. Гистологическая картина биоптата конъюнктивы человека толщиной 100 мкм, полученного фемтолазером (3-я группа). А. Локальные очаги коагуляции эпителия (показано стрелкой), кавитационные пузырьки в конъюнктиве после воздействия фемтолазера. Микрофотография. Окраска по Ван Гизону. Б. Деструктивные изменения в слоях эпителия конъюнктивы. Микрофотография. Окраска по Ван Гизону

Fig. 3. Histological picture of a human conjunctival biopsy 100 μm thick, obtained with a femtolasers (3rd group). A. Local epithelial coagulation foci (shown by an arrow), cavitation vesicles in the conjunctiva after exposure to a femtolasers. Micrograph. Coloring according to Van Gieson. B. Destructive changes in the layers of the epithelium of the conjunctiva. Micrograph. Coloring according to Van Gieson

очаги разволокнения коллагена, отек стромы роговицы) наблюдались достаточно долго – более чем 3 месяца [4].

Использование бульбарной аутоконъюнктивы для пластической хирургии птеригиума имеет ряд преимуществ в сравнении с использованием других видов

трансплантационных материалов. Аутотрансплантация – это идеальный вариант пересадки ткани, при этом проходит минимальное время от момента изъятия до ее применения, не требуется дополнительной обработки аутолооскута. Получение донорской ткани конъюнктив

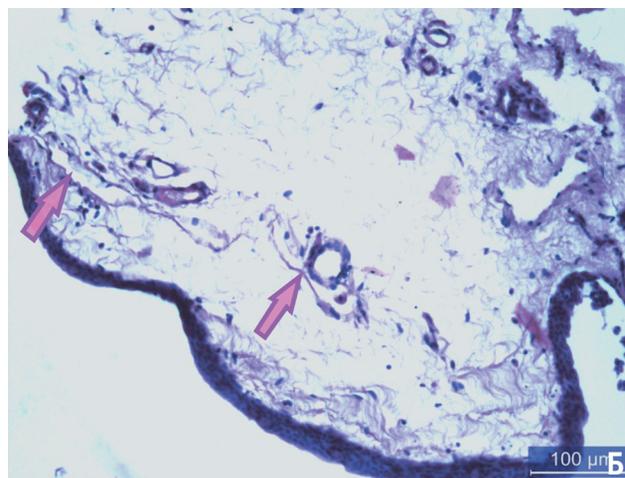
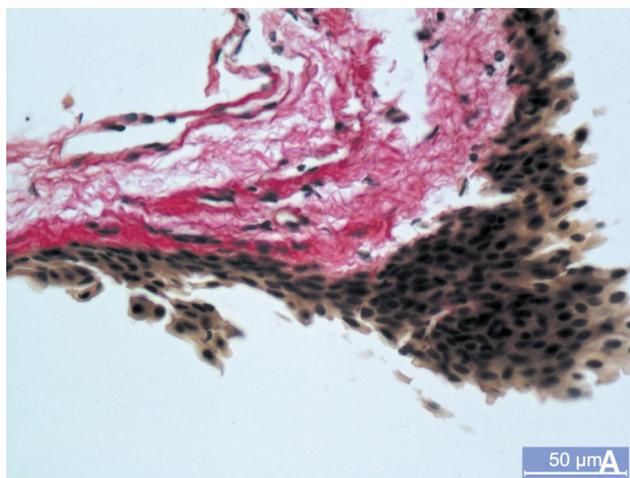


Рис. 4. Гистологическая картина биоптата конъюнктивы человека, полученного мануально (4-я группа). А. Нарушение непрерывности эпителиального пласта с отрывом фрагмента. Микрофотография. Окраска по Ван Гизону. Б. Стрелками отмечены расширенные микрососуды в соединительнотканной строме. Микрофотография. Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 4. Histological picture of a human conjunctiva biopsy taken manually (Group 4). A. Disruption of the continuity of the epithelial layer with detachment of a fragment. Micrograph. Coloring according to Van Gieson. Б. Arrows indicate dilated microvessels in the connective tissue stroma. Micrograph. Stained with hematoxylin and eosin

вы с захватом зоны лимба и дальнейшая ее пересадка на роговицу «лимб в лимб» могут значительно снижать срок приживления и последующего замещения трансплантата [3].

Использование фемтолазера позволяет получать достаточно тонкие лоскуты, которые могут фиксироваться бесшовно, в частности, фибриновым клеем [3]. Приживление аутокани малой толщины происходит быстрее, в том числе за счет сохранения естественной аэрации зоны наложения трансплантата. При этом происходит быстрая эпителизация донорского участка, не требующая ушивания. Следует отметить, что в литературе представлены сведения о существенном снижении числа рецидивов после хирургического лечения пterygium с использованием аутолооскута конъюнктивы, полученного с помощью фемтолазера [3, 5].

К недостаткам мануальной техники получения конъюнктивального трансплантата следует отнести вероятность повреждения теноновой оболочки, при этом очень часто конъюнктивальную рану донорского участка необходимо ушивать. Особенностью мануальной техники подготовки конъюнктивального трансплантата является формирование лоскута с недостаточно ровными краями, неравномерной и непрогнозируемой толщиной. В структуре таких биоптатов отмечаются нарушение непрерывности клеточных слоев, участки разрыва эпителия. При этом механическая травма, сопровождающая формирование лоскута, может быть причиной появления локальных признаков альтерации и отека в структуре трансплантата. Однако следует особо подчер-

кнуть, что использование различных способов (мануальная техника или с помощью фемтолазера) получения трансплантата конъюнктивы не исключает применения каждого из них в практической медицине. Выполненные нами морфологические исследования показали, что все изучаемые биоптаты конъюнктивы пригодны для хирургических манипуляций и могут применяться в зависимости от оснащения клиники фемтолазером или выбранной тактики оперативного вмешательства, обусловленной глубиной и площадью раневого участка после удаления пterygium, а также характером фиксации (шовной или бесшовной) аутолооскута.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования биоптатов конъюнктивы человека позволили установить, что при формировании фемтолазером лоскута толщиной 80 и 100 мкм отмечаются морфологические изменения в виде деструкции клеток эпителия, появления очагов коагуляции в эпителиальном слое и кавитационных пузырьков в соединительнотканной строме. Установлено, что выраженность патологических изменений возрастает по мере увеличения глубины реза конъюнктивы, что может быть связано с использованием для этой цели более высокой мощности энергетического воздействия фемтосекундного лазера. Установлено, что наименьшие патогистологические изменения в биоптатах конъюнктивы глазного яблока наблюдаются при получении фемтоло-

скута толщиной 70 мкм.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Маложен С.А., Труфанов С.В., Крахмалева Д.А. Пterygium: этиология, патогенез, лечение. Вестник Офтальмологии. 2017;133(5): 76–83. [Malozhen SA, Trufanov SV, Krakhmaleva DA. Pterygium: etiology, pathogenesis, treatment. Vestnik Oftalmologii. 2017;133(5): 76–83. (In Russ.)] doi: 10.17116/oftalma2017133576-83
2. Муслимов С.А. Морфологические аспекты регенеративной хирургии. Уфа: Изд-во «Башкортостан»; 2000. [Muslimov SA. Morphological aspects of regenerative surgery. Ufa: Izdatel'stvo «Bashkortostan»; 2000. (In Russ.)]
3. Казакбаев Р.А. Первый опыт использования фемтосекундного лазера в хирургии пteryгиума. Офтальмология. 2019;16(1S): 132–136. [Kazakbaev RA. The First Experience of Using a Femtosecond Laser in Pterygium Surgery. Ophthalmology in Russia. 2019;16(1S): 132–136. (In Russ.)] doi: 10.18008/1816-5095-2019-1S-132-136
4. Халимов А.Р., Усубов Э.Л. Морфологическая оценка изменений в роговице экспериментальных животных после ультрафиолетового кросслинкинга. Точка зрения. Восток – Запад. 2021;1: 66–69. [Khalimov AR, Usubov EL. Morphological assessment of changes in the cornea of experimental animals after ultraviolet corneal crosslinking. Point of View. East – West. 2021;1: 66–69. (In Russ.)] doi: 10.25276/2410-1257-2021-1-66-69
5. Liu Y-C, Ji AJ, Tan T-E, Fuest M, Mehta JS. Femtosecond laser-assisted preparation of conjunctival autograft for pterygium surgery. Sci Rep. 2020;10(1): 2674. doi: 10.1038/s41598-020-59586-z

Информация об авторах

Ренат Амирович Казакбаев – зав. 2-м микрохирургическим отделением Уфимского НИИ глазных болезней, L_c_u@mail.ru, <https://orcid/0000-0002-1064-6468>

Валентина Константиновна Суркова – д.м.н., профессор, старший научный сотрудник отделения роговицы и хрусталика Уфимского НИИ глазных болезней, ufaeyenauka@mail.ru, <https://orcid/0000-0003-4964-263X>

Азат Рашидович Халимов – д.б.н., зав. научно-инновационным отделением Уфимского НИИ глазных болезней, azrakhal@yandex.ru, <https://orcid/0000-0001-7470-73330>

Сагит Асхатович Муслимов – д.м.н., зав. отделом морфологии,

Вероссийский центр глазной и пластической хирургии, <https://orcid/0000-0002-9076-0251>.

Information about the authors

Renat A. Kazakbaev – Head of 2nd surgical department, Ufa Eye Reserch Institute, L_c_u@mail.ru, <https://orcid/0000-0002-1064-6468>

Valentina K. Surkova – PhD, professor. Senior Researcher, corneal and lens surgery department, Ufa Eye Reserch Institute, ufaeyenauka@mail.ru, <https://orcid/0000-0003-4964-263X>

Azat R. Khalimov – Doctor of biological Sciences, Head of Scientific and innovation department, Ufa Eye Reserch Institute, azrakhal@yandex.ru, <https://orcid/0000-0001-7470-73330>

Sagit A. Muslimov – PhD, Head of the Department of Morphology, All-Russian Center for Eye and Plastic Surgery, <https://orcid/0000-0002-9076-0251>

Вклад авторов в работу:

А.Р. Халимов: существенный вклад в концепцию и дизайн работы, сбор, анализ и обработка материала, написание, редактирование, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.

В.К. Суркова: существенный вклад в концепцию и дизайн работы, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.

Р.А. Казакбаев: хирургическое ведение, сбор, анализ и обработка материала, написание, редактирование.

С.А. Муслимов: биомикроскопическое исследование, окраска и описание микропрепаратов.

Authors' contribution:

A.R. Khalimov: significant contribution to the concept and design of the work, collection, analysis and processing of material, statistical processing of data, writing, editing, final approval of the version to be published.

V.K. Surkova: significant contribution to the concept and design of the work, final approval of the version to be published.

R.A. Kazakbaev: surgical management, collection, analysis and processing of material, writing, editing.

S.A. Muslimov: biomicroscopic examination, staining and description of micropreparations.

Финансирование: Авторы не получали конкретный грант на это исследование от какого-либо финансирующего агентства в государственном, коммерческом и некоммерческом секторах.

Конфликт интересов: Отсутствует.

Financial transparency: Authors have no financial interest in the submitted materials or methods.

Conflict of interest: None.

Поступила: 22.03.2022

Переработана: 05.03.2022

Принята к печати: 08.04.2022

Originally received: 22.03.2022

Final revision: 05.03.2022

Accepted: 22.03.2022