

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СКЛЕРОПЛАСТИКА АЛЛОТРАНСПЛАНТАТОМ БЕЛОЧНОЙ ОБОЛОЧКИ ЯИЧКА

Изучены закономерности структурной перестройки нового трансплантата для склеропластики – белочной оболочки яичка в сроки наблюдения до одного года в эксперименте.

Актуальность

При склеропластике трансплантатами, такими как склера, твердая мозговая оболочка, отмечено формирование тонкой соединительнотканной капсулы вокруг трансплантата, что отрицательно скажется на достижении цели хирургического лечения-стабилизации миопии [1, 2, 3, 4].

Цель Изучение структурной перестройки трансплантата белочной оболочки яичка в эксперименте.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования были проведены на 36 кроликах. Использовали аллотрансплантат белочную оболочку яичка, консервированную по технологии Аллоплант.

Операцию склеропластики производили по ранее описанной методике (Мулдашев Э.Р. с соавт., 1990).

Кроликов выводили из опыта передозировкой барбитуратов через 7, 14, 21, 30, 90, 180 и 360 суток, после чего глаза энуклеировали.

Для гистологического исследования глазные яблоки фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине. После обезвоживания в серии спиртов возрастающей концентрации заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия). Серийные гистологические срезы окрашивали гематоксилиномиеозином, по Ван Гизону и Маллори.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки тканей, забранные в области склеропластики, фиксировали в 2%-ном растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере Миллонига с постфиксацией в 1%-ном растворе четырехоксида осмия на фосфатном буфере. Контрастирование ультратонких срезов осуществляли уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу [5].

Предварительно изготавливали полутонкие срезы толщиной 1 мкм и окрашивали их толудиновым синим на 2,5%-ном растворе безводной соды. На данных срезах выбирали участки для электронно-микроскопического исследования. Срезы готовили на ультратоме LKB-III 8800 (Швеция). Ультратонкие срезы контрастировали 2%-ном водным раствором уранилацетата, цитратом свинца по Рейнольдсу (Уикли А.Б., 1975) и изучали в трансмиссионных микроскопах JEM-7A и JEM-CX II (Япония) при увеличениях от 4000 до 35000.

Все эксперименты проводили с соблюдением общепринятых принципов, международных нормативных документов и инструкций МЗ РФ и РАМН по работе с лабораторными животными.

Результаты и обсуждение

Структура аллотрансплантата. Белочная оболочка яичка – tunica albuginea testis (ТАТ) – типичная плотная фиброзная соединительная ткань, которая состоит из двух слоев.

Наружный слой – это плотная волокнистая соединительная ткань, состоящая из плотно упакованных пучков коллагеновых волокон. Выявляются различные варианты компоновки коллагена в виде фибрилл различного диаметра. Пучки коллагеновых волокон располагаются в определенном порядке – несколько слоев друг над другом. В каждом слое волнообразно изогнутые пучки коллагеновых волокон идут параллельно друг другу и ориентированы в одном направлении, но не совпадающем с направлением в соседних слоях.

Отдельные пучки переходят от одного слоя к другому, связывая их между собой. Кроме пучков коллагеновых волокон выявляется множество эластических волокон. Внутренний слой представлен тонкой пластинкой относительно рыхлой соединительной ткани.

Экспериментальная аллотрансплантация. В ранние сроки после операции (7-е сутки) в области аллотрансплантации отмечались типичные признаки реакции на операционную травму: расширение сосудов и слабая полиморфно-клеточная инфильтрация аллотрансплантата по периферии и окружающей его ткани склеры глаза. В имплантированном биоматериале наблюдались выраженное набухание и гомогенизация большей части коллагеновых волокон.

Периферические зоны аллотрансплантата инфильтрировались сегментоядерными нейтрофилами и большей частью макрофагами, а затем – пролиферирующими фибробластами.

На электронно-микроскопическом уровне макрофаги представляли крупные клетки с лизосомами в цитоплазме. Макрофаги активно подвергали интенсивному лизису имплантированный трансплантат. Клетки обхватывали отростками лизированные частицы коллагеновых фибрилл биоматериала, что свидетельствовало об усилении их фагоцитарной функции.

Фибробластический клеточный ряд был представлен веретеновидными клетками с крупными удлинёнными ядрами. В их цитоплазме выявлялось большое количество расширенных каналов гранулярного эндоплазматического ретикулума. Ультраструктура клеток свидетельствовала об активном синтезе коллагена.

На 14-е сутки на гистологических препаратах уже выявлялись признаки формирования регенерата, который большей частью представлял собой довольно рыхлую соединительную ткань, по структуре несколько схожую с тканью эписклеры. В нее врастали новообразованные сосуды, которые имели небольшой калибр (15-23мкм), у них иногда

определялась тонкая базальная мембрана. В центральной части аллотрансплантата выявлялись отдельные небольшие незамещенные участки, сохраняющие первоначальную структуру. В клеточном инфильтрате продолжали преобладать фибробласты с признаками активного биосинтеза коллагена. Определялись новообразованные коллагеновые волокна, ультраструктурно в которых обнаруживались коллагеновые фибриллы с неупорядоченной ориентацией. Новообразованные коллагеновые волокна формировали тонкие разрозненные пучки. Со стороны склеры выявлялись признаки формирования тонкой соединительнотканной капсулы.

Через месяц после склеропластики аллотрансплантатом ТАТ на месте имплантации выявлялся полностью сформированный регенерат, со стороны склеры окруженный плотной соединительнотканной капсулой. Плотная часть трансплантата замещалась относительно плотной соединительной тканью. По структуре она имела более плотную упаковку коллагеновых волокон, чем эписклера глазного яблока. Часть трансплантата, представленная слоем рыхлой соединительной ткани, замещалась регенератом адекватной фиброархитектоникой. Она была хорошо васкуляризирована мелкими и средних размеров новообразованными сосудами и сливалась с тканью эписклеры.

В дальнейшем (90-е – 180-е сутки) ткань эписклеры и замещающая аллогенный биоматериал большей частью рыхлая соединительная ткань образовывали единую структуру с относительно крупными кровеносными сосудами и развитой по их ходу новообразованной капиллярной сетью.

На 360-е сутки регенерат почти не отличался от окружающей ткани эписклеры глаза.

Список использованной литературы:

1. Арсютов, Д.Г. Использование биоклея «Сульфокрилат» для фиксации аллотрансплантата в хирургии прогрессирующей миопии (предварительное сообщение) / Д.Г. Арсютов, Н.П. Паштаев // Актуальные вопросы офтальмологии. Всерос. научн. конф. молодых ученых: Сб. научн. работ. – М.: – 2006. – С. 256-259.
2. Зайкова, М.В. О судьбе трансплантатов при гомопластической пересадке склеры в эксперименте / М.В. Зайкова, В.П. Маценко // Офтальмол. журн. – 1979. -№1. – С.43-45.
3. Иващенко, Ж.Н. Синтетические трансплантаты с заданными свойствами для укрепления склеры при прогрессирующей близорукости: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2006. – 26с.
4. Сорокин, В.В. Биологические ткани, применяемые для укрепления заднего отдела склеры при прогрессирующей миопии / В.В. Сорокин // Мат. Всерос. научн. конф. молодых ученых: Актуальные проблемы офтальмологии: Сб. научн. работ. – М.: – 2006. – С. 316-318.
5. Уикли, Б. Электронная микроскопия для начинающих / Б. Уикли // Пер. с англ., – М.: Мир, 1975. – 324с.