

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ КЕРАТОПЛАСТИКА АМНИОНОМ И БИОМАТЕРИАЛОМ «АЛЛОПЛАНТ»

В эксперименте на кроликах показано, что биоматериал для кератопластики «Аллоплант», без выраженных воспалительных процессов, очень медленно в течение года, замещается соединительнотканым регенератом, повторяющим структуру окружающей роговицы. Трансплантация в роговицу амниона приводит к формированию в ней неоднородной по структуре соединительной ткани, полностью нарушающей прозрачность роговицы глаза.

Ключевые слова: трансплантат для кератопластики, амнион, роговица, стимуляция регенерации.

Актуальность

Из-за недостатка материала для кератопластики, связанного с ростом количества донорского материала инфицированного ВИЧ инфекцией и гепатитом, проблема изыскания новых видов трансплантатов остается актуальной. Для решения этой проблемы рядом авторов предложены трансплантационные материалы, которые могли бы заменить донорскую роговицу. В частности, роговицу 5-6 месячных плодов предложил использовать Т.Л.Овсеян [5]; высушенную над силикогелем донорскую роговицу использовали Н.Г.Гольдфельд с соавторами [1]; человеческий амнион в качестве трансплантата для послойной кератопластики предложила Г.А.Макеева [3], хрящ трахеи бронхов плодов и мертворожденных – Н.Р.Мазаева [4], аутохрящ уха – Р.А.Гундорова с соавторами [2]. К сожалению, ни один из предложенных трансплантатов не нашел широкого применения в клинической практике. Во Всероссийском центре глазной и пластической хирургии Минздрава РФ для послойной кератопластики предложен биологический аллогенный материал «Аллоплант» обработанный по собственной технологии.

Цель исследования

Обосновать преимущество применения для кератопластики биоматериала «Аллоплант» в сравнении с амнионом.

Материалы и методы исследования

Эксперимент был проведен на кроликах породы Шиншилла примерно одного возраста и веса (2500-3000г) (всего 35 животных). Эксперименты на животных выполнялись согласно приказу МЗ СССР «О гуманном обращении

с экспериментальными животными» №755 от 12 августа 1977 г. с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ Минвуза от 13 ноября 1984 г. №724). Аллотрансплантаты изготавливали из ткани, взятой с места прикрепления ахиллова сухожилия. Для контрольной группы использовали амнион. Под тиопентал-кетаминным наркозом (Тиопентал натрия 0,5 г №1 на 20 мл физиологического раствора, введение дробное по 2 мл + кетамин 5% – 2 мл, введение дробное по 2 мл – №3) накладывали блефаростат. Дополнительно ретробульбарно вводили лидокаин 2% – 1,0 мл. Разрез роговицы производили на 1/2 глубины вдоль лимба с 9 до 12 часов. Производилось расслоение роговицы по всей поверхности. В образовавшийся карман вставлялся аллотрансплантат (кроличий). Роговичная рана ушивалась 3-мя узловыми швами 8/0 викрил. Для профилактики послеоперационных осложнений парабульбарно вводили гентомицин 20 мг с дексаметазоном 0,3 мл.

Аллотрансплантаты с окружающими тканями роговицы забирались на 3, 7, 14, 21, 60, 120 и 360 сутки. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин по общепринятым стандартным методикам. Срезы готовили на микротоме LEICA и окрашивали гематоксилином и эозином, по методу Ван-Гизон, по Маллори. Микроскопические исследования проводились с использованием светового микроскопа LSM 5 PASCAL фирмы «CARL ZEISS» (Германия).

Результаты исследования и обсуждение

В ранние сроки после операции (на 3-7 сутки) биоматериал «Аллоплант» для кератопластики на границе с окружающими тканями ро-

говицы проявлял признаки разволокнения наружного слоя пучков коллагеновых волокон. Причем, если процессы разволокнения и частичной деструкции коллагеновых фибрилл наблюдались преимущественно в периферических отделах трансплантата по его границе с тканью роговицы, то в центральной зоне практически не определялись. При всем этом трансплантат очень плотно прилегал к окружающим тканям, и четкой пограничной линии между ними не просматривалось. Структура самого трансплантата в глубоких слоях оставалась неизменной. Волокнистые элементы здесь представляли коллагеновые волокна, относительно широко варьирующие в диаметре. Они не формировали строго однонаправленные пучки, а имели несколько разнообразную ориентацию и довольно плотную упаковку. Окружающие ткани роговицы на границе с трансплантатом были слабо отечными и без выраженной воспалительной клеточной инфильтрации. Из клеточных элементов изредка выявлялись отростчатые макрофаги с широкой светлой цитоплазмой и округлым большим темным ядром и веретеновидные фибробласты, которые внедрялись между коллагеновыми волокнами трансплантата.

На 14 сутки после операции вышеописанные морфологические изменения в основном сохранялись. Метахромазия обнаруживалась не только в аллотрансплантате, но и в окружающей его роговице. В центральных отделах трансплантат оставался с неизменной структурой, признаки его разволокнения и деструкции не обнаруживались. Количество инфильтрирующих клеток не увеличивалось, продолжало определяться небольшое количество макрофагов и фибробластов. Описанные изменения позволяли утверждать, что в данные сроки преобладали процессы умеренного разволокнения трансплантата по его периферическим участкам и начала его медленного замещения.

Слабое повышение количества инфильтрирующих трансплантат клеток отмечалось лишь на 21-30 сутки. Данный факт и наличие небольшого числа новообразованных волокон между волокнами трансплантата указывали на некоторую активацию репаративных процессов в этих зонах. В центральных отделах структура трансплантата продолжала оставаться неизменной, и в данной зоне клеточные элементы

по-прежнему не встречались. Отечность окружающей роговицы исчезала, а роговичные пластинки приобретали интактное строение. В более поздние сроки после операции (60-120 суток) интенсивность репаративных процессов несколько возрастала. Признаки замещения в виде новообразования коллагеновых фибрилл между волокон трансплантата в большей части выявлялись с двух его противоположных концов. Клеточный состав не менялся, в замещающихся зонах аллотрансплантата по-прежнему обнаруживались единичные фибробласты и макрофаги. К концу эксперимента (360 сутки) четкой границы между аллотрансплантатом и роговицей не определялось. Большая часть трансплантата замещалась пластинками плотной оформленной соединительной ткани, повторяющей структуру роговицы (рис. 1, цветная вкладка). Наряду с этим в самой глубине трансплантата все еще продолжали отмечаться небольшие незамещенные бесклеточные участки. Эпителий на роговице лежал ровными пластинами с одинаковой толщиной на всей поверхности. Выраженной отличительной особенностью трансплантата на всех сроках эксперимента являлась слабая клеточная инфильтрация со стороны окружающих тканей и очень плотное прилегание к окружающим тканям роговицы.

В контрольной группе кроликов после послойной трансплантации амниона в роговицу глаза на 7 сутки определялись признаки выраженной воспалительной реакции в виде инфильтрации трансплантата нейтрофильными лейкоцитами, лимфоцитами и макрофагами. И трансплантат, и окружающие ткани роговицы были отечными. Наблюдались признаки разволокнения и деструкции коллагеновых волокон периферических участков трансплантата. Через две недели описанные процессы продолжали усиливаться. Выявлялся выраженный отек и интенсивная полиморфно-клеточная инфильтрация ткани амниона и окружающих ее тканей роговицы. При этом определялись признаки начала замещения трансплантата тонкими новообразованными коллагеновыми волокнами и вставания в трансплантат мелких кровеносных сосудов.

Через месяц трансплантат, изготовленный из амниона, представлял собой уже зону рыхлой васкуляризированной соединительной ткани окруженный роговичными пластинками.

Процессы воспаления в тканях немного ослабевали. Но в отдельных участках выявлялись крупные многоядерные клетки, характерные для хронического воспаления. Эпителиальный слой на поверхности роговицы в зоне трансплантации амниона был неровный, местами почти однослойный или даже не выявлялся.

В более поздние сроки после операции (60-120 суток) вышеописанная морфологическая картина, менялась незначительно. Через год на месте трансплантированного амниона выявлялась неоднородная по структуре (местами рыхлая, местами очень плотная) соединительная ткань с единичными тонкостенными сосудами и клеточными инфильтратами (рис. 2, цветная вкладка).

Лишь отдельные, небольшие по размерам участки, подвергались склерозированию. В норме пучки коллагеновых волокон роговицы или пластины располагаются параллельно друг другу и поверхности роговицы. Параллельное расположение и одинаковый показатель

преломления компонентов стромы в значительной степени обеспечивают прозрачность роговицы. Поэтому очевидно, что сформированная на месте амниона ткань с вышеописанной неоднородной структурой не может выполнять адекватно функции роговицы.

Заключение

Таким образом, результаты наших исследований показали, что биоматериал «Аллоплант» для кератопластики обладает значительным преимуществом в сравнении с амнионом. Он очень медленно, в течение года и более, без признаков воспалительных процессов резорбируется макрофагами и замещается плотным соединительнотканым регенератом, повторяющим структуру окружающей роговицы. В отличие от этого послойная трансплантация в роговицу амниона приводит к формированию в ней неоднородной по структуре соединительной ткани, полностью нарушающей прозрачность роговицы глаза.

12.03.2013

Список литературы:

1. Гольдфельд Н.Г. Послойная пересадка обезвоженной роговицы с укреплением трансплантата клеем. – М: Медицина. – 1976. – 119с.
2. Гундорова Р.А., Бойко А.В., Ченцова Е.В. Хондропластика при ожоговых васкуляризованных бельмах // Вестн. Офтальмол. – 1982. – №3. – С.22-25.
3. Макеева Г.А. Применение амниона и твердой мозговой оболочки для барьерной пластики при хирургическом лечении птеригиума // Офтальмол. журн. -1983. – №2. – С.104-106.
4. Мазаева Н.Р. Брeфопластика при птеригиуме // Вестн. Офтальмол. – 1989. – №4. – С.30-32.
5. Овсепян Т.Л. Гомотрансплантация конъюнктивы и роговицы от плодов и погибших новорожденных больным с рецидивирующим птеригиумом и с частичным симблефароном. // Вестн. Офтальмол. – 1971.– №2. – С.28.

Сведения об авторе:

Кадыров Радик Завилович, зав.научной частью ФГБУ ВЦГПХ Минздрава России,

кандидат медицинских наук

450075, г.Уфа, ул.Р.Зорге, 67/1, тел.: (3472) 378409, факс: (3472) 489938, e-mail: morphoplant@mail.ru

UDC 616-089.843

Kadyrov R.Z.

E-mail: morphoplant@mail.ru

EXPERIMENTAL KERATOPLASTY WITH AMNION AND ALLOPLANT BIOMATERIAL

The experiments on rabbits showed that Alloplant biomaterial for keratoplasty is replaced very slowly during the year by the connective regenerate that reduplicates the perikeratic structure without apparent inflammable processes. Transplantation of the amnion into the cornea results in the formation of non-uniform on structure of a connecting fabric affecting the transparency of the cornea.

Key words: Transplantant for keratoplasty, amnion, cornea, regeneration stimulation.

Bibliography:

1. Goldfeld N.G. Level-by-level change of a dehydrated cornea with strengthening of transplantats of glue.– M: Meditsina. – 1976. – 119pp.
2. Gundorova R.A., Boiko A.V., Chencova E.V. Chondroplastice at burn vascular cataracts // Vest.ophtal. – 1982. – №3. – P. 22-25.
3. Makeeva G.A. Application of amniotic membrane and a firm brain environment for barrier plastics at surgical treatment pterigium // Ophthalm. Journ. -1983. – №2. – P. 104-106.
4. Mazaeva N.R. Brefoplastic at pterigium // Vest.ophtal. – 1989. – №4. – P. 30-32.
5. Ovsepyan T.L. Gomotransplantation of conjunctive and corneas from fruits and the lost newborns the patient with recurrent pterigiume and with partial simblefarone // Vest.oftal. – 1971.– №2. – P.28.