

РЕАКЦИЯ МЕЗОДЕРМАЛЬНОЙ ТКАНИ ГЛАЗНОГО ЯБЛОКА ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ МЕХАНОАКТИВИРОВАННОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Несмотря на современное достижение науки и техники остаются до конца не изученными механизмы репаративной регенерации соединительной ткани, в частности глазного яблока, понимание которых важно в условиях широкого использования имплантаций различных биологических материалов. Основной реакцией в тканях реципиента в ответ на введение биоматериалов следует реакция клеток мезодермальной ткани, оценку которой необходимо проводить при изучении процесса репаративной регенерации, в том числе с применением специфических маркеров.

Авторами в условиях эксперимента на кроликах изучена реакция клеток мезенхимального происхождения соединительной ткани глазного яблока в ответ на имплантацию различного по размерности биологического материала с применением специфического маркера белка виментина. Показано, что при имплантации биологического материала в виде биоконтейнера, содержащего механоактивированный биологический материал плаценты человека, в зоне введения наблюдается более выраженная реакция клеток мезенхимального происхождения в сравнении с крупноизмельчённым аналогом, а также макроскопическим имплантатом. При этом отмечается активация элементов фибробластического и эндотелиоцитального ряда, что говорит о значительных биологических ответах мезенхимальной ткани реципиента.

Применение специфического маркера виментина раскрывает реакции клеток соединительной ткани мезенхимального происхождения, что важно в понимании процессов репаративной регенерации тканей реципиента в ответ на имплантацию, в том числе и при применении ранее не изученных механоактивированных имплантатов.

Ключевые слова: виментин, клетки мезенхимального происхождения, биологический материал, плацента человека, репаративная регенерация.

Изучение проблемы репаративной регенерации тканей глазного яблока в ответ на имплантации биологических материалов остается злободневной и в настоящее время [1]–[6]. Основной реакцией в ответ на имплантацию биологических материалов в тканях реципиента в зоне хирургического вмешательства следует реакция клеток мезодермальной ткани. Поэтому важно с целью общего изучения механизмов репаративной регенерации соединительной ткани [7] определение степени участия клеток мезенхимального происхождения в частности глазного яблока, а также их реакцию на операционную травму.

Общепринятым маркером клеток мезодермальной ткани является белок виментин [8]–[11], который является белком промежуточных филаментов и наряду с микротрубочками и актином активно участвует в построении цитоскелета клетки. При этом виментин прикрепляется к ядру, эндоплазматическому ретикулуму, митохондриям и играет значительную роль в закреплении органелл и поддержании их положения в цитоплазме.

Цель работы

Морфологическое изучение реакции мезодермальной ткани глазного яблока в зоне введения механоактивированного биологического материала с определением моноклональных антител с экспрессией к белку виментину.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проводили на 24 кроликах (48 глаз) породы Шиншилла в возрасте от года до двух лет обоего пола с массой тела от 3,0 до 3,5 кг с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», при этом животных делили на четыре группы. В первой опытной группе под конъюнктиву на склере глаза кролика имплантировали биологический контейнер (БК) с механоактивированным биологическим материалом плацентарного происхождения [12], [13]. Во второй опытной группе имплантировался БК с крупноизмельчённой плацентой [14], [15]. В первой контрольной группе под конъюнктиву на склере глаза кролика имплантировали отрезок сосуда пуповины

без наполнения его плацентой. Вторая контрольная группа животных – ложнопериоперированные. Морфологические исследования производили через 7 и 30 суток после манипуляций.

Иммуногистохимическое выявление антигенов в образцах тканей глаза кролика проводили непрямым иммунопероксидазным методом на парафиновых срезах тканей, фиксированных в формалине. В работе использовали концентрированные кроличьи моноклональные антитела к виментину человека производства Spring bioscience (clone sp20), разведенные дилуентом в пропорции 1:200 (разведение и перекрестную видовую реактивность антител определяли экспериментальным путем).

Результаты и обсуждение

В первой опытной группе на 7-е сутки при имплантации БК с механоактивированным биологическим материалом выявлялись виментин положительные популяции клеток, концентрирующиеся в непосредственном окружении биологического контейнера, а также в самой оболочке БК в виде диффузно распределенных клеточных популяций овальной формы, имеющих лейкоцитарное происхождение, а также полигональной или отростчатой формы, что указывало на их фибробластическое происхождение. Часть клеток формировали группы, состоящие из 10–15 единиц. В содержимом БК также обнаружены виментин положительные клетки округлой формы, имеющие принадлежность к лейкоцитарному ряду.

На 30-е сутки в первой опытной группе в непосредственном окружении БК обнаруживалась выраженная клеточная инфильтрация, при этом незначительная часть являлась виментин отрицательными, что возможно было обусловлено деструкцией клеточных элементов, в частности процессами аутолиза, при этом их наблюдалось больше в полости БК. В сравнении с предыдущим сроком в стенке БК отмечалась многочисленная виментин положительная популяция клеточных элементов, особенно в её наружных слоях, определяемая как сеть новообразованных сосудов (рис. 1, цветная вкладка). На удалении 50-100 мкм и более выявлялось появление большого количества виментин положительных клеток отростчатой формы по

структуре напоминающие клетки фибробластического ряда.

Во второй опытной группе при имплантации БК с крупноизмельчённой плацентой на 7-е сутки наблюдения оболочка биоконтейнера была интактна относительно оболочке БК с механоактивированным биологическим материалом в первой опытной группе, при этом она сохраняла свою структурную целостность, хотя и содержала в себе небольшое количество виментин положительных клеток, большинство из которых имели округлую форму, что указывало на их принадлежность к лейкоцитарному ряду. В непосредственном окружении БК наблюдались единичные виментин положительные клетки полигональной или отростчатой формы. Содержимое БК не содержало виментин положительных клеток.

На 30-е сутки наблюдения во второй опытной группе наблюдения в полости БК с крупноизмельчённой плацентой обнаруживались виментин положительные клетки, относящиеся к лейкоцитарному ряду. При этом стенка БК была разрыхлена, содержала умеренное количество виментин положительных клеток округлой формы, а также единичных клеток удлинённой формы фибробластического ряда. Эндотелий в виде виментин положительных клеточных популяций встречался значительно реже в стенке БК, чем в первой опытной группе (рис. 2, цветная вкладка).

В первой контрольной группе при имплантации отрезка сосуда пуповины на 7-е сутки наблюдения стенка отрезка сосуда была еще менее интактна относительно оболочке БК с крупноизмельчённой плацентой во второй опытной группе. При этом она также сохраняла свою структурную целостность, хотя и содержала в себе небольшое количество виментин положительных клеток, большинство из которых имели округлую форму, что указывало на их принадлежность к лейкоцитарному ряду.

На 30-е сутки в первой контрольной группе наблюдения в полости отрезка сосуда пуповины обнаруживались единичные виментин положительные клетки лейкоцитарного ряда, при этом их количество было значительно меньше, чем во второй и тем более в первой опытной группе. В наружных слоях стенки сосуда пуповины, прилежащей к соединительно-тканым струк-

турам реципиента отмечались появление виментин положительных эндотелиоцитов, что доказывало также ангиогенез данной наблюдаемой зоны (рис. 3, цветная вкладка). Однако эндотелий в виде виментин положительных клеточных популяций встречался значительно реже, чем в первой и во второй опытной группах.

Во второй контрольной группе при разрезе конъюнктивы глазного яблока на 7-е сутки наблюдения область механической травмы соединительно-тканной структуры реципиента характеризовалась наличием единичных виментин положительных клеток округлой формы лейкоцитарного происхождения, а также единичные отростчатые клетки фибробластического ряда.

На 30-е сутки в исследуемой второй контрольной группе зона хирургической травмы характеризовалась наличием групп виментин положительных клеток фибробластического ряда, что объяснялось процессами репарации изучаемой зоны и рубцеванием поврежденной ткани глаза животного, и соответствовало дан-

ным литературы по репарации поврежденной механической травмой соединительной ткани с участием клеток, в том числе мезенхимального происхождения.

Таким образом, при имплантации БК с механоактивированным биологическим материалом отмечались реакции соединительной ткани глаза с активным участием клеток мезенхимального происхождения – лейкоцитов в ранние сроки, фибробластов и эндотелиоцитов в более поздние сроки, что косвенно указывало на активность репаративных процессов данной зоны и превосходило по активности при имплантации БК с крупноизмельченной плацентой и, тем более, при имплантации отрезка сосуда пуповины. При разрезе конъюнктивы глазного яблока кролика наблюдались обычные репаративные процессы, характеризующиеся ответом соединительной ткани в ответ на механическое повреждение, приводящие к рубцеванию поврежденной ткани.

10.09.2015

Список литературы:

1. Канюков, В. Н. Биологическое и экспериментальное обоснование новых технологий в офтальмохирургии / В. Н. Канюков, А. А. Стадников, О. М. Тубина. – Москва, «Медицина», 2005. – 160 с.
2. Канюков, В.Н. Экспериментально-гистологические основы новых технологий в офтальмохирургии / В.Н. Канюков, А.А. Стадников. – Оренбург : ОАО «ИПК «Южный Урал», 2009. – 104 с.
3. Мулдашев, Э. Р. Теоретические и прикладные аспекты создания аллотрансплантатов серии «Аллоплант» для пластической хирургии лица : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Э. Р. Мулдашев. – Санкт-Петербург, 1994. – 40 с.
4. Мусина, Л. А. Функциональная морфология макрофагов при регенерации тканей, индуцированной аллогенными биоматериалами : дис. ... д-ра мед. наук / Л. А. Мусина. – Уфа, 2007. – 269 с.
5. Муслимов, С.А. Морфологические аспекты регенеративной хирургии. – Уфа, 2000. – 168 с.
6. Нигматуллин, Р. Т. Морфологические аспекты пересадки соединительнотканых аллотрансплантатов : автореф. дис. ... д-ра мед. наук Р. Т. Нигматуллин. – Новосибирск, 1996. – 40 с.
7. Шехтер, А. Б. Воспаление, адаптивная регенерация и дисрегенерация (анализ межклеточных взаимодействий) / А. Б. Шехтер, В. В. Серов // Архив патологии. – 1991. – Т. 53, № 7. – С. 7-14.
8. Fuchs, E. Intermediate filaments: structure, dynamics, function, and disease / E. Fuchs, K. Weber // Annu. Rev. Biochem. – 1994. – Vol. 63. – P. 345–382.
9. Katsumoto, T. The role of the vimentin intermediate filaments in rat 3Y1 cells elucidated by immunoelectron microscopy and computer-graphic reconstruction / T. Katsumoto, A. Mitsushima, T. Kurimura // Biol. Cell. – 1990. – Vol. 68. – No. 2. – P. 139–146.
10. Menin's interaction with glial fibrillary acidic protein and vimentin suggests a role for the intermediate filament network in regulating menin activity / Juan Lopez-Egido [et al.] // Exp. Cell Res. – 2002. – Vol. 278. – No. 2. – P. 175-183.
11. Uridine phosphorylase association with vimentin. Intracellular distribution and localization / R. L. Russell [et al.] // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol. 276. – No. 16. – P. 302-307.
12. Перевозчиков, П. А. Морфологические особенности репаративной регенерации при имплантации нанодисперсного биологического материала плацентарного происхождения / П. А. Перевозчиков, Ю. Г. Васильев, О. В. Карбань // Морфологические ведомости. – 2011. – № 4. – С. 37-42.
13. Способ приготовления биофункционального трансплантата в виде наночастиц: пат. № 2367448 РФ / Жаров В. В. [и др.]; заявитель и патентообладатель ГУЗ «Республиканская офтальмологическая клиническая больница МЗ УР»; заявка № 2008101216/15 зарегистр. 09.01.2008 г. // Изобретения. Полезные модели. – 2009.
14. Морфологическое исследование биоконтейнеров в эксперименте / А.В. Корепанов [и др.] // Морфологические ведомости. – 2005. – № 1-2. – С. 91-92.
15. Морфологическое исследование биоконтейнеров в эксперименте и их клиническое применение при сенильной макулодистрофии / А. В. Корепанов [и др.] // Ижевские родники – 2008 : Рос. науч.-практ. конф. офтальмологов с междунар. участием. – Ижевск, 2008. – С. 282-288.

Сведения об авторах:

Первозчиков Петр Арсентьевич, заочный докторант кафедры офтальмологии Ижевской государственной медицинской академии, кандидат медицинских наук, заведующий операционным отделением Республиканской офтальмологической клинической больницы
426009, г. Ижевск, ул. Ленина, 98а, e-mail: perev.petr@yandex.ru

Васильев Юрий Геннадьевич, профессор кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии Ижевской государственной медицинской академии, доктор медицинских наук
426034, г. Ижевск, ул. Коммунаров, 281, e-mail: devugen@mail.ru

Карбань Оксана Владиславовна, старший научный сотрудник Физико-технического института УрО РАН, доктор физико-математических наук
426001, г. Ижевск, ул. Кирова, 132, e-mail: ocsa123@yahoo.com