

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОРИСТОГО АЛЛОТРАНСПЛАНТАТА ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ОФТАЛЬМОХИРУРГИИ

Проведено морфологическое исследование пористого аллотрансплантата в эксперименте на 24 кроликах при глаукоме. Губчатый биоматериал формировал ткань со структурой трабекулярной сети, выполняющей дренажную функцию в глазу. Рекомендовано использовать аллотрансплантат в офтальмохирургии в качестве дренажа при глаукоме.

Ключевые слова: глаукома, дренаж, аллотрансплантат.

Актуальность

Для сохранения созданных в ходе противоглаукоматозных операций путей оттока внутриглазных жидкостей и профилактики послеоперационного рубцевания в фильтрационной зоне глаза в офтальмохирургии используются дренажи, изготовленные из различных ауто-, алло- и ксеногенных тканей, а также дренажи из полимерных материалов (Чеглаков Ю.А., 1990; Сапрыкин П.И., 1990; Смирнов В.П. с соавт., 1995; Анисимова С.Ю., Рогачева И.В., 2004; Mermoud A. et al., 1999; Nassiri N. et al., 2010). Ввиду недостаточной эффективности предложенных способов поиска новых продолжают. В ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии Минздравсоцразвития России» был разработан структурно-модифицированный сухожильный аллотрансплантат с пористой структурой, обладающий высокой биосовместимостью, пластичностью, гидрофильностью, который и предложили в качестве дренажа в хирургии глаукомы.

Целью проведенного нами исследования было обоснование эффективности пористого аллотрансплантата для проведения антиглаукоматозных операций.

Материал и методы исследования

Эксперимент выполнен на 24 кроликах породы Шиншилла обоего пола с массой тела 2,5-3 кг. Животных содержали в виварии, оборудованном согласно требованиям «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» за № 1045-73. Исследования осуществляли в соответствии с правилами про-

ведения работ и использования экспериментальных животных (Приложение к Приказу МЗ СССР № 775 от 12.08.77), «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986г. и Федерального закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997г.

Кролики содержались в одинаковых условиях со стандартным рационом питания. Моделирование экспериментальной кортикостероидной глаукомы осуществлялось по стандартной методике L.Vononi с соавторами (1978). В течение месяца производились 4-6 кратные еженедельные инъекции в парабульбарную область раствора дексаметазона в разовой дозе 0,5 мл. Достижение вызываемой патологии определяли по стабилизовавшемуся на высоких значениях офтальмотонусу и выявлению нарушения в продукции и скорости оттока водянистой влаги. Предварительно кроликам в течение недели определяли исходный уровень внутриглазного давления (ВГД) ежедневной электрононографией на тонометре-тонографе ТНЦ-100-С после 3-кратной эпибульбарной анестезии 0,5% раствором дикаина. Коэффициент легкости оттока (С) и минутный объем водянистой влаги (F) определяли по таблице основных тонографических показателей. Затем ВГД измеряли непосредственно перед инъекцией дексаметазона. Спустя 4 недели ВГД у кроликов, в среднем, составляло 28 мм рт. ст.

Кроликам с кортикостероидной глаукомой были проведены операции двухкамерного дренирования с использованием структурно-модифицированного сухожильного трансплантата с

пористой структурой (патент РФ на изобретение № 2290149 «Способ хирургического лечения глаукомы»). Трансплантат был изготовлен из сухожилий, которые подвергали физико-химической обработке по технологии Аллоплант с включением этапов дополнительной гидратации, криоструктурирования, сублимации в лиофилизаторе, а также этапа структурной стабилизации (патент РФ на изобретение № 2310476 «Способ получения губчатого биоматериала для пластической и реконструктивной хирургии»). Полученный таким образом трансплантат представлял собой эластичную и достаточно прочную микропористую губку. Животные оперировались под кетаминным наркозом (в отдельный шприц: кетамин 2 мл (внутримышечно) + дроперидол 1 мл (внутримышечно)). В послеоперационном периоде ежедневно 3 раза в день в конъюнктивальную полость инстиллировали 0,25% раствор левомицетина.

Для изучения динамики морфологических изменений в оперированной зоне животных выводили из опыта через 7, 14, 30, 60, 90, 180 суток после операции передозировкой барбитуратов. Для гистологического исследования энуклеированные глаза кроликов фиксировали в 10%-м забуференном растворе формалина по Лилли и заливали в парафин по стандартным методикам. Гистологические срезы толщиной 8-10 мкм серийно готовили на микротоме LEICA RM 2145 (Германия). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Маллори и Ван-Гизону. Микроскопические исследования проводились с использованием световых микроскопов JENVAL и AXIO IMAGER-Z1 фирмы «CARL ZEISS» (Германия). Микрофотосъемку осуществляли с помощью цифровой камеры Nikon D 100.

Результаты исследования и их обсуждение

При изучении гистологических препаратов самого модифицированного сухожильного трансплантата в его структуре определялись сравнительно однородные тяжи продольно ориентированных коллагеновых волокон, соединенных поперечно расположенными тонкими пучками. Промежутки между волокнистыми пучками формировали своеобразные ячейки, что и обуславливало пористое строение трансплантата. Стенки ячеек, образованные соединительнотканнми тяжами, претерпевшими изменения в процессе технологической

обработки, имели толщину от 30 до 51 мкм. Соединяясь друг с другом, и сливаясь, они формировали сетчатую структуру. Внутри ячейки разделялись более тонкими соединительнотканнми тяжами, септами, которые образовывали более сложную пористую структуру. Модификация фиброархитектоники трансплантата приводит к потере однонаправленности пучков коллагеновых волокон нативного сухожилия, однако, при этом сами коллагеновые волокна, формирующие его каркас, сохраняют тинкториальные свойства присущие нативным, т.е. не претерпевают изменений в макромолекулярной организации.

При исследовании гистологических препаратов глазных яблок кроликов, длительно получавших инъекции дексаметазона, были выявлены морфологические изменения почти всех структурных элементов глазного яблока. Определялись признаки разрушения перегородок между лакунами угла передней камеры, отека всех оболочек глазного яблока, а также серозного пропитывания роговицы и внутреннего слоя склеры с некоторой дезорганизацией собственного вещества, что выражалось в изменении их тинкториальных свойств (пикринофилия). В дренажной зоне лимба обнаруживались признаки дистрофических и дегенеративных изменений: утолщались трабекулярные пластины, суживались интратрабекулярные щели, в том числе и шлеммов канал. Выявлялась экскавация в диске зрительного нерва, диффузный распад нервных волокон, деформация решетчатой пластинки, разрастание соединительной ткани между пучками нервных волокон. Отмечались очаговые разрушения пигментного эпителия радужки и сетчатки. Были выявлены признаки нарушения проницаемости сосудов в виде деструкции базальной мембраны эндотелия отдельных сосудов. В некоторых сосудах базальная мембрана набухла и сильно утолщалась, снаружи от мембраны выявлялись грубоволокнистые элементы, что свидетельствовало о периваскулярном склерозе. Кровеносные сосуды конъюнктивы, склеры, радужки, цилиарного тела, хориоидеи, сетчатки и зрительного нерва были сильно расширены и полнокровны. В них обнаруживался стаз форменных элементов крови.

В группе кроликов, выведенных из эксперимента через 4 недели после прекращения инъекций дексаметазона без проведения антиглау-

коматозной операции, улучшения состояния глазных оболочек не наблюдалось, несмотря на зафиксированное постепенное снижение офтальмотонуса. Данные группы характеризовались на макроскопическом уровне истончением склеры и образованием стафилом. Выявлялось серозное пропитывание и разволокнение пучков коллагеновых волокон склеры. Строма сосудистой оболочки глаза постепенно приобретала грубоволокнистую структуру. В ней выявлялись глыбки свободно лежащего пигмента. В расширенных сосудах эписклеры определялся стаз элементов крови. Определялось также серозное пропитывание ткани роговицы. Кровеносные сосуды конъюнктивы, склеры, радужки, цилиарного тела, хориоидеи, сетчатки и зрительного нерва продолжали быть расширенными и полнокровными. В зрительном нерве наблюдался отек и утолщение соединительнотканых прослоек между нервными волокнами. Отмечались очаговые разрушения пигментного эпителия сетчатки. В ряде случаев встречалась серозная отслойка сетчатки. Ткани дренажной системы глаз также были отечными, с глыбками свободно лежащего пигмента

После имплантации в глазные яблоки кроликов модифицированный сухожильный биоматериал одним концом свободно располагался в углу передней камеры, а другим – в супрахориоидальном пространстве глазного яблока. В реконструированной дренажной зоне угла передней камеры глаза пористый биоматериал уже в ранние сроки пропитывался камерной влагой, что приводило к нормализации внутриглазного давления. На 7 сутки после операции выявлялись признаки слабо выраженной клеточной инфильтрации биоматериала единичными нейтрофильными лейкоцитами, макрофагами и фибробластами. Через 14 дней по периферии трансплантата на месте резорбированных макрофагами участков выявлялись новообразованные коллагеновые волокна, между которыми определялись единичные новообразованные капилляры. Признаки отека тканей оболочек глаза, характерные для глаукоматозного процесса, в том числе и в области зрительного нерва, исчезали, также как и признаки расширения кровеносных сосудов и стоаза в них форменных элементов крови. Структура тканей глаза улучшалась. Через месяц после операции почти во всех слоях губчатого трансплантата вдоль стенок пор

определялись тяжи пролиферирующих удлинённых эндотелиоподобных клеток. Большинство ячеек биоматериала не смыкалось. Таким образом, формировалась полноценная функциональная дренажная зона. Коллагеновые волокна той части биоматериала, которая была обращена к передней камере глазного яблока, не претерпевали существенных изменений, т.е. не подвергались биodeградации.

На 90-180 сутки биоматериал большей частью представлял собой ячеистую ткань, состоящую из множества сообщающихся между собой и не смыкающихся микрополостей, каналов и щелей, стенки которых были выстланы эндотелиальными клетками. По структуре ткань напоминала трабекулярную сеть, выполняющую дренажную функцию в глазу. В задней части биоматериала, происходила деградация коллагеновых волокон и замещение новообразованной рыхлой соединительной тканью с хорошо развитым венозным руслом. Восстановление дренажной системы глаз кроликов при глаукоме приводило к восстановлению структуры и функции клеточных и тканевых элементов оболочек глазного яблока. Строение зрительного нерва глаза также соответствовало норме. Указанные морфологические изменения приводили к нормализации офтальмотонуса.

Одним из возможных путей расширения спектра аллогенных трансплантатов, нашедших широкое применение в медицине, является структурная модификация донорских тканей. Разработанная в ФГБУ «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии Минздрава России» технология физико-химической обработки донорских тканей, позволила за счет модификации структуры сухожилий получить пористый биоматериал, а также увеличить сроки его биodeградации после имплантации в живой организм. Показано, что модифицированная губчатая форма соединительнотканых трансплантатов после подкожной имплантации замещается в соответствии с общими закономерностями замещения соединительнотканых биоматериалов, но структура формирующегося регенерата и динамика репаративных процессов зависит от фиброархитектоники трансплантата (Хасанова Ю.С., 2010).

Известно, что при глаукоме наряду с мультифакториальностью заболевания одной из причин являются дистрофические и склеротические

изменения внутриглазных систем, в том числе дренажной зоны глаза (Затулина Н.И. и соавт. 2000; Краснов М. М. и соавт., 2000). Трабекулярные пластины при глаукоме почти полностью перерождаются, щели в них исчезают, шлеммов канал и часть коллекторных каналов зарастают грубой соединительной тканью. В поздних стадиях глаукомы дегенеративные изменения в дренажной системе глаза являются вторичными и связаны с действием на ткани повышенного внутриглазного давления (Краснов М.М. и соавт., 2000). Кроме того, после проведения антиглаукоматозных операций фильтрационная зона глаза часто подвергается процессам рубцевания (Лебедев О.И., 1993). Хорошо изучено участие цитокина TGF- β 1 (фактора фиброза) в избыточном рубцевании тканей глаза после антиглаукомных операций (Образцова Е.Н., 1996; Ловпаче Д.Н., 2000; Курышева Н.И., 2000).

В нашем эксперименте установлено, что разработанный губчатый трансплантат после имплантации в глазное яблоко кроликов вызывает лишь слабо выраженную клеточную реакцию окружающих тканей, которая в дальнейшем не ведет к каким-либо патологическим процессам. Частичная резорбция трансплантата

наблюдается лишь по его периферии и в интрасклеральном пространстве в задней его части. Резорбированные участки не замещаются грубой рубцовой тканью, что способствует профилактике рубцевания послеоперационной зоны. Стенки ячеек большей части губчатого аллотрансплантата, которые образованы сухожильными пучками, длительно не рассасываются, не смыкаются и надолго сохраняются в тканях реципиента. Такие свойства биоматериала способствуют восстановлению дренажной функции глаза, ведущей непосредственно к понижению внутриглазного давления при глаукоме. Гистологические исследования показали, что выстланные эндотелиальными клетками стенки ячеек губчатого трансплантата образуют ткань, по структуре напоминающей трабекулярную сеть, выполняющей дренажную функцию в глазу.

Таким образом, полученные результаты морфологического исследования позволяют обосновать эффективность применения пористого аллотрансплантата для целей офтальмохирургии и рекомендовать его в качестве дренажа при глаукоме.

13.10.2011

Список литературы:

1. Анисимова С.Ю., Рогачева И.В. Применение дренажей для повышения эффективности хирургического лечения глаукомы // Офтальмохирургия и терапия. – 2004. – №2. – С. 16–19.
2. Затулина Н.И., Панормова Л.Г., Сеннова Л.Г. Концепция патогенеза первичной открытоугольной глаукомы // Тезисы докладов 7-го Съезда офтальмологов России. – М., 2000. – Ч. 1. – С. 131.
3. Краснов М.М., Зянгинова Г.Г., Антонова О.В. Клеточные взаимодействия радужной оболочки и трабекулярного аппарата глаза при открытоугольной глаукоме // Вестн. офтальмологии. – 2000. – № 1. – С. 3 - 4.
4. Лебедев О.И. Концепция избыточного рубцевания тканей глаза после антиглаукоматозных операций // Вестн. офтальмол. – 1993. – № 1. – С. 36-39.
5. Ловпаче Д.Н. Клинико-иммунологическое прогнозирование и хирургическая профилактика избыточного рубцевания после антиглаукоматозных операций: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. М., 2000. – 25 с.
6. Образцова Е.Н. Анализ состава цитокинов слезной жидкости и сывотки крови в норме и при некоторых видах офтальмопатологии: Автореф. дис. ...канд. мед. наук. М., 1996. – 25 с.
7. Сапрыкин П.И. Сравнительная оценка хирургического лечения глаукомы с использованием эксплдренажей // Офтальмохирургия. – 1990. – № 2. – С. 28-31.
8. Смирнов В.П., Зайкова М.В. Модифицированная глубокая склерэктомия с аллодренированием при открытоугольной глаукоме // Офтальмохирургия. – 1995. – № 1. – С. 22-24.
9. Чеглаков Ю.А. Эффективность глубокой склерэктомии с применением дренажа из гидрогеля в отдаленном периоде // Офтальмохирургия. – 1990. – № 3. – С. 28-31.
10. Bonomi L., Perfetti S., Noya E., Belucci R., Tomazzoli L. Experimental corticosteroid ocular hypertension in the rabbit // Albrecht. V. Graefes Arch.Ophthalmol. – 1978. – Vol.2. – P.73-82.
11. Mermoud A., Schnyder C. C., Sickenberg M. et al. Comparison of deep sclerectomy with collagen implant and trabeculectomy in open-angle glaucoma // J. Cataract Refract. Surg. – 1999. – Vol. 25. – №. 3. – p. 323-331.
12. Nassiri N., Ramali G., Rahnavardi M., Mohammadi B., Nassiri S., Rahmani L., Nassiri N. Ahmed glaucoma valve and single-plate Molteno implants in treatment of refractory glaucoma: a comparative study. Am. J. Ophthalmol. – 2010. – May. № 7, p. 893 – 902.

UDC 617.7-007.681-089.844.002.3

Shangina O.P., Musina L.A., Khasanov R.A.,

Bulgakova L.A., Kornilaeva G.G., Kornilaeva M.P.

EXPERIMENTAL AND HISTOLOGICAL REASONING OF POROUS ALLOGRAFT EFFICIENCY FOR OPHTHALMOSURGERY AIMS

A morphological experimental investigation of the porous allograft was carried out on 24 rabbits in case of glaucoma. The sponge biomaterial was forming the tissue of the trabecular network structure which was performing a drainage function in the eye. It is recommended to use the allograft in ophthalmosurgery as drainage in case of glaucoma.

Key words: glaucoma, drainage, allograft.