

Ультраструктурные особенности склеры после тракционной склеропластики (экспериментальное исследование)

С.А.Обрубов¹, А.А.Древал², Г.В.Топчиева³, Г.В.Порядин⁴, Н.С.Учаева¹

¹Российский государственный медицинский университет, кафедра офтальмологии педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой – чл.-кор. РАМН, проф. Е.И.Сидоренко);

²Российский государственный медицинский университет, кафедра гистологии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой – проф. Т.К.Дубовая);

³Российский государственный медицинский университет, кафедра морфологии МБФ, Москва (зав. кафедрой – проф. О.Ю.Горина);

⁴Российский государственный медицинский университет, кафедра патологической физиологии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой – чл.-кор. РАМН, проф. Г.В.Порядин)

Ультраструктурный анализ состояния склеры в ранние сроки как после тракционной склеропластики, так и после склеропластики без трaкции трансплантата, показал, что в соединительной ткани склеры чаще выявляются активно функционирующие клетки фибробластического ряда, находящиеся на разных этапах созревания: от малодифференцированных до зрелых. В отдаленные сроки (через 6 мес) в условиях тракционной склеропластики сохраняется значительное число активных форм фибробластов, фиброцитов с элементами активизации синтетических процессов и характерно появление тяжелой волокнистой соединительнотканной регенераты. Большинство коллагеновых фибрилл характеризуются как зрелые и располагаются в основном вокруг фиброцитов. После склеропластики без натяжения трансплантата значительно чаще присутствовали потерявшие функциональную активность фиброциты и единичные активные фибробласты.

Ключевые слова: склеропластика, фиброциты, фибробласт

Ultrastructural features of sclera after traction scleroplastics (experimental research)

S.A.Obrubov¹, A.A.Dreval², G.V.Topchieva³, G.V.Poryadin⁴, N.S.Uchaeva¹

¹Russian State Medical University, Department of Ophthalmology of Pediatric Faculty, Moscow (Head of the Department – Cor. Member of RAMS, Prof. E.I.Sidorenko);

²Russian State Medical University, Department of Histology of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department – Prof. T.K.Dubovaya);

³Russian State Medical University, Department of Morphology of Medical Biological Faculty, Moscow (Head of the Department – Prof. O.Yu.Gorina);

⁴Russian State Medical University, Department of Pathological Physiology of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department – Cor. Member of RAMS, Prof. G.V.Poryadin)

In early terms the ultrastructural analysis of a sclera condition, both after and without traction scleroplastics, showed that in a connective tissue of a sclera the functioning fibroblastic cells frequently appeared at different stages of development from slightly differentiated to mature. In the remote terms (in 6 months) of these conditions the significant number of active forms of fibroblasts and fibrocytes are with the elements of activation of synthetic processes and occurrence of tense fibrous connective tissue is also characteristic. The majority of collagenic fibrils are characterized as mature and settle down basically around fibrocytes. After scleroplasty without a tension of a transplant the fibrocytes having lost their functional activity and individually active fibroblast appear more often.

Keywords: scleroplasty, fibrocytes, fibroblasts

Склеропластические операции давно получили признание офтальмологов как средство профилактики и стабилизации прогрессирующей близорукости [1–3]. Большинство авторов лечебный эффект операции связывают с механическим укреплением склеры миопического глаза как трансплантационным материалом, так и рубцовой тканью, содержащей сосуды. Не исключая механического укрепления склеры, ряд авторов указывают на то, что трансплантат действует как биогенный стимулятор [4], во многом зависящий от степени альтерации тканей глаза, биологических свойств имплантируемого материала, степени выраженности воспалительной и иммунной реакций организма и т. д., то есть от репаративной регенерации. Между тем следует учитывать тот факт, что на характер и исход репаративной регенерации существенное влияние оказывают условия, в которых она протекает в каждом конкретном случае.

Еще в 1879 г. С.Самуэль (цит. по Саркисову Д.С.) [5] отмечал, что прогрессивное изменение тканей вследствие непосредственного механического растяжения встречается чрезвычайно часто. Если механическое растяжение вначале заключается просто в более сильном напряжении, то в тканях, имеющих нормальную кровеносную сеть, которая может следовать за их растяжением, впоследствии наступает более сильное питание. И потому растяжение, бывшее вначале механическим, переходит в настоящее прогрессивное изменение ткани – в гиперплазию.

Это положение нашло подтверждение и дальнейшее развитие в работах А.Н.Студитского и А.Р.Стригановой [6], которые установили стимулирующее влияние натяжения регенерирующей мышцы на восстановление скелетной мускулатуры позвоночных. А.Илизаров установил значение натяжения как фактора, во многом определяющего диапазон регенерации костной ткани.

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что анализ условий, способствующих течению репаративной регенерации, и их использование в клинической практике являются весьма перспективным подходом к разработке направленной регуляции этого процесса [7].

Целью настоящего исследования являлось экспериментальное обоснование возможности использования для склеропластики фактора натяжения трансплантата тракционной склеропластики.

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы проведена на 15 кроликах-самцах (30 глаз) породы шиншилла массой 2,0–3,0 кг. Животные содержались в виварии на сбалансированном рационе. Исследования проведены в соответствии с основными положениями международной резолюции ARVO (Ассоциации по офтальмологии и исследованию зрения). Животных

выводили из опыта путем введения воздуха в ушную вену, после чего осуществлялась энуклеация глаз.

В зависимости от технологии хирургического лечения все животные были подразделены на 3 группы: в 1-й группе (10 глаз) проводилась склеропластика в верхненаружном квадранте без натяжения трансплантата, во 2-й группе (10 глаз) – склеропластика в верхненаружном квадранте с натяжением трансплантата, и 3-ю группу составили глаза контрольных животных (10 глаз). Натяжение трансплантата осуществлялось после фиксации его двумя узловыми швами к склере с одной стороны путём подшивания другого конца с натяжением, отступив от свободного края 1,5–2 мм.

Материалом для морфологических исследований явились кусочки склеры, взятые из области оперированной зоны глаз кроликов в различные сроки после операции (от 12 дн до 6 мес). Для исследования склеры методом трансмиссионной электронной микроскопии глазные яблоки после энуклеации погружали в охлажденный 2,5% раствор глутаральдегида на фосфатном буфере (pH 7,2–7,4). Затем брали кусочки ткани из зоны операции и фиксировали их в 2,5% растворе глутарового альдегида в течение 4 ч с последующей постфиксацией четырехокисью осмия в течение одного часа. После этого образцы промывали в дистиллированной воде (2 смены по 30 мин), обезвоживали в спиртах и окиси пропилену и заливали в эпон по общепринятой методике. Для приготовления ультратонких срезов использовали ультрамикротом фирмы «LKB», Швеция. Контрастировали срезы уранилацетатом и цитратом свинца по общепринятой схеме и исследовали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM – 100B DEOL (Япония). Из каждого участка склеры вырезали обычно по 5 кусочков.

Фоторегистрация осуществлялась на цифровую камеру в комплекте аппаратно-программного комплекса автоматической морфоденситометрии «Диаморфобъектив» компании «Диаморф».

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный ультраструктурный анализ состояния склеры опытных групп кроликов через 2 нед после склеропластики, как с натяжением, так и без натяжения трансплантата, показал присутствие значительного количества тучных клеток. Среди тучных клеток выявляются различные по степени дегрануляции клетки: от частично дегранулированных до полностью опустошенных, включая клетки с активным выходом гранул через цитоплазматическую мембрану (плазмолемму). Ультраструктурная организация тучных клеток, выявленных в условиях эксперимента, свидетельствует об их активной секреции: наблюдается разрыхление части специфических гранул и появление прозрачных ободков вокруг них; в клетках присутствуют как зрелые плотные гранулы, так и гранулы различной степени зрелости с сетчатой и рыхлой зернистой структурой. Для всех тучных клеток характерно наличие отчетливо выраженных филаментозных выростов цитоплазмы, иногда приобретающих вид ундулирующих отростков.

В указанный срок наблюдения отмечаются и сложные взаимодействия тучных клеток как друг с другом, так и тучных клеток с макрофагами (последние в основном сек-

Для корреспонденции:

Обрубов Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры офтальмологии педиатрического факультета Российского государственного медицинского университета

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 936-9207

E-mail: obrubovs@yandex.ru

Статья поступила 24.09.2008 г., принята к печати 08.04.2009 г.

реторного типа). Подобные межклеточные взаимоотношения являются свидетельством регулируемого воспалительного процесса.

Другим клеточным типом, который появляется через 2 нед как после тракционной склеропластики, так и склеропластики без натяжения трансплантата, являются фибробласты. Среди фибробластов выделяются два клеточных типа, находящиеся на разных этапах созревания. Если после тракционной склеропластики преобладающим типом клеток является юный и малодифференцированный фибробласт, то после склеропластики без растяжения трансплантата доминирующими на данный срок являются фибробласты без значительной активизации синтетических процессов.

Для субмикроскопической организации юных фибробластов характерны округлая форма, иногда с небольшим количеством мелких отростков на поверхности клетки, крупное ядро с дисперсным хроматином и наличием локального расширения перинуклеарного пространства; иногда встречается неярко выраженная маргинальная агрегация гетерохроматина. Вокруг ядра располагаются небольшое количество узких цистерн гранулярной эндоплазматической сети, единичное количество макрофагов. Относительно митохондрий возможны вариации: присутствие единичных крупных органелл и/или небольшое число мелких митохондрий с темным плотным матриксом. Преобладающими органеллами для подобного рода клеток являются рибосомы (полисомы). Так как ткани склеры дают ответную воспалительную реакцию на хирургическое вмешательство, появление таких клеток обусловлено их способностью к пролиферации и направленной миграции в поврежденную область с целью последующего активного синтеза белка, что, по-видимому, и определяет их роль в репаративных процессах.

Для ультраструктурной организации дифференцированных фибробластов, обнаруженных в склере после тракционной склеропластики, было характерно крупное ядро с многочисленными глубокими инвагинациями, ярко выраженной маргинацией ядерного хроматина, раздутыми цистернами гранулярной эндоплазматической сети, пустыми или/и с зернистым содержимым внутри. Достаточно часто у таких клеток рядом с ядром располагаются отдельные цистерны гранулярной эндоплазматической сети, напоминающие крупные вакуоли и содержащие обилие рибосом. Митохондриальный аппарат представлен немногочисленными органеллами ортодоксального типа. Вокруг плазмолеммы располагаются коллагеновые волокна. Важно отметить, что пучки коллагеновых фибрилл располагаются параллельно клеткам фибробластического типа.

Сравнительный ультраструктурный анализ фиброцитов склеры через 2 нед после как тракционной склеропластики, так и склеропластики без натяжения трансплантата, не выявил значимых различий. Несмотря на то, что фиброциты традиционно рассматриваются как функционально неактивная часть популяции клеток фибробластического ряда, тем не менее после склеропластики наблюдается их способность, хотя и слабая, синтезировать компоненты внеклеточного матрикса. Через 2 нед после проведенной операции для них характерна реорганизация рельефа клетки, что проявляется в образовании различных по степени выраженности цитоплазматических выростов. Фибро-

циты склеры опытных животных имеют классическую вытянутую форму, достаточно крупное ядро с локальным расширением перинуклеарного пространства, немногочисленными, но глубокими инвагинациями ядерной мембраны и выраженной маргинальной агрегацией фрагментов ядерного хроматина. Другие органеллы фиброцитов частично или полностью деградированы. Важно отметить присутствие вокруг плазмолеммы клеток коллагеновых волокон варибельной длины и толщины.

Анализ состояния склеры опытной группы кроликов через 3 мес после как тракционной склеропластики, так и склеропластики без натяжения трансплантата показал присутствие значительного количества клеточных структур фибробластического ряда с ультраструктурными признаками синтетической активности.

Через 6 мес после тракционной склеропластики и склеропластики без натяжения трансплантата ультраструктурный анализ состояния склеры опытной группы кроликов выявил единичное присутствие стареющих форм тучных клеток и макрофагов лизосомального типа.

Среди клеток фибробластического ряда в склере без натяжения трансплантата в отдаленные сроки значительно чаще присутствовали потерявшие функциональную активность фиброциты.

В отдаленные сроки среди клеток фибробластического ряда в склере после тракционной склеропластики все еще присутствовали функционально активные формы фибробластов, в том числе с элементами деления, крупные по размерам фибробласты и переходные клетки фибробласт-фиброкласт, а также фиброциты с элементами сохраняющейся активности синтетических процессов.

Присутствующие юные фибробласты обладали субмикроскопической организацией, схожей с клетками, наблюдаемыми при ранних сроках после тракционной склеропластики. Их отличительная черта проявлялась в наличии вокруг клеток различных по толщине и длине клеточных волокон.

Особый интерес в отдаленные сроки представляют крупные по размерам фибробласты. В цитоплазме этих клеток присутствует не крупное ядро с преобладанием гетерохроматина, вокруг которого располагается небольшое количество деструктивных органелл; при этом вся обширная область цитоплазмы полностью занята нитчатыми филаментами в виде рыхлых пучков. Часто подобного рода клетки располагались группами и были связаны между собой коннекстонами.

Таким образом, ультраструктурный анализ состояния склеры показал, что через 2 нед как после тракционной склеропластики, так и склеропластики без натяжения трансплантата, наблюдается активизация тучных клеток с одновременным вовлечением в процесс макрофагов. Морфологические признаки тучных клеток, макрофагов, фиброцитов после склеропластики претерпевают изменения, но независимо от присутствия фактора растяжения.

В условиях тракционной склеропластики в соединительной ткани склеры чаще выявляются активно функционирующие клетки фибробластического ряда, находящиеся на разных этапах созревания: от малодифференцированных до зрелых. Следует полагать, что их выявление обусловлено функциональным раздражением – натяжением склеры, ока-

зывают стимулирующее влияние на процессы фибриллогенеза. Под действием сил растяжения происходит продольная ориентация как клеток фибробластического ряда, так и новообразованных коллагеновых фибрилл.

При сравнительном анализе склеры в отдаленные сроки (через 6 мес) выявлены следующие закономерности ультразвуковых изменений: сохраняется значительное число активных форм фибробластов, фиброцитов с элементами активизации синтетических процессов, характерно появление тяжелой волокнистой соединительнотканной регенераты после тракционной склеропластики. Большинство коллагеновых фибрилл характеризуются как зрелые и располагаются они в основном вокруг фиброцитов.

После склеропластики без натяжения трансплантата значительно чаще присутствовали потерявшие функциональную активность фиброциты и единичные активные фибробласты.

Литература

1. Аветисов Э.С., Тарутта Е.П., Иомдина Е.Н. и др. Патогенетически обоснованная система склероукрепляющего лечения и профилактики осложнений прогрессирующей миопии у детей и подростков. – В кн.: Сборник статей международной конференции «Актуальные вопросы аметропий у детей». – 1996. – С. 67–70.
2. Бушуева Н.Н. О показаниях к различным методам хирургического лечения близорукости и их эффективность // Офтальмол. журн. – 1998. – №1. – С.1–8.
3. Тарутта Е.П., Иомдина Е.Н., Шамхалова Э.Ш. и др. Укрепление склеры у детей с повышенным риском прогрессирования близорукости // Вестн. офтальмол. – 1992. – № 2. – С. 14–17.
4. Беляев В.С., Кравчинина В.В., Барашков В.И. и др. Современные методы хирургической профилактики прогрессирующей близорукости. – В кн.: Близорукость. Патогенез, профилактика прогрессирования и осложнений: Мат. междунар. симпозиума. – М., 1990. – С. 127–129.
5. Саркисов Д. С. Очерки истории общей патологии. Изд. 2-е, перераб. и доп. – М.: Медицина, 1993. – С.129–130.
6. Студитский А. Н., Стриганова А.Р. Восстановительные процессы в скелетной мускулатуре. – М.: АН СССР. – 1951. – 172 с.
7. Корниловский И. М. Патогенетические аспекты стабилизации миопии после склеропластических операций // Офтальмол. журн. – 1987. – № 6. – С.343–347.
8. Сомов Е.Е. Склеропластика. – СПб.: Педиатрический медицинский институт, 1995. – С.95–137.

Информация об авторах:

Древалев Анатолий Александрович, кандидат биологических наук, доцент кафедры гистологии лечебного факультета Российского государственного медицинского университета
Адрес: 117997, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-4083

Топчиева Галина Васильевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии МБФ Российского государственного медицинского университета
Адрес: 117997, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-7601

Порядин Геннадий Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии лечебного факультета Российского государственного медицинского университета
Адрес: 117997, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-4167

Учаева Наталья Сергеевна, научный сотрудник кафедры офтальмологии педиатрического факультета Российского государственного медицинского университета
Адрес: 117997, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 936-9328
E-mail: natik555@bk.ru

ИЗ ЖИЗНИ УНИВЕРСИТЕТА

Учебники и монографии

Никифоров А.С., Гусева М.Р. Нейроофтальмология: руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 624 с.

В первой части книги («Введение в нейроофтальмологию») основное внимание уделяется морфологии и физиологии глаза и его вспомогательного аппарата, мозговым структурам, проводящим зрительные импульсы от сетчатой оболочки глаз до зрительной коры и других корковых зон, осуществляющих анализ и синтез зрительных импульсов. Вторая часть посвящена главным образом нейроофтальмологической семиотике. В третьей части приведены краткие сведения о некоторых заболеваниях, травматических и токсических поражениях, в клиническую картину которых входят признаки нейроофтальмологической патологии. В четвертой части описаны некоторые методы современной фармакотерапии в офтальмологии. В конце книги приводится список рекомендуемой дополнительной русскоязычной литературы по вопросам нейроофтальмологии.

Издание предназначено для врачей неврологов и офтальмологов. Изложенные в нем сведения по нейроофтальмологии помогут повысить эффективность диагностической работы врачей и других клинических профессий. Руководство может быть рекомендовано для студентов медицинских вузов.

Нестеров А.П. Глаукома. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. – 360 с.

Данное, второе, издание книги значительно переработано с учетом современных представлений о патогенезе, диагностике и лечении глаукомы.

В книге рассмотрены вопросы механизма формирования внутриглазного давления, закономерности, определяющие гидродинамику и гидростатику глаза. Описаны клиническая картина, диагностика и дифференциальная диагностика различных форм глаукомы (врожденной, первичной и вторичной). Подробно освещены вопросы патогенеза, особенно первичной глаукомы, включая и особенности глаукоматозного поражения зрительного нерва. Представлены современные методы лечения и разобраны показания к ним с учетом их оптимизации.

Книга предназначена для врачей-офтальмологов.