

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 617.713-089.844-091-092.9

Бикбов М.М., Зайнутдинова Г.Х., Кудоярова К.И., Лукьянова Е.Э., Халимов А.Р.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЛАЗ КРОЛИКОВ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ СКЛЕРОУКРЕПЛЯЮЩИХ ОПЕРАЦИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ УФ-СШИТЫХ ТРАНСПЛАНТАТОВ

ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН республики Башкортостан», 450088, г. Уфа, РФ

Цель: провести сравнительную морфологическую оценку реакции тканей глаз кроликов после экспериментальной склеропластики с применением ксенотрансплантатов из УФ-облученного и необлученного перикарда.

Материал и методы. Реакция тканей после экспериментальной склеропластики изучена на гистологических срезах глаз 8 кроликов (16 глаз). Животных распределили на 2 группы. В 1-й группе были проведены склероукрепляющие операции по Хатминскому с использованием ксенотрансплантатов из перикарда, предварительно обработанных и облученных от источника УФ-излучения при длине волны 370 нм и мощности 5 мВт/см² в течение 20 минут с одной стороны и после 30-минутной экспозиции в 0,5% водном растворе рибофлавина (правые глаза 4-х кроликов). Остальные животные (2-я группа) оперированы по той же методике с использованием ксенотрансплантатов из необлученного перикарда. Левые глаза кроликов оставлены интактными и приняты за контроль.

Энуклеированные глаза животных подвергнуты макроскопическому и гистологическому исследованию через 2 недели (по 2 кролика из каждой группы) и через 1 месяц после операции.

Результаты. Морфологическое изучение энуклеированных глаз через 2 недели после операции выявило слабовыраженную асептическую воспалительную реакцию в виде скудного ободка лимфоцитарных клеток в толще склеры, рядом с имплантатом из УФ-облученного перикарда. При гистологических исследованиях, проведенных через 1 месяц, были обнаружены признаки формирования соединительно-тканной капсулы. В срезах склеры энуклеированных глаз кроликов с использованием биоматериалов из необлученного перикарда через 2 недели после операции на границе с трансплантатом визуализировали выраженное асептическое воспаление с массивной лимфомакрофагальной инфильтрацией и наличием большого количества фибробластов, через 1 месяц – появление лишь отдельных участков грануляционной ткани.

Выводы. При гистологическом исследовании энуклеированных глаз через 2 недели после экспериментальной склеропластики была установлена менее выраженная реакция тканей на введение УФ-облученного ксенотранспланта по сравнению с необлученным. Через 1 месяц после операции, проведенной с использованием ксенотрансплантатов из УФ-сшитого перикарда, были обнаружены гистологические признаки формирования соединительно-тканного каркаса на фоне слабовыраженной воспалительной реакции тканей глаза. У животных, оперированных с использованием необлученного биоматериала из перикарда, сохранялась массивная воспалительная инфильтрация и просматривались лишь отдельные участки образования грануляционной ткани.

Ключевые слова: экспериментальная склеропластика; ксенотрансплантаты; УФ-сшитый перикард.

Для цитирования: Бикбов М.М., Зайнутдинова Г.Х., Кудоярова К.И., Лукьянова Е.Э., Халимов А.Р. Морфологическое исследование глаз кроликов после проведения склероукрепляющих операций с применением УФ-сшитых трансплантатов. Российская педиатрическая офтальмология. 2017; 12(1): 23-26. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1993-1859-2017-12-1-23-26>.

Для корреспонденции: Зайнутдинова Гузель Халитовна, доктор медицинских наук, зав. отд. восстановительной хирургии глаз у детей ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней Академии наук республики Башкортостан», 450008, Уфа. E-mail: gusel.zai@yandex.ru

Bikbov M.M., Zainutdinova G.Kh., Kudoyarova K.I., Luk'yanova E.E., Khalimov A.R.

THE MORPHOLOGICAL STUDY OF THE RABBIT EYE SCLERA FOLLOWING THE SCLERA-STRENGTHENING OPERATIONS WITH THE USE OF UV CROSS-LINKED TRANSPLANTS

Ufa Research Institute of Eye Diseases, Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, Ufa, 450008, Russian Federation

Aim. The objective of the present study was the comparative evaluation of the morphological characteristics of the reaction of the ocular tissues following experimental scleroplasty with the application of the xenografts from UV-irradiated and non-irradiated pericardium.

Materials and methods. To elucidate the morphological characteristics of the reaction of the eye tissues to experimental scleroplasty, we used histological sections of the 16 eyes of 8 rabbits. The animals were allocated to

two groups. Those in group 1 underwent sclera-strengthening operations as described by Khatminsky with the use of UV cross-linked xenotransplants from the pericardium. Part of them was preliminarily subjected either to UV-irradiation at a wavelength of 370 nm and an irradiation power of 5 mW/cm² for 20 minutes or to the treatment with a 0.5% aqueous solution of riboflavin during 30 minutes (the right eyes from 4 animals). The remaining rabbits comprised group 2 and were operated using the same procedure with the application of the xenotransplants from the non-irradiated pericardium. The left eyes of all the animals remained intact and serves as the controls. The enucleated eyes were subjected to the microscopic and histological examination within 2 weeks (two rabbits from each group) and 1 month after surgery.

Results. The morphological study of the enucleated eyes obtained within 2 weeks after the surgical intervention gave evidence of only the mild aseptic inflammatory reaction in the form of a lean rim composed from lymphocyte-like cells buried deep in the sclera close to the transplants from the UV-irradiated pericardium. The histological studies carried out within 1 month after the operation have demonstrated the signs of formation of a connective tissue capsule. The sections through the sclera of the enucleated eyes with the use of the biological materials from the non-irradiated pericardium obtained 2 weeks after the operation at the borderline with the transplants exhibited the clearly visualized signs of aseptic inflammation with massive lympho-macrophage infiltration and the presence of a large amount of fibroblasts. Only isolated areas of the granulation tissue were identified within 1 month after the intervention.

Conclusion. The histological study of the enucleated rabbit eyes conducted within 2 weeks after experimental scleroplasty has demonstrated the less pronounced reaction of the ocular tissues to the introduction of the UV-irradiated xenografts in comparison with that of the non-irradiated ones. One month after the surgical intervention with the application of the xenotransplants from the UV cross-linked pericardium, the histological signs of the formation of the capsules from the connective tissue were well apparent in the association with the mild inflammatory reaction of the ocular tissues. The animals operated with the use of the non-irradiated biological materials from the pericardium experienced massive inflammatory lympho-macrophage infiltration and exhibited only isolated areas of the developing granulation tissue.

Keywords: *experimental scleroplasty; xenotransplants; UV cross-linked pericardium.*

For citation: Bikbov M.M., Zainutdinova G.Kh., Kudoyarova K.I., Luk'yanova E.E., Khalimov A.R. The morphological study of the rabbit eye sclera following the sclera-strengthening operations with the use of UV cross-linked transplants. *Rossiyskaya pediatricheskaya oftal'mologiya (Russian Pediatric Ophthalmology)* 2017; 12(1): 23-26. DOI <http://dx.doi.org/10.18821/1993-1859-2017-12-1-23-26>.

For correspondence: Zainutdinova Guzel' Khalitovna, d-r med. sci., head of the Department of Plastic Surgery of eyes in Children, Ufa Research Institute of Eye Diseases, Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, Ufa, 450008, Russian Federation. E-mail: gusel.zai@yandex.ru

Contribution: M.M. Bikbov – 20%, G.Kh. Zainutdinova – 20%, K.I. Kudoyarova – 20%, E.E. Luk'yanova – 20%, A.R. Khalimov – 20%.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements. The study had no sponsorship.

Received 22 Oktober 2016

Accepted 17 November 2016

Введение. Прогрессирующая близорукость, несмотря на достигнутые в последние годы успехи в ее профилактике и лечении, является одной из наиболее частых причин инвалидности по зрению и продолжает оставаться одной из самых актуальных проблем офтальмологии как в России, так и других странах мира [1–5]. По данным российских офтальмологов, в последнее 10-летие удельный вес детей и подростков с миопией вырос в 1,5 раза [6, 7].

Как известно, основной причиной снижения зрения при близорукости является ослабление прочностных свойств склеры вследствие нарушения ее биохимических и биомеханических свойств. Это способствует развитию нарушения кровоснабжения сосудистой оболочки и сетчатки, приводящих к возникновению таких осложнений, как дистрофия и отслойка сетчатки [3, 8].

Патогенетически обоснованным методом лечения прогрессирующей близорукости и профилактики ее осложнений является выполнение склероукрепляющих операций. Однако стабилизация близорукости остается не всегда достаточно высо-

кой и составляет по данным разных авторов лишь 40–78% [7, 9]. В первую очередь, эффективность склеропластических операций определяется наличием у выбранного биоматериала хорошей биосовместимости и безопасности для тканей глаза. Однако вопрос о выборе наиболее подходящего, эффективного и безопасного биоматериала, применяемого для хирургического укрепления склеры, остается открытым.

Цель работы: провести сравнительную морфологическую оценку реакции тканей глаза после экспериментальной склеропластики с применением ксенотрансплантатов из УФ-облученного и необлученного перикарда.

Материал и методы. Реакция тканей изучена на гистологических срезах экспериментальных глаз кроликов породы шиншилла весом от 2,5 кг. У 4-х кроликов на одном (правом) глазу проведены склероукрепляющие операции по Хатминскому с использованием ксенотрансплантатов из перикарда, предварительно облученных в течение 20 минут с одной стороны от источника ультрафиолетового (УФ) излучения длиной волны 370

нм, мощностью 5 мВт/см², после их экспозиции в 0,5% водном растворе рибофлавина мононуклеотида. У остальных животных (4 кролика) по той же методике имплантированы ксенотрансплантаты из необлученного перикарда. У всех животных левые глаза оставлены интактными (контроль).

Операцию проводили под наркозом с применением внутримышечно растворов ксилазина, кетамина, фентанила. В послеоперационном периоде кролики оставались под клиническим наблюдением. В оперированные глаза 4 раза в день инстиллировали 0,5% раствор ципрофлоксацина. Кроликов выводили из эксперимента через 2 и 4 недели передозировкой используемых средств для наркоза. Глаза животных после энуклеации подвергались макроскопическому и гистологическому исследованию.

Энуклеированные глазные яблоки фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина или жидкости Буэна в течение 24–48 часов, после чего выполняли стандартную методику обработки и изготовления гистологических препаратов с толщиной серийных парафиновых срезов 3–5 мкм.

Получали микропрепараты по стандартной методике. После выдерживания тканей глазных яблок в растворе формалина их промывали в воде в течение 3-х часов и обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (70–96%) с последующим освобождением от спиртов и заливкой горячим парафином. Далее полученный материал насаживали на блоки и выполняли срезы на санном микротоме (PFM Slide 2003). Микропрепараты окрашивали гематоксилин-эозином и пикрофуксином по ван-Гизону.

Результаты. В послеоперационном периоде при клиническом осмотре в оперированных глазах наблюдали умеренную инъекцию сосудов конъюнктивы, незначительный хемоз, оптические среды оставались прозрачными. За весь период наблюдения клинических признаков внутриглазного воспаления не было выявлено. Контрольные глаза в период наблюдения оставались спокойными, без видимых признаков воспаления.

Макроскопически через 2 недели после операции на поверхности склеры в четырех секторах каждого энуклеированного глазного яблока обнаруживали по 4 трансплантата, не спаянные с теноновой оболочкой. Сосуды эписклеры были умеренно расширены и извиты.

Микроскопически в толще склеры глаз, оперированных с использованием УФ-облученного перикарда (рис. 1, см. вклейку), выявлялась слабовыраженная воспалительная реакция на введенный ксенотрансплантат в виде скудного ободка клеток лимфоцитарного ряда. В окружающих ксенотрансплантат тканях склеры визуализировался межучасточный отек и неравномерно наполненные кровью сосуды.

В толще склеры определялись элементы ксенотрансплантата из необлученного перикарда, пред-

ставленные гомогенной волокнистой тканью (рис. 2, см. вклейку). Между биоматериалом и склерой видна выраженная воспалительная реакция, представленная массивным лимфомакрофагальным инфильтратом и наличием большого количества фибробластов.

При проведении энуклеации через 1 месяц после склеропластики на поверхности склеры также в четырех секторах каждого оперированного глазного яблока видны 4 трансплантата, которые частично спаяны с теноновой оболочкой.

Микроскопически в срезе склеры животных, оперированных с использованием УФ-облученного перикарда (рис. 3, см. вклейку), определялась плотная волокнистая ткань. На границе с тканью склеры вокруг сформировалась соединительно-тканная капсула, с внутренней стороны которой визуализировались очаги слабовыраженной воспалительной инфильтрации, в которой преобладали лимфоциты и плазматические клетки.

Через 1 месяц после склеропластики с применением необлученного перикарда на гистологическом срезе склеры определялся ксенотрансплантат в виде грубоволокнистой структуры с признаками умеренного межучасточного отека, вокруг которого просматривались массивный воспалительный инфильтрат и отдельные участки формирования грануляционной ткани. Клетки воспалительного инфильтрата проникали между волокнами данного биоматериала (рис. 4, см. вклейку).

Изучение реакции тканей на гистологических срезах контрольных глаз через 2 недели и 1 месяц (после проведенной операции на парном глазу) не выявило в толще склеры и ресничном теле патологических изменений (рис. 5, см. вклейку).

Заключение

При гистологическом исследовании энуклеированных глаз через 2 недели после экспериментальной склеропластики была установлена менее выраженная реакция тканей на введение УФ-облученного ксенотрансплантата по сравнению с необлученным биоматериалом из перикарда.

Через 1 месяц после операции, проведенной с использованием ксенотрансплантатов из УФ-сшитого перикарда, были обнаружены гистологические признаки формирования соединительно-тканного каркаса на фоне слабовыраженной воспалительной реакции тканей глаза. У животных, оперированных с использованием необлученного биоматериала из перикарда, сохранялась массивная воспалительная инфильтрация, и просматривались лишь отдельные участки образования грануляционной ткани.

Долевое участие авторов: М.М. Бикбов – 20%, Г.Х. Зайнутдинова – 20%, К.И. Кудрярова – 20%, Е.Э. Лукьянова – 20%, А.Р. Халимов – 20%.

Финансирование. Финансирование исследования и публикации не осуществлялось.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

1. Аветисов Э.С. *Близорукость*. М.: Медицина; 1999.
2. Alok S., Baker G., Hubba Rd. III Peripheral retinal findings in highly myopic children <10 years of age. *Retina*. 2010; 30: 15–9.
3. Bernheim D., Rouberol F., Palombi K. et al. Comparative prospective study of rhegmatogenous retinal detachments in phakic or pseudophakic patients with high myopia. *Retina*. 2013; 33: 2039–48.
4. Wang E., Chen Y. Intravitreal anti-vascular endothelial growth factor for choroidal neovascularization secondary to pathologic myopia. *Retina*. 2013; 33: 1375–92.
5. Lin L.K., Shih Y.F., Hsiao K. et al. Epidemiologic study of the prevalence and severity of myopia among schoolchildren in Taiwan in 2000. *J. Formos Med. Assoc.* 2001; 100: 684–91.
6. Либман Е.С., Шахова Е.В. Слепота и инвалидность вследствие патологии органа зрения в России. *Вестн. офтальмол.* 2006; (1): 35–7.
7. Тарутта Е.П., Иомдина Е.Н., Ахмеджанова Е.В. Прогрессирующая миопия у детей: лечить или не лечить? *Вестн. офтальмол.* 2005; (2): 5–8.
8. Shigeki Machqda Y. Hasegawa, M. Kondo et al. High prevalence of myopia in japanese patients with idiopathic focal subretinal neovascularization. *Retina*. 2006; 26: 170–5.
9. Gerinec A., Belanova L. Effectiveness of posterior scleroplasty in progressive myopia in children. *Cesk. Slov. Ophthalmol.* 1996; 52 (4): 220–5.
1. Avetisov E.S. *Blizorukost'*. Moscow: Meditsina; 1999. (in Russian)
2. Alok S. Bansal, Baker G., Hubba Rd III Peripheral retinal findings in highly myopic children < 10 years of age. *Retina*. 2010; 30: 15–9.
3. Bernheim D., Rouberol F., Palombi K. et al. Comparative prospective study of rhegmatogenous retinal detachments in phakic or pseudophakic patients with high myopia. *Retina*. 2013; 33: 2039–48.
4. Wang E., Chen Y. Intravitreal anti-vascular endothelial growth factor for choroidal neovascularization secondary to pathologic myopia. *Retina*. 2013; 33: 1375–92.
5. Lin L.K., Shih Y.F., Hsiao K. et al. Epidemiologic study of the prevalence and severity of myopia among school children in Taiwan in 2000. *J. Formos Med. Assoc.* 2001; 100: 684–91.
6. Libman E.S., Shakhova E.V. Slepota i invalidnost' vsledstvie patologii organa zreniya v Rossii. *Vest. oftal'mol.* 2006; (1): 35–7. (in Russian)
8. Tarutta E.P., Iomdina E.N., Akhmedzhanova E.V. Progressiruyushchaya miopiya u detey: lechit' ili ne lechit'? *Vest. oftal'mol.* 2005; (2): 5–8. (in Russian)
9. Shigeki M., Yutaka H., Mineo K. High prevalence of myopia in japanese patients with idiopathic focal subretinal neovascularization. *Retina*. 2006; 26: 170–5.
10. Gerinec A., Belanova L. Effectiveness of posterior scleroplasty in progressive myopia in children. *Cesk. Slov. Ophthalmol.* 1996; 52 (4): 220–5.

Поступила 22.10.16

Принята к печати 17.11.16

Редколлегия отмечает дискуссионный характер этой интересной публикации. В плане дискуссии мы публикуем мнение рецензента – известного патоморфолога д.м.н., проф. И.П. Хорошиловой-Масловой. Будем рады опубликовать Ваши отклики и комментарии по этой проблеме на страницах нашего журнала.

Комментарий к статье Бикбова М.М., Зайнутдиновой Г.Х., Кудояровой К.И., Лукьяновой Е.Э., Халимова А.Р. «Морфологическое исследование глаз кроликов после проведения склероукрепляющих операций с применением Уф-сшитых трансплантатов»:

«Авторы не отметили изменений в ткани склеры под ксеногенным трансплантатом. Судя по микрофотографиям, биоматериал из перикарда вызывал выраженную воспалительную реакцию и деструктивные изменения в подлежащей склере – как после применения УФ-облучения, так и необлученного материала. Требуется дальнейшего исследования возможность его применения в качестве склеропластического материала в клинике» (д.м.н., проф. И.П. Хорошилова-Маслова).

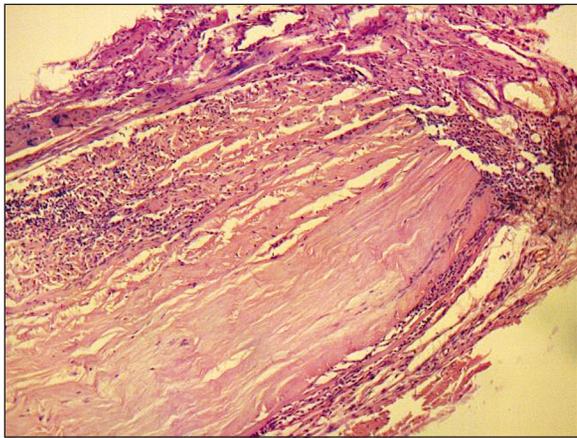


Рис. 1. Морфологическая картина среза склеры глаза кролика через 2 недели после склеропластики с применением УФ-сшитого перикарда.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 100.

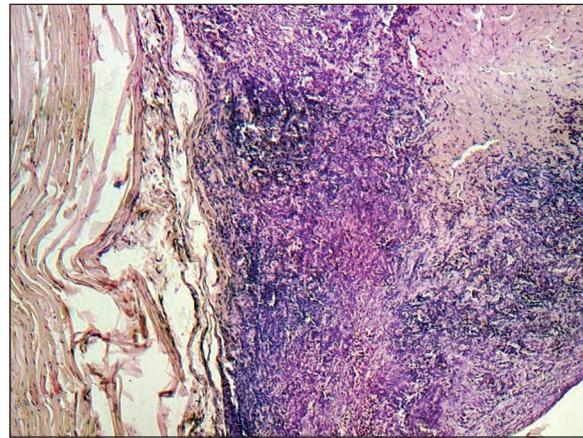


Рис. 2. Морфологическая картина среза склеры глаза кролика через 2 недели после склеропластики с использованием ксенотрансплантата из необлученного перикарда.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 100.

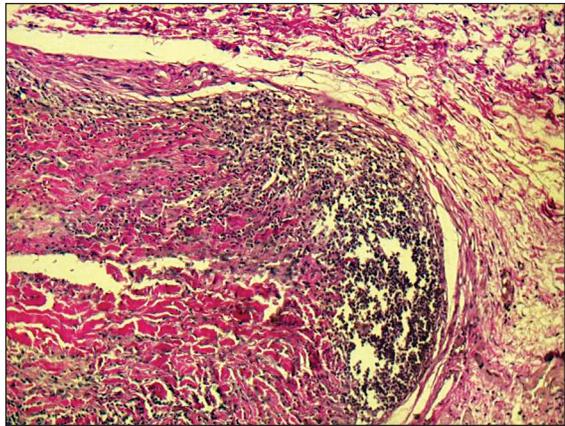


Рис. 3. Морфологическая картина среза склеры глаза кролика с ксенотрансплантатом из УФ-сшитого перикарда через 1 месяц после склеропластики.
Окраска пикрофуксином по ван-Гизону. Ув. 100.

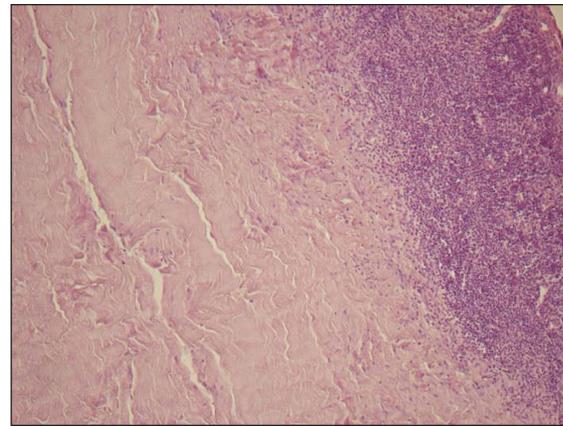


Рис. 4. Морфологическая картина среза склеры через 1 месяц после операции с использованием необлученного перикарда.
Окраска гематоксилин-эозином. Ув. 100.

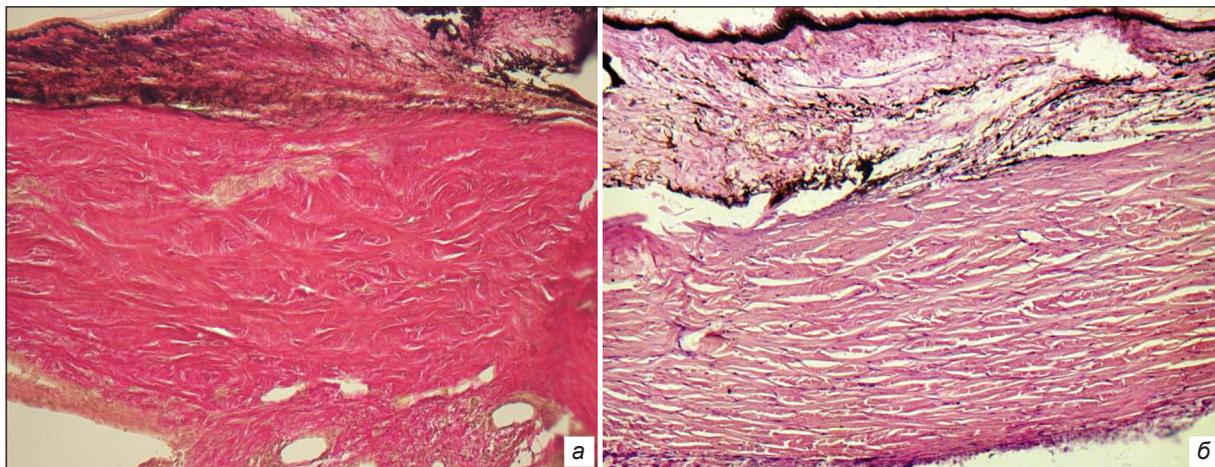


Рис. 5. Гистологическая картина среза склеры контрольного глаза в области ресничного тела.
а – окраска пикрофуксином по ван-Гизону. Ув. 100; б – окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100.