

В. И. ГРИГОРЬЕВА

## ПРИЖИЗНЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КОНСЕРВИРОВАННОЙ НА ХОЛОДУ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА КРОЛИКА

(Представлено академиком Н. Н. Аничковым 27 VII 1950)

Большое практическое значение операции оптической пересадки при которой в качестве пластического материала применяется консервированная на холоду роговая оболочка глаза донора, побудила нас провести наблюдения за состоянием жизнедеятельности клеточных элементов контрольной и консервированной роговицы с помощью метода прижизненной окраски нейтральным красным. Клинический опыт, особенно богатый у В. П. Филатова <sup>(1)</sup> и его учеников, показывает, что для исходов прозрачного приживления трансплантата имеет большое значение, продолжительность консервации роговицы на холоду. Нам казалось, что прижизненное гисто-физиологическое изучение консервированной роговицы могло бы дать оценку функционального состояния ткани роговицы при различных сроках консервации.

Метод прижизненной окраски известен давно и широко использован <sup>(2)</sup> при исследовании повреждения клеток и тканей. Клеточная реакция гранулоотложения красителя, в том числе нейтрального красного, может служить реактивом, позволяющим судить о функциональном состоянии клетки в различных условиях.

Прижизненную окраску роговицы мы производили по методике, указанной В. Я. Александровым <sup>(3)</sup>. После изоляции роговицы из глаза кролика, энуклеированного и консервированного при температуре от +2 до +4° в стерильной банке с притертой пробкой, мы окрашивали роговицу 0,025% раствором нейтрального красного в течение 30 мин. Затем, сполоснув роговицу обычным рингеровским раствором, мы оставляли ее в термостате еще в течение 30 мин. в этом же растворе; после этого роговица исследовалась под микроскопом.

Роговая оболочка до консервации (контрольная) в рингеровском растворе представляется тонкой, слегка опалесцирующей прозрачной пластинкой. Окрашенная раствором нейтрального красного она имеет кирпично-красный цвет. Микроскопически в поверхностно распластаных клетках наружного эпителия этой роговицы мы находили лишь мелкие гранулы кирпично-красного цвета, которые были разбросаны по всей протоплазме. В клетках средних слоев красного цвета гранулы имели средние размеры и располагались в узкой зоне протоплазмы вокруг ядра, оставляя свободными периферические слои клеточной протоплазмы. В базальном эпителии красные гранулы, преимущественно крупных размеров, лежали кучками в надъядерной части протоплазмы. В соединительнотканых клетках разного размера гранулы красителя имелись не только в околоядерной зоне протоплазмы, но распространялись и в мельчайшие разветвления клеточных отростков. Ввиду близости

сти показателя преломления основного вещества роговицы и клеточной протоплазмы, контуры клеток и их отростков на неокрашенном препарате выявляются плохо. После же окраски нейтральным красным, благодаря гранулам красителя, форма клеток становится четко обозначенной. В десцеметовом эпителии обильно отлагающиеся гранулы разных размеров занимают широкую околоядерную зону и оставляют свободной периферическую зону цитоплазмы клетки.

Роговая оболочка, консервированная на холоду от одних до трех суток в рингеровском растворе, представляется заметно опалесцирующей пластинкой; после окраски нейтральным красным она оказывается окрашенной интенсивнее контрольной.

Микроскопически в эти сроки консервации обнаруживается во всех клеточных элементах роговицы увеличение количества гранул и укрупнение последних по сравнению с контрольной роговицей. Гранулоотложение распространяется в более широкой зоне околоядерной протоплазмы всех клеток. Интенсивность окраски гранул усиливается и они приобретают темнокрасный цвет. В некоторых из поверхностно распластанных клеток наружного эпителия проявляется легкая контурировка клеточного тела, что, повидимому, связано с некоторыми сдвигами коллоидного состояния их цитоплазмы.

Судя по усилению клеточной реакции гранулоотложения красителя, после этих сроков консервации наблюдается активация клеток. В пользу этого говорит то, что усиление гранулоотложения витальных красителей неоднократно описывалось при действии на клетки слабых раздражителей<sup>(4)</sup>. Активация жизнедеятельности клеточных элементов и повышение жизнеспособности консервированной роговицы после 1—3-дневного хранения на холоду подтверждается и клиникой, так как лучшие результаты приживления трансплантата получают после консервации роговицы в течение первых 3 дней.

Роговая оболочка, консервированная на холоду от 4 до 10 суток, представляется сильно утолщенной, опущенная в рингеровский раствор она имеет вид серовато-мутной, полупрозрачной пластинки. После окраски ее нейтральным красным она принимает красный цвет, переходящий к 10-му дню консервации в оранжевый.

Микроскопически уже с 4-го дня консервации обнаруживается, что среди клеток с нормальным или даже усиленным гранулоотложением начинают попадаться элементы с ослабленным гранулоотложением. В этих элементах роговицы уменьшается не только количество гранул, но и их размеры. Встречаясь вначале единично, такие клетки к 10-му дню консервации постепенно нарастают в количестве, но попрежнему чередуются как с нормальными, так и мало измененными клетками. Окраска гранул этих клеток начинает ослабевать и к 10-му дню они становятся оранжевыми. Постепенно начинают появляться клетки с диффузно-розовой окраской протоплазмы, а иногда и совершенно бесцветные. Последние раньше всего выявляются в наружном эпителии роговицы. Вначале в таких клетках еще удается обнаружить небольшое количество мелких гранул, но затем гранулоотложение в них полностью исчезает.

Отмечается постепенно нарастающая контурировка их, связанная с изменениями в соотношении показателя преломления протоплазмы этих и окружающих их клеток. В эпителиальном покрове поверхностно распластанные клетки иногда отсутствуют целыми участками. Такие же участки, лишенные клеток, встречаются и в средних слоях наружного эпителия и в десцеметовом эпителии. Среди соединительнотканых клеток начинают обнаруживаться в указанные сроки клетки с ослабленной реакцией гранулоотложения. В этих клетках сужается околоядерная зона распространения гранул. Величина гранул уменьшается, контуры клеток делаются более отчетливыми. При этом обна-

руживается уменьшение размеров самих клеток. Синцитиальные связи между ними становятся более бедными.

Вся описанная картина свидетельствует о том, что, начиная с 4-го по 10-й день консервации роговицы, появляются и постепенно нарастают дегенеративные изменения клеточных элементов во всех ее слоях. Это снижение жизнедеятельности клеток роговицы является естественным результатом нарушенного питания ткани и повреждающего влияния холода.

Роговая оболочка, консервированная на холоду от 10 до 25 суток, представляется сильно утолщенной и уже к 20-му дню начинает слегка расплавляться с задней поверхности, имея вид мало прозрачной, сероватой пластинки. После окрашивания ее нейтральным красным она становится бледнооранжевого цвета.

Микроскопически с 10-го по 15-й день консервации мы обнаруживали в ней преобладание клеточных элементов с ослабленной реакцией гранулоотложения. Даже на 20-й день консервации роговицы в эндоплазматических отделах некоторых соединительнотканых и десцеметовых клеток еще удавалось обнаружить отложение очень мелких гранул красителя. Последнее обстоятельство говорило о сохранении в какой-то степени жизнедеятельности этих клеток и в такие поздние сроки хранения роговицы на холоду. К 20-му дню консервации в наружном эпителии роговицы удавалось обнаружить лишь островками сохранившиеся клетки базального эпителия. Последние имели или диффузно-розовую окраску протоплазмы или были бесцветными. Очень часто клеточные границы становились незаметными и клетки расплавлялись в одну общую бесформенную неокрашенную массу. Соединительнотканые клетки, так же как и другие, сильно уменьшались в размерах, становились отчетливо контурированными и почти не содержали уже гранул. При этом они утрачивали синцитиальные связи друг с другом. Редкими островками встречающиеся клетки десцеметова эпителия также имели чаще диффузно-розовую окраску или были бесцветными и только изредка содержали очень мелкие и едва заметные гранулы. На более поздних сроках, особенно к 25-му дню, отложение гранул в клетках не обнаруживается. Сами клетки исчезают целыми участками и слоями.

Все описанные изменения в клеточных элементах роговицы являются результатом глубоких и уже необратимых дегенеративных процессов. Степень распространенности гибнущих элементов роговицы на поздних сроках ее консервации свидетельствует о потере жизнеспособности ткани и о невозможности использования последней в качестве пластического материала при операции пересадки.

Данные настоящей работы хорошо согласуются с результатами, полученными нами при изучении консервированной роговицы с помощью обычных гистологических методов исследования <sup>(5)</sup>.

Институт экспериментальной медицины  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
21 VII 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. П. Филатов, Оптическая пересадка роговицы и тканевая терапия, М., 1945.  
<sup>2</sup> Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, Реакция живого вещества на внешние воздействия, Изд. АН СССР, 1940. <sup>3</sup> В. Я. Александров, Бюлл. эксп. биол. и мед., 25, в. 3; 25, в. 8 (1948). <sup>4</sup> Б. П. Ушаков, Уч. зап. ЛГУ, сер. биол. наук, в. 16, № 99 (1949). <sup>5</sup> В. И. Григорьева, Вестн. офтальмологии, № 3 (1950).