

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Т. А. БЕДНЯКОВА

**ПЕРЕСАДКА КОНСЕРВИРОВАННОЙ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ КОЖИ
НА МЕСТО УДАЛЕННОЙ РОГОВИЦЫ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС**

(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 13 X 1951)

При замене роговицы взрослых амфибий молодой личиночной кожей трансплантат в новых для него условиях существования изменяет путь своего развития и преобразуется в роговицу (4). Сходные данные были получены на крысах: кожа 14—19-дневных зародышей, пересаженная на место удаленного участка роговицы взрослого животного, претерпевала изменения в сторону роговицы (5). Возможность использования этих данных с целью восстановления зрения у человека, в случае дальнейшей успешной разработки указанного подхода, выдвигает необходимость хранения пересадочного материала до операции. Это обусловлено, во-первых, трудностью получения эмбрионов соответствующего возраста в нужный момент и, во-вторых, тем, что подобным пересадкам у человека неизбежно должно предшествовать проведение ряда анализов (реакция Вассермана и др.).

В. П. Филатов, его ученики и последователи с огромным успехом использовали консервированную на холоду трупную роговицу при кератопластике, показав этим несомненное преимущество пересадки консервированных тканей. Однако наши опыты существенно отличаются от пересадки роговицы тем, что пересаживается не готовый сформировавшийся орган и даже не зачаток органа, а эмбриональная кожа, которая лишь в ходе опыта преобразуется в роговицу. Известно, что консервация эмбриональной кожи на холоду не препятствует (а даже способствует) ее приживлению, росту и в какой-то мере дифференцировке в случаях пересадки при длительно незаживающих кожных дефектах у человека (3).

Согласно представлениям В. П. Филатова (6), живые ткани, отделенные от организма и подвергающиеся действию факторов среды, затрудняющих их жизнь, претерпевают биохимическую перестройку. Однако будет ли эта перестройка способствовать изменению консервированной эмбриональной кожи в сторону роговицы, или в процессе консервации эмбриональная ткань утратит способность изменять путь своего развития при пересадке на глаз, можно было решить только при помощи эксперимента.

Основной целью данной работы было выяснение вопроса о том, может ли эмбриональная кожа, подвергнутая консервации при пониженной температуре, вступая в морфофизиологические взаимоотношения с глазом, преобразовываться в роговицу.

Опыты проводились на крысах. Было сделано 70 операций. Кожа бралась от 15—18-дневных зародышей, разрезалась на небольшие куски и помещалась в герметически закрытых парафинированных

пробирках с куриной плазмой в рефрижиратор, в котором поддерживалась температура от 2 до 5°. Сроки консервации — от 3 дней до 5 мес.

Перед операцией извлеченные из плазмы кусочки кожи растягивались на тонкой резиновой пластинке, погруженной в стерильный раствор Рингера. Из центра кусочка круглым трепаном вырезался трансплантат и пересаживался на место вырезанного тем же трепаном и пинцетными ножницами участка роговицы взрослой крысы. Операции производились при эфирном наркозе под бинокулярной лупой, с соблюдением доступных нам правил асептики и антисептики (5).

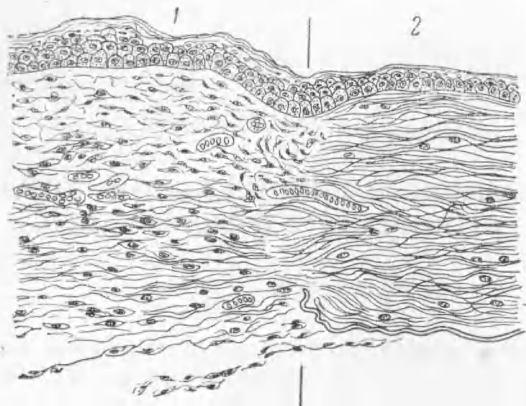


Рис. 1. Крыса № 80 — эмбриональная кожа, консервированная 5 дней, через 11 дней после пересадки. 1 — трансплантат, 2 — роговица

цы. Консервированные трансплантаты в основном ведут себя сходно со свежими (5), поэтому я на их описании здесь не останавливаюсь.

Исследования разрезов подопытных глаз (фиксированных ценкерформолом или 10% нейтральным формалином и окрашенных по Маллори и азокармином) показали, что изменения в гистологическом строении трансплантатов в основном соответствуют изменениям, обнаруженным при прижизненном наблюдении. К 10—12-му дню после операции трансплантат становится значительно прозрачнее (начало просветления — на 5—7-й день) и в это же время он начинает приобретать характерные для роговицы черты строения. Эпителий становится тоньше и утрачивает складчатость. В соединительнотканной части большинство фибробластов, в особенности в глубоких слоях трансплантата, принимает вытянутую параллельно поверхности роговицы форму, появляются ориентированные в том же направлении тонкие волокна, окрашивающиеся по Маллори в бледнофиолетовый или слегка голубоватый цвет (см. рис. 1). Через 16 дней после пересадки волокна красятся несколько интенсивнее, но все еще значительно бледнее волокон основного слоя роговицы. Их расположение более упорядочено. Все фибробласты ориентированы параллельно

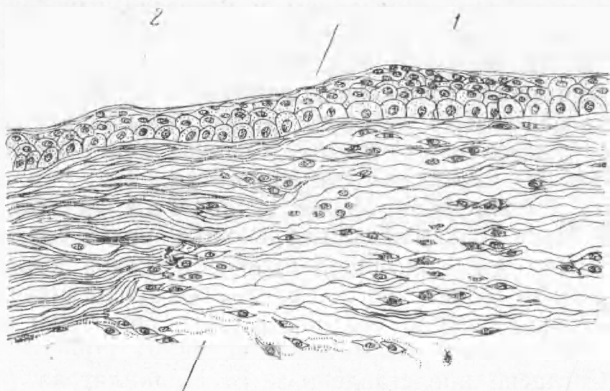


Рис. 2. Крыса № 87 — эмбриональная кожа, консервированная 9 дней, через 16 дней после пересадки. Обозначения те же

поверхности роговицы (см. рис. 2). Через $1\frac{1}{2}$ мес. после операции коллагеновые волокна образуют пучки, красящиеся по Маллори в синий цвет, так же как и основной слой роговицы хозяина, но они тоньше и расположены значительно рыхлее (см. рис. 3). Перед фиксацией трансплантат выглядит почти таким же прозрачным, как и окружающая роговица хозяина. Через $2\frac{1}{2}$ мес. после пересадки пучки коллагена трансплантата и роговицы хозяина оказываются почти одинаковой толщины. Прижизненных изменений за этот период времени на-глаз обнаружить почти невозможно. Через 5 мес. после операции трансплантат отличается от роговицы хозяина только отсутствием подстилающей его десцеметовой мембраны и незначительно большей разрыхленностью коллагеновых волокон (см. рис. 4).

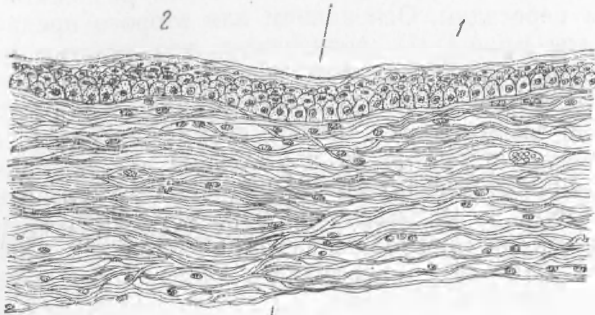


Рис. 3. Крыса № 43 — эмбриональная кожа, консервированная 5 дней, через $1\frac{1}{2}$ мес. после пересадки. Обозначения те же

Так же как и при пересадках свежей эмбриональной кожи, в редких случаях (2 из 70) трансплантат развивался в сторону кожи. Однако, в отличие от пересадок свежей кожи, здесь ни разу не наблюдалось роста волос.

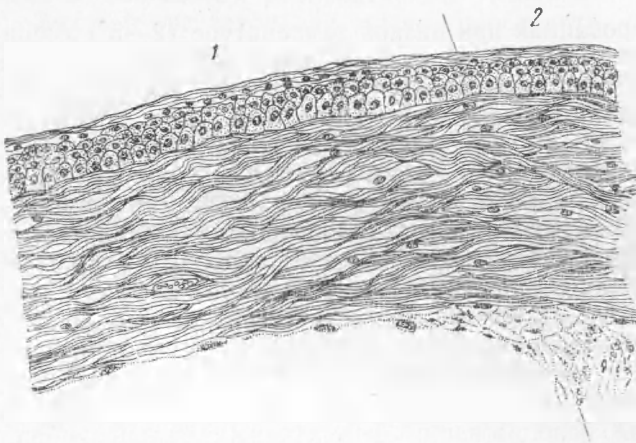


Рис. 4. Крыса № 41 — эмбриональная кожа, консервированная 3 дня, через 5 мес. после пересадки. Обозначения те же

В основных опытах срок консервации колебался от 3 до 19 дней. Перед операцией кожа исследовалась по методу Бруга (2), суть которого заключается в том, что при прижизненной окраске 2% раствором эозина на физиологическом растворе прокрашиваются только мертвые клетки, живые же остаются бесцветными. При указанных выше сроках консервации прокрашенные (отмершие)

клетки были обнаружены только по периферии кусочка. Так как трансплантаты вырезались всегда из центра кусочка, то пересаживалась заведомо живая ткань.

Помимо изложенных основных опытов, были сделаны пересадки эмбриональной кожи, консервированной в течение 2 и 5 мес. Цель опытов — выяснить максимальные сроки сохранности консервированной кожи. В коже, консервированной в течение 2 мес. 7 дней, большинство клеток прокрашивалось эозином по методу Бруга, а при консервации в течение 5 мес. почти все клетки были мертвы. Тем не менее, в ряде случаев такие трансплантаты приживали, прорастали кровеносными со-

судами, просветлялись и изменялись в сторону роговицы. Это можно объяснить либо замещением погибшего трансплантата регенерирующими тканями хозяина, как это происходит при пересадке фиксированной формалином роговицы (8), либо тем, что трансплантат еще сохранил признаки жизни и, претерпев в процессе консервации очень глубокие, но все же обратимые изменения, после пересадки в окружение живых тканей снова приобрел способность развиваться в соответствии с местом пересадки. Основанием для второго предположения могут служить опыты Браше (1), показавшие, что участки зародышей аксолотля, потерявших способность к развитию в результате температурного шока (нагревание до 36°), после пересадки в нормального зародыша продолжали развиваться типично. Это обусловлено, по мнению автора, диффузией жидкостей из нормальной ткани в поврежденную, что и возвращает ей способность к дальнейшему развитию.

Ответ на поставленный вопрос могли дать только исследования ранних стадий преобразования трансплантата. Поэтому фиксация подопытного материала проводилась через 3—20 дней после операции. Одновременно с пересадкой, на другом глазу тех же животных, а также и на других животных были сделаны сквозные отверстия с целью сравнения процессов преобразования трансплантата и регенерации роговицы. Операции на одном и том же животном имеют некоторые преимущества благодаря существующему строгому параллелизму процессов, происходящих в роговице правого и левого глаза (7). Ограничиваясь в настоящем сообщении лишь краткими выводами, укажем, что консервированная эмбриональная кожа, несмотря на длительность консервации и показания метода Бруга, повидимому, еще сохраняет признаки жизни и может участвовать, наряду с регенерирующими тканями глаза хозяина, в восстановлении участка роговицы, удаленного при операции.

В ы в о д ы. Консервированная при низкой температуре (2—5°) эмбриональная кожа крыс, так же как и свежая, пересаженная на место удаленного участка роговицы, изменяется в сторону роговицы. На основании имеющихся данных пока еще рано говорить о преимуществах пересадки консервированной эмбриональной кожи по сравнению со свежей, но самый факт возможности хранения в течение определенного срока эмбрионального материала без утраты его способности изменяться в сторону роговицы можно считать установленным. Следовательно, консервация эмбриональной ткани не изменяет ее свойств в отношении возможности вступать в морфофизиологические взаимоотношения с другими частями взрослого глаза. На основании полученных данных можно предположить, что консервированный эмбриональный материал может быть использован для восстановительных пересадок не только роговицы, но и других органов по разрабатываемому В. В. Поповым методу, который основан на использовании формативных связей эмбрионального характера, сохраняющихся во взрослом организме.

Институт морфологии животных им. А. Н. Северцова
Академии наук СССР

Поступило
10 VII 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ J. Brachet, C. R., s. b., 143 (1949). ² Brug, Parasitologische Diagnostik des menschlichen Fäzes, 1926. ³ А. Н. Окулова, Хирургия, № 8 (1948); № 4 (1950). ⁴ В. В. Попов, Сборн. научн. раб. лам. акад. Авербаха, 1948. ⁵ В. В. Попов, Т. А. Беднякова и Т. Г. Беляева, Изв. АН СССР, сер. биол., № 3 (1951). ⁶ В. П. Филатов, Оптическая пересадка роговицы и тканевая терапия, 1945. ⁷ Г. К. Хрущов, Роль лейкоцитов крови в восстановительных процессах в тканях, 1945. ⁸ О. И. Шершевская, Пересадка роговицы свежим, консервированным и фиксированным материалом, 1940.