Доклады Академии наук СССР
1955. Том 100, № 6

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Т. А. БЕДНЯКОВА

ИЗМЕНЕНИЯ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ КОЖИ, ПЕРЕСАЖЕННОЙ НА МЕСТО РОГОВИЦЫ ВЗРОСЛЫХ КРОЛИКОВ

(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 23 X 1954)

Недавно предложенный новый метод восстановления роговицы ([3]) основан на представлении о том, что зародышевая кожа при замещении ею роговицы взрослых животных в новых условиях существования преобразуется в роговицу. Однако при изучении состояния пересаженной на место роговицы зародышевой кожи у крыс до заполнения раны регенерирующими тканями глаза хозяина не было обнаружено перестройки трансплантата в роговицу. Трансплантаты либо сразу отпадали, либо резорбировались, либо на их месте образовывались атипичные структуры. Только в немногих случаях (около 3%) происходило приживление трансплантатов, но они развивались не как роговица, а как кожа ([2]). Анализ судьбы пересаженной кожи у крыс затруднен вследствие быстроты врастания в рану регенерирующих тканей роговицы хозяина. Поэтому необходимо было повторить эти опыты на других животных. Настоящее исследование проведено на кроликах. Задачей работы были не только повторение прежних опытов на другом объекте, но и испытание разных способов пересадки.

С целью приближения к условиям клинической практики зародышевая кожа пересаживалась в бельмо и, для сравнения, в нормальную роговицу. Известно ([5], [6]), что нарушение целостности десцеметова эндотелия приводит к нарушению обменных процессов в роговичной ткани и пропитыванию ее влагой передней камеры, вследствие чего наступает помутнение роговицы. С целью сохранения десцеметовой оболочки и десцеметова эндотелия были сделаны попытки приживления эмбриональной кожи в несквозные раны роговицы с различными способами укрепления трансплантата на ложе. Пересаживалась свежая кожа зародышей и консервированная в разных средах при температуре +2°, +4°. Так как существенных отличий в результатах пересадки свежей и консервированной кожи не было, то в данной работе материал тех и других пересадок объединен.

Освоение техники операций на кроликах и первые опыты пересадки зародышевой кожи были выполнены в 1951 г. в Украинском экспериментальном институте глазных болезней им. В. П. Филатова (см. табл. 1) Методика операций отличалась от применяемой при роговичных пересадках у кроликов ([6]) только тем, что вместо роговичного диска пересаживался диск зародышевой кожи разных возрастов — от 16 до 23 дней. Бельма вызывались ожогом 20% серной кислотой ([5]). Зародышевая кожа пересаживалась через 5—6 мес. после нанесения ожога. С целью определения функционального состояния ткани часть трансплантатов до операции и оперированные роговицы с трансплантатом, взятые от только что убитых животных в первые 9 дней после операции, окрашивались нейтральным красным. Окраска производилась в течение 1—1,5 час. в

термостате при +37° в 0,025% растворе красителя, приготовленного на растворе Рингера для млекопитающих, с последующей отмывкой в чистом растворе Рингера ([1], [5], [6]). Подопытные роговицы фиксировались в разные сроки после операции — от 1 суток до 10,5 мес. Бо́льшая часть их была зафиксирована в первые 9 дней после операции. Всего было сделано 154 пересадки и 25 контрольных опытов по регенерации несквозных ран роговицы.

Кролики оказались значительно более удобным объектом, чем крысы. Даже при резорбции трансплантатов, сопровождавшейся сильным воспалительным процессом, оперированные глаза у кроликов сохраняли типичный размер и строение. Пересадка эмбриональной кожи в несквозные раны роговицы привела к отрицательным результатам. Несмотря на кажущуюся в ряде случаев при прижизненном наблюдении сохранность и просветление пересаженной кожи, на гистологических препаратах роговиц, зафиксированных в ближайшие дни после операции, трансплантаты, как правило, отсутствуют. Только иногда можно обнаружить остатки распадающейся ткани. Впечатление сохранности трансплантатов создает, повидимому, покрывающий ложе деформированный эпителий с большим количеством жемчужин и сильно вакуолизированными поверхностными слоями. Ложе с таким эпителием при макроскопическом наблюдении кажется покрытым тонкой, постепенно просветляющейся пленкой, с как бы «истыканной» поверхностью, что создает полную иллюзию сохранившегося трансплантата с зачатками волос. При пересадках молодой кожи (16—19-дневных эмбрионов) легко не заметить отпадение или отторжение тонкого трансплантата и принять описанную картину за сохранившийся трансплантат. Пересадки кожи более позднего возраста (21—23 дня) показали, что такая «пленка» остается после заведомого отпадения трансплантата. Повидимому, Н. И. Лазарев ([4]), впервые пересадивший эмбриональную кожу на поскобленную роговицу кролика, принял такой эпителий за просветляющийся трансплантат.

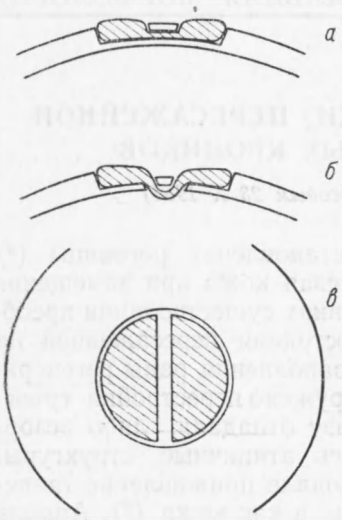


Рис. 1. Схема пересадки эмбриональной кожи под «мостик»: *а* — несквозной, *б* — сквозной, *в* — вид сверху, трансплантат заштрихован

Были применены различные способы укрепления трансплантатов. 1) Прокол в дне ложа с целью приклеивания трансплантата вытекшей из передней камеры жидкостью, богатой фибрином. 2) Пришивание трансплантата к краям ложа. 3) Закрывание его третьим веком, край которого пришивался к отпрепарированной конъюнктиве противоположного угла глаза (этот опыт был сделан также и с целью предотвращения подсыхания трансплантатов). 4) Укрепление трансплантата при помощи несквозного «мостика», отпрепарированного в дне ложа из коллагеновых пучков, оставленного тонкого слоя стромы над десцеметовой оболочкой (рис. 1 *а*) или 5) — сквозного «мостика», образованного двумя параллельными сквозными разрезами дна ложа (рис. 1 *б*). Ни один из перечисленных способов, кроме последнего, не предотвратил резорбции и отторжения трансплантата. При последнем способе часть трансплантатов приживалась и развивалась так же, как в сквозных отверстиях. Распад и отторжение трансплантатов сопровождались раздражением глаза; после отторжения глаз успокаивался, и ложе постепенно становилось все более и более прозрачным. Несквозные раны роговицы кроликов заживают с восстановлением прозрачности.

Результаты частичных сквозных пересадок зародышевой кожи у кроликов в нормальную роговицу и в бельмо подтвердили выводы о судьбе эмбриональной кожи в аналогичных опытах на крысах. Так же как и у крыс, у кроликов не было обнаружено каких-либо признаков перестройки трансплантатов в роговицу. В тех случаях, когда трансплантаты просветлялись, создавая иллюзию преобразования кожи в роговицу, на гистологических препаратах было обнаружено, что прозрачность их обусловлена наличием больших полостей в строме трансплантата. Иногда почти прозрачными выглядели даже такие раны, которые были заполнены фибриновым сгустком, покрытым регенерирующим эпителием. В конечном итоге на месте пересадки всегда образовывалось бельмо большей или меньшей плотности.

Так же как и у крыс, у кроликов в первые 10 дней после операции трансплантаты либо сразу отпадают, либо резорбируются, либо развиваются как кожа. У них также обнаружены участки плотного коллагена, в котором заключены фибробласты, лейкоциты, пигмент и кровеносные сосуды. У кроликов отмирание трансплантатов происходит медленно, и у них дольше, чем у крыс, можно отличить ткань трансплантата от регенерирующих тканей глаза хозяина.

В дополнение к гистологическому исследованию трансплантатов подопытные роговицы, так же как и трансплантаты до операции, окрашивались нейтральным красным. По отмешиванию гранул в цитоплазме клеток, или ее диффузному окрашиванию, можно было определить, жива ткань или нет. В трансплантатах как из живой, так и из консервированной кожи, исследованных до операции, всегда отмешивались гранулы красителя, следовательно, всегда пересаживалась живая кожа. При окраске перед фиксацией пересаженной кожи вместе с окружающей ее роговицей было обнаружено, что гранулы отмешиваются только в тех трансплантатах, которые сохраняли кожный характер. В остальных — одни участки трансплантата окрашивались диффузно, в других — отмешивались гранулы. По количеству диффузно-окрашенных клеток можно было судить о степени распада трансплантата. Полученные данные сведены в табл. 1.

Процент прижившихся и развивающихся как кожа трансплантатов у кроликов, в особенности при пересадках в бельмо, значительно выше, чем у крыс. Развиться в кожу могут трансплантаты любого возраста. Самая молодая кожа, которую технически еще можно пересадить, была взята от 16-дневного эмбриона. И в этом случае трансплантат, пересаженный в бельмо, развился в кожу и покрылся волосами.

Трансплантаты, развившиеся в кожу, обычно краснеют до того, как начинает слущиваться эпидермис и появляются волосы. В них врастают кровеносные сосуды, кровяные клетки заполняют полости и межклеточные пространства. В таких трансплантатах обнаружено новообразование сосудов и кроветворение. Исследователи, занимавшиеся пересадкой конечностей головастиков, обычно отмечали, что вскоре после трансплантации конечность наполняется кровью. Гиперемию обычно связывают с новообразованием сосудов ([7]).

Развившиеся в кожу трансплантаты впоследствии отторгаются и замещаются регенерирующей роговицей хозяина. Максимальный прослеженный срок существования такого трансплантата — 50 дней. После его отторжения, сопровождавшегося бурным воспалительным процессом, на его месте образовалось плотное стойкое бельмо (прослежено 8 мес.). У крыс отторжение подобных трансплантатов происходит быстро и незаметно, и они замещаются более прозрачной роговицей, что и привело раньше ([3]) к ошибочному выводу о возможности преобразования и этих трансплантатов в роговицу.

Таким образом, представления о перестройке зародышевой кожи в роговицу под формативным влиянием глаза взрослого животного ([3]),

Таблица 1

Сводка результатов операций

Тип операции	Число операций	Возраст зародыша-донора в днях	Состояние трансплантатов, пересаженных в бельмо							Состояние трансплантатов, пересаженных в нормальную роговицу						
			число операций	отпали или резорбировались		отмирают		развиваются как кожа		число операций	отпали или резорбировались		отмирают		развиваются как кожа	
				число	%	число	%	число	%		число	%	число	%	число	%
Частичная сквозная пересадка	48	16—19	6	5	83,3	—	—	1	16,7	—	—	—	—	—	—	—
		21—23	14	4	28,6	4	28,7	6	42,8	28	6	21,4	16	57,2	6	21,4
Послойная пересадка со сквозным мостом	15	21—23	4	2	50,0	—	—	2	50,0	11	4	36,4	3	27,2	4	36,4
Другие способы послойной пересадки	91	16—23	14	14	100	—	—	—	—	77	77	100	—	—	—	—
Всего	154	—	38	—	—	—	—	—	—	116	—	—	—	—	—	—
Опыты, проведенные в Украинском экспериментальном институте глазных болезней им. В. П. Филатова (Одесса)																
Частичная сквозная пересадка	13	23—25	—	—	—	—	—	—	—	10	6	60,0	1	10,0	3	30,0
Послойная пересадка	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3	100	—	—	—	—

не нашли подтверждения ни в опытах на крысах, ни в опытах на кроликах.

Прижившиеся трансплантаты развиваются только как кожа, причем в опытах, приближающихся к условиям клинической практики, т. е. при пересадке эмбриональной кожи в бельмо, развитие в кожу происходит не как исключение, а как правило. Трансплантаты, развившиеся в кожу, также резорбируются и замещаются роговицей хозяина, только через более длительный промежуток времени.

Следовательно, в настоящее время нет оснований считать возможным использование эмбриональной кожи в качестве материала для замещения пораженной бельмом роговицы.

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

Поступило
9 IV 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] В. Я. Александров, Бюлл. эксп. биол. и мед., 25, 3 (1948). [2] Т. А. Беднякова, ДАН, 99, № 6 (1954). [3] В. В. Попов, Т. А. Беднякова, Т. Г. Беляева, Изв. АН СССР, сер. биол., № 3 (1951). [4] Д. П. Филатов, Тр. Инст. эксп. морф., 7 (1940). [5] В. П. Филатов, С. Р. Мучник, И. Ф. Ковалев, Офт. журн., № 3 (1951). [6] В. П. Филатов, С. Р. Мучник, И. Ф. Ковалев, Уч. зап. Укр. эксп. инст. глазн. бол. им. В. П. Филатова, 2 (1952). [7] Т. М. Яковлева, Биол. журн., 7, № 3 (1938).