

УДК 611.844.7

СТРУКТУРА СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА*Г.В. Рева¹, И.В. Рева², Т. Ямамото²*¹ Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр. Острякова, 2);² Университет Ниигаты (8050 Ikarashi 2-no-cho, Nichi-ku, Niigata ZIP 950-2181, Japan).*Ключевые слова: стекловидное тело, витреальный остов, гиалоциты.*

Изучен аутопсийный и операционный материал, полученный от 156 эмбрионов и людей в возрасте от 4 недель внутриутробного развития до 85 лет. С помощью иммуногистохимических методов установлено, что стекловидное тело глаза человека представлено особым видом оформленной волокнистой соединительной ткани. Клеточный компонент включает различные по происхождению и функциональным особенностям диффероны. Межклеточное вещество имеет аргирофильный, своеобразно организованный фибриллярный остов, погруженный в основное вещество, гелеобразное состояние которого обеспечено высокой концентрацией растворенного коллагена и гиалуроновой кислоты.

Вследствие особенностей структурной организации стекловидного тела (СТ) многие вопросы, касающиеся его строения и функций, вызывают противоречивые оценки [1]. Многочисленные исследования оставили здесь нерешенными ряд вопросов, в частности, по продукции витреальных волокон, наличию гиалоцитов в витреуме, что затрудняет лечение таких заболеваний, как глаукома, диабетическая витреопатия и многих других.

Целью нашей работы явилось исследование структуры стекловидного тела глаза человека.

Материал и методы. Использовался материал, полученный при медицинских абортах, судебно-медицинских вскрытиях людей, погибших от травм, а также материал, полученный при оперативных вмешательствах по поводу посттравматической энуклеации глаз. Возраст эмбрионов и пациентов колебался от 4-й недели внутриутробной жизни до 85 лет, общее количество наблюдений – 156 в 13 возрастных группах согласно возрастной периодизации ВОЗ (2008). В каждой возрастной группе изучено по 12 глаз.

Исследования проводили с помощью классического окрашивания гематоксилином и эозином, импрегнации серебром по Кахалю, а также стандартного метода иммунной гистохимии с применением кластеров дифференцировки (Cluster of Differentiation – CD) – CD68, CD163 и CD204 для выявления макрофагов, антигенпредставляющих клеток и мастоцитов. Идентификация иммунокомпетентных клеток проводилась по одинаковой схеме, несмотря на различную локализацию антигена в клеточных структурах: мембраны, лизосомы, комплекс Гольджи.

С целью определения фенотипа иммунокомпетентных клеток методом иммунной гистохимии биоптаты фиксировали в 10% формалине на фосфатном

буфере с pH 6,8–7,2 в течение 24 часов, затем промывали в проточной воде в течение 2 часов и обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации в течение 1 часа в каждой порции. В спирте 96° выдерживали в течение 1, 2, 1 и 4 часов, а затем помещали в абсолютный спирт 5 раз по 30 мин и оставляли в последней порции на ночь. После этого материал погружали в смесь абсолютного спирта и ксилола в соотношении 1:1 на 30 мин, а затем проводили в трех сменах ксилола в термостате при 37°C, по 30 мин в каждой. После этого использовали смесь ксилола с парафином (1:1) при 56°C по 20 мин в двух порциях, а затем в двух порциях парафина при 56°C (по 1 часу в каждой). Проводили заливку. Парафиновые блоки выдерживали в течение суток в термостате при температуре 37°C, а затем готовили срезы. Срезы и вся дальнейшая обработка материала (депарафинирование и обезвоживание) выполнялись на автоматизированной аппаратуре лаборатории патоморфологии Медицинского университета Ниигата (Япония), дающей высокую чувствительность к маркировке, системе En Vision.

С помощью моноклональных антител (клон KP1, код № M 0814, лот 119) выявляли макрофаги по маркеру CD68 (высокогликозилированный трансмембранный гликопротеин, который локализуется в лизосомах). Молекулярный клон CD68 показал, что семейство лизосомальных гликопротеинов с плазматическими мембранными белками играют роль в лизосомальном трафике и эндоцитозе, включая лизосомальные ассоциации мембранных протеинов 1 и 2 (LAMP-1 и LAMP-2). Для маркировки CD163 использовали клон 10 D6, класс иммуноглобулинов G₁; CD204 – мышинные моноклональные антитела, клон SRA-E5, класс иммуноглобулинов G₁. Демаскировка антигенных детерминант проводилась в стеклянном контейнере, заполненном восстанавливающим раствором, с созданием условий водяной бани в течение 1 часа. Часть препаратов в течение 30 минут была обработана с помощью микроволнового излучения, которое дает лучший демаскировочный эффект. Для демаскировки антигенов использовали 10 ммоль/л цитратный буфер с pH 6,0 или DAKO TRS (Target retrieval solution, code № S1700). Остывшие препараты промывали в дистиллированной воде. Антитела применяли в разведении 1:50 и 1:100.

Результаты исследования. Установлено, что СТ глаза человека проходит следующие стадии развития:

Рева Галина Витальевна – д-р мед. наук, профессор кафедры гистологии ВГМУ; e-mail: RevaGal@yandex.ru

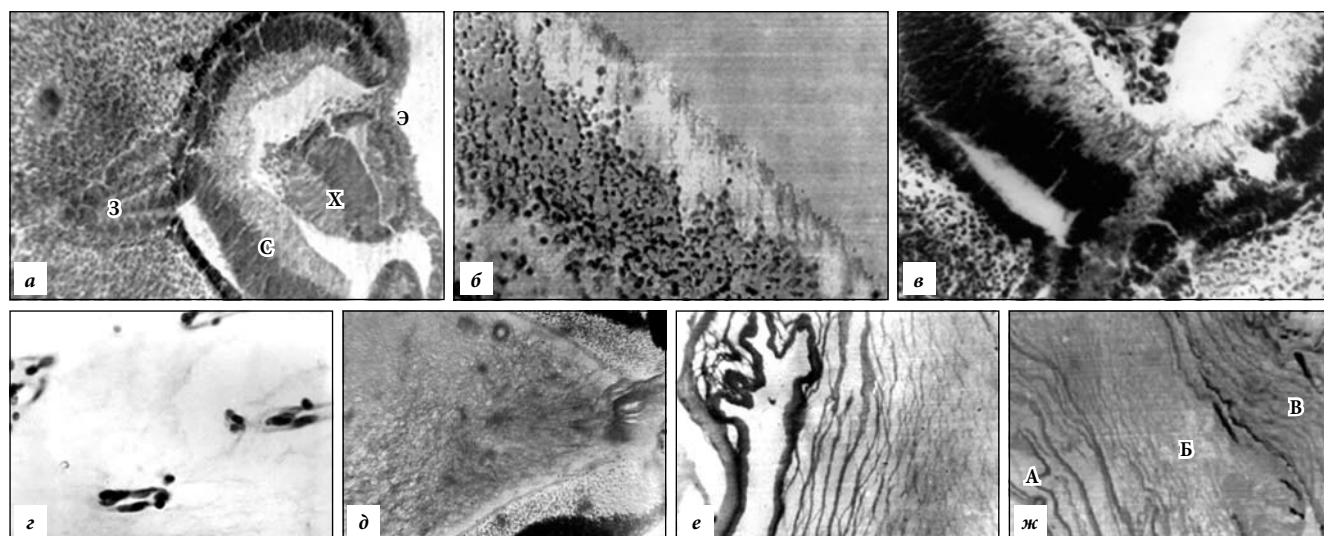


Рис. 1. Стадии развития СТ человека:

а, б – глаз эмбриона человека 6 недель (Э – эктодерма, Х – хрусталик, С – сетчатка, З – зрительный нерв), окр. гематоксилином и эозином, а – $\times 400$, б – $\times 800$; в, г – сосудистое стекловидное тело плода 4 месяцев, импрегнация серебром (в – сагиттальный срез, $\times 400$, г – поперечный срез, $\times 600$); д, е, ж – фибриллярное стекловидное тело глаза (д – плод 14 недель, е, ж – человек 40 лет), импрегнация серебром, $\times 400$ (А, Б, В – типы волокон).

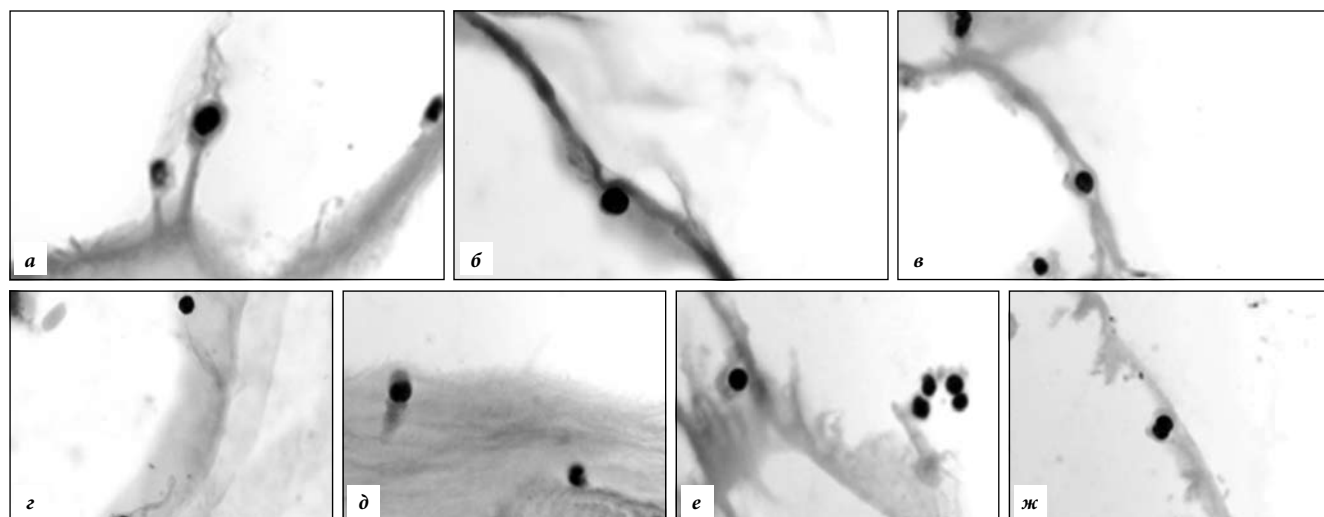


Рис. 2. Клетки СТ глаза человека. Окр. гематоксилином и эозином, $\times 400$ (пояснения в тексте).

1) эмбрионального мезенхимного клеточного (рис. 1, а, б); 2) плодного сосудистого, подвергающегося постепенному апоптозированию и запустеванию к 8-му месяцу плодного периода (рис. 1, в, г); 3) дефинитивного, или окончательного – волокнистого соединительно-тканного (рис. 1, д, е, ж). К моменту рождения витреум практически сформирован, находки эмбриональных сосудов могут быть связаны с отклонениями в развитии [6].

Структурная организация фибриллярного СТ неодинакова в различных его отделах (рис. 1, д–ж). Существуют оптически пустые участки, которые ограничены мембранами толщиной до 20 мкм. Более крупные волокна фибриллярного остова имеют преимущественно продольное направление. Мелкие волокна с поперечником менее 1 мкм располагаются косопродольно, вплетаясь в более крупные. Фибриллы остова и растворенный коллаген наряду

с гиалуроновой кислотой способствуют сохранению гелеобразного состояния и играют роль мягкого скелета витреума. По упорядоченному расположению волокон витреум можно отнести к оформленной волокнистой соединительной ткани. Волокна фибриллярного остова вплетаются в оболочки зрительного нерва в зоне диска, что обеспечивает высокую прочность контакта.

В составе СТ, кроме фибриллярного остова, идентифицируются клетки, расстояния между которыми зависят от их местоположения. Больше всего таких клеток в зоне, граничащей с цилиарным телом, а также на задней поверхности СТ. Гиалоциты варьируют не только по величине и форме, но и взаимоотношениям с волокнистым остовом (рис. 2).

Один тип клеток связан с волокнистым остовом (рис. 2, а), второй как бы спаян с ним (рис. 2, б, в). Третий тип представлен свободнолежащими

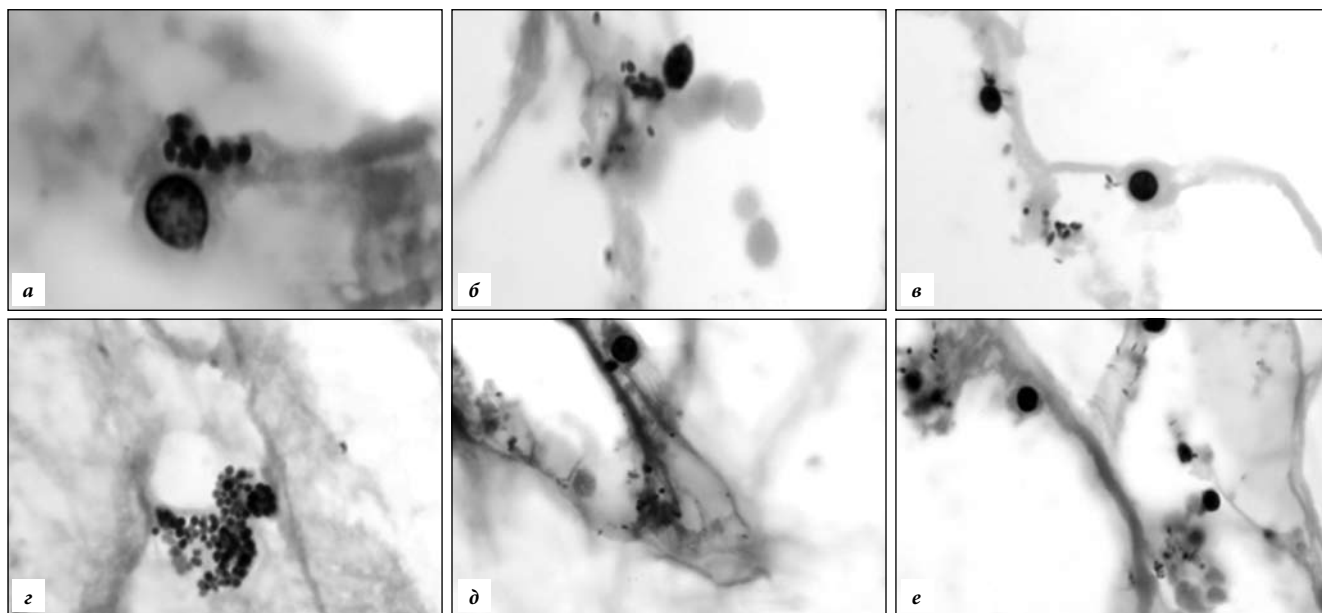


Рис. 3. Клетки СТ глаза человека. Иммунная гистохимия, $\times 400$ (пояснения в тексте).

элементами (рис. 2, д, е). Идентифицируются клетки с палочковидными (рис. 2, б), бобовидными (рис. 2, г, д) и шаровидными ядрами. У большинства клеток имеется одно ядро, реже встречаются двуядерные клетки (рис. 2, д, ж).

Мы выделили два типа клеток: I тип (группы А и Б) и II тип (лейкоциты). По нашим данным, к первому типу относятся клетки, связанные с коллагеновым остовом СТ (группа А) и свободно расположенные в витреуме (группа Б). Клетки группы А имеют веретеновидную форму, которые и контактируют с волокнистым остовом стекловидного тела. Своим строением они напоминают Мюллеровы клетки сетчатки. Клетки группы Б, располагающиеся в витреуме свободно, характеризуются большими размерами, светлой цитоплазмой, базофильным ядром и свободным расположением в матриксе. Эти клетки имеют фестончатые края и внешне напоминают фибробласты и фиброциты рыхлой волокнистой соединительной ткани. Форма клеток либо круглая, либо овальная, цитоплазма переходит в межклеточное вещество без четких границ, цитомембрана не идентифицируется. Ядра диаметром до 8 мкм имеют круглую, овоидную, продолговатую или бобовидную форму.

II тип клеток морфологически соответствует лейкоцитарному пулу. Они легко изменяют форму, образуя многочисленные отростки. В центре стекловидного тела, где больше влаги, эти клетки подвергаются вакуолизации, превращаясь в пузырьчатые. Они преобладают у людей старших возрастных групп. Можно рассматривать пузырьчатые клетки как дегенеративную форму лейкоцитов [4]. Эти клетки лежат свободно между петлями коллагеново-волокнистого остова. С помощью иммунной гистохимии установлено, что в СТ глаза человека присутствуют различные диффероны стволовых клеток крови. Часть из них маркировалась CD163, что свидетельствует об их моноцитарном

происхождении и фагоцитарной функции (рис. 3, а, б). Идентифицировались клетки с маркировкой фибробластов (рис. 3, в), тучные клетки CD204 (рис. 3, г), а также клетки CD 68 (рис. 3, д, е), маркировка которых свидетельствует об антигенпрезентирующей функции и принадлежности к интерстициальным дендритным элементам [2].

Пролиферативная активность клеток изменяется в процессе развития глаза и находится в зависимости от этапа онтогенеза. В эмбриональном и плодном периодах пролиферативная активность клеток СТ достаточно высока, но после рождения она снижается, а затем находится на примерно одном уровне до 45 лет. После 45 лет фигуры митоза в клетках СТ наблюдались очень редко.

Возрастная инволюция СТ сопровождается образованием в нем различной величины полостей. К инволюционным изменениям относится также нитчатая деструкция, проявляющаяся уже после 20 лет и нарастающая после 40 лет.

Обсуждение полученных данных. Нередко утверждается, что дефинитивное стекловидное тело не имеет структуры, которую можно изучать микроскопически. Так, Worst рассматривал витреум в качестве секрета клеток и считал выявляемые волокна артефактом [3]. Предложенные теории строения стекловидного тела (альвеолярная Demours, ламеллярная Zinn и радиально-секторальная Hannover) также не отражают в полной мере данные о структуре витреума. Фибриллярная теория Bowman в большей степени соответствует современным представлениям и полученным нами данным. Расположение, толщина и направление волокон СТ свидетельствуют об их роли не только как поддерживающей структуры, но и об участии в гидродинамике глаза, а также в зрительных функциях.

Вопрос о наличии фибриллярного остова СТ является постоянным предметом обсуждения [5]. Очевидно,

это связано с тем, что изготовление гистологических препаратов СТ представляет серьезные трудности. В своей работе мы столкнулись с проблемами при фиксации материала, когда трехкратно уменьшающийся объем структур глаза может привести к потере прижизненных анатомо-топографических взаимоотношений. В отличие от импрегнации серебром, обычные методы окрашивания показывают гомогенную структуру СТ. Это связано с тем, что коллагеноволокнистый остов имеет тот же показатель преломления, что и основное вещество, в которое они погружены [10]. Данные исследователей, свидетельствующих об отсутствии фибриллярного остова в составе витреума, основано на результатах, которые были получены с помощью забора материала иглами с очень маленьким диаметром. Это могло послужить причиной получения неверного представления о структуре СТ, поскольку в состав вытяжки все элементы остова попросту не могли попасть. Современными биохимическими, биофизическими и гистологическими и электронно-микроскопическими исследованиями установлено, что так называемый остаточный протеин остова СТ является сложным белковым комплексом, в состав которого входит коллаген [8]. Неоднородность остаточного протеина подтверждается исследованиями о содержании в нем гексозаминов, которые составляют, по различным данным, от 0,1 до 3–4% его объема.

Проведенные до сих пор исследования структуры стекловидного тела глаза человека показали отсутствие убедительных морфологических доказательств в пользу присутствия в нем гиалоцитов [7]. Получившие известность гипотезы Meyer, Smites и Gallardo о продукции гиалуриновой кислоты клетками цилиарного тела базировались на данных об отсутствии в СТ клеток [цит. по 12]. Исследования по определению концентрации гиалуриновой кислоты в передней, задней и периферических частях СТ показали, что содержание ее вблизи цилиарного тела составляет лишь половину концентрации, имеющейся в заднем отделе СТ [9]. Оказалось, что при полной утрате витреума его регенерация не происходит, следовательно, эпителий отростков цилиарного тела в процессах регенерации СТ не участвует [15]. Аутоотрансплантация СТ с последующей регенерацией витреума подтверждает функцию витреальных клеток в выработке межклеточного матрикса [5].

Нами установлено, что у человека клетки в СТ локализируются не только в корковом слое, но и во всех зонах. Увеличение витреума во время развития глаза животных сопровождается относительным сокращением числа клеток, которое составляло в среднем 50 на единицу площади [11]. Подобная динамика отмечалась и нами при изучении возрастных особенностей СТ человека.

Мезодермальная концепция происхождения витреума Sholler и Lieberculhn уступила место эктодермальной теории Tornatola, связывающей его образование с сетчаткой. Затем получила распространение концепция Redslop и Gartner, согласно которой

мягкая мозговая оболочка в специфических условиях глаза преобразуется в СТ [цит. по 3].

Внимания заслуживает концепция Balazs, предполагавшего костно-мозговое происхождение ретикулярных клеток СТ, которые в дальнейшем превращающихся в гиалоциты [цит. по 11]. Выявленные в нашей работе витреальные клетки играют важную роль в физиологической и репаративной регенерации СТ, что согласуется с данными других авторов о нейроглиальном и нейромезенхимном происхождении гиалоцитов I типа [10]. Результаты исследования свидетельствуют в пользу продукции остова витреума этими клетками и служат дополнительным подтверждением присутствия в СТ различных клеточных дифферонов.

Таким образом, полученные материалы по локализации и функции гиалоцитов указывают на их важную роль в развитии и функционировании СТ и органа зрения в целом [14]. В условиях иммунной привилегии витреума [13] его резидуальные клетки способны выполнять функции иммунофагоцитоза и антигенпредставления.

Выводы

Стекловидное тело глаза человека образовано особым видом специализированной оформленной соединительной ткани, представленной различными по происхождению и функциям клеточными дифферонами и межклеточным веществом, состоящим из основного гелеобразного вещества, в которое погружены фибриллы правильно организованного коллагеноволокнистого остова.

Возможность культивирования гиалоцитов открывает перспективы более глубокого изучения их гисто- и морфогенеза, а также использования культуральных гиалоцитов для лечения некоторых болезней глаза, что требует, несомненно, дальнейших исследований.

Литература

1. Мулдашев Э.Р., Корнилова Г.Г., Галимова В.У. Осложненная глаукома. СПб.–М.: Нева, 2005. 189 с.
2. Рева Г.В., Филина Н.В., Гапонько О.В. Роль иммунофагоцитарного звена в механизмах развития передней камеры глаза человека // Тихоокеанский медицинский журнал. 2010. № 1. С. 67–72.
3. Bishop P.N. Structural macromolecules and supramolecular organization of the vitreous gel // Prog. Retin eye res. 2000. Vol. 19. P. 323–344.
4. Els S., Gopferich A., Framme C., Heilman J. Hyalocytes in tissue engineering // Adv. exp. Med. Biol. 2006. P. 585.
5. François J., Verbraeken H., Victoria-Troncoso V. Hyalocytes transplantation after pars plana vitrectomy // J. Fr. Ophthalmol. 2009. No. 8. P. 459–461.
6. Hata Y., Sassa Y., Kita T. et al. Vascular endothelial growth factor expression by hyalocytes and its regulation by glucocorticoid // Br. J. Ophthalmol. 2008. Vol. 11, No. 92. P. 1540–1544.
7. Joshihiro N., Yasuaki H., Toshio H. et al. Functional Properties of hyalocytes under PDGF-Rinl conditions // Invest. Ophthalmol. 2004. Vol. 45. P. 2107–2114.
8. Kita T., Hata Y., Miura M. et al. Functional characteristics of connective tissue growth factor on vitreoretinal cells // Diabetes. 2007. Vol. 5, No. 5. P. 1421–1428.
9. Lei K., Wang N., Wang L., Wang B. Morphological changes of

- the anterior segment after laser peripheral iridotomy in primary angle closure // *Eye*. 2007. Vol. 23. P. 345–350.
10. Los L.I. The rabbit as an animal model for post-natal vitreous matrix differentiation and degeneration // *Eye*. 2008. Vol. 7, No. 22. P. 1223–1232.
11. Qiao H., Hisatomi T., Sonoda K.N. et al. The characterisation of hyalocytes the origin, phenotype and turnover // *Br. J. Ophthalmol.* 2005. Vol. 89. P. 513–517.
12. Rittig M., Flügel C., Prehm P., Lütjen-Drecoll E. Hyaluronan synthase immunoreactivity in the anterior segment of the primate eye // *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1993. Vol. 6. P. 313–317.
13. Taylor A.W. Ocular immune privilege // *Eye*. 2009. Vol. 1. P. 1038–1040.
14. Uehara M., Yamagawa T., Kitagawa H. Morphological studies of the hyalocytes in the chicken eye: scanning electron microscopy and inflammatory response after the intravitreal injection of carbon particles // *J. Anatomy*. 1996. Vol. 188. P. 661–669.
15. Zhu M., Provis J.M., Penfold P.L. The human hyaloid system: cellular phenotypes and inter-relationships // *Exp. Eye Res.* 1999. Vol. 68, No. 5. P. 55–63.

Поступила в редакцию 25.10.2010.

THE STRUCTURE OF HUMAN VITREOUS HUMOUR

G.V. Reva¹, I.V. Reva², T. Yamamoto²

¹ Vladivostok State Medical University (2 Ostryakova Av. Vladivostok 690950 Russia), ² Niigata University (8050 Ikarashi 2-no-cho, Nichi-ku, Niigata ZIP 950-2181 Japan).

Summary – The authors have studied autopsy- and surgery-derived materials from 156 embryos and people aged 4 weeks of intrauterine growth to 85 years. Applying immunohistochemical methods allows to find out that the human vitreous humour is represented by a specific type of shaped fibrous tissue. The cell component is comprised of various by origin and functional capabilities programmed differentiations. The intercellular substance has an argentophilic originally organized fibrillous frame submerged in the primary substance, the gel state of which is obtained due to the high concentration of dissolved collagen and hyaluronic acid.

Key words: vitreous humour, vitreal frame, hyalocytes.

Pacific Medical Journal, 2011, No. 1, p. 65–69.

УДК 616.34-007.272-089.197.6

ПЕРВИЧНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ВМЕШАТЕЛЬСТВА ПРИ ОСТРОЙ КИШЕЧНОЙ НЕПРОХОДИМОСТИ

В.Н. Ищенко¹, А.Ю. Киселев¹, И.И. Матюшкин², Х.К. Чун³

¹ Владивостокский государственный медицинский университет (690095 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2),

² Городская клиническая больница № 4 (690034 г. Владивосток, ул. Воропаева, 5),

³ Отделение колоректальной хирургии Медицинского центра «Самсунг» (Республика Южная Корея, г. Сеул)

Ключевые слова: острая кишечная непроходимость, хирургическое лечение.

Представлен анализ лечения 199 пациентов с острой опухолевой толстокишечной непроходимостью, оперированных по двум различным методикам: с предварительным транспуховым стентированием и без него. По данным авторов, целесообразно выполнение одномоментных радикальных операций с первичным анастомозом через 7–14 дней после купирования явления непроходимости методом транспухового стентирования при соблюдении определенных условий. Предлагается оригинальный алгоритм хирургической тактики.

Вопросы диагностики и лечения обтурационной кишечной непроходимости приобретают все большую актуальность в связи с постоянным увеличением количества больных с данной патологией, высокими цифрами послеоперационных осложнений и летальности. Так, по данным А.С. Ермолова и др. [8], обтурационная непроходимость составляет 80 % всех urgentных состояний с вовлечением толстой кишки. При этом доля послеоперационных осложнений здесь достигает 40 %, а летальность колеблется в пределах 21–44 % [3, 10]. В Приморском крае кишечная непроходимость как осложнение колоректального рака регистрируется в 70,4 % случаев, в то время как по России в среднем этот показатель равняется 59,4 % [7]. Подавляющее большинство пациентов с данной патологией поступает в стационары в среднетяжелом и тяжелом состоянии [9].

Различия в частоте послеоперационных осложнений и уровне летальности зависят от технического оснащения стационаров и подходов к обследованию и хирургическому лечению пациентов с острой толстокишечной непроходимостью. Сегодня в Российской Федерации используется более десятка классификаций обтурационной кишечной непроходимости, однако отсутствует единая общепринятая классификация, которая могла бы стать неотъемлемой частью алгоритма обследования и лечения больных с острой кишечной непроходимостью.

Неоднозначны также и вопросы хирургической тактики. Так, большинство отечественных хирургов использует 2–3-моментные операции. При этом на первом этапе формируется разгрузочная колостома, на втором выполняется резекция опухоли и на третьем – закрытие стомы [2, 5, 6]. В то же время многие зарубежные и отдельные отечественные специалисты являются сторонниками одномоментных резекций с формированием первичного анастомоза при обтурационной непроходимости [1, 4, 11, 13]. Сторонники первичных резекций с анастомозом доказывают преимущества выбранной тактики на большом клиническом материале, демонстрируя минимальные показатели послеоперационных осложнений и летальности [12]. Естественно, что первичная резекция с