

УДК 611.841.1:617.711-053

DOI: 10.34215/1609-1175-2020-3-57-61

## Возрастные особенности организации микроциркуляторного русла бульбарной конъюнктивы

В.М. Черток<sup>1</sup>, В.А. Невзорова<sup>1</sup>, А.К. Савченко<sup>1</sup>, О.В. Мирошниченко<sup>2</sup>, А.В. Ларюшкина<sup>1</sup><sup>1</sup> Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия;<sup>2</sup> Медицинский центр Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Россия

**Цель:** анализ возрастных изменений микроциркуляторного русла (МЦР) бульбарной конъюнктивы. **Материал и методы.** Обследовали 46 лиц обоего пола, разделенных с учетом рекомендаций ВОЗ на пять возрастных групп. Биомикроскопию бульбарной конъюнктивы проводили на немидриатической ретинальной камере TOPCON TRC-NW8F (Япония), полученные снимки обрабатывали на измерительном комплексе автоматизированной системы анализа изображений ImageScope (Leica, Германия). **Результаты.** Средний диаметр артериол, артериоло-венулярный коэффициент (АВК) и удельная плотность капилляров были наибольшими, а диаметр венул – наименьшим у испытуемых 18–44 лет. Наиболее чувствительными индикаторами состояния МЦР оказались АВК и удельная плотность капилляров, значения которых в группе 45–59-летних были на 10–11 % ниже, чем у лиц 18–24 и 25–44 лет. Различия по другим показателям между людьми 18–24 и 45–59 лет оказались несущественными. Между группами 60–74- и 75–86-летних участников исследования выраженные различия (около 18%) обнаружены лишь по удельной плотности капилляров: по сравнению с 18–24- и 45–59-летними данный показатель сокращался почти в 1,5 раза, АВК – только на треть, а изменения среднего диаметра артериол и венул не превышали 9–12 %. У людей пожилого возраста чаще регистрировались спазм артериол, неравномерность их калибра, аваскулярные поля и другие нарушения структуры МЦР. **Заключение.** По мере старения организма в МЦР бульбарной конъюнктивы увеличивается число атипичных сосудистых образований, сокращается диаметр артериол, уменьшаются АВК и удельная плотность капилляров, увеличивается диаметр венул.

**Ключевые слова:** глаз, биомикроскопия бульбарной конъюнктивы, микроциркуляция, артериолы, венулы, возраст

Поступила в редакцию 02.06.2020 г. Принята к печати 22.06.2020 г.

**Для цитирования:** Черток В.М., Невзорова В.А., Савченко А.К., Мирошниченко О.В., Ларюшкина А.В. Возрастные особенности организации микроциркуляторного русла бульбарной конъюнктивы. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2020;3:57–61. doi: 10.34215/1609-1175-2020-3-57-61

**Для корреспонденции:** Черток Виктор Михайлович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека ТГМУ (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), ORCID: 0000-0002-1107-4561; e-mail: chertokv@mail.ru

## Age-related features of the organization of the microcirculatory bed of the bulbar conjunctiva

V.M. Chertok<sup>1</sup>, V.A. Nevzorova<sup>1</sup>, A.K. Savchenko<sup>1</sup>, O.V. Miroshnichenko<sup>2</sup>, A.V. Laryushkina<sup>1</sup><sup>1</sup> Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia; <sup>2</sup> Medical Center of the Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

**Objective:** Analysis of age-related changes of microcirculatory bed of bulbar conjunctiva. **Methods:** 46 individuals of both sexes, divided into 5 age groups according to WHO recommendations, were examined. Biomicroscopy of bulbar conjunctiva was performed using a non-mydratic retinal camera TOPCON TRC-NW8F (Japan); the obtained images were processed with a measuring device of automated analysis system ImageScope (Leica, Germany). **Results:** The average diameter of arterioles, arteriole-to-venule ratio (AVR) and specific density of capillaries were the largest, and the diameter of venules was the smallest among the subjects aged 18–44 years. The most sensitive indicators of the state of microcirculatory bed were AVR and the specific density of capillaries, the values of which in the group of 45–59-year-olds were 10–11 % lower than in people aged 18–24 and 25–44 years. Differences in other indicators between people aged 18–24 and 45–59 years were not significant. Between the groups of 60–74 and 75–86-year-old participants of the study, pronounced differences (about 18 %) were found only in the specific density of capillaries: compared with 18–24 and 45–59-year-olds, this indicator decreased by almost 1.5 times, AVR – only by a third, and changes in the average diameter of arterioles and venules did not exceed 9–12 %. Elderly people more often demonstrated arteriolar spasm, their uneven caliber, avascular fields and other disorders of the structure of the microcirculatory bed. **Conclusions:** As the body ages, in the microcirculatory bed of the bulbar conjunctiva, the number of atypical vascular formations increases, the diameter of the arterioles decreases, the AVR and the specific density of capillaries decrease, the diameter of the venules increases.

**Keywords:** eye, biomicroscopy of bulbar conjunctiva, microcirculation, arterioles, venules, age

Received: 2 June 2020; Accepted: 22 June 2020

**For citation:** Chertok VM, Nevzorova VA, Savchenko AK, Miroshnichenko OV, Laryushkina AV. Age-related features of the organization of the microcirculatory bed of the bulbar conjunctiva. *Pacific Medical Journal*. 2020;3:57–61. doi: 10.34215/1609-1175-2020-3-57-61

**Corresponding author:** Victor M. Chertok, MD, PhD, professor, head of the Department of Human Anatomy, Pacific State Medical University (2, Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-1107-4561; e-mail: chertokv@mail.ru

Старение – неизбежный биологический процесс, который сопровождается увеличением вероятности развития патологических изменений в организме. Значительная часть болезней в преклонном возрасте проявляется различными нарушениями в сосудистой системе, в частности, в ее терминальном звене – микроциркуляторном русле (МЦР) [1, 2]. Микроциркуляторные нарушения при старении усиливают его клинические проявления и снижают качество жизни человека [1, 3].

МЦР органоспецифично, адаптировано к тканевой организации и функции органов. Тем не менее многочисленные клинические и экспериментальные исследования свидетельствуют об однотипной реакции микрососудов различной локализации, в связи с чем изучение региональных особенностей МЦР позволяет судить о состоянии микроциркуляции как целостной системы [3–5]. В этом отношении перспективными считаются методы прижизненного исследования бульбарной конъюнктивы, на основании которых можно получить объективное представление о состоянии микроциркуляторной системы всего организма [2, 3]. Биомикроскопия конъюнктивы глазного яблока – один из немногих простых и надежных прямых методов, позволяющих в режиме онлайн-программы идентифицировать все виды сосудов МЦР, определять их размеры, взаимное расположение, изучать гемодинамику и реологию, барьерные и транспортные функции капилляров в норме и патологии [1–3, 6]. Несмотря на большое количество исследований, выполненных этим методом, данные о возрастных преобразованиях МЦР в данной области ограничиваются единичными попутными и противоречивыми сообщениями.

Цель исследования – анализ возрастных изменений МЦР бульбарной конъюнктивы.

#### Материал и методы

В работе использованы материалы, полученные от 46 людей обоего пола, которые с учетом рекомендаций ВОЗ, были распределены в пять возрастных групп: 1 – 18–24 года (6 человек), 2 – 25–44 года (12 человек), 3 – 45–59 лет (8 человек), 4 – 60–74 года (11 человек), 5 – 75–86 лет (9 человек). МЦР изучали методом биомикроскопии бульбарной конъюнктивы на немидриатической ретинальной камере TOPCON TRC-NW8F (Япония) при увеличении от 12 до 96 раз. Анализ полученных снимков проводился на измерительном комплексе автоматизированной системы анализа изображений ImageScore (Leica, Германия). В каждой группе испытуемых вычисляли средний диаметр артериол и венул, соотношение их диаметров – артериоло-венулярный коэффициент (АВК), удельную плотность капилляров (кол-во на 1 мм<sup>2</sup> поверхности бульбарной конъюнктивы). При изучении архитектоники МЦР учитывали также наличие деформированных сосудов,

аваскулярных полей, внутрисосудистой агрегации эритроцитов.

До включения в работу от всех участников исследования было получено письменное информированное согласие, после чего они были обследованы врачом-терапевтом и окулистом. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом при ТГМУ (протокол № 9 от 29.05.2020 г.). Критерии исключения: 1) сосудистые заболевания (гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, инсульты и инфаркты миокарда); 2) курение и алкоголизм; 3) эндокринные заболевания; 4) воспалительные заболевания глаз (острые и хронические в период обострения); 5) использование глазных капель, контактных линз, назальных сосудосуживающих спреев; 6) у женщин детородного возраста менструальный период, беременность, лактация.

Исследование проведено в соответствии с «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (приказ Минздрава РФ от 01.04.2016 г. № 200н) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта, в том числе исследований биологических материалов» в ее пересмотренном варианте 2013 г., стандартами CONSORT и GCP.

Статистический анализ выполнен с помощью программы Statistica 10 (StatSoft, США). Данные количественных исследований представляли в виде среднего значения (М) и стандартной ошибки среднего (m), полученных при изучении каждой группы испытуемых. Для оценки значимости цифровых показателей применяли t-критерий Стьюдента.

#### Результаты исследования

Кровоснабжение переднего отдела бульбарной конъюнктивы осуществляется глазничной артерией – крупной ветвью внутренней сонной артерии. Конъюнктивная артерия и глазного яблока обеспечивается кровью из двух источников: артериальных дуг верхнего и нижнего века и передних ресничных артерий. Передние и анастомозирующие с ними задние ветви конъюнктивальных сосудов образуют относительно густой поверхностный (субэпителиальный) слой МЦР конъюнктивы глазного яблока. Наиболее плотная микроциркуляторная сеть выявляется в области лимба, где условно можно выделить два своеобразно устроенных участка: параллельно идущие и неанастомозирующие между собой артериолы и венулы, радиально расположенные по отношению к лимбу (рис., а–в). К ним примыкает промежуточная зона, в которой часто формируются артериоло-венулярные анастомозы. В обеих зонах между прекапиллярными артериолами и посткапиллярными венулами образуется капиллярная сеть. Наибольшее количество капилляров определяется в области нижней переходной складки.

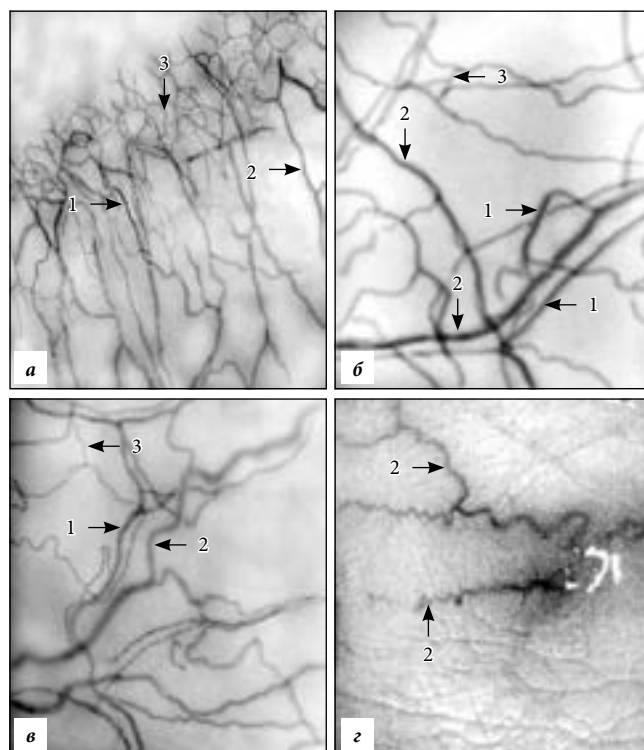


Рис. Микроциркуляторное русло бульбарной конъюнктивы человека в области лимба:

а, б – 36 лет, в – 62 года, г – 76 лет; 1 – артериола, 2 – венула, 3 – капилляр. Биомикроскопия, а –  $\times 12$ , б, в –  $\times 32$ , г –  $\times 96$  (пояснения в тексте).

Для идентификации сосудов бульбарной конъюнктивы использовались следующие критерии: диаметр сосудов, их конфигурация, углы ветвления, направление и скорость кровотока. Артериолы менее извиты, чем венулы, и подходят к крупному сосуду под более острым углом. Важным отличительным признаком капилляров считается однорядное расположение эритроцитов в просвете сосуда, что хорошо видно при биомикроскопическом исследовании. Диаметр капилляров колеблется в пределах 6–9 мкм.

Как показали измерения, в первых трех группах более молодых испытуемых средний диаметр артериол, АВК и удельная плотность капилляров выше, а диаметр венул – ниже, чем у людей старших возрастных групп. При этом наиболее чувствительными индикаторами состояния МЦР оказались АВК и удельная плотность капилляров, значения которых в 3-й группе были на 10–11 % ниже, чем у лиц 1-й и 2-й групп, тогда как

различия средних диаметров сосудов между участниками 1-й и 3-й групп были незначительны. Между 4-й и 5-й группами выраженные различия (около 18 %) зарегистрированы лишь по удельной плотности капилляров. Однако по сравнению с группами испытуемых младше 50 лет значения данного показателя сокращались почти в 1,5 раза, АВК – только на треть, тогда как изменения среднего диаметра артериол и венул между этими группами, как правило, не превышали 9–12 % (табл.).

У лиц старше 60 лет чаще, чем в более молодом возрасте, определялись спазм артериол, неравномерность их калибра, увеличение количества функционирующих анастомозов, нарушения параллельности расположения микрососудов, наличие аваскулярных полей (рис., в). Наблюдалась характерная извитость венул («симптом пилы»), по ходу которых формировались локальные ампулообразные расширения (рис., г). У представителей 4-й и 5-й групп нередко отмечались выраженная мелко- и крупнозернистая агрегация эритроцитов в капиллярах и венулах и замедление кровотока вплоть до его остановки. В перилимбальной зоне часто встречались микрогеморрагии и зоны ишемии, образующиеся вследствие облитерации некоторых капилляров.

#### Обсуждение полученных данных

По анатомическому строению МЦР бульбарной конъюнктивы можно отнести к сетевому типу, к характерным особенностям которого причисляют наличие замкнутых кольцевидных структур из артериол, сообщающихся с венулярными образованиями через ветвления капилляров, и короткие артериоловенулярные анастомозы. Вследствие этих особенностей организации система микроциркуляции бульбоконъюнктивы быстро реагирует на различные воздействия, в том числе – на метаболические нарушения, возникающие в организме [1–3]. Потому структурные и гемодинамические изменения МЦР бульбарной конъюнктивы у людей пожилого и старческого возраста могут быть обнаружены раньше многих других проявлений старения организма, что имеет важное превентивное значение.

Как показали наши наблюдения, наиболее ранними признаками возрастных преобразований МЦР бульбарной конъюнктивы становятся сокращение

Таблица

Количественные показатели МЦР бульбарной конъюнктивы у людей разных возрастных групп ( $M \pm m$ )

Показатель	1-я группа (n=6)	2-я группа (n=12)	3-я группа (n=8)	4-я группа (n=11)	5-я группа (n=9)
Диаметр артериол, мкм	20,7 $\pm$ 1,6	19,6 $\pm$ 1,8	18,4 $\pm$ 1,5	16,9 $\pm$ 1,6 <sup>6</sup>	14,4 $\pm$ 1,8 <sup>6</sup>
Диаметр венул, мкм	37,3 $\pm$ 2,5	38,8 $\pm$ 2,5	39,7 $\pm$ 2,8	44,2 $\pm$ 2,7 <sup>6</sup>	47,8 $\pm$ 2,9 <sup>6</sup>
АВК	0,55 $\pm$ 0,05	0,51 $\pm$ 0,04	0,49 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,38 $\pm$ 0,02 <sup>a, 6</sup>	0,31 $\pm$ 0,028 <sup>a, 6</sup>
Плотность капилляров, ед./мм <sup>2</sup>	8,12 $\pm$ 0,63	7,63 $\pm$ 0,51	6,42 $\pm$ 0,32 <sup>a</sup>	4,64 $\pm$ 0,23 <sup>a, 6</sup>	3,85 $\pm$ 0,32 <sup>a, 6</sup>

<sup>a</sup> Разница по сравнению с предыдущей возрастной группой статистически значима ( $p < 0,05$ ).

<sup>6</sup> Разница по сравнению со 2-й возрастной группой статистически значима ( $p < 0,05$ ).

удельной плотности капилляров, соотношения диаметров артериол и венул – АВК, среднего диаметра артериол, локальной деформации венул, появление аваскулярных полей, а также характерной извитости сосудов, которая была обозначена нами как «симптом пилы». Мониторинг динамики данных показателей может стать не только важной составной частью объективного анализа процессов старения организма, но и, как свидетельствуют клинические испытания, способствовать ранней диагностике патологических изменений, служить контролем эффективности профилактических мероприятий [1–3].

Использование неинвазивных методов изучения МЦР бульбарной конъюнктивы особенно перспективно для косвенного мониторинга мозгового кровотока при оценке выраженности возрастных и патологических изменений [4, 5, 7]. Применение лазерной доплеровской флоуметрии для исследования МЦР позволило установить у людей преклонного возраста нарушения нейромышечной сосудистой регуляции, результатом чего становится повышение тонуса артериол, вазоконстрикция, увеличение периферического сопротивления резистивных сосудов и нутритивного кровотока [8].

Старческие изменения в сосудах системы микроциркуляции могут развиваться по нескольким направлениям, но во всех случаях в патофизиологический механизм отмеченных нарушений вовлекаются: дисфункция эндотелия, нарушения в системе оттока крови из венозного русла и проницаемости капилляров, гемореологические сдвиги, что в совокупности приводит к хроническим застойным явлениям, нарастающей гипоксии и ишемии [1, 4, 9]. Дисфункция эндотелия появляется первой по времени среди изменений сосудов, связанных со старением [5, 10]. Она считается результатом снижения биодоступности оксида азота в результате уменьшения его продукции эндотелиальной нитрооксидсинтазой или увеличения его катаболизма после длительного эндотелиального окислительного стресса и воспаления, которые могут быть дополнительно модулированы традиционными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, возникающих при старении [9, 11].

Длительный эндотелиальный окислительный стресс при старении развивается вследствие увеличения синтеза таких внутриклеточных ферментов как NADPH-оксидаза и разобщенная эндотелиальная нитрооксидсинтаза, а также усиления митохондриального дыхания при отсутствии соответствующего повышения антиоксидантной защиты, регулируемой некоторыми факторами транскрипции, в частности, FOXO (forkhead box protein) [11–13]. Но наиболее существенными для старения считаются два механизма: длительный окислительный стресс, провоцируемый увеличением продукции активных форм кислорода (АФК), и повышенная провоспалительная активность. Действуя совместно, они ставят под угрозу биодоступность оксида азота в сосудах.

Генерации АФК могут способствовать многие факторы, хотя главными его продуцентами признаются: NADPH-оксидаза, ксантиноксидаза, дыхательная цепь митохондрий и эндотелиальная нитрооксидсинтаза [12, 13]. Разобщенная эндотелиальная нитрооксидсинтаза при возрастном снижении активности Mn-супероксиддисмутазы приводит к накоплению  $H_2O_2$  и  $O_2$ , еще больше уменьшая биодоступность оксида азота. Впрочем, в качестве основного источника АФК обычно рассматривают митохондрии, которые в результате утечки электронов из митохондриальной электрон-транспортной системы стимулируют процесс старения.

В запуске воспалительного ответа при старении заметная роль принадлежит ядерному транскрипционному фактору  $\kappa B$ , который активируется различными молекулами, высвобождающимися при окислительном стрессе. Его активация индуцирует транскрипцию провоспалительных цитокинов, дополнительно подавляющих функции эндотелия, создавая порочный цикл обратной связи [9, 14]. Кроме того, в сосудистой системе людей преклонного возраста увеличивается количество иммунных и стареющих клеток, также выступающих потенциальными медиаторами провоспалительного эндотелиального фенотипа.

Геномная нестабильность, дисфункция теломер или повреждение ДНК вызывают старение клеток по пути p53/p21, приводя к усилению воспалительной сигнализации в сосудах [15]. Помимо этого, в эндотелии артерий возрастным преобразованиям подвергаются энергетически чувствительные/стрессоустойчивые пути (SIRT-1, AMPK, mTOR), что способствует изменению его модуляции через ключевые процессы – окислительный стресс и факторы транскрипции, связанные с воспалением.

#### Заключение

К наиболее ранним признакам возрастных преобразований МЦР бульбарной конъюнктивы относятся сокращение удельной плотности капилляров, уменьшение АВК и среднего диаметра артериол, а также появление аваскулярных полей, повышенной извитости и локальных деформаций венул. Мониторинг данных показателей может стать не только необходимым звеном анализа процессов старения организма, но и способствовать ранней диагностике различной патологии.

**Конфликт интересов:** авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования:** авторы заявляют о финансировании работы из собственных средств.

#### Информация об участии авторов:

Концепция и дизайн исследования – ВМЧ, ВАН, АВЛ

Сбор и обработка материала – ОВМ, АКС

Статистическая обработка – АВЛ, АКС

Написание текста – ВМЧ

Редактирование – ВМЧ, ВАН

## Литература / References

1. Козлов В.И. *Капилляроскопия в клинической практике*. М.: Практическая медицина, 2015:232 [Kozlov VI. *Capillaroscopy in clinical practice*. Moscow: Prakticheskaya Medicina; 2015:232 (In Russ).]
2. Богоявленская О.В., Ослопов В.Н. Исследование состояния системы микроциркуляции при артериальной гипертензии. *Практическая медицина*. 2010;5(44):116–8. [Bogoyavlenskaya OV, Osloпов VN. Study of the state of the microcirculation system in arterial hypertension. *Practical Medicine*. 2010;5(44):116–8 (In Russ).]
3. Сафонова Т.Н., Луцевич Е.Э., Кинтукхина Н.П. Изменение микроциркуляции бульбарной конъюнктивы при различных заболеваниях. *Вестник офтальмологии*. 2016;132(2):90–5. [Safonova TN, Lutsevich EE, Kintukhina NP. Microcirculatory changes in bulbar conjunctiva in various diseases. *The Russian Annals of Ophthalmology*. 2016;132(2):90–5 (In Russ).]
4. Черток В.М., Черток А.Г. Регуляторный потенциал капилляров мозга. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2016;2:72–81. [Chertok VM, Chertok AG. Regulatory capacity of the brain capillaries. *Pacific Medical Journal*. 2016;2:72–81 (In Russ).]
5. Chertok VM, Kotsyuba AE. Age-associated characteristics of vasomotor regulation of the pia mater arteries in rats. *Bull Exp Biol Med*. 2010;149(3):364–8.
6. Vereshchaka VV. Features of eye microcirculation in healthy people of different ages. *Fiziol Zh*. 2007;53(6):60–6.
7. Kotsyuba AE, Chertok VM, Chertok AG. Age-specific characteristics of CO-mediated reaction of the pial arteries of various diameters in rats. *Bull Exp Biol Med*. 2017;162(5):658–63.
8. Федорович А.А. Функциональное состояние регуляторных механизмов микроциркуляторного кровотока в норме и при артериальной гипертензии по данным лазерной доплеровской флуорометрии. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2010;1:49–60. [Fedorovich AA. The functional state of regulatory mechanisms of the microcirculatory blood flow in normal conditions and in arterial hypertension according to laser Doppler flowmetry. *Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2010;1:49–60 (In Russ).]
9. Кулева Н.В., Федоров Д.А., Красовская И.Е. Значение различных путей генерации оксида азота в кровеносных сосудах млекопитающих при старении. *Цитология*. 2018;60(1):5–13. [Kuleva NV, Fedorov DA, Krasovskaya IE. The role of different ways of nitrite oxide generation in mammalian blood vessels in aging. *Cytology*. 2018;60(1):5–13 (In Russ).]
10. Seal DR, Jablonski RL, Donato AJ. Aging and vascular endothelial function in human. *Clin Sci (London)*. 2011;120:357–75.
11. Donato AJ, Morgan RG, Walker AE, Lesniewski LA. Cellular and molecular biology of aging endothelial cells. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;89(Pt B):122–35.
12. El Assar M, Angulo J, Rodríguez-Mañas L. Oxidative stress and vascular inflammation in aging. *Free Radic Biol Med*. 2013;65:380–401.
13. Lassegue B, Griendling KK. NADPH oxidases: function and pathologies in the vasculature. *Arterioscler Tromb Vasc Biol*. 2010;30:653–61.
14. Wenzel P, Schuhmacher S, Kienhofer J, Muller J, Hortmann M, Octze M, et al. Manganese superoxide dismutase and aldehyde dehydrogenase deficiency increase mitochondrial oxidative stress and aggravate age-dependent vascular dysfunction. *Cardiovasc Res*. 2008;80:280–9.
15. Hong F, Larrea MD, Doughty C, Kwiatkowski DJ, Squillace R, Slingerland JM. mTOR-raptor binds and activates SGK1 to regulate p27 phosphorylation. *Mol Cell*. 2008;30(6):701–11.