

УДК 617.747-08

Исследование структур стекловидного тела с помощью суспензии «Витреоконтраст»

Н.М. Кислицына¹, С.В. Новиков², А.В. Шацких¹, С.В. Колесник¹¹ ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва;² ООО «Научно-экспериментальное производство «Микрохирургия глаза», Москва

РЕФЕРАТ

Цель. Разработать способ препарирования стекловидного тела (СТ) с изолированным контрастированием и выделением структур СТ (каналов, цистерн и их анастомозов).

Материал и методы. Исследование было проведено на 20 трупных донорских глазах. Препарирование СТ осуществляли в несколько этапов. Первоначально ножницами производили разрез склеры в 4 мм от лимба по окружности, оставляя интактным передний отрезок глаза. Затем разрежали склеру между прямыми мышцами, не доходя до проекции желтого пятна и места выхода диска зрительного нерва, формируя лепестки склеры. Сформированные лепестки отсекали, оставляя участок склеры в заднем полюсе глаза диаметром от 10 до 11 мм. При помощи лезвия и анатомического пинцета формировали лепестки сосудистой и сетчатой оболочки и также отсекали их. Производили окрашивание структур стекловидного тела при помощи суспензии «Витреоконтраст». Далее корковые слои СТ разрежали, отсекавшие окрашенные структуры от матрикса СТ, отсекали их и отправляли на гистологическое исследование (световая микроскопия).

Результаты. Для контрастирования структур СТ использовали суспензию «Витреоконтраст», которая обладает вы-

раженной адгезией к структурным элементам СТ, в результате чего стало возможным изолированное контрастирование и последующее выделение каналов, цистерн и их анастомозов. Были определены размеры интравитреальных структур: средний размер ретроцилиарных цистерн составил 10-12 мм, экваториальных – 15-17 мм, лепестковых цистерн – 8-10 мм при длине глаза 21,5-23,5 мм. В ходе препарирования отсекаровали и выделяли предварительно контрастированные с помощью суспензии «Витреоконтраст» лентико-макулярный, оптико-цилиарный канал и ретроцилиарные цистерны. При гистологической и гистохимической окраске этих структур с эффектом метахромазии световая микроскопия подтверждала наличие стенок контрастированных каналов и цистерн.

Выводы. Разработан способ препарирования СТ, заключающийся в максимальном сохранении его структуры за счет сохранения интактным переднего отрезка глаза и участка в заднем полюсе диаметром 10-11 мм, и использованием суспензии «Витреоконтраст», позволяющей изолированно контрастировать все структуры СТ.

Ключевые слова: стекловидное тело, препарирование, контрастирование, каналы, цистерны, кортикальные слои. ■

Офтальмохирургия. – 2013. – № 4. – С. 66-70.

ABSTRACT

Vitreous body structures investigation using the «Vitreokontrast» suspension

N.M. Kislitsyna¹, S.V. Novikov², A.V. Shatskikh¹, S.V. Kolesnik¹¹ The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow;² The Research Experimental Production of Eye Microsurgery Ltd., Moscow

Purpose. To develop a new method of vitreous body (VB) preparation with the isolate contrasting and separation of the VB structures (canals, cisterns, and their anastomosis).

Material and methods. The research was performed in 20 cadaver donor eyes. The preparation of vitreous body was performed as follows. The circle-wise cutting of sclera was carried out in a 4mm distance from the limbus. The anterior segment of the eye was intact. Then we cut sclera between the rectus muscles, forming scleral tabs except the optic nerve disk and macular area (10-11mm in diameter). The tabs were cut off. Then we formed the choroidal and retinal tabs using

the blade and anatomical forceps and cut off them too. We used the Vitreokontrast suspension dyeing for a VB structures contrasting. After it we cut the VB cortex, separated the dyed vitreous body structures, and performed the light microscopy examination.

Results. We developed a new method of vitreous body preparation with the intact anterior segment and the area in the posterior pole (10-11 mm in diameter), equatorially (15-17 mm), in the tab cisterns (8-10 mm) in the 21.5-23.5 mm axial length of the eye. There was not found any integrity or structural disruption, rupture of vitreous during the preparation. The Vitreokontrast

suspension has a high adhesion to the structural elements of vitreous body and allows to separate and to isolate the vitreous body structures (canals, cisterns and their anastomosis). The light microscopy examination showed the presence of canals and cisterns walls. This structures are differ from the vitreous matrix.

Conclusion. The new method of VB preparation with a maximum maintenance of its structures (intact anterior segment

and a site of posterior pole in diameter of 10-11 mm) and the new Vitreocontrast dye allow to contrast all vitreous body structures separately. The analysis of this data will allows to detect the pathological changes of the vitreous, to determine its role in developing of vitreoretinal diseases.

Key words: vitreous body, preparation, contrasting, channels, cisterns, cortex. ■

Ophthalmosurgery.- 2013.- No. 4.- P. 66-70.

На протяжении длительного времени ученых привлекала структурная организация стекловидного тела (СТ) ввиду его необычных физических и оптических свойств. Основываясь на работах анатомов Александрии, таких как Rufus of Ephesus, Гален на рубеже II века впервые описал стекловидное тело и назвал его «aqueous humors» [10].

Согласно данным Duke-Elder, в середине XVIII в. предпринимаются первые попытки описания структуры стекловидного тела, формируются теории его строения. Сам Duke-Elder представлял его как «систему упорядоченных филаментов, окруженных жидкостью» [6].

Помимо ранних наблюдений, которые указывали на водянистый характер его строения, более поздние исследования подтвердили волокнистое строение СТ: Eisner в своих работах описывал «мембраны» СТ [7], Sebag and Balazs – «волокна» [8], Worst – «цистерны» [9].

Однако до настоящего времени представления о строении СТ зачастую ограничиваются его определением как структуры, на 99% состоящей из воды, которая находится в связанном состоянии, или как прозрачный полужидкий гель объемом приблизительно 4 мл и массой 4 г, состоящий из переплетающейся сети молекул гиалуроновой кислоты и нитей коллагена. Вследствие гелеобразного состояния стекловидного тела его изучение затруднено.

Использование различных методик, таких как биомикроскопия с щелевой лампой, гистологические и гистохимические методы исследования, метод ультразвукового В-сканирования, электронная микроскопия и введение в СТ красителей [5, 9], позволило выявить его сложную

структуру, лежащую в основе важных физиологических функций.

Наиболее информативными исследованиями СТ стали работы Worst J. и Махачевой З.А. 1997 г. [3]. Ими впервые были разработаны способы препаровки изолированных глаз по типу «цветка», «окна» и «гамака» с выделением стекловидного тела и последующим контрастированием его структур [4]. В результате проведенных исследований было выявлено, что полностью извлеченное из глаза СТ сохраняет свою форму, что указывает на наличие собственной наружной оболочки или уплотненной краевой зоны, также были обнаружены и описаны три ряда цистерн (кольцо экваториальных, ретроцилиарных и петалиформных цистерн); каналы (лентико-макулярный, оптико-цилиарный канал) и другие структурные элементы СТ. При этом для визуализации интравитреальных структур авторы использовали метод введения в СТ химических красителей «Magic color». Данные исследования значительно расширили представления о строении СТ.

Однако предложенные способы препаровки СТ обладают рядом недостатков [4]: удаление переднего отрезка глаза, включающего рого-

вицу, радужную оболочку, хрусталик, нарушает целостность структур СТ; лепестки склеры, сосудистой и сетчатой оболочки затрудняют визуализацию и оценку анатомо-топографических особенностей строения СТ; при препарировании СТ невозможно изолированно контрастировать, отсепаровать и выделить структуры СТ, так как используемые красители «Magic color» обладают слабой выраженной адгезией к структурным элементам СТ, не удерживаются в полости каналов и цистерн, способны повреждать коллаген интравитреальных структур.

Совместно с ООО «НЭП «Микрохирургия глаза» нами предложен метод контрастирования интравитреальных структур СТ на трупных глазах доноров с использованием ультрадисперсной суспензии «Витрео-контраст» на основе нерастворимой в воде и физиологических жидкостях нейтральной нетоксичной неорганической соли сульфата бария в изотоническом растворе с осмолярностью 300-350 мОсм, размером частиц менее 5 микрон и плотностью 4,4 г/см³. Отличительной особенностью предложенного метода является способность суспензии «Витрео-контраст» за счет высокой механической адгезии, обусловленной раз-

Для корреспонденции:

Кислицына Наталья Михайловна, канд. мед. наук, врач-офтальмолог;
Шацких Анна Викторовна, канд. мед. наук, зав. лабораторией патологической анатомии и гистологии глаза;
Колесник Светлана Валерьевна, канд. мед. наук, мл. научн. сотрудник
ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России
Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, 59а
Тел.: (499) 488-8716, 488-8505. E-mail: info@mntk.ru

Новиков Сергей Викторович, зам. ген. директора по производству
ООО «Научно-экспериментальное производство «Микрохирургия глаза»
Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, 59а
Тел.: (499) 488-8775

мером и удельным весом частиц и интенсивного накопления красителя на более рыхлых структурах, изолированно контрастировать интравитреальные каналы, цистерны и их взаимоотношения [1].

Изолированное контрастирование и выделение интравитреальных структур с последующим их гистологическим и гистохимическим ис-

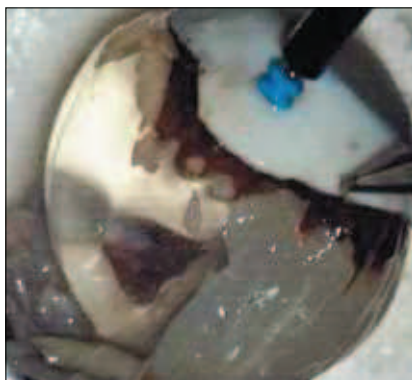


Рис. 1. Препарирование СТ. Формирование и отсечение лепестков сосудистой и сетчатой оболочки (передний и задний полюс интактны)



Рис. 2. Отсепарованный лентико-макулярный канал СТ

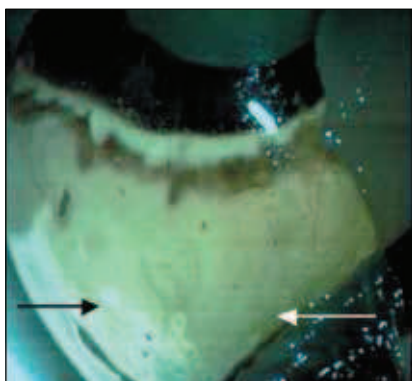


Рис. 3. Расслоение кортикальных слоев СТ (черной стрелкой указан расслоенный участок СТ, белой стрелкой – шероховатая поверхность нерасслоенных кортикальных слоев СТ)

следованием могут изменить представления о механизмах патогенетических процессов в стекловидном теле при ряде заболеваний с последующим изменением терапевтических и хирургических подходов лечения.

ЦЕЛЬ

Разработать способ препарирования СТ с изолированным контрастированием и выделением структур СТ (каналов, цистерн и их анастомозов).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на 20 трупных донорских глазах. Средний возраст доноров составил $36,8 \pm 4,1$ лет. Длина глаза составляла от 21,5 до 23,5 мм.

Препарирование СТ осуществляли в несколько этапов по предложенной оригинальной технологии. Первоначально ножницами производили разрез склеры в 4 мм от лимба по кругу, оставляя интактным передний отрезок глаза (роговицу, радужную оболочку, хрусталик). Затем разрезали склеру между прямыми мышцами, не доходя до проекции желтого пятна и места выхода диска зрительного нерва, формируя лепестки склеры. Сформированные лепестки отсекали, оставляя участок склеры в заднем полюсе глаза, включающий зону проекции макулярной области и зрительного нерва, диаметром от 10 до 11 мм. Далее при по-

мощи лезвия и анатомического пинцета формировали лепестки сосудистой и сетчатой оболочки и также отсекали их (рис. 1).

Следующим этапом производили окрашивание структур стекловидного тела при помощи суспензии сульфата бария. Введение контрастного вещества осуществляли при помощи игл 30G одноразового инсулинового шприца через плоскую часть цилиарного тела в 4 мм от лимба – антеградный путь введения. При этом первоначально окрашивали структуры в ретроцилиарном пространстве верхне-наружного сегмента, далее проводили иглу вглубь до уровня середины хрусталика и окрашивали лентико-макулярный канал. При ретроградном введении через диск зрительного нерва окрашивали оптико-цилиарный канал СТ. Проводили определение анатомо-топографических особенностей строения стекловидного тела – размер, взаиморасположение структур. После окрашивания каналов и цистерн корковые слои СТ разрезали при помощи ножниц Ванасса. Используя ножницы и анатомический пинцет, отсепаровывали окрашенные структуры от матрикса СТ (рис. 2), отсекали их и отправляли на гистологическое исследование.

Для морфологических исследований материал фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, промывали проточной водой, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Далее выполняли серии гистологических срезов с примене-



Рис. 4. Лентико-макулярный и оптико-цилиарный каналы СТ проходят раздельно (1 тип взаиморасположения)

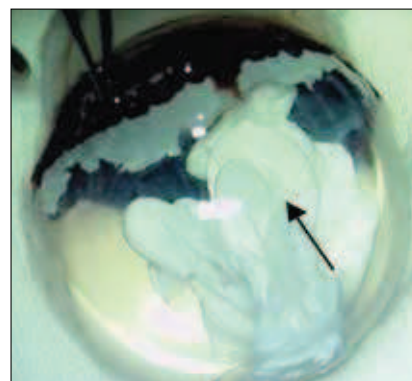


Рис. 5. Лентико-макулярный и оптико-цилиарный каналы проходят в едином кожухе и разделяются в ретроцилиарном пространстве (2 тип расположения)

нием окраски гематоксилин-эозином по методике Ван Гизона и окраски альтиановым синим. Препараты изучали под микроскопом фирмы Leica DMLB2 при 50-, 100-, 200-, 400-кратном увеличении с последующим фотографиями.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В случае плотной фиксации кортикальных слоев (КС) к сетчатке на этапе формирования и отсечения лепестков сетчатой оболочки выявлено расслоение КС СТ (рис. 3). При этом КС имеют гладкую, блестящую поверхность и не окрашиваются снаружи контрастным веществом, а отделившиеся с сетчаткой волокна СТ можно контрастировать суспензией «Витреоконтраст». В местах, где отмечено более слабое соединение с сетчаткой, расслоения КС не происходило. В данном случае при отделении сетчатой оболочки КС имели шероховатую поверхность матового цвета, были контрастированы с наружной стороны с помощью суспензии «Витреоконтраст».

В ходе препарирования отсепааровывали и выделяли предварительно контрастированные с помощью суспензии «Витреоконтраст» лентико-макулярный, оптико-цилиарный канал и ретроцилиарные цистерны. Выявлено два типа взаиморасположения основных каналов СТ. Первый, описанный З.А. Махачевой, при котором оптико-цилиарный канал связывает преоптическую цистерну с ретроцилиарными цистернами верхне-носового сег-

мента, лентико-макулярный канал – макулярную сумку с ретролентарным пространством (рис. 4), а оба канала связаны между собой соединительным каналцем. При втором типе оба канала занимают центральное положение, проходят в едином кожухе и в верхней трети СТ разделяются, оканчиваясь в ретроцилиарном и ретролентальном пространствах (рис. 5).

Были определены размеры интравитреальных структур: средний размер ретроцилиарных цистерн составил 10-12 мм, экваториальных – 15-17 мм, лепестковых цистерн – 8-10 мм при длине глаза 21,5-23,5 мм. Отмечено, что при различных условиях, таких как дефект КС, размеры и топография структур, СТ изменяются: увеличивается их длина, все структуры меняют расположение и устремляются в зону дефекта КС. Образуется грыжа СТ (рис. 6). При увеличении давления в витреальной полости происходит разрыв КС в месте дефекта с выходом интравитреальных структур в ретрогидалоидное пространство с последующим опорожнением содержимого этих структур (рис. 7).

Структуры представляют собой мешковидные полости, имеют четко очерченные стенки, отличающиеся по плотности от матрикса и КС СТ. «Витреоконтраст» благодаря высокой способности к адгезии не выходит за пределы неизменных структур даже при полном их выделении. При этом возможно изучение каждой структуры в отдельности.

При гистологической и гистохимической окраске этих структур с

эффектом метакромазии световая микроскопия подтвердила наличие стенок контрастированных каналов и цистерн (рис. 8). Они были структурированы и отличались от внутреннего матрикса стекловидного тела.

ОБСУЖДЕНИЕ

Преимуществом разработанного способа препарирования является максимальное сохранение целостности и взаиморасположения структур СТ, предотвращение развития грыжи СТ. Для контрастирования структур СТ использовали суспензию «Витреоконтраст», которая обладает выраженной адгезией к структурным элементам стекловидного тела, степень адгезии с течением времени и при изменении положения глазного яблока не меняется. За счет небольшого размера частиц менее 5 микрон, плотности 4,4 г/см³, выраженной адгезии к структурным элементам стекловидного тела суспензия осаждается на стенках интравитреальных структур, в результате возможно изолированное контрастирование и последующее выделение каналов, цистерн и их анастомозов.

При использовании J. Worst и З.А. Махачевой красителей «majic color», обладающих слабо выраженной адгезией к структурным элементам СТ, невозможно изолированно контрастировать его структуры, так как за счет небольшой плотности, сравнимой с плотностью воды, и размера частиц не менее 10 ми-

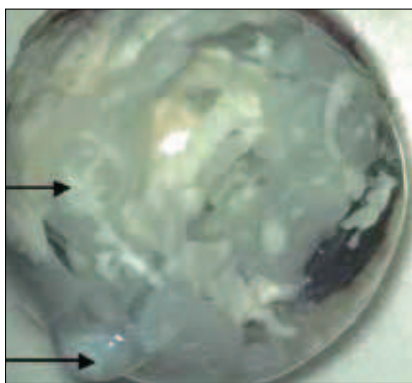


Рис. 6. Грыжа СТ. Конфигурация и взаиморасположение структур СТ нарушены. Выход интравитреальных структур в области дефектов кортикальных слоев СТ

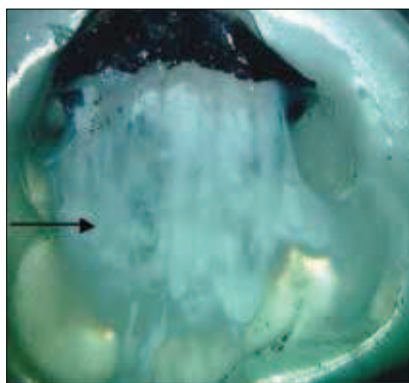


Рис. 7. Грыжа СТ. Выход интравитреальных структур через дефект кортикальных слоев в ретрогидалоидное пространство

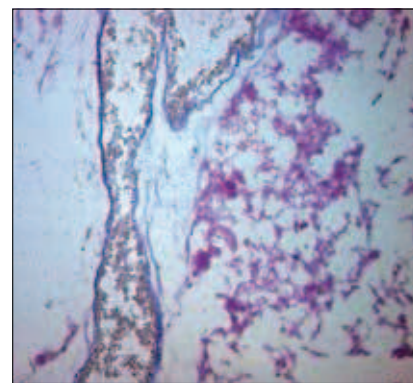


Рис. 8. Микрофото. Лентико-макулярный канал СТ. «Витреоконтраст» в полости канала. Четко структурированная стенка канала, отличная от матрикса СТ, окраска гематоксилин-эозином. Ув. x400

красители перемещаются при движении стекловидного тела и не удерживаются в полости каналов, цистерн. Суспензия «Витреоконтраст» контрастирует все описанные в работах J. Worst и З.А. Махачевой структуры СТ.

В ходе препарирования при формировании и отсечении лепестков сетчатой оболочки выявлено расслоение КС СТ, что может служить приспособительным механизмом для предотвращения развития отслойки сетчатки, может быть выявлено современными диагностическими методами и ошибочно интерпретировано как задняя отслойка стекловидного тела (ЗОСТ). При этом возможно контрастировать фиксированные к сетчатке слои СТ. В своих исследованиях Лыскин П.В с соавт. обнаружил и описал эпиретинальный слой СТ, волокна которого более плотно упакованы и гораздо более плотно фиксированы к сетчатке. По мнению автора, описанный слой может играть значимую роль в развитии пролиферативной ретинопатии [2]. Кроме того, при расслоении КС образуется дефект в области преоптической цистерны или премакулярной сумки с последующим формированием грыжи СТ. При этом нарушается структура СТ, цистерны удлиняются, но сохраняют целостность. Суспензия «Витреоконтраст» контрастирует измененные и удлиненные цистерны СТ. При увеличении давления внутри цистерны, путем введения дополнительного количества суспензии, их стенка разрушается, и содержимое цистерн выходит через дефект КС. Нами отмечено, что при увеличении внутри-

глазного давления происходит разрыв КС в области дефекта с опорожнением интравитреальных структур и последующим сокращением КС. Анализ полученных при препаровке СТ данных позволит выявить характер его патологических изменений и определить их роль в развитии различных витреоретинальных заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. Разработан способ препарирования СТ, заключающийся в максимальном сохранении его структуры за счет сохранения интактным переднего отрезка глаза и участка в заднем полюсе диаметром 10-11 мм, и использованием суспензии «Витреоконтраст», позволяющей изолированно контрастировать все структуры СТ.

2. При помощи разработанного способа препарирования определены средние размеры интравитреальных структур: размер ретроцилиарных цистерн составил 10-12 мм, экваториальных – 15-17 мм, лепестковых цистерн – 8-10 мм.

3. Впервые выявлен анатомический вариант расположения интравитреальных каналов, при котором оба канала занимают центральное положение, проходят в едином кожухе и в верхней трети СТ разделяются, оканчиваясь в ретроцилиарном и ретролентальном пространствах.

4. В ходе препарирования обнаружено, что при образовании дефектов в КС структура СТ изменяется, формируется грыжа СТ с выпадением интравитреальных структур, что

может служить одним из звеньев патогенеза отслойки сетчатки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кислицына Н.М., Новиков С.В., Беликова С.В. Применение нового контрастного вещества («Витреоконтраст») для визуализации структур стекловидного тела (экспериментальное исследование) // Офтальмохирургия. – 2010. – № 1. – С. 54-57.
2. Лыскин П.В., Захаров В.Д., Письменская В.А. Микрoанатомия витреоретинальных взаимоотношений в аспекте практической хирургии // Современные технологии лечения витреоретинальной патологии-2010: Сб. науч. статей. – М., 2010. – С. 97-99.
3. Махачева З.А. Анатомо-функциональное обоснование хирургических вмешательств на стекловидном теле при витреальной деструкции: Дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1994. – 220 с.
4. Махачева З.А. Новое в анатомии стекловидного тела. – М., 2006. – 16 с.
5. Селиванова И.Н. К морфологии стекловидного тела у детей и взрослых (по данным аутопсических исследований) // Стекловидное тело в клинической офтальмологии: Сб. науч. трудов. – Л., 1979. – С. 19.
6. Duke-Elder S.W. The nature of the vitreous body // Br. J. Ophthalmol. – 1930. – Vol. 14 (IV). – P. 6.
7. Eisner G. Biomicroscopy of the Peripheral Fundus. – New York: Springer-Verlag, 1973.
8. Sebag J., Balazs E.A. Morphology and ultrastructure of human vitreous fibers // Invest Ophthalmol. Vis Sci. – 1989. – Vol. 30. – P. 1867-1871.
9. Worst J. Cisternal systems of the fully developed vitreous body in the young adult // Trans. Ophthalmol. Soc UK. – 1977. – Vol. 97. – P. 550-554.
10. Yudkin A. The normal vitreous humor a critical study // Arch. Ophthalmol. – 1931. – Vol. 6, № 5. – P. 754-765.

Поступила 15.03.2013