

УДК611.844.1

КОНЦЕПЦИЯ РАЗВИТИЯ ХРУСТАЛИКА ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

Рева Г. В., Гапонько О. В., Новиков А. С., Куликова К. С., Ан Е. А., Рева И. В.

ГОУ ВПО Владивостокский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия (690950, Владивосток, проспект Острякова, 2) vgtmu.ru

На материале глаза эмбриона человека установлены два источника развития структур хрусталика: эктодермальный – для хрусталикового эпителия передней капсулы и нейроглиальный – для заднего сектора хрусталика. Полученные данные не укладываются в рамки классической концепции о развитии хрусталика только из эктодермальной плакоды, объясняют клиническое многообразие катаракт у человека и особенности топографии катаракты глаукоматозных больных. Гипотеза о происхождении стволовых клеток заднего сектора хрусталика из внутреннего листка глазного бокала объясняет нарушение формирования хрусталикового пузырька в условиях развития *in vitro*, отсутствие появления хрусталиковых волокон, нарушение синтеза кристаллинов и развитие экспериментальных катаракт в опытах с изолированной от глазного пузырька задней стенкой глазного бокала. С использованием маркера белка S100 произведено фенотипирование глиоцитов, мигрирующих из глазного бокала в зону инвагинации хрусталиковой плакоды.

Ключевые слова: хрусталик, хрусталиковые волокна, катаракта.

CONCEPTION OF DEVELOPMENT LENS IN THE HUMAN EYES

Reva G. V., Gaponko O. V., Novikov A. S., Kulikova K. S., An E. A., Reva I. V.

Vladivostok State Medical University, Vladivostok, Russia (690950, Vladivostok, Ostryakovavenue 2) vgtmu.ru

It is showed two start indevelopment of the lens in the human eyes: first –ectodermal for epithelial cells of lens, second- neuroglials cells -for posterior sector of lens. This facts not may be in show many difficult cataracts and especially topography cataracts in eyes of patient with glaucoma. Hypothesis about stem cells in posterior quadrant of lens from inter layer of eyes showed forms lens vesicle in development in vitro, are absent lens fibers, destruction synthesis of cristillines and development experimental cataracts in experiment with isolated from inner layer of eyes bocal lens placodas. Used marker of S100 we are decided queshiens about phenotypes glials cells, migrants from eyes in zone of invagination lens placoda.

Key words: lens, lens fiber, cataracts.

По данным ВОЗ в мире насчитывается 20 миллионов слепых вследствие развития катаракты [17]. В РФ по критерию обращаемости заболевание катарактой составляет 1200 на 100000 населения. Имеющиеся данные по морфологии и современная концепция развития хрусталика не объясняют клинического многообразия катаракт [1, 8, 11]. Существующие на сегодняшний день методы лечения помутнения хрусталика в основном хирургические, что диктует необходимость поиска неинвазивных методов лечения, направленных на обратимость процессов помутнения хрусталика [10]. Однако это возможно лишь на основе правильных представлений по гистофизиологии хрусталика [13, 15]. Механизмы физиологической регенерации хрусталика мало изучены, так же как и механизмы развития катаракт [2, 7, 12]. Клеточные взаимодействия в развитии структур переднего полюса глаза и роль в этих процессах иммунофагоцитарного звена неизвестны, так как в доступной литературе мы не встретили работ по фенотипированию клеток, участвующих в закладке, развитии и обособлении хрусталика в процессе развития глаза человека.

Изучены 171 глаз эмбрионов и плодов человека. Используются классические гистологические методы исследования с окрашиванием г/э; Victoriablue и импрегнация

серебром, Ironhematoxilin, NADPH-диафоразы, а также иммуногистохимические методы на выявление CD4, CD8, CD 68, CD163, CD 204, TUNEL-метод на выявление апоптозирующих клеток, Ki67 для выявления пролиферативной активности капсулярных клеток. Анализ материала проведён с помощью микроскопа Olympus-Bx51 и цифровой камеры CD25 с фирменным программным обеспечением.

Известно, что закладка главного источника клеток для развивающегося хрусталика глаза человека происходит из эктодермы [4]. Механизм образования хрусталикового пузырька – взаимная индукция с передней стенкой глазного бокала [3, 5]. По нашим данным, на ранних этапах развития хрусталик представлен группой клеток эктодермальной плакоды, погружившейся за инвагинирующей передней стенкой глазного бокала. На светооптическом уровне клетки представляют собой морфологически идентичную группу с выраженной базофилией и высокими ядерно-цитоплазматическими отношениями. Хрусталиковая плакода контактирует с зоной будущей роговицы и эктодермой. Клетки в совокупности образуют плакодную пирамидку, между вершиной которой и углублением глазного бокала располагается тяж клеток, отличающихся более высокой хромофильностью по сравнению с клетками стекловидного тела. Направлены они к презумптивному месту закладки жёлтого пятна. Также наблюдается миграция переднего хрусталикового эпителия подкапсулярно, на заднем полюсе и с боковых поверхностей хрусталика внутрь пузырька мигрирует глия. Хрусталиковый эпителий хромофильный, а глия не окрашена, клетки имеют веретеновидную форму. Внутри пузырька распространяется горизонтально, а на заднем полюсе сагиттально по центру хрусталиковой подковы.

Согласно классической концепции развития хрусталика глаза человека хрусталиковая плакода после преобразования в хрусталиковый пузырёк инвагинирует дистально, и в экваториальной зоне периферические клетки, по мере погружения внутрь хрусталика, превращаются в хрусталиковые волокна [3, 15, 16]. Эта концепция не даёт представления об источниках образования задней капсулы хрусталика и особенностей её строения, сагиттальной направленности хрусталиковых волокон, не объясняет многообразие клинических форм катаракт.

По нашим данным, на 6-й неделе в хрусталике идентифицируются: 1) капсулярный эпителий переднего и экваториального полюсов; 2) выселившиеся клетки из переднего капсулярного эпителия; 3) экваториально прилежащие зоны переднего и заднего полюсов хрусталика из поперечно и сагиттально расположенной глии; 4) формирование задней глиальной мембраны; 5) начало развития сосудистой сумки хрусталика (рис. 1).

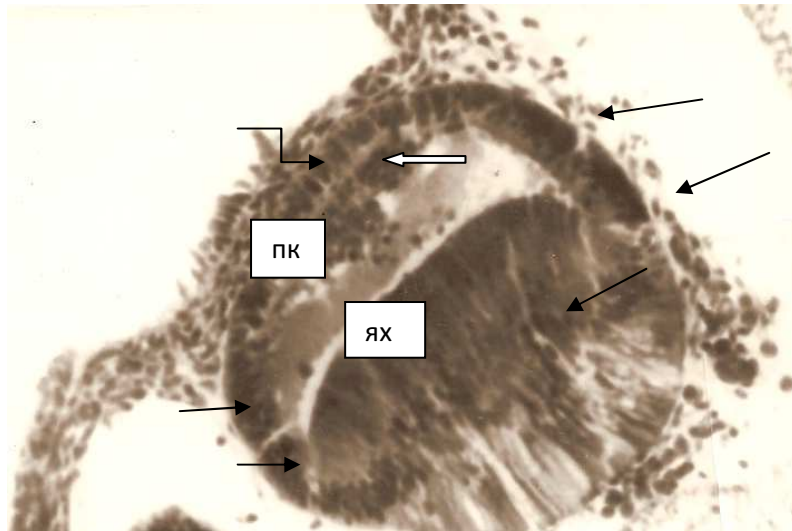


Рис. 1. Глаз эмбриона человека 6,5 недель. Микрофото. Импрегнация серебром. Ув. x400. Стрелками указаны мигранты из внутренней стенки глазного бокала. Ях – ядро хрусталика; ПК – передняя капсула. Белая стрелка указывает на выселившиеся клетки из передней капсулы хрусталика. Фигурная стрелка соответствует зоне контакта переднего капсулярного эпителия и зачатка роговицы.

На 7-й неделе все оболочки глаза и хрусталик пронизаны клетками радиальной глии. У эмбриона 7 недель идентифицируются хрусталиковая сумка и сосудистая капсула. Строма внутри пузырька состоит из глии. Мы предполагаем, что её роль заключается в координации направления хрусталиковых волокон, предотвращении ангиогенеза внутри хрусталика за счёт ингибирующих этот процесс свойств (выработка стромальными клетками гиалуроновой кислоты) [11].

Только после образования капсулы на заднем полюсе хрусталика формируется гиалоидный бассейн. Согласно литературным данным, глия в культуре вырабатывает подобно фибробластам гиалуроновую кислоту, являющуюся ингибитором ангиогенеза [9]. Это объясняет, почему сосуды капсулярной сумки не прорастают в хрусталик. Также мы нашли работы, в которых установлено, что в культуре клеток радиальная глия способна вырабатывать хрусталиковые белки кристаллины [14]. Следующее подтверждение участия глии в формировании хрусталика базируется на том, что в экспериментах с хрусталиковым пузырьком, изолированным от глазного бокала с сохранением гуморального влияния, не образуются хрусталиковые волокна. Следовательно, только контактные взаимодействия с глазным бокалом и миграция глии приводят к волокнообразованию. В отличие от Guntersson (1996), утверждающего, что беспигментный эпителий цилиарного тела участвует в формировании заднего полюса хрусталика, в наших исследованиях закладка хрусталика и формирование заднего полюса происходит задолго до обособления фиброзной и сосудистой оболочек, а уж тем более отростков цилиарного тела. В эти сроки идентифицируется задняя

глиальная капсула хрусталика, гиалоидная артерия и двухслойная эпителиальная капсула хрусталика на переднем полюсе (рис. 2а, б).

Очевидно, глия участвует в формировании всех бессосудистых структур глаза для координации в дальнейшем направления потока света; предотвращения ангиогенеза в этих структурах, способности трансформации в резидуальные АПК в условиях иммунодефицита; выработке кристаллинов. Дополнительным подтверждением правильности нашей точки зрения является то, что не доказана выработка кристаллинов эпителием хрусталика в отсутствие глазного бокала [10].

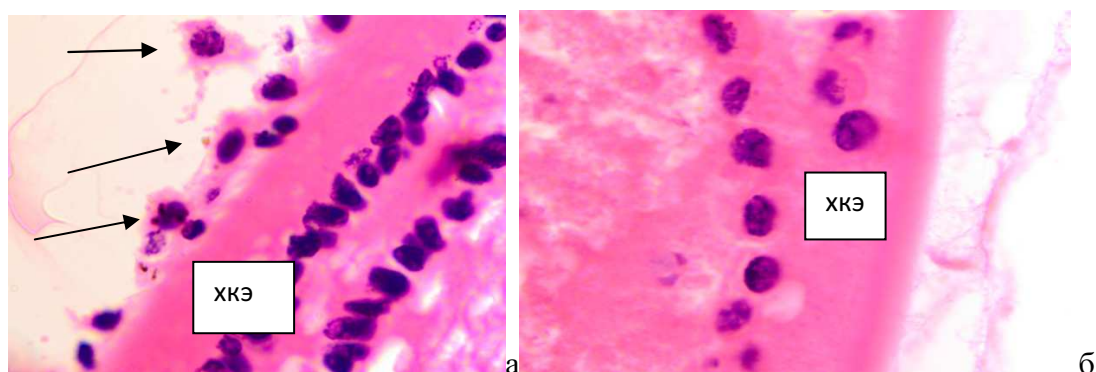


Рис. 2 а, б. Глаз плода человека 18 недель. А – передний полюс, б – зона экватора. Микрофото. Окраска г/э. Ув. х800. Идентифицируется двухслойная хрусталиковая капсула. На поверхности хрусталика располагаются макрофаги, отмеченные стрелками, способствующие обособлению хрусталика от роговицы. ХКЭ – хрусталиковый капсулярный эпителий

Таким образом, по нашим данным, идентифицировались 2 дифферона клеток в развивающемся хрусталике: эктодермальный капсулярный эпителий и глиоциты. Дополнительное подтверждение наличия второго дифферона клеток глиальной природы в формирующемся хрусталике получено с помощью реакции на белок S100, маркирующей глиоциты (bb, ll, lb).

В структуре хрусталика плода нами выделены клеткиглии трёх типов: 1 тип – капсулярные клетки-ядра овальной формы, крупные до 30 мкм; 2 тип – ядра круглой формы, более мелкие по сравнению с 1-м типом клеток, 15–20 мкм. 3 тип не связан с капсулой, это мигрирующий клеточный пул, находится в структуре хрусталика, идентифицированы два вида – с большим количеством цитоплазмы и узким ободком цитоплазмы (рис. 3 а, б, в).

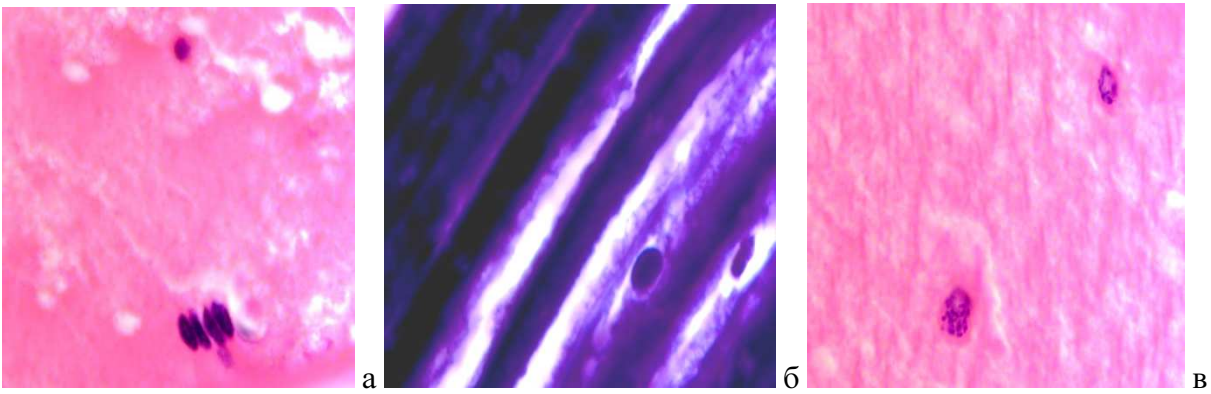


Рис. 3 а, б, в. Хрусталиковые клетки глаза плода человека 24 недель. Микрофото. Окраска г/э

Нами установлено, что взаимодействие с СТ, Р и ЦТ на поверхности хрусталика обусловлено тем, что: 1) существуют контактные участки, представленные остатками капсулярной сосудистой сумки хрусталика; 2) контактные зоны располагаются на примерно одинаковом расстоянии в 50 мкм; 3) идентифицируются якорные клетки СТ, образующие плотный контакт с капсулой хрусталика (рис. 4).

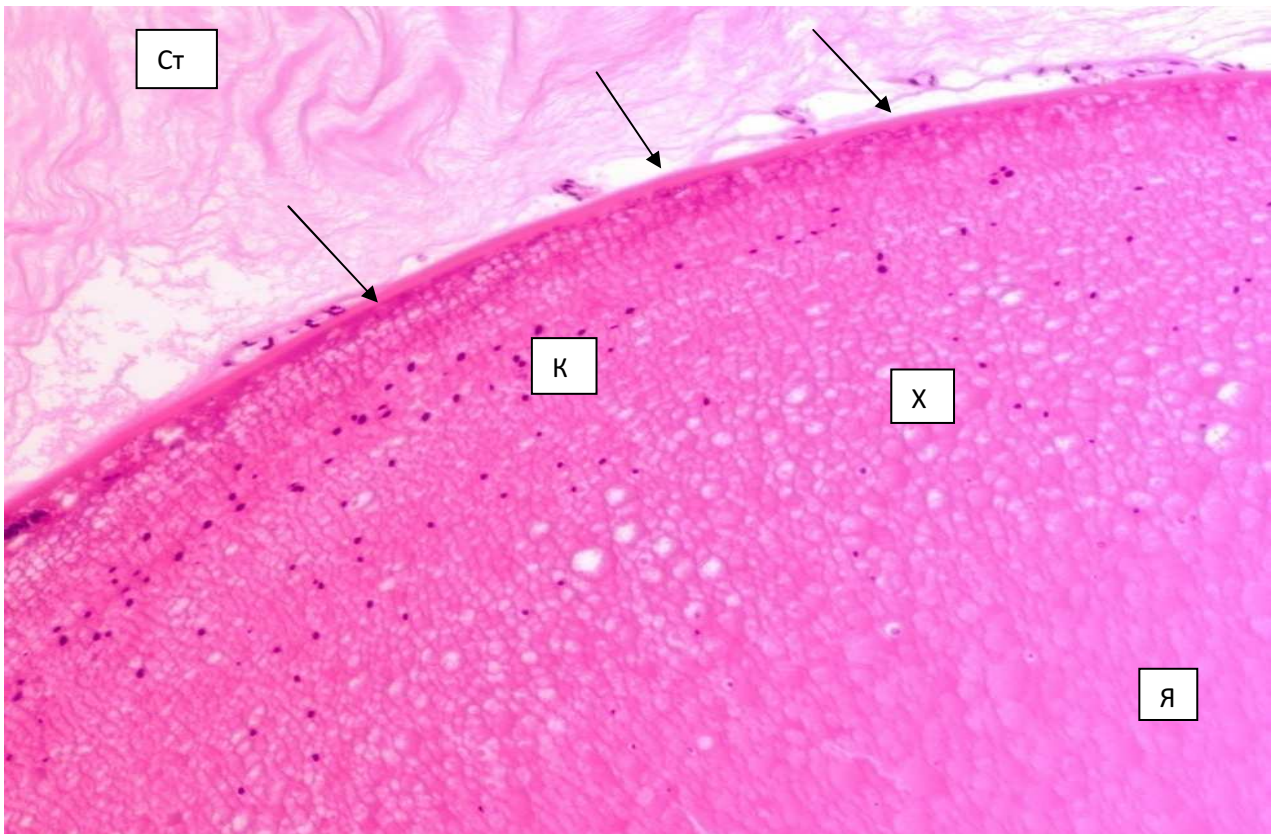


Рис. 4. Хрусталик глаза плода человека 24 недель. Микрофото. Окраска г/э. Ув. 400. Чёрными стрелками указаны остатки сосудистой капсулы хрусталика. Ст – стекловидное тело. Х – хрусталик. Я – ядро хрусталика. К – корковая зона хрусталика. Белая стрелка указывает на экваториальный обрыв капсулярного эпителия

Также нами установлена неоднородность капсулы хрусталика глаза человека. Выделены наружный гомогенный слой на всей поверхности хрусталика, внутренний с клетками на переднем полюсе и бесклеточный на заднем полюсе, и средний слой, с более бледной окраской, содержащий пустоты – следы апоптозирующих клеток второго слоя. По нашему мнению, это связано с тем, что наружный слой капсулы по всей окружности является производным глиальных клеток, выселившихся из внутренней стенки глазного бокала, и окружающий всю поверхность хрусталика (рис. 5).

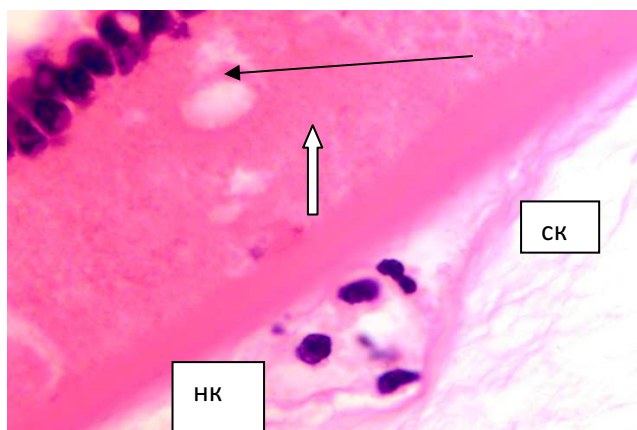


Рис. 5. Капсула хрусталика глаза плода человека 24 недель. Микрофото. Окраска г/э. Ув. х600. Чёрной стрелкой указан капсулярный эпителий; белой стрелкой – тень от апоптозирующей клетки; нк – наружный капсулярный слой; ск – сосудистая капсула

Таким образом, на основе полученных результатов сделан вывод об участии в формировании хрусталика глаза человека двух источников развития: 1) эктодермальной хрусталиковой плагоды, являющейся источником развития капсулярного эпителия; 2) глиоцитов, выселившихся из внутреннего листка глазного бокала, источник стромальных хрусталиковых клеток.

2. Сосудистая капсула хрусталика формируется после окончания миграции глиоцитов и служит поставщиком макрофагов, участвующих в обособлении хрусталика от окружающих его структур. После окончания обособления сосудистая капсула хрусталика подвергается инволюции.

3. Хрусталиковая плагода формирует хрусталиковый пузырь, затем, в результате инвагинации, двухслойную серповидную капсулу на переднем полюсе с апоптозированием внутреннего слоя капсулы.

Список литературы

1. Asherie N. Blind attraction: the mechanism of an inherited congenital cataract // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2011. Jan 11; 108(2): 437-8.

2. Dahm R., van Marle J., Quinlan R. A., et al. Homeostasis in the vertebrate lens: mechanisms of solute exchange. *Biol. Sci.* 2011, Apr. 27; 366(1568): 1265-77.
3. Garcia C. M., Huang J, Madakashira BP, et al. The function of FGF signaling in the lens placode // *Dev. Biol.* 2011, Mar 1; 351(1): 176-85.
4. Huang J., Rajagopal R., Liu Y., et al. The mechanism of lens placode formation: a case of matrix-mediated morphogenesis. *Dev. Biol.* 2011, Jul 1; 355(1): 32-42.
5. Kallifatidis G., Boros J., Shin E. H., et al. The fate of dividing cells during lens morphogenesis, differentiation and growth. *Exp. Eye Res.* 2011, Jun; 92(6): 502-11.
6. Kim S. T., Koh J. W.. Mechanisms of apoptosis on human lens epithelium after ultraviolet light exposure. *Korean J. Ophthalmol.* 2011, Jun; 25(3): 196-201.
7. Kuszak J. R. The development of lens structures // *Prog. Retinal. Eye Res.* 1995; 14: 567-591.
8. Michael R., Bron A. J. The ageing lens and cataract: a model of normal and pathological ageing. *Philos. Trans R Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2011, Apr 27; 366(1568): 1278-92.
9. Otteson D. C., Phillips M. J. A conditional immortalized mouse Muller glial cell line expressing glial and retinal stem-cell genes. *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* 2010; 47: 139-17.
10. Papermaster D. Apoptosis of the mammalian retina and lens // *Cell Death and Differentiation.* 2011. 4: 1, pp. 21-28.
11. Su S. P., McArthur J. D., Truscott R. J., et al. Truncation, cross-linking and interaction of crystallins and intermediate filament proteins in the aging human lens // *Biochim. Biophys. Acta* 2011, May; 1814(5): 647-56.
12. Suzuki S., Sagara H., Senoo T. Developmental factors of fibrous opacification in the atopic cataract lens capsule // *Ophthalmic Res.* 2011; 45(4): 216-20.
13. Taylor V. L., Al-Ghoul K. J., Lane C. W., Davis V. A., Kuszak J. R., Costello M. J. Morphology of the normal human lens. *ARVO Abstracts. Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 1995; 36: S261.
14. Thomson J. A., Augusteyn R. C. Ontogeny of human lens crystallins // *Exp. Eye Res.* 1985; 40: 393-410.
15. Tripathi R. C., Tripathi B. J. Lens morphology, aging, and cataract. // *Gerontol.* 1983; 38: 258-270.
16. Wormstone I. M., Wride M. A. The ocular lens: a classic model for development, physiology and disease. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2011, Apr 27; 366(1568): 1190-2.
17. Wride M. A. Lens fibre cell differentiation and organelle loss: many paths lead to clarity. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2011, Apr. 27; 366(1568): 1219-33.
18. Zhang L., Yan Q., Liu J. P., et al. Apoptosis: its functions and control in the ocular lens // *Curr. Mol. Med.* 2010. Dec.; 10(9): 864-75.

Рецензенты:

Красниов Ю. А., д.м.н., профессор кафедры теории и методики адаптивной физической культуры ФГАОУ ВПО «ДВФУ», г. Владивосток.

Усов В. В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической и экспериментальной хирургии ФГАОУ ВПО «ДВФУ», г. Владивосток.