

слёзной железы мы не наблюдали патологического накопления *in vivo* меченых  $^{99m}\text{Tc}$  эритроцитов в очаге поражения ни на одном этапе исследования.

## ВЫВОДЫ

1. При выполнении скинтиграфических исследований выявлены дифференциально-диагностические признаки опухолей орбиты.

2. Для пациентов с гемангиомой орбиты характерны отсутствие накопления *in vivo* меченых  $^{99m}\text{Tc}$  эритроцитов в сосудистую (динамическую) фазу исследования и гиперфиксация радиофармпрепарата в опухоли при отсроченной планарной скинтиграфии и однофотонной эмиссионной томографии.

3. Интенсивное накопление меченых  $^{99m}\text{Tc}$  эритроцитов в опухоли в сосудистую (динамическую) фазу исследования при отсроченной планарной скинтиграфии и однофотонной эмиссионной компьютерной то-

мографии характерно для злокачественного характера новообразования с гиперваскуляризацией.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бровкина А.Ф. Офтальмоонкология. Руководство для врачей. — М.: Медицина, 2004. — 424 с. [Brovkina A.F. *Oftal'moonkologiya. Rukovodstvo dlya vrachey.* (Ophthalmologic oncology: Guidelines for physicians.) Moscow: Meditsina. 2004; 424 p. (In Russ.)]

2. Габдрахманова А.Ф., Алтынбаева Л.Р. Первый опыт применения радионуклидного исследования с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии в диагностике новообразований орбиты // Вестн. офтальмол. — 2008. — Т. 124, №4. — С. 39–41. [Gabbrakhmanova A.F., Altynbayeva L.R. The first experience in using radionuclide by single photon emission computed tomography in the diagnosis of orbital neoplasms. *Vestnik oftal'mologii.* 2008; 124 (4): 39–41. (In Russ.)]

3. Долматова И.А., Грушин Ю.В., Мустафина Ж.Г., Завьялова М.Ю. Компьютерная и магнитно-резонансная томография орбит. — Алматы, 2001. — 63 с. [Dolmatova I.A., Grushin Yu.V., Mustafina Zh.G., Zav'yalova M.Yu. *Komp'yuternaya i magnitno-rezonansnaya tomografiya orbit.* (Computed tomography and magnetic resonance imaging of orbits.) Almaty. 2001; 63 p. (In Russ.)]

УДК 612.396.21:617.735-007.23-007.281:616-091.8

## МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ХОРИОИДАЛЬНЫХ НЕОВАСКУЛЯРНЫХ МЕМБРАН ПРИ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ, ОСЛОЖНЁННОЙ ВЫСОКОЙ ОТСЛОЙКОЙ ПИГМЕНТНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Урал Рифович Алтынбаев<sup>1\*</sup>, Ольга Ивановна Лебедева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Медико-санитарная часть ОАО «Татнефть» и г. Альметьевска, г. Альметьевск, Россия;

<sup>2</sup>Всероссийский центр глазной и пластической хирургии, г. Уфа, Россия

### Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-364

**Цель.** Изучить морфологические особенности хориоидальных неоваскулярных мембран у больных с влажной формой возрастной макулярной дегенерации, осложнённой высокой отслойкой пигментного эпителия.

**Методы.** В исследование были включены 10 пациентов с влажной формой возрастной макулярной дегенерации, которым выполнена витрэктомия с удалением хориоидальной неоваскулярной мембраны: 4 случая «скрытой» (основная группа) и 6 — «классической» (контрольная группа) хориоидальной неоваскулярной мембраны.

**Результаты.** У пациентов с «классической» хориоидальной неоваскулярной мембраной выявлен гистологический комплекс, состоящий из слоя клеток пигментного эпителия с мембраной Бруха, фиброваскулярной мембраны, слоя сегментов фоторецепторов и иногда фрагментов хориоидеи. Гистологический комплекс хориоидальной неоваскулярной мембраны у пациентов основной группы также состоял из слоя клеток пигментного эпителия с мембраной Бруха, собственно фибризированной неоваскулярной мембраны и слоя сегментов фоторецепторов. В слое клеток пигментного эпителия в отличие от контрольной группы отмечались выраженные признаки гиперплазии. Средняя толщина пигментного слоя сетчатки у пациентов с высокой отслойкой пигментного эпителия (основная группа) составила  $16,08 \pm 4,64$  мкм, что на 30% больше, чем у пациентов в контрольной группе ( $11,22 \pm 3,38$ ,  $p < 0,05$ ). Средняя толщина мембраны Бруха в основной группе ( $6,7 \pm 0,19$  мкм) также была больше, чем в контрольной ( $5,7 \pm 3,8$  мкм,  $p < 0,05$ ). При гистохимическом исследовании выявлены качественные отличия исследуемых групп при определении коллагенов I и III типов. Гликозаминогликаны, напротив, выявлялись только в группе с «классической» хориоидальной неоваскулярной мембраной.

**Вывод.** У пациентов со «скрытой» хориоидальной неоваскулярной мембраной, осложнённой высокой отслойкой пигментного эпителия, установлено утолщение мембраны Бруха за счёт отложения на её наружной поверхности коллагена I типа, что обуславливает нарушение местной гидродинамики и биодоступности фармакологических средств.

**Ключевые слова:** возрастная макулярная дегенерация, высокая отслойка пигментного эпителия, хориоидальная неоваскулярная мембрана.

## MORPHOLOGICAL FEATURES OF CHOROIDAL NEOVASCULAR MEMBRANES IN AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION COMPLICATED BY HIGH PIGMENT EPITHELIAL DETACHMENT

U.R. Altynbaev<sup>1</sup>, O.I. Lebedeva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medical and sanitary unit of JSC «Tatneft» and the city of Almet'yevsk, Almet'yevsk, Russia;

<sup>2</sup>Russian eye and plastic surgery center, Ufa, Russia

**Aim.** To study the morphological features of choroidal neovascular membranes in patients with wet age-related macular degeneration, complicated by high pigment epithelial detachment.

**Methods.** The study enrolled 10 patients with wet age-related macular degeneration, who underwent vitrectomy with choroidal neovascular membranes removal, including 4 patients with occult choroidal neovascularization and 6 patients with classic choroidal neovascular membrane.

**Results.** Histologic pattern consisting of pigmented epithelium cells layer with Bruch's membrane, fibrovascular membrane, photoreceptors segments layer and, in some of the cases, choroid fragments, was discovered in tissue specimens of patients with classic choroidal neovascular membrane. Histologic pattern of choroidal neovascular membrane in patients with occult choroidal neovascularization also consisted of pigment epithelium cells layer with Bruch's membrane, fibrotic neovascular membrane itself and photoreceptors segments layer. Pigment epithelium cell layer, in contrast to the control group, had apparent signs of hyperplasia. Average thickness of pigment layer of the retina was  $16.08 \pm 4.64 \mu\text{m}$  in patients with high pigment epithelial detachment, by 30% higher compared to the control group ( $11.22 \pm 3.38 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.05$ ). Mean Bruch's membrane thickness was  $6.7 \pm 0.19 \mu\text{m}$  in the main group, which also exceeded the similar values in the control group ( $5.7 \pm 3.8 \mu\text{m}$ ,  $p < 0.05$ ). Histochemical studies revealed qualitative differences between the study groups in the levels of collagen types I and III. Glycosaminoglycans, in contrast, were detected only in the group with classic choroidal neovascular membrane.

**Conclusion.** In patients with occult choroidal neovascular membrane complicated by high pigment epithelial detachment, Bruch's membrane thickening was found due to collagen type 1 deposits on the outer surface, which caused a local hydrodynamics alterations and influences the bioavailability of medications.

**Keywords:** age-related macular degeneration, high pigment epithelium detachment, choroidal neovascular membrane.

Возрастная макулярная дегенерация — ведущая причина необратимой слепоты у пациентов старше 65 лет в экономически развитых странах [4, 5]. Формирование хориоидальной неоваскулярной мембраны (ХНМ) является патоморфологической основой развития влажной формы возрастной макулярной дегенерации.

В соответствии с клинико-гистологической корреляцией различают три типа ХНМ: тип 1 — «скрытые» мембраны, тип 2 — «классические» мембраны, тип 3 — ретикулярная ангиоматозная пролиферация. При 1-м и 3-м типах ХНМ нередко развивается высокая отслойка пигментного эпителия (ПЭ), при которой антивазопролиферативная терапия зачастую неэффективна и завершается в исходе заболевания развитием субретинального фиброза [1, 2].

В литературе нет данных о причинах и механизме развития высокой отслойки ПЭ при возрастной макулярной дегенерации, поэтому морфологические исследования сетчатки и ХНМ у данной категории пациентов — актуальная задача офтальмологии.

Цель работы — изучить морфологические особенности ХНМ у больных с влажной формой возрастной макулярной дегенерации, осложнённой высокой отслойкой ПЭ.

В исследование были включены 10 пациентов с влажной формой возрастной макулярной дегенерации, которым выполнена витрэктомия с удалением ХНМ. Операции проводили на основании добровольного информированного согласия пациента. Основную группу составили 4 больных с вы-

сокой отслойкой ПЭ, у которых была удалена «скрытая» ХНМ. В контрольную группу вошли 6 больных с «классической» ХНМ. Морфологические исследования проведены в лаборатории морфологии и гистохимии Всероссийского центра глазной и пластической хирургии к.б.н. О.И. Ивановой.

Для гистологического исследования биоптаты ХНМ фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина. Ткани обрабатывали по общепризнанной методике и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону и по Маллори. Докраска препаратов осуществлялась гематоксилином. Микроскопические исследования проводили с использованием светового микроскопа «AxioImager Z1», оснащённого фотонасадкой «ProgRes C3» и программой анализа изображений Axiovision («Carl Zeiss», Германия).

Гистохимическим методом (реакция Хейла) выявляли кислые гликозаминогликаны (суммарная фракция). Срезы депарфинизировали и доводили до воды, затем их помещали в реактив Хейла на 20–30 мин, промывали в двух-трёх сменах раствора уксусной кислоты в течение 2–3 мин и помещали в раствор гексациано-(II)-феррата калия на 15 мин. Срезы промывали водой, обезвоживали в спиртах, просветляли в кислоте и заключали в канадский бальзам.

В процессе постановки гистохимической реакции молекулы гидроксида железа взаимодействовали с функциональными группами гликозаминогликанов. Затем этот комплекс вступал в реакцию с гексациано-

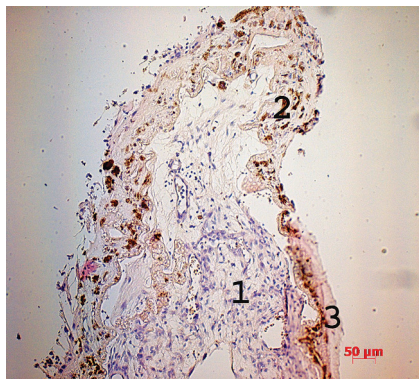


Рис. 1. Структура «классической» хориоидальной неоваскулярной мембраны: 1 — фиброваскулярная мембрана; 2 — слой клеток пигментного эпителия с мембраной Бруха; 3 — слой фоторецепторов. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение: окуляр  $\times 10$ , объектив  $\times 12,5$ .

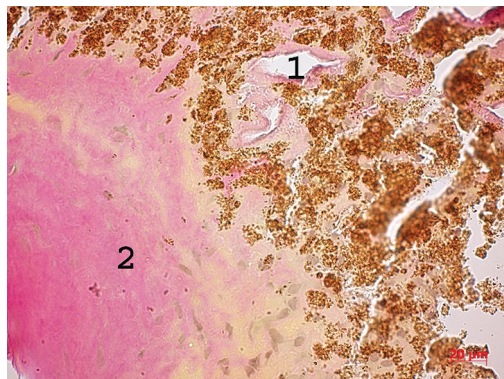


Рис. 2. Гистологический комплекс «скрытой» хориоидальной неоваскулярной мембраны: 1 — слой клеток пигментного эпителия; 2 — плотная волокнистая соединительная ткань. Окраска по Ван-Гизону.

(II)-ферратом калия, что приводило к образованию берлинской лазури, локализующейся на гликозаминогликанах (Кононский А.И., 1976). Препараты докрашивали эозином. Для определения коллагена I и III типов срезы импрегнировали солями серебра по Футу.

Во всех случаях проводили измерение толщины мембраны Бруха и слоя клеток ПЭ сетчатки в 8–10 полях зрения каждого образца при увеличении  $\times 1000$  с иммерсией. Коэффициент концентрации клеток ПЭ сетчатки на мембране Бруха подсчитывали по формуле: длина мембраны Бруха / количество клеток ПЭ  $\times 100\%$ .

На гистологических препаратах у пациентов с «классической» ХНМ (контрольная группа) был выявлен гистологический комплекс, состоящий из слоя клеток ПЭ с мембраной Бруха, фиброваскулярной мембраны, слоя сегментов фоторецепторов и иногда фрагментов хориоидеи (рис. 1).

Мембрана Бруха была набухшей, гоменизированной с явлениями зернистого распада, иногда наблюдалась её отслойка от базальной части клеток ПЭ. Между её внутренним коллагеновым слоем и базальной мембраной ПЭ в некоторых препаратах определялись рыхлые базальные ламеллярные отложения, представляющие собой мягкие друзы, пронизанные тонкими новообразованными капиллярами. Клетки ПЭ были дезориентированными, разрозненными и разрушенными, в их цитоплазме присутствовали липофусциновые гранулы. Наблюдались признаки миграции клеток ПЭ в толщу фиброзного компонента неоваскулярной мембраны.

Новообразованная фиброваскулярная

мембрана представляла собой рыхлую волокнистую соединительную ткань, где фиброзный компонент преобладал над васкулярным. Тонкие рыхлые разнонаправленные коллагеновые волокна были инфильтрированы клетками соединительной ткани — макрофагами и фибробластами, а также лимфоцитами. В некоторых препаратах в субретинальном пространстве наблюдались кровоизлияния из новообразованных сосудов, прорастающих из сосудистой оболочки через повреждённый слой клеток ПЭ.

Гистологический комплекс ХНМ основной группы также состоял из слоя клеток ПЭ с мембраной Бруха, собственно фиброзированной неоваскулярной мембраны и слоя сегментов фоторецепторов. В слое клеток ПЭ в отличие от контрольной группы обнаружены выраженные признаки гиперплазии.

ХНМ у 2 пациентов с высокой отслойкой ПЭ представляла собой плотную соединительную ткань, в которой отсутствовали кровеносные сосуды. При этом инфильтрация клетками соединительной ткани была скудная, выявлялись фибробластоподобные клетки, то есть в субретинальном пространстве был сформирован плотный аваскулярный рубец (рис. 2).

В 2 случаях в ХНМ определялись сосуды с суженным просветом, интимный слой которых был выстлан высоким эндотелием. В свободных и расширенных просветах сосудов выявлялось пристеночное стояние воспалительных клеток — лимфоцитов и эозинофилов. Стенка кровеносных сосудов была инфильтрирована макрофагами, нейтрофилами и редкими лимфоцитами. По сути ХНМ представляла собой очаг хронического гранулематозного воспаления, где

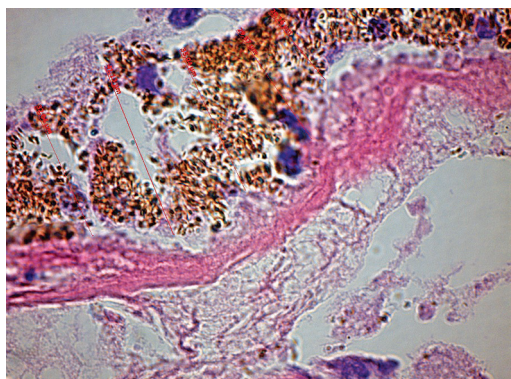


Рис. 3. Толщина пигментного слоя сетчатки и мембраны Бруха

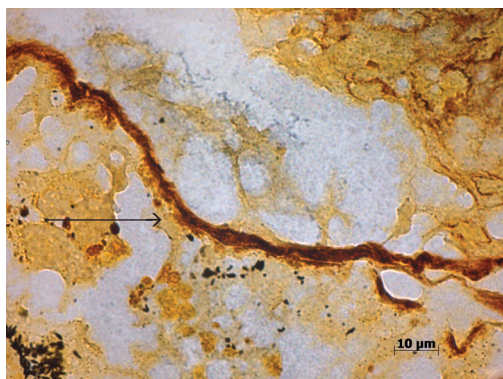


Рис. 4. «Скрытая» хориоидальная неоваскулярная мембрана. Положительное окрашивание мембраны Бруха на наличие коллагена I типа (↑). Импрегнация солями серебра по Футу

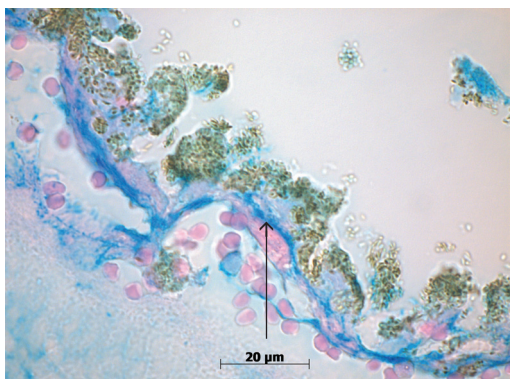


Рис. 5. «Классическая» мембрана. Наличие гликозаминогликанов в мембране Бруха и межклеточном матриксе слоя клеток пигментного эпителия (синее окрашивание, ↑). Окраска по Хейла с дополнительной окраской эозинном

многочисленные макрофагальные клетки образовывали полинуклеары — гигантские клетки инородных тел.

Для понимания механизма развития высокой отслойки ПЭ сетчатки у пациентов со «скрытой» ХНМ и резистентности к антивазопролиферативной терапии нами проведён сравнительный анализ наличия гликозаминогликанов, коллагена I и III типов, эластина и толщины пигментного слоя сетчатки и мембраны Бруха, составляющих основу наружного офтальмического барьера.

Средняя толщина пигментного слоя сетчатки у пациентов с высокой отслойкой ПЭ (основная группа) составила —  $16,08 \pm 4,64$  мкм, что на 30% больше, чем у пациентов в контрольной группе ( $11,22 \pm 3,38$  мкм,  $p < 0,05$ ). Средняя толщина мембраны Бруха в основной группе ( $6,7 \pm 0,19$  мкм) также была больше, чем в контрольной ( $5,7 \pm 3,8$  мкм,  $p < 0,05$ ; рис. 3).

При гистохимическом исследовании вы-

явлены качественные различия исследуемых групп при определении коллагена I и III типов. Так, в «классической» ХНМ они не выявлялись вовсе, а в мембране Бруха «скрытой» ХНМ обнаружен коллаген I типа (рис. 4). Известно, что коллаген I типа характерен для зрелой волокнистой соединительной ткани, его накопление может стать причиной утолщения мембраны Бруха, нарушения гидродинамики, снижения биодоступности лекарственных препаратов.

Гликозаминогликанов, напротив, выявлялись только в группе с «классической» ХНМ (рис. 5). Известно, что вследствие своего высокого содержания во внеклеточных матриксах гиалуроновая кислота играет важную роль в гидродинамике тканей. Гиалуроновая кислота связывает воду в межклеточных пространствах, повышая тем самым сопротивление тканей к сжатию, участвует в транспорте и распределении воды в тканях.

## ВЫВОДЫ

1. Развитие высокой отслойки пигментного эпителия у пациентов с влажной формой возрастной макулярной дегенерации может быть обусловлено выраженной экссудативной реакцией новообразованных и хориоидальных сосудов на фоне хронического гранулематозного воспаления и формированием плотного аваскулярного рубца в субретинальном пространстве.

2. У пациентов со «скрытой» хориоидальной неоваскулярной мембраной, осложнённой высокой отслойкой пигментного эпителия, установлено утолщение мембраны Бруха за счёт отложения на её наружной поверхности коллагена I типа, что

обуславливает нарушение местной гидродинамики и биодоступности фармакологических средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бикбов М.М., Алтынбаев В.Р., Ярмухаметова А.Л. Результативность методов хирургического лечения влажной формы возрастной макулярной дегенерации // Рос. офтальмол. ж. — 2011. — Т. 4, №3. — С. 35–39. [Bikbov M.M., Altynbaev U.R., Yarmukhametova A.L. Effectiveness of surgical treatment of age-related wet macular degeneration. *Rossiyskiy oftal'mologicheskiy zhurnal*. 2011; 4 (3): 35–39. (In Russ.)]

2. Будзинская М.В., Гурова И.В. Субретинальная неоваскулярная мембрана при возрастной макулярной дегенерации // Вестн. офтальмол. — 2006. — Т. 122, №4. — С. 49–54. [Budzinskaya M.V., Gurova I.V. Subretinal

neovascular membrane in age-related macular degeneration. *Vestnik oftal'mologii*. 2006; 122 (4): 49–54. (In Russ.)]

3. Лебедева А.И., Муслимов С.А., Мусина Л.А. Экспериментальное моделирование процесса хронического воспаления и фиброза // Биомедицина. — 2013. — Т. 1, №4. — С. 114–123. [Lebedeva A.I., Muslimov S.A., Musina L.A. Experimental modeling of the process of chronic inflammation and fibrosis. *Biomeditsina*. 2013; 1 (4): 114–123. (In Russ.)]

4. Klein R. Prevalence of age-related maculopathy // The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. — 1992. — Vol. 99. — P. 933–942.

5. Liebowitz H.M., Krueger D.E., Maunder L.R., Milton R.C. The Framingham Eye Study monograph: an ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973–1975 // *Surv. Ophthalmol.* — 1980. — Vol. 24. — P. 335–610.

УДК 616.147.3-007.64: 616.149.5: 616-076-079: 615.225.2

## ИССЛЕДОВАНИЕ НАЛИЧИЯ И ЛОКАЛИЗАЦИИ P2-РЕЦЕПТОРОВ В КРОВЕНОСНЫХ СОСУДАХ ЧЕЛОВЕКА

Булат Айратович Зиганшин<sup>1</sup>, Дмитрий Александрович Славин<sup>2</sup>,  
Данияр Фаридович Хазиахметов<sup>1</sup>, Анна Петровна Зиганшина<sup>1</sup>, Лев Ефимович Славин<sup>2</sup>,  
Роин Кондратьевич Джорджикия<sup>1</sup>, Айрат Усманович Зиганшин<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Казанский государственный медицинский университет, г. Казань, Россия;

<sup>2</sup>Казанская государственная медицинская академия, г. Казань, Россия

**Реферат**

**DOI: 10.17750/KMJ2015-368**

**Цель.** Провести сравнительное исследование наличия и локализации подтипов P2X- и P2Y-рецепторов в артерии жёлчного пузыря и большой подкожной вене человека (с варикозной болезнью и без неё).

**Методы.** Сегменты кровеносных сосудов человека, полученные интраоперационно, подвергали стандартному двухступенчатому иммуногистохимическому анализу с применением первичных и вторичных антител. Использовали первичные антитела к следующим подтипам рецепторов: P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2X<sub>4</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>, P2Y<sub>4</sub>. Проводили сравнение опытных образцов с контрольными, которые не обрабатывали первичными антителами.

**Результаты.** Иммуногистохимический анализ артерии жёлчного пузыря показал наличие рецепторов P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>. Все подтипы были обнаружены в мышечном слое артерии, а подтип P2Y<sub>1</sub> экспрессирован ещё и на поверхности эндотелиальных клеток. В большой подкожной вене больных без варикозной болезни были обнаружены подтипы рецепторов P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub> и P2Y<sub>1</sub>, все локализованные в гладкомышечном слое вены. По аналогии с артерией жёлчного пузыря P2Y<sub>1</sub>-рецептор также определялся в эндотелиальном слое вены. В то же время в мышечном слое большой подкожной вены, полученной от больных с варикозной болезнью, экспрессированы только P2X<sub>2</sub>- и P2Y<sub>1</sub>-подтипы рецепторов. На эндотелиальных клетках варикозно изменённых вен P2-рецепторы обнаружены не были.

**Вывод.** Различные подтипы P2-рецепторов представлены в гладкомышечном и эндотелиальном слоях артерии жёлчного пузыря и большой подкожной вены человека; различие в подтипах рецепторов, обнаруженных в образцах большой подкожной вены с варикозной болезнью и без неё, вероятнее всего, обусловлено перестройкой рецепторного аппарата, происходящей в процессе развития варикозной болезни.

**Ключевые слова:** артерия жёлчного пузыря, большая подкожная вена, P2-рецепторы, варикозная болезнь, иммуногистохимия.

## EVALUATION OF THE PRESENCE AND LOCALIZATION OF P2 RECEPTORS IN HUMAN BLOOD VESSELS

B.A. Ziganshin<sup>1</sup>, D.A. Slavin<sup>2</sup>, D.F. Khaziakhmetov<sup>1</sup>, A.P. Ziganshina<sup>1</sup>, L.E. Slavin<sup>2</sup>, R.K. Dzhordzhikiya<sup>1</sup>, A.U. Ziganshin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

<sup>2</sup>Kazan State Medical Academy, Kazan, Russia

**Aim.** To study the presence and localization of the P2X and P2Y receptor subtypes in the human cystic artery and great saphenous vein (with and without varicose disease).

**Methods.** Segments of the human blood vessels were stained using a standard two-step immunohistochemical analysis using primary and secondary antibodies. In the experiments primary antibodies to the following receptors were used: P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>2</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2X<sub>4</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub>, P2Y<sub>4</sub>. In order to determine the presence of a receptor in a vessel sample a comparison was made between staining of the experimental and the control samples, which were not treated with primary antibodies.

**Results.** Immunohistochemical analysis of the cystic artery showed the presence of P2X<sub>1</sub>, P2X<sub>3</sub>, P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>2</sub> receptors. All receptor subtypes were found to be located in the muscular layer of the artery, whereas the P2Y<sub>1</sub> receptor was also