

Артемов А.В.², Неверова О.Г.¹, Ильина С.И.¹

¹ Институт глазных болезней и тканевой терапии имени В.П. Филатова Национальной академии медицинских наук Украины, Одесса, Украина

² Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина

Artemov A.², Neverova O.¹, Ilyina S.¹

¹ Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Odessa, Ukraine

² Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

Эндотелий донорской роговицы в процессе старения

Donor cornea endothelium during ageing

Резюме

Представлены результаты исследования плотности эндотелия 153 роговиц, полученных для проведения сквозных и послойных кератопластик из глазного банка от 110 трупных доноров. Сравнение средних величин плотности клеток эндотелия роговицы в возрастном промежутке от 18 до 72 лет показало отсутствие тенденции к нарастанию потери клеток. При этом средняя величина потери в течение каждого десятилетия составила $7,3 \pm 3,2\%$. Представленные данные подтверждают ранее высказанное мнение, что старение роговицы, т.е. снижение ее функциональных способностей как объекта трансплантации, обусловлено возраст-независимой элиминацией клеток эндотелиального монослоя.

Ключевые слова: роговичный эндотелий, кератопластика, старение.

Abstract

There are presented the results of the study of endothelial density of 153 corneas from 110 cadaveric donors, obtained for penetrating and lamellar corneal grafting. Comparison of the average values of corneal endothelial cell density in the range from 18 to 72 years showed no tendency to increase the loss of cells. The average value of losses for each decade was $7.3 \pm 3.2\%$. The data confirm the previously expressed view that the aging of the cornea (decrease of its functional capabilities as the object of transplantation) is connected with age-independent elimination of endothelial cells.

Keywords: corneal endothelium, corneal grafting, ageing.

■ ВВЕДЕНИЕ

Новаторское предложение В.П. Филатова, позволившее с начала 30-х гг. прошлого века использовать для кератопластики трупную роговицу, открыло новую эру в трансплантологии. Одновременно был подтвержден медико-биологический афоризм: «наши органы и ткани стареют вместе с нами, а умирают после нас». Однако при всей очевид-



ности того, что роговица действительно является жизнеспособной тканью, длительное время оставалось неясным, как соотносится возраст донора со степенью функциональной «изношенности» роговичного трансплантата.

Уже к середине прошлого века стало понятно, что возраст донора является важным фактором, ограничивающим пригодность роговицы для кератопластики, однако объективных структурно-морфологических подтверждений этому не было, поэтому первоначально кератотрансплантологи ориентировались лишь на хронологические данные. Так, критический возрастной рубеж для сквозной пересадки был установлен на отметке в 65 лет. Указанный возрастной показатель был выбран чисто эмпирически и основывался лишь на вероятностном факторе, что не исключало получения негативного результата при пересадке роговичного трансплантата от молодых доноров.

Внедрение в клиническую практику зеркальных микроскопов позволило в конце 70-х гг. прошлого века обратить внимание на связь между плотностью клеток заднего эпителия (в клинической практике он обычно называется эндотелием) и способностью стромы роговицы противостоять онкоосмотическому давлению камерной влаги, обеспечивая прозрачность роговицы. Так, задний эпителий роговицы стал объектом пристального внимания не только офтальмологов, но и специалистов, занимающихся заготовкой донорского материала для кератопластики.

Первые эндотелиальные микроскопы для глазных банков, например, EB-1 (США), позволяли проводить исследование только в специальном гипотоническом растворе, визуализирующем межклеточные контакты, но повреждающем сами клетки. По этой причине время исследования лимитировалось 1–2 мин, а повторные изучения были невозможны. Отсутствие системы автоматического подсчета и слабая четкость клеточного монослоя влияли на качество измерений, что приводило к выбраковке большого числа паттернов и сказывалось на достоверности результатов. По этой причине в первых своих исследованиях мы могли опираться лишь на немногочисленные данные [1, 2]. Использование современных мультианализирующих эндотелиальных микроскопов для глазных банков позволяет получать объективные, не зависящие от опыта и пунктуальности оператора данные о характере эндотелиального монослоя в различные сроки после забора и консервации.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение связи между старением и изменением плотности заднего эпителия роговицы как фактора, влияющего на функциональную пригодность донорской роговицы для кератопластики.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа основана на анализе данных о плотности эндотелиальных клеток роговицы, полученных с помощью мультианализирующего эндотелиального микроскопа для глазных банков, позволяющего изучать корнеосклеральный фрагмент, находящийся в консервирующей среде, без риска повреждения трансплантата. Проанализированы данные о

плотности эндотелия 153 роговиц, полученных для проведения сквозных и послойных кератопластик из глазного банка, от 110 трупных доноров различного возраста (18–72 лет).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Современные мультианализирующие эндотелиальные микроскопы позволяют получить многостороннюю характеристику эндотелия роговицы, как правило, включающую 4–5 параметров. Эти данные, совместно с суправитальной окраской эндотелия, могут использоваться для комплексной оценки функциональной пригодности роговицы. Тем не менее нами использованы только данные о плотности заднего эпителия роговицы. Это обусловлено тем, что все остальные параметры в значительной мере зависят от условий и времени забора донорского материала, а также подвержены изменениям в процессе консервации.

Хорошо отражая степень функциональной пригодности (жизнеспособности) донорской роговицы, индивидуальные параметры клеток в меньшей мере или вообще (последнее, в частности, касается суправитальной окраски) не имеют отношения к возрасту донора. Напротив, плотность эндотелиальных клеток слабо зависит от сроков консервации, и следовательно, может служить объективным показателем возрастной изношенности роговицы.

Во всех объектах эндотелиальная микроскопия проводилась непосредственно после забора материала: в сроки от 1,5 до 23 ч после смерти, как показано в табл. 1.

У 20 доноров имелись данные повторных исследований плотности эндотелия в конце срока консервации, который колебался от 3 до 7 дней. В 12 случаях результаты повторных измерений совпали с первоначальными, в 6 расхождения были от 3 до 8%, в 2 – 10%. В 6 случаях при повторном измерении показатель плотности оказался ниже, в 2 – выше первого измерения. Эти данные в целом совпадают с результатами других исследований, подтверждающих, что холодовая консервация в пределах 7 дней не оказывает серьезного влияния на изменение плотности эндотелиальных клеток [3]. Тем не менее при анализе мы учитывали только данные первоначальных исследований.

Что касается времени между моментом смерти и исследованием, то, по мнению некоторых авторов, здесь имеется более выраженное негативное влияние на плотность эндотелиальных клеток [3]. Однако это касается промежутков времени, в течение которых одновременно про-

Таблица 1
Распределение объектов в соответствии со временем, прошедшим между смертью и моментом исследования

Срок исследования (время после смерти)	Количество объектов
менее 3 ч	2
менее 6 ч	47
менее 12 ч	79
менее 18 ч	20
менее 24 ч	5
Всего	153

исходят значительные изменения в качестве донорского материала. Вместе с тем подавляющее число анализируемых нами объектов (148 из 153 –96,7%) было исследовано в пределах 12–18 ч после смерти, что соответствует или приближается к оптимальным срокам для забора донорской роговицы. Все это позволяет считать, что основное влияние на плотность эндотелиальных клеток в нашем случае оказал возраст.

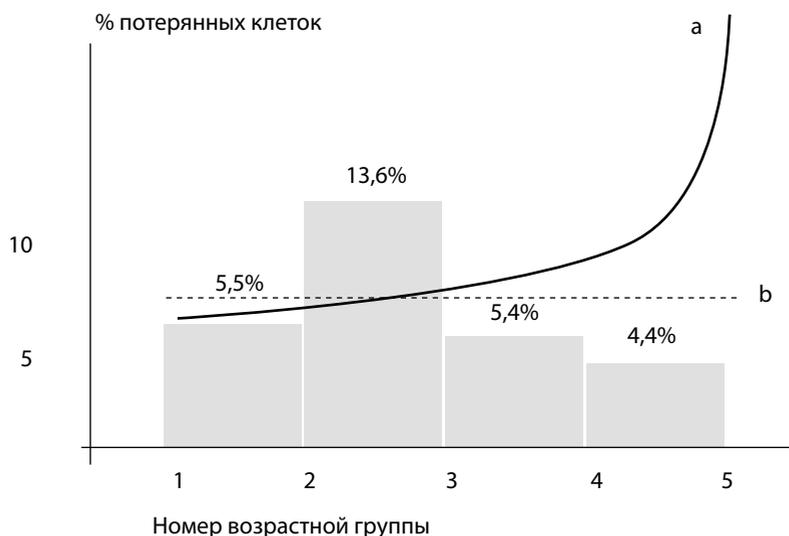
Все доноры, возраст которых колебался от 18 до 72 лет, были разбиты на 5 возрастных групп по десятилетиям. В 1-ю группу был включен один объект 18 лет, а в последнюю – один 72 лет. При разбивке на группы мы отошли от распространенной в геронтологической практике возрастной периодизации (молодой возраст – 20–34 лет, средний – 35–59 лет, пожилой – 60–74 лет) с целью более детальной (пошаговой) оценки возрастных изменений. Полученные данные представлены в табл. 2.

Наибольшая плотность клеток заднего эпителия роговицы (4700 кл/мм²) была выявлена у женщины 28 лет, наименьшая (1000 кл/мм²) у мужчины 58 лет. Средняя плотность эндотелиальных клеток составила 2895±335 кл/мм². Сравнение средних величин плотности клеток эндотелия роговицы показывает, что между 1-й возрастной группой (18–29 лет) и 2-й (30–39) разница составляет 200 кл/мм², т.е. 5,5% от среднего показателя 1-й возрастной группы. Различия между средними показателями последующих возрастных групп составили соответственно: 465 кл/мм² (13,6%), 160 кл/мм² (5,4%) и 125 кл/мм² (4,4%), как представлено на рисунке. Общая разница между средними показателями плотности первой и последней возрастной группы составила 950 кл/мм², т.е. за 4 возрастные декады – от 18–29 лет до 60–72 лет – средняя плотность роговичного эндотелия снизилась на 26,3%. Если же рассматривать среднюю величину относительной потери по декадам, то она составила 7,3±3,2%.

Как можно увидеть из рисунка, относительная потеря клеток между смежными десятилетиями на всем протяжении исследуемого возрастного интервала в основном находилась вблизи условной изолинии, пересекающей ось ординат на уровне средней декадной потери – 7,3% (пунктирная линия b). Резкое отличие имело место только на возрастном отрезке между 2-й и 3-й группой, что можно объяснить преобладанием во 2-й группе доноров, возраст которых был менее 35 лет (70%). Неравномерное распределение обусловлено малочисленностью этой группы (n=17). В 1-й группе (n=8), несмотря на малочисленность, распределение оказалось более равномерным.

Таблица 2
Возрастные изменения плотности клеток заднего эпителия роговицы

Номер группы	Возрастной промежуток	Плотность эндотелиальных клеток на 1 мм ² (M±m)	Количество наблюдений (n)
1	18–29 лет	3610±530	8
2	30–39 лет	3410±370	17
3	40–49 лет	2945±320	33
4	50–59 лет	2785±340	49
5	60–72 года	2660±280	46



Гистограмма относительных величин (в %) потери эндотелиальных клеток на временных отрезках между смежными десятилетиями, обозначенными номерами возрастных групп

В целом, несмотря на численную неоднородность возрастных групп, повлиявшую на результаты по декадам, можно отметить общую тенденцию. Она состоит в том, что на всем протяжении возрастного отрезка (18–72 года) потеря клеток не нарастает, а колеблется возле изолинии (b), характеризующей средний уровень потери клеток за декаду.

Условной линией (a) обозначена экспонента, отражающая математический принцип, известный как закон Гомпертца. Согласно этому закону, если принять за исходный уровень потерю клеток между 1-й и 2-й группами, то дальнейшая потеря должна возрастать, согласно тенденции, обозначенной линией (a). Однако приведенная схема показывает отсутствие этой тенденции. Отмеченную здесь закономерность можно увидеть и на примере исследований эндотелия роговицы, проводившихся в несколько отличных клинических условиях [4].

■ ВЫВОДЫ

Представленные данные свидетельствуют: хотя плотность эндотелиальных клеток неуклонно снижается с возрастом, относительная величина динамики потери клеток (в %) не возрастает по мере старения. Это положение противоречит математическому закону, сформулированному в 19 в. Б. Гомпертцом, согласно которому старение представляет собой возраст-зависимое снижение жизнеспособности, т.е. нарастание вероятности смерти (потери клеток) с возрастом. Таким образом, характер потери клеток эндотелия роговицы свидетельствует, что снижение клеточной плотности не является следствием старения самих клеток (точнее – их возраст-зависимой гибели).



■ ЛИТЕРАТУРА

1. Artemov A. (2010) Fenomen vozrast-nezavisimoy poteri kletok e'ndoteliya rogovicy kak otrazhenie universal'nogo mehanizma stareniya. Problemy stareniya i dolgoletiya [Phenomenon of age-independent cell loss of corneal endothelium as reflection of universal mechanism of aging]. Proceedings of the V Gerontology and Geriatrics Congress in Ukraine (Kyiv, Ukraine, October 12–14, 2010), vol. 19, no 3, pp. 221.
2. Artemov A. (2010) Starenie v rakurse oftal'mologii (original'naya koncepciya) [Aging from the perspective of ophthalmology (original concept)]. *Oftal'mologicheskie vedomosti (SPb-Rossiya)*, no 2, pp. 78–87.
3. Borzenok S. (2008) *Mediko-tehnologicheskie i metodologicheskie osnovy e'ffektivnoj deyatel'nosti glaznyh tkanevyh bankov Rossii v obespechenii operacij po skvoznoj transplantacii rogovicy* [Medical-technological and methodological base of effective activity of eye tissue banks of Russia in providing surgeries of penetrating corneal transplantation] (PhD Thesis), Москва, pp. 50.
4. Lucenko N., Zavgorodnyaya N., Isakova O. (2013) Sravnitel'nyj analiz morfometricheskikh harakteristik e'ndoteliya rogovicy pri hirurgicheskom lechenii katarakty v vozrastnom aspekte [Comparative analysis of corneal endothelium morphometric characteristics in the surgical treatment of cataracts in the age aspect]. *Oftal'mologiya. Vostochnaya Evropa*, vol. 2, no 17, pp. 8–14.

Поступила / Received: 12.02.2016

Контакты / Contacts: art_onlol@ukr.net