

© Коллектив авторов, 2013  
УДК 611.844.1.018

*Н. В. Корсакова, Е. М. Лузикова, О. А. Шацких, А. В. Никифорова и Н. И. Ларионова*

## ИММУНОРЕАКТИВНОСТЬ СТРУКТУР ХРУСТАЛИКА В НОРМЕ, ПРИ ЕГО ВОЗРАСТНОМ КОРКОВОМ И ВТОРИЧНОМ ПОМУТНЕНИИ У ЧЕЛОВЕКА

Кафедра госпитальной хирургии № 1 (зав. — проф. В. Е. Волков), кафедра цитологии, эмбриологии и гистологии (зав. — проф. Л. А. Любовцева), кафедра медицинской биологии (зав. — проф. С. П. Сапожников), медицинский факультет, Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова, г. Чебоксары

Методами иммуногистохимического исследования изучена иммунореактивность эпителия и вещества хрусталика человека к нейронспецифической энolahе (NSE), белку S-100, виментину (Vim),  $\alpha$ -гладкомышечному актину ( $\alpha$ -SMA) и эпителиальному мембранному антигену (EMA) в норме (n=10), при его возрастной корковой и вторичной катаракте (n=25). Выявлено, что при возрастной корковой и вторичной катаракте эпителий и волокна коркового отдела вещества хрусталика накапливают иммунореактивную метку к NSE, белку S-100, Vim, но не проявляют иммунопозитивности к  $\alpha$ -SMA и EMA. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об общности патогенетических механизмов возрастной корковой и вторичной катаракты с образованием клеток-шаров Адамюка — Эльшнига.

**Ключевые слова:** *хрусталик, возрастная катаракта, вторичная катаракта, фенотип клеток, патогенез*

Повсеместно отмечен значительный рост заболеваемости катарактой, которая признана основной (47%) причиной снижения зрения в мире [2]. Постоянно совершенствующаяся техника хирургического лечения до настоящего времени не лишена ряда послеоперационных осложнений, сопровождающихся повторным, значительным снижением зрения (вторичная катаракта, кистозная дистрофия сетчатки и др.). Причина этих осложнений хирургически неустранима, так как сложившийся возрастной нейродистрофический процесс (возрастная катаракта), имеющий в основе нарушения нейрогенной трофики составляющих орган тканей [1, 3, 6], побуждает его клетки уже не к репаративной, а патологической регенерации, одним из проявлений которой является изменение фенотипа этих клеток. Доказано, что иммунореактивность клеток хрусталика неодинакова в норме и при поражении различными видами катаракты [8, 9], что затрагивает фундаментальную проблему поддержания стабильности тканевой дифференцировки живого организма в различных физиологических и патологических условиях.

Полноценность восстановления хрусталика у различных видов животных сильно варьирует — от регенерации небольших участков до полного восстановления утраченного хрусталика. У человека полноценной регенерации хрусталика не про-

исходит, примером этому служит вторичная катаракта [5], которая развивается у 22,5% пациентов после успешно проведенного хирургического лечения возрастной катаракты [2]. Выделяют следующие виды вторичной катаракты: 1 — фиброз капсулы хрусталика; 2 — вторичная катаракта с образованием клеток-шаров Адамюка — Эльшнига (жемчужины Эльшнига — это шарообразные клеточные конгломераты на внутренней поверхности капсулы хрусталика, возникающие вследствие избыточной регенерации клеток эпителия хрусталика, оставшихся после хирургического лечения катаракты, которые приобретают вытянутую, отростчатую или шаровидную форму, а также способность к пролиферации и миграции [11]); 3 — утолщение капсулы хрусталика [2, 5]. Важно отметить, что в послеоперационном периоде у пациентов с возрастной корковой катарактой достоверно чаще формируется вторичная катаракта второго вида (с образованием клеток-шаров Адамюка — Эльшнига), а у пациентов с возрастной ядерной катарактой — первого вида (фиброз задней капсулы хрусталика) [2, 4, 5].

Таким образом, решение проблемы первичного возрастного и вторичного послеоперационного катарактогенеза связано с необходимостью расширения современных представлений о регенерации хрусталика в возрастном аспекте при помощи

### Сведения об авторах:

*Корсакова Надежда Витальевна* (e-mail: korsnv@rambler.ru), кафедра госпитальной хирургии № 1; *Лузиковна Елена Михайловна*, кафедра цитологии, эмбриологии и гистологии; *Шацких Оксана Алексеевна*, кафедра медицинской биологии; *Никифорова Анна Валерьевна*, *Ларионова Наталья Ильинична*, кафедра госпитальной хирургии № 1, кафедра офтальмологии и отоларингологии; Чувашский государственный университет им. И. Н. Ульянова, 428015, Чебоксары, Московский пр., 15

современных методов морфологического исследования.

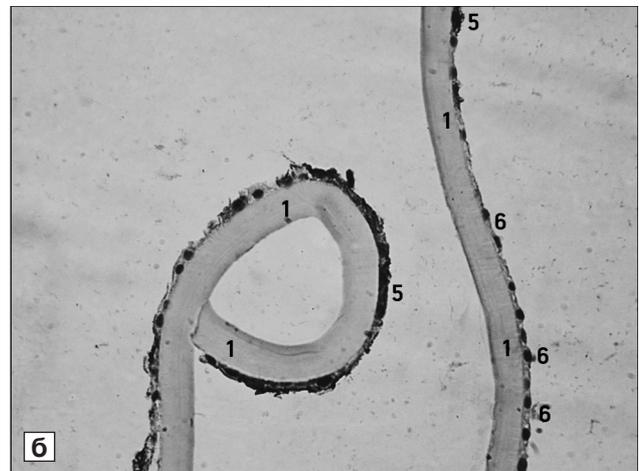
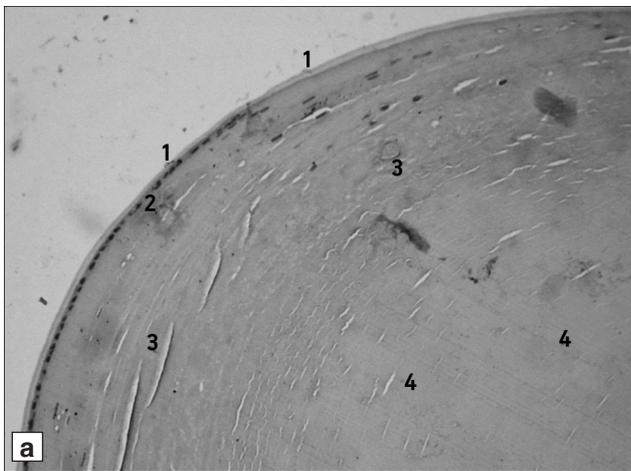
Цель настоящего исследования — изучение иммуногистохимической реактивности эпителия и волокон хрусталика человека в норме, при его возрастном корковом и вторичном помутнении.

**Материал и методы.** Изучены катарактально измененные хрусталики, полученные в ходе планового хирургического лечения возрастной катаракты 25 пациентов в возрасте 60–70 лет. Обязательным условием для включения указанного материала в исследование было развитие у пациента в послеоперационном периоде вторичной катаракты. Стандартный ход операции, предусмотренный в подписанном пациентом информированном согласии, не нарушен. Контролем служили интактные хрусталики людей, полученные при проведении плановой пересадки роговицы от 10 людей 20–30 лет не позднее 1 ч после их гибели, наступившей в результате несчастного случая. Материал для морфологического исследования предоставлен на основании разрешения этического комитета ГБОУ ДПО «Институт усовершенствования врачей» Министерства здравоохранения и социального развития Чувашии (протокол № 1 от 01.04.2011 г.).

Полученный в ходе операции материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формальдегида, обезвоживали в этаноле постепенно возрастающих концентраций и заливали в парафин. Срезы хрусталика толщиной 15 мкм получали с помощью ротаторного микротомы МПС-2. После депарафинирования и регидратации в этаноле нисходящих концентраций срезы погружали в восстанавливающий цитратный

буфер (рН 6,0), затем проводили высокотемпературную обработку прогреванием на водяной бане при 90–95 °С в течение 30 мин с целью демаскирования искомым антигенов. После ингибирования эндогенной пероксидазы 3% раствором перекиси водорода на метаноле проводили иммуногистохимическую реакцию методом трехэтапного непрямого иммуноферментного анализа с использованием первичных моноклональных антител (МКАТ) к следующим антигенным маркерам: нейронспецифической энолазе (NSE), белку S-100 (S-100), виментину (Vim),  $\alpha$ -актину гладких миоцитов ( $\alpha$ -SMA) и панцитокератину (EMA). Указанные первичные моноклональные антитела использованы в разведениях согласно прилагаемым к ним рекомендациям фирмы-производителя (Novocastra, Великобритания) — NSE (1:50), S-100 (1:50), Vim (1:100),  $\alpha$ -SMA (1:50), EMA (1:200). Продукт иммуногистохимической реакции выявляли при помощи хромоген-субстратной смеси на основе 3-амино-9-этилкарбазола. Специфичность экспрессии искомого антигена подтверждалась отсутствием ее в контрольных срезах, не обработанных первичными моноклональными антителами. На заключительном этапе срезы докрасивали гематоксилином и заключали в глицерин—желатин.

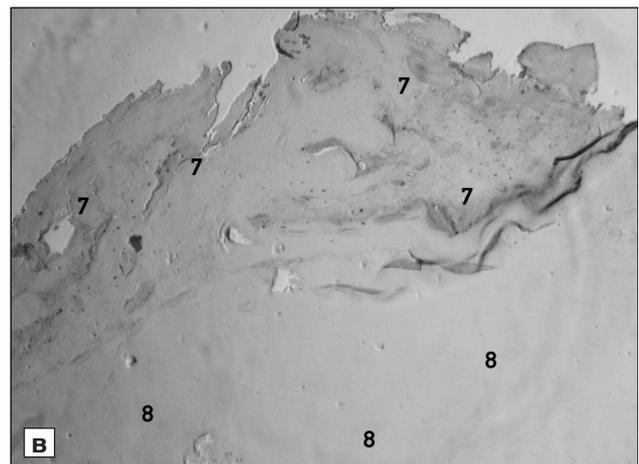
**Результаты исследования.** Окраска срезов интактного хрусталика человека гематоксилином—эозином выявляет его капсулу, эпителий и волокна, образующие вещество хрусталика, в котором выделяют корковый и ядерный отделы (кора и ядро хрусталика) (рисунк, а). При проведении иммуногистохимических реакций на NSE,



#### Хрусталик человека.

а — интактный хрусталик; б, в — хрусталик, пораженный корковым видом возрастной катаракты.

1 — капсула хрусталика; 2 — клетки эпителия хрусталика; 3 — корковый отдел вещества хрусталика; 4 — ядерный отдел вещества хрусталика; 5 — NSE-иммунопозитивные клетки экваториальной зоны эпителия хрусталика; 6 — NSE-иммунонегативные клетки центральной зоны эпителия хрусталика; 7 — NSE-иммунопозитивные участки коркового отдела вещества хрусталика; 8 — NSE-иммунонегативный ядерный отдел вещества хрусталика. а — окраска гематоксилином — эозином; б, в — иммуногистохимическая реакция на нейронспецифическую энолазу (NSE). а — об. 20, ок. 15; б, в — об. 40, ок. 15



**Иммуногистохимическая характеристика эпителия и волокон хрусталика человека в норме и при его возрастном корковом и вторичном помутнении**

Объект исследования	Нейронспецифическая энзолаза (NSE)		Белок S-100		Виментин (Vim)		Панцитокератин (EMA)		$\alpha$ -актин гладких миоцитов ( $\alpha$ -SMA)	
Интактный хрусталик	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Хрусталик при возрастной катаракте (корковый вид)	+	–	+	–	+	–	–	–	–	–
Хрусталик при вторичной катаракте (второй вид)	+	–	+	–	+	–	–	–	–	–

белок S-100, Vim,  $\alpha$ -SMA и EMA в интактном хрусталике человека иммунопозитивных структур выявлено не было.

На срезах катарактально измененных хрусталиков человека, окрашенных гематоксилином—эозином, обнаруживаются отчетливые морфологические признаки коркового вида возрастной катаракты: гидратация коры хрусталика, внеклеточное скопление жидкости, клиновидные пространства, заполненные детритом и вакуолями, кроме того, на границе коры и ядра хрусталика сформирована зона интенсивной вакуолизации. Ядро хрусталика сдавлено оводненными корковыми массами, однако структурных отклонений от нормы не имеется.

Иммуногистохимически в цитоплазме клеток экваториальной (ростковый) зоны эпителия хрусталика, пораженного возрастной корковой катарактой, выявлено интенсивное накопление NSE-, S-100- и Vim-иммунопозитивных гранул (см. рисунок, б, *таблица*). В клиновидных пространствах между набухших волокон коры хрусталика, заполненных детритом и вакуолями, также обнаружена большая концентрация продукта иммуносpezifической реакции на NSE (см. рисунок, в), белок S-100 и Vim. Выявлена умеренно выраженная иммунопозитивная реакция на NSE, белок S-100 и Vim в зоне вакуолизации, расположенной на границе коры и ядра хрусталика. Важно отметить, что в ядре хрусталика реакция с названными антителами отрицательна. В хрусталиках, пораженных возрастной корковой катарактой, реакции на  $\alpha$ -SMA и EMA не обнаружено (см. *таблицу*).

Обсуждение полученных данных. Анализируя результаты проведенного исследования (см. *таблицу*), следует подчеркнуть, что в норме капсула, эпителий и волокна хрусталика человека не дают реакции на NSE, белок S-100, Vim,  $\alpha$ -SMA и EMA, следовательно, в интактном хрусталике отсутствуют иммуногистохимические признаки основных типов тканей организма. Причиной этому, вероятно, является интактность гематофтальмического барьера, обеспечивающего структурам глазного яблока статус «забарьерных». Однако доказано, что в

возникновении возрастных заболеваний органа зрения, в том числе и катаракты, важная роль принадлежит нервной трофике, нарушение которой сопровождается изменением проницаемости гематофтальмического барьера [7] и, по мнению многих исследователей, способно инициировать в клетках новой популяции изменение скорости и качества синтезируемых белков [3], что может стать важным звеном в патогенезе помутнения хрусталика, так как способность его клеток к экспрессии виментина и  $\alpha$ -актина гладких миоцитов установлена [9, 10].

Сопоставляя полученные в данном исследовании сведения об иммунореактивности эпителия и волокон хрусталика при возрастной корковой и вторичной катаракте с данными об источнике образования клеток-шаров Адамюка—Эльшнига [11], можно сказать, что полученные результаты помогают внести важные уточнения в имеющиеся представления о способности хрусталика человека к регенерации, заключающиеся в том, что возникающую в послеоперационном периоде вторичную катаракту необходимо рассматривать как пример не репаративной, а патологической регенерации, так как она сопряжена с изменением фенотипа и избыточной пролиферацией клеток эпителия хрусталика, оставшихся после хирургического извлечения вещества катарактально измененного хрусталика.

Таким образом, выявленное сходство в изменении иммунореактивности эпителия и волокон хрусталика человека при возрастной корковой катаракте и при ее послеоперационном осложнении — вторичной катаракте (второго вида, протекающей с образованием клеток-шаров Адамюка—Эльшнига) может служить важным доказательством общности их патогенеза. Результаты проведенного исследования ставят перед нами новую задачу по изучению и сопоставлению патогенетических механизмов возрастной ядерной катаракты и фиброза задней капсулы хрусталика.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» Министерства образования и науки Российской Федерации (номер соглашения 14.В37.21.0221).*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ажила Я. И. Трофическая функция нервной системы. М., Наука, 1990.
2. Веселовская З. Ф. Катаракта. Киев, Книга плюс, 2002.
3. Волкова О. В. Нейродистрофический процесс. М., Медицина, 1978.
4. Корсакова Н. В. Возрастная катаракта человека: современные аспекты патогенеза. Чебоксары, Чувашия, 2010.
5. Мальцев Э. В. и Павлюченко К. П. Биологические особенности и заболевания хрусталика. Одесса, Астропринт, 2002.
6. Швалёв В. Н. Некоторые морфологические основы учения о трофической функции нервной системы. Арх. анат., 1971, т. 67, вып. 8, с. 8–29.
7. Шлёнская О. В. и Поздеева Н. А. Оценка гематоофтальмического барьера при возрастной макулярной дистрофии по данным лазерной тиндалеметрии. В кн.: Вопросы клинической и экспериментальной медицины: Материалы региональной науч.-практ. конф. Чебоксары, Изд-во Чувашск. ун-та, 2009, с. 173–176.
8. Hernandez C. M. Cataracts: Causes, Symptoms, and Surgery. New York, NovaPublishers, 2010.
9. Saika S., Miyamoto T., Tanaka S. et al. Response of lens epithelial cells to injury: role of lumican in epithelial mesenchymal transition. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2003, v. 44, № 5, p. 2094–2102.
10. Synder A., Omulecka A., Ratynska M. et al. A study of human lens epithelial cells by light and electron microscopy and by immunohistochemistry in different types of cataracts. Klin. Oczna., 2002, v. 104, № 5–6, p. 369–373.
11. Sveinsson O. The ultrastructure of Elschnig's pearls in a pseudophakic eye. Acta Ophthalmol. (Scand). 1993, v. 71, № 1, p. 95–98.

Поступила в редакцию 13.09.2012  
Получена после доработки 15.01.2013

### IMMUNE REACTIVITY OF HUMAN LENS STRUCTURES IN NORM, AGE-RELATED CORTICAL AND SECONDARY OPACIFICATION

*N. V. Korsakova, Ye. M. Luzikova, O. A. Shatskykh,  
A. V. Nikiforova and N. I. Larionova*

Using immunohistochemical methods, the immune reactivity of human lens epithelium and fibers to NSE, S-100 protein, Vim,  $\alpha$ -SMA and EMA was studied in 10 normal persons and in 25 patients with its age-related cortical and secondary cataract. It was demonstrated that in age-related cortical and secondary cataract lens epithelium and fibers became more reactive to antibodies against NSE, S-100 protein and Vim, but showed no immunopositivity to  $\alpha$ -SMA and EMA. Thus, the data obtained suggest some common pathogenetic mechanisms of age-related cortical and secondary cataract development with the formation of Adamyuk–Elschnig pearls.

**Key words:** *lens, secondary cataract, age-related cataract, cell phenotype, pathogenesis*

Hospital Surgery Department №1, Department of Cytology, Embryology and Histology, Department of Medical Biology, Medical Faculty, I. N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary