

17. **Ritch R., Shields M. B.** The secondary glaucoma. St. Louis., Toronto-London, 1982. P. 162-193.
18. **Shields M. B.** Glaucoma in diabetic patients // Ocular problems in diabetes mellitus / Blackwell Scientific Publ. — Boston, 1992. — P. 307-319.
19. **Shields M. B.** Textbook of glaucoma. 1997. P. 269-286.
20. **Tolentino M. J., Miller J. W., Gragoudas E. S. et al.** Vascular endothelial growth factor is sufficient to produce iris neovascularization and neovascular glaucoma in a nonhuman primate // Arch. Ophthalmol. 1996. Vol. 114. — No. 8. P. 964-970.
21. **Weiss D. I., Shaffer R. N., Nehrenberg T. R.** Neovascular glaucoma complicating carotid-cavernous fistula // Arch. Ophthalmol. 1963. Vol. 69. P. 304-310.

Поступила 26.12.2009

Рецензент канд. мед. наук Г. О. Ключев

PRESENT-DAY VIEW ON THE NEOVASCULAR GLAUCOMA

I. M. Beskorovajna

In the review data based on modern literature about classification, pathogenesis and clinics-morphological changes, that are usual for secondary neovascular glaucoma



УДК 617.713:611.841.2:612.014.462.5

СУЧАСНІ ДАНІ ПРО БУДОВУ РОГІВКИ ЛЮДИНИ І МЕТОДИ ЇЇ КОНСЕРВАЦІЇ

М. В. Турчин, к. м. н., **О. В. Артемов**, к. м. н., **І. М. Гребенюк**, лікар

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського (Тернопіль)
ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України», Одеса

Вступ. Пересадка рогівки ока — найпоширеніша в наші дні операція по трансплантації, яка проводиться вже біля ста років. Пересадка рогівки з самого початку стикалась з такими проблемами, як забезпечення повноцінного якісного донорського матеріалу, вдосконалення техніки пересадки, боротьба з так званою хворобою трансплантата, викликаною несумісністю між донором і реципієнтом. Збір донорського матеріалу пов'язаний з рядом організаційних труднощів. В багатьох країнах існують юридичні основи для забору трупного аллотрансплантаційного матеріалу. В сучасних умовах на тлі різкого збільшення промислового, дорожнього і побутового травматизму, порушення екологічного балансу біосфери, загострення регіональних і міжнаціональних конфліктів та відповідно, зростання частоти патології рогівки, постала нагальна проблема дефіциту донорського матеріалу. Це стало стимулом до пошуку різних методик приготування ксеногенного донорського матеріалу.

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО БУДОВУ ЛЮДСЬКОЇ РОГІВКИ

Наші знання будови рогівки постійно вдосконалюються. Вивчення регенерації епітелію після травми, кератопластики, різного фізичного впливу на рогівку дозволило встановити особливості структури і функції міжклітинних контактів. Широке використання рефракційної хірургії було стимулом до вивчення ролі кератоцитів і біохімічної організації строми рогівки. Використання в офтальмології

лазерного випромінювання виявило необхідність більш детального вивчення структури рогівки. Рогівка розвивається з ектомезенхіми, яка оточує очний бокал під час ембріонального розвитку. Товщина рогівки в центрі дорівнює 0,52 мм, а по периферії - 0,67 мм [35]. Морфологічно в рогівці виділяють п'ять шарів: передній епітелій, передня погранична (боуменова) пластинка, строма рогівки, задня погранична (десцеметова) пластинка і задній епітелій рогівки (ендотелій). Ряд авторів приводять ще один шар - сльозну плівку, яка має велике фізіологічне значення, але в гістологічному значенні не є структурним компонентом рогівки [30,54].

Передній епітелій у відповідності з гістологічною номенклатурою відноситься до багат шарового плоского епітелію. Прозорість епітелію залежить від однорідності коефіцієнта заломлення світлового променя клітинним шаром.

Товщина переднього епітелію рогівки становить 50,7 мкм [54]. Він складається з 3-6 покриваючих один одного клітинних шарів. Клітини найбільш поверхневого шару мають плоску форму, в зв'язку з чим епітелій і дістав свою назву. Довжина плоских клітин — 45 мкм, а товщина — 4 мкм. Ці клітини мають найбільшу площу, яка і збільшується в напрямку до периферії рогівки (850 мкм на периферії і 560 мкм в центрі) [31]. Між епітеліоцитами визначається велика кількість десмосом. Обернена назовні клітинна поверхня епітеліоцитів утворює велику кількість мікроворсин висотою 1—2 мкм і

© М. В. Турчин, О. В. Артемов, І. М. Гребенюк, 2010

мікроскладок, покритих глікокаліксом [51, 52]. Шар глікокаліксу, товщиною 300 нм, зберігається після гістологічної обробки [21, 22, 46]. Складається він із глікопротеїдів і багаточисленних мікрофіламентів, довжиною 150 нм. Мікрофіламенти прикріплюються до цитоплазматичної мембрани клітин. Основною функцією мікрворсин є стабілізація сльозної плівки на поверхні рогівки. Серед поверхнево розміщених епітеліоцитів виявлені «світлі» і «темні» клітини, які відрізняються кількістю мікрворсинок. На думку ряду авторів, «темні» клітини є більш старими і в найближчий час мають бути «злуцені». Цитоплазма епітеліоцитів поверхневих шарів насичена органідами (тонофіламенти, вільні рибосоми, ендоплазматичний ретикулум, апарат Гольджі). Мітохондрії, як правило, невеликого розміру і зустрічаються нечасто. Це свідчить про низький рівень аеробного окислення і велику залежність дихання клітин від пентозного шляху метаболізму. Часто зустрічаються центріолі. В цитоплазмі можна також виявити включення глікогену у вигляді мілкодисперсних гранул, розмірами 20—30 нм. Кількість зерен глікогену помітно зменшується при гіпоксії епітеліоцитів і при регенерації клітин в посттравматичному періоді [34]. В поверхневих клітинах переднього епітелію видно багаточисленні бульбашки, зв'язані з апаратом Гольджі.

Середній (перехідний) шар переднього епітелію складається з 2 чи 3 шарів клітин — крилоподібної чи сфероподібної форми. Діаметр клітин — приблизно 12—15 мкм. Ядра цих клітин, як і поверхневих, своєю довгою віссю орієнтовані паралельно поверхні рогівки. Їх цитоплазматичні відростки проникають між тілами сусідніх клітин. Цитоплазма насичена органідами.

Базальний шар представляє собою один шар високих полігональних клітин, розміром 18x10 мкм. Ядра клітин базального шару мають діаметр 5. 7 мкм і розміщені в апікальній частині клітин. В цьому клітинному шарі визначається мітотичне ділення. Власне внаслідок цього цей шар клітин називають ще гермінативним. Один мітоз зустрічається на 250 клітин. Значно більша кількість мітозів визначається серед клітин базального шару, по периферії рогівки. При мітотичному діленні базальних клітин епітелію дочірні клітини переміщуються допереду в шар крилоподібних клітин. При цьому клітини зберігають свою полігональну форму, але стають тоншими. В базальному шарі переднього епітелію можна виявити клітини неепітеліального походження. В першу чергу до таких необхідно віднести дендритичні клітини. Виділяють два типи клітин дендритичної форми [57, 58]. Перший тип відноситься до меланоцитів, а другий — до так званих клітин Ларгенганса. Клітини Ларгенганса несуть функцію імунокомпетентних клітин. Власне вони розпізнають чужерідний антиген і передають

одержану інформацію лімфоцитам [15, 54, 63]. Ці клітини появляються в стромі рогівки — досить рано. В базальному шарі доволі часто можна побачити і лімфоцити і макрофаги.

Базальна мембрана переднього епітелію фарбується при проведенні ШИК-реакції в рожевий колір (PAS-позитивна). Товщина її коливається від 75 до 100 нм [27]. Базальна мембрана формується завдяки синтетичній діяльності базальних клітин епітелію. Ці клітини утворюють і напівдесмосоми. Базальна мембрана складається з двох структурних компонентів — гранулярного і волокнистого. Глибокий шар осміофільний і має товщину 30-60 нм. Називають цей шар lamina densa (темна пластинка). Товщина поверхневого шару (lamina lucida) — 24 нм. Lamina lucida базальної мембрани представляє собою аморфну пластинку, спаяну з тілом напівдесмосоми. Цю зону пересікають «якірні» філаменти, які потім проникають в lamina densa базальної мембрани і закінчуються в боуменовій оболонці. Перелічені структури складаються із колагену VII типу. Імуноморфологічно виявлені і особливості хімічної організації базальної мембрани. Так, lamina lucida складається із глікопротеїду ламініна і бульозного пемфікоїдного антигену. Lamina densa складається із колагену IV типу. В базальній мембрані виявлено також фібронектин. Базальна мембрана порушується протеолітичними ферментами (трипсин, хемотрипсин).

Боуменова оболонка (передня погранична пластинка; lamina limitans anterior; Bowman) розміщена під епітелієм. Товщина її складає 8—14 мкм, і виявляється вона при мікроскопічному дослідженні тільки у приматів, частини птахів і рептилій, а також у риб. Її відсутність у нижчих тварин призводить до зміни еластичності рогівки.

Ультраструктурно боуменова оболонка складається із безладно розміщених і щільно упакованих колагенових фібрил діаметром 14—27 нм і довжиною 240—270 нм. Періодичність поперечної смугастості волокон дорівнює 64 нм. Основна речовина рогівки має такий же склад, як і основна речовина стромы. Оболонка Боумена складається із колагену I типу — основного структурного компоненту рогівки і склери, а також колагену V, VI, III і VII типів [36, 43, 54]. Ряд дослідників виявили колаген TV типу [26]. Передня поверхня боуменової оболонки, межуюча з lamina vitrea базальної мембрани епітеліальних клітин, гладка, а задня поверхня — нерівна [33]. В нормі боуменова оболонка не містить клітин. Першою ознакою розвитку патологічного стану рогівки є поява в цій зоні клітин.

Власна речовина (stroma) рогівки (substantia propria corneae). Строма складає 90% товщини рогівки (450 мкм в центральних ділянках) і складається з трьох компонентів: колагенових пластин, клітин і основної речовини. У відповідності з гістологічною

номенклатурою строма представляє собою щільну оформлену сполучну тканину. Існує дві теорії, які пояснюють прозорість строми рогівки. Перша запропонована Maugice [38], яка говорить, що рогівкові колагенові волокна формують решітчасту структуру, яка зменшує світлорозсіювання завдяки інтерференції від кожної фібрили. Доти, поки фібрили розміщені в решітці рівномірно і проміжок між ними менше довжини хвилі видимого світла (400—700 нм), рогівка залишається прозорою. Коли ж відстань між фібрилами збільшується, загальна інтерференція вже не має місця і рогівка мутніє. Goldman, Benedek [23] стверджують, що рогівка прозора внаслідок того, що фібрили досить малі по відношенню до довжини світла і не заломлюють світло при проходженні через них, поки вони не перевищують довжини хвилі світла.

В теперішній час прозорість строми рогівки пов'язують з рядом структурних її особливостей і хімічним складом. Велике значення має строга орієнтація колагенових пластин. Має також значення визначене співвідношення між колагеном і матричними білками (протеогліканами) [40, 45]. Порушення цього взаємовідношення призводить до помутніння рогівки.

Кожна стромальна пластина складається з пучка колагенових волокон, орієнтованих паралельно одне одному. Фібрили мають типову смугастість; рівну 64 нм і характерну для колагенових волокон інших типів сполучної тканини. Колагенові волокна складаються, в основному, із колагену I типу, хоча виявлений і колаген III, VI і XII типів [9, 26, 36, 37, 43, 54]. Відмічається унікальна постійність діаметру фібрил, хоча і виявляється невелике збільшення їх діаметру в залежності від глибини стромальної пластини. Фібрили поверхневих шарів мають діаметр 27 нм, а задніх — 35 нм. Колагенові фібрили складаються в пластини, напрямом яких залежить від глибини шару рогівки. Товщина однієї пластини коливається від 1,5 до 2,5 мкм, а ширина від 9 до 260 мкм. Число колагенових пластин становить 300 в центральних ділянках рогівки і збільшується до 500 по периферії [53].

Стромальні пластини задніх відділів рогівки поширюються циркулярно вздовж лімба, формуючи «циркулярну зв'язку» [14, 44]. А стромальні пластини передніх шарів розміщуються паралельно одне одному і паралельно поверхні рогівки.

Паралельне розміщення пластин передніх відділів строми рогівки і збереження подібного розміщення на межі із задніми шарами дозволяють виконувати міжпластинчасте розшарування рогівки при кератопластиці [39].

Необхідно відмітити, що передні і задні шари строми відрізняються як будовою, так і фізико-хімічними властивостями. Так, задні шари строми більш впорядковані [20], більш гідратовані [62], ма-

ють більш низький заломлюючий індекс [49]. Окрім цього, колагенові пластини задніх шарів строми більш широкі і товсті (100-200 мкм — ширина і 1,0-2,5 мкм — товщина) передніх шарів (0,5-30 мкм — ширина і 0,2-1,2 мкм — товщина) [33, 41, 42]. Стромальні пластини занурені в основну речовину, яка представлена різними типами протеогліканів. Гідрофільна частина основної речовини глікозаміногліканів, в яку занурені колагенові волокна, набуває форму протеогліканів шляхом ковалентного сполучення глікозаміногліканів з білками. Протеоглікани мають доволі різноманітну хімічну будову. Молекули глікозаміногліканів облягають волокна і орієнтуються перпендикулярно колагеновому волокну. Власне, зв'язок між волокнами і протеогліканами забезпечує прозорість рогівки [45].

Клітини строми (кератоцити). Основним клітинним елементом строми рогівки є кератоцит. Кератоцити складають 2,4—5,0% об'єму строми.

Найбільш близькі кератоцити по походженню і будові до фіброцитів. Виявляються вони у всіх ділянках строми, але з різною щільністю. Кератоцити мають довгі відростки, які орієнтовані паралельно колагеновим пластинам. Товщина кератоцитів дорівнює приблизно 2 мкм. При цьому ядро виглядає непропорційно великим.

Імуноморфологічно в цитоплазмі клітин виявлені колагени III, V і VI типів [36, 37, 54]. Цитоплазма кератоцитів бідна органοїдами. В прямому контакті з цитоплазматичною мембраною можна виявити плями базальноподібного волокнистого матеріалу, особливо по периферії рогівки. Щільний контакт цього матеріалу з колагеновими фібрилами строми призводить до утворення періодичної структури. Навколо багатьох кератоцитів відмічається скупчення фібрилярного і зернистого матеріалу, який є структурним компонентом майбутніх колагенових волокон і власної речовини. Основна функція кератоцитів — синтез міжклітинної речовини колагенових фібрил в період ембріогенезу, після пошкодження рогівки, а також підтримка метаболізму строми протягом усього життя. Birik і Trelstad встановили, що поверхня фіброblastів відповідає за просторову орієнтацію колагенових фібрил. Власне завдяки цій властивості формуються їх пучки. В стромі рогівки зустрічаються лімфоцити, макрофаги і поліморфноядерні лейкоцити.

Задня погранична (десцеметова) пластинка (lamina limitans posterior corneae; Descemet). Десцеметова оболонка при світловій мікроскопії виглядає безструктурною мембраною, яка «покриває» задню поверхню строми рогівки. В гистогенетичному і структурному відношенні вона представляє собою базальну мембрану заднього епітелію рогівки (ендотелію), який її продукує. Еластичність є однією із важливих її характеристик. Волокна десцеметової мембрани утворюються протягом усього життя

людини. Як і інші базальні мембрани, десцеметова оболонка PAS-позитивна і складається з коротких і тонких фібрил (10 ім). Фібрили, в свою чергу, утворені колагеном IV типу і розміщені в глікопротеїновій основній речовині [19]. При ультраструктурному дослідженні в мембрані виділяють дві ділянки [11, 24, 27, 32]. Передня її третина має товщину 1-4 мкм і задні дві третини — 5-15 мкм.

Передній шар десцеметової оболонки, який контактує із стромою, має багатошаровий пластинчастий вигляд, а задній — гранульований. Власне передній шар виникає в ембріональному періоді першим. На тангенціальних зрізах цей шар складається з однорідних пластин колагенових волокон, які утворюють рівнобічні трикутники. Довжина кожної сторони рівна 110 нм. Трикутники зв'язані електроннощільними вузлами [60]. Ці сполучення з'являються на 5 місяці внутріутробного життя, коли мають товщину 3,1 мкм (2,2 — 4,5 мкм). Задні 2/3 мембрани утворюються вже після народження і складаються з гомогенного фіброгранулярного матеріалу. В мембрані, окрім переважаючого колагену IV типу, знайдені колагени III, V, VI і VIII типів [54].

Не дивлячись на відсутність в мембрані Десцемета еластичних волокон, вона еластична. Десцеметова мембрана стійка у відношенні до протеолітичних ферментів.

Ендотелій (задній епітелій рогівки). Ендотелій рогівки представляє собою один шар плоских гексагональних клітин (плоский одношаровий епітелій), розміщених на десцеметовій оболонці. Поширена думка про те, що він походить із клітин нейтрального гребеня [47, 54, 61].

Ендотелій рогівки розглядається як один із найбільш важливих структурних компонентів, що забезпечують прозорість рогівки [25, 64]. При цьому показано, що забезпечення прозорості рогівки пов'язане із структурною організацією самої клітини, характером міжклітинних контактів і розміщенням ендотеліальних клітин [12, 16, 17]. Основною функцією ендотеліальних клітин при цьому є підтримка постійного гідростатичного тиску стромі рогівки. Власне важлива роль ендотелію в збереженні прозорості рогівки і є причиною багаточисленних досліджень, спрямованих на вивчення будови і функції цієї структури ока. Останні дослідження показали, що у дорослих кількість ендотеліальних клітин обмежена і досить постійна. Їх кількість $\approx 500\,000$. У молодих людей розмір клітин рівний 18-20 мкм (висота — 5-6 мкм), а в більш пізньому віці — 40 мкм [59]. З'являється бімодальність розподілу клітин, як по розмірах, так і по складу ДНК ядер [8]. Ендотеліальні клітини рогівки приєднуються до десцеметової оболонки за допомогою напівдесмосом. Клітини, які лежать поряд, щільно приєднуються одна до одної і десмосомами і затульними пластинками. Останні розміщені навколо апікальної по-

верхні клітин і закривають міжклітинний простір, забезпечуючи бар'єрну функцію ендотелію. Клітини, що лежать поряд, сполучаються також за допомогою цитоплазматичних виростів, які вдаються в тіло сусідньої клітини. Наявність контактів між клітинами передбачає пропускну властивість ендотеліального шару. Вони обмежують пасивний транспорт в строму рогівки. На апікальній поверхні кожної ендотеліальної клітини розміщується від 20 до 30 мікрворсинок висотою 0,5—0,6 мкм і шириною 0,1—0,2 мкм. Власне ці утворення значно збільшують площу контакту клітинної поверхні з вологою передньої камери ока. Можна виявити і війки. Їх частіше видно по периферії рогівки [55, 56]. Виявлення війок Hogan, Alva-rado, Weddell [28] дозволило представити, що ендотеліальні клітини мають одне походження з клітинами трабекулярної сітки. Цитоплазма ендотеліоцитів багата мітохондріями, які забезпечують енергією активний транспорт, секрецію і високий рівень синтезу протеїнів. Ендотеліоцити містять мітохондрії в значно більшій кількості ніж інші клітини ока за виключенням рецепторних клітин. Виявляється добре розвинений гранулярний і агранулярний ендоплазматичний ретикулум, багаточисленні вільні рибосоми. Поблизу ядра чітко визначається апарат Гольджі. Центріолі з війками розміщуються в апікальній частині клітин. У великій кількості визначаються лізосоми. Відмінною ознакою ендотеліальних клітин є наявність багаточисленних цитоплазматичних кульок, зв'язаних з цитоплазматичною мембраною. Імуногістохімічно в цитоплазмі ендотеліальних клітин виявлені основні глікозаміноглікани рогівки — хондроїтин-6-сульфат, хондроїтин-4-сульфат, гепаран-сульфат.

Необхідно зупинитися на основних функціях ендотелію рогівки. Однією з них є забезпечення клітин стромі поживними речовинами. Процес транспорту поживних речовин є дифузиею між ендотеліоцитами або активним переносом через вміст клітини в напрямку стромі.

МЕТОДИ КОНСЕРВАЦІЇ РОГІВКИ І ПЕРСПЕКТИВА ЇХ ВДОСКОНАЛЕННЯ

Історичні аспекти

Перші пересадки рогівки були ініційовані технічними можливостями офтальмохірургії, що з'явилися в кінці 19 століття. Зокрема, про вдалі операції з використанням ксеногенних трансплантатів свідчать роботи Е. В. Адамюка, що провів в 1887 році пересадки курячої рогівки кроликові і людині. Пересадки рогівки кролика людині виконали в 1888 році Хисхолм і Міхель [6].

Разом з тим, різні удосконалення техніки операції, зокрема, створення Гиппелем спеціального трепана, не зробили кератопластику доступною операцією. Хоча окремі вдалі спроби застосування

ксеногенних трансплантатів мали місце, але вони не дозволяли отримати доброго оптичного результату у зв'язку із значними анатомічними відмінностями між рогівкою тварин і людини. Людська ж рогівка могла бути використана лише у виняткових випадках — коли видяляли око з неуразеним перенісним відділом.

Єдина можливість зробити кератопластику широко доступною була зв'язана з використанням трупної рогівки. Проте на початку минулого століття це питання навіть не піднімалося. Це обумовлено тим, що в той період в медицині мало широке розповсюдження уявлення про т. з. птомаїн — трупну отруту, що виробляється в тканинах після смерті.

Вказана концепція веде свій початок з періоду середньовічного Ренесансу, коли широко почали практикуватися патологоанатомічні розтини і з'явилися випадки смертельного зараження анатомів в результаті випадкових поранень шкірних покривів. Розвиток мікробіології показав, що джерелом подібних заражень були бактерії. Проте до початку ХХ сторіччя медико-біологічний забобон про існування трупної отрути ще не був подоланий.

Піонерський прорив був здійснений в 30-х роках минулого століття В. П. Філатовим. Ще не знаючи про ті зміни, які відбуваються в тканинах після смерті, і їх небезпеки для реципієнта, В. П. Філатов скористався досвідом Мажіто, який мав прецедент успішної пересадки рогівки людині після декількох днів холодової консервації. У вказаному випадку використовувалася рогівка, узята під час енуклеації, але за певними причинами не пересаджена відразу, а зберігалася в холодильній камері. В. П. Філатов, ґрунтуючись на цьому спостереженні, припустив, що холодовий режим надає якусь сприятливу біологічну дію на тканину і нейтралізує «трупну отруту» [3].

Як видно, консервація рогівки з'явилася при незвичайних обставинах — не з метою збереження донорського матеріалу, а як спосіб його своєрідної обробки перед використанням. На початку другої половини минулого століття, коли стало зрозуміло, що ніякої небезпеки трупної отрути не існує і з не меншим успіхом можна використовувати нативні трупні рогівки, кератотрансплантація вже набула широкого поширення. Тепер перед консервацією з'явилися вже інші завдання. Необхідно було створити умови для тривалого зберігання великої кількості донорського матеріалу.

З цього періоду починають розроблятися численні удосконалення холодової консервації, а також альтернативні способи тривалого зберігання рогівки. Проте ні ліофілізація (суха рогівка), ні кріоконсервація (зберігання при температурі рідкого азоту), що набули поширення і значно збільшили терміни зберігання, не змогли забезпечити необхідної якості донорського матеріалу. Такі рогівки мог-

ли використовуватися переважно для лікувальних і пошарових кератопластик. Тільки на початку 70-х років минулого століття відбувся певний прорив в цих дослідженнях, який був пов'язаний з розробкою способу холодової консервації ізольованого керато-склерального клаптя в рідких середовищах з осмотичним компонентом.

Сучасний стан консервації рогівки і перспективи

Зберігання при температурі, що знаходиться на межі точки замерзання води (+1 — +4 гр. Ц), залишається основним способом консервації рогівки. Волога камера, запропонована В. П. Філатовим, використовувала протективні властивості холоду в сукупності з підтримкою гідратації рогівки на рівні, близькому до того, який зберігався в ній на момент зупинки кровообігу.

Проте при відносно стабільному температурному режимі, волога камера не могла забезпечити достатньої гідратації всіх шарів рогівки і, зокрема, ендотелію. Неминуче випаровування води протягом 2-3 днів приводить до ретракції склоподібного тіла і різкого зменшення вологи в камерах ока, що веде до незворотного пошкодження ендотелію рогівки.

Для усунення цього недоліку використовувалися найрізноманітніші речовини (гліцерин, мед, різні вуглеводи та інш.). Проте найбільшу популярність придбали живильні середовища, призначені для культури тканини.

Саме на основі таких компонентів було розроблено рідке середовище Мак-Кейрі — Кауфмана [18]. Недолік культуральних середовищ, пов'язаний з надмірною гідратацією рогівки, компенсувався додаванням таких речовин, що стабілізують осмотичний стан — як декстран-40 або хондроїтин-сульфат.

У певному процентному співвідношенні ці речовини підтримують баланс між вологою, що знаходиться в рогівці, і водним середовищем консерванта, стримуючи осмотичний градієнт, створюваний глікозаміногліканами (мукополісахаридами) власної речовини рогівки.

Більшість рідких середовищ, що існують зараз, призначені для холодової консервації рогівки, повторюють в своїй основі класичне середовище Мак-Кейрі -Кауфмана, яке містило 5% декстрану-40 в середовищі-199, а також пеніцилін і стрептоміцин для підтримки стерильності.

Подальші модифікації цього середовища відрізнялися лише поєднанням осмотичних компонентів (додавання хондроїтин-сульфата) і комбінацією культуральних середовищ. Зокрема, широко використовуються в різних пропорціях такі середовища як Ф-10, Дюльбекко, Ігла з різними метаболічними і лікарськими додатками (субстрати циклу Кребса, антиоксиданти, антибіотики і протигрибкові препарати), які не змінюють суть даного методу.

За цим принципом створені такі модифікації середовища Мак-Кейрі-Кауфмана як Dexasol, Optisol, K-Sol, EUSOL-C, що використовуються в очних банках Європи та Америки. Схожа модифікація (середовище Борзенка-Мороз) розроблена і застосовується в МНТК ім. С. Н. Федорова [2]. У Московському НДІ ім. Г. Гельмгольца розроблений спосіб консервації, де в культуральне середовище доданий лікарський препарат на основі сироваткового глікопротеїду «Адгелон».

З альтернативних способів, що з'явилися останнім часом, можна назвати метод консервації рогівки в перфторані, який використовується офтальмологами Санкт-Петербурзької Медичної Академії [5]. Перфторан — це плазмозамінний засіб з газотранспортною функцією. Завдяки високій здібності до оксигенації тканин, перфторан набув поширення як інфузійний препарат при лікуванні важких терапевтичних і хірургічних захворювань.

Перфторан характеризується високою здатністю розчиняти кисень (40 об'ємних %, у емульсії — 7 об'ємних %), дуже високою швидкістю розчинення і віддачі кисню. В порівнянні з еритроцитами, перфторан володіє більшою поверхнею газообміну (у 100 мл крові сумарна поверхня еритроцитів рівна 70 кв. м., в 100 мл перфторана сумарна поверхня частинок — 847 кв. м.). Це обумовлює значне збільшення швидкості дифузії кисню, що у поєднанні з субмікронним розміром частинок емульсії (середній розмір — 0,07 мкм) забезпечує хороше постачання киснем тканин.

Разом з тим, застосування перфторана при холодовій консервації рогівки не має достатнього теоретичного обґрунтування, а його протекторна ефективність відносно ендотелію рогівки ставиться під сумнів деякими авторитетними авторами [2]. Поки даний препарат використовується лише окремими ентузіастами, які, проте, висловлюються про його конкурентоспроможність відносно вже апробованих очними банками засобів [5].

Всі перераховані середовища для консервації забезпечують збереження рогівки (корнео-склерального клаптя) впродовж 4-6 днів. В окремих випадках рогівка зберігає життєздатність до 10-14 днів. Проте при таких тривалих термінах зберігання рогівка придатна в основному для лікувальної і пошарової трансплантації. При такому тривалому зберіганні ендотеліальний моношар не здатний забезпечити прозору приживлення при наскрізній кератопластиці.

Ця обставина представляє особливий інтерес в медико-біологічному плані. Мова йде про зіставлення клінічних та біологічних критеріїв життєздатності рогівки.

Так життєздатність рогівки може бути оцінена морфологічно, шляхом вивчення зростання клітин *in vitro* за допомогою суправітального забарвлення

трипановим синім або нейтральним червоним. Існують і більш складні способи оцінки, наприклад, визначення споживання кисню тканиною за допомогою манометричної реєстрації або інших методів.

У клініці найбільш поширеним методом визначення придатності рогівки є біомікроскопія. Точніше кажучи, тут оцінюється не життєздатність, а ступінь оперативної придатності. Так, за наявності грубих складок десцеметової мембрани рогівка не рекомендується для наскрізної пересадки. Проте це не означає, що ендотелій некробіотизований.

Ще в першій половині минулого століття дослідженнями М. А. Баженової було показано, що всі клітини рогівки зберігають здатність до зростання (*in vitro* протягом двох тижнів холодової консервації при температурі +2-+4 градусів [3]).

Структурні компоненти всіх клітин рогівки, у тому числі і ендотелію, в умовах консервації були детально вивчені і описані ще в початку другої половини минулого століття. Тут слід зазначити роботи за участю засновника вітчизняної школи кератопластики В. П. Філатова, а також роботи його учнів Н. А. Пучківської; С. Р. Мучника, В. В. Войно-Ясенецького [3, 6].

Надійним методом визначення збереження моношару рогівки є забарвлення суправітальними фарбниками. Застосування цієї методики дозволило встановити, що при будь-якому способі холодового зберігання рогівки, через 6-7 діб весь ендотеліальний моношар дифузно фарбується фарбником, тоді як в першу добу до забарвлення схильні не більше 5 відсотків клітин.

Тотальне накопичення суправітального фарбника зазвичай розцінюється як загибель ендотеліальних клітин. Ця позиція цілком зрозуміла з клінічної точки зору: рогівка з таким ендотеліальним моношаром не придатна для наскрізної пересадки. У клінічному відношенні її ендотелій втрапив свої вітальні властивості.

Проте це не відповідає біологічному розумінню вітальності. Адже, якщо клітини рогівки, включаючи ендотелій, помістити *in vitro*, то вони відтворюють нормальне культуральне зростання. Як було відмічено вище, це зростання можливе навіть через 2 тижні холодового зберігання, коли за станом ендотеліального моношару рогівка оцінюється абсолютно непридатною як вітальний трансплантат.

Окрім цього, здатність накопичувати суправітальні фарбники варіює в різних типах тканин і клітин, про що мовилося ще в середині минулого століття. Так, на думку Е. Каудрі, по цьому показнику сильно розрізняються пухлинні і нормальні клітини. Хоча фізіологічно вони не співставимі, але в біологічному відношенні злякисні клітини не менш життєздатні, ніж нормальні. Інакше кажучи, особлива поведінка пухлинних клітин відносно суправітальних фарбників вказує не на втрату жит-

тездатності самими клітинами, а на особливій властивості пухлинної тканини в цілому.

Грунтуючись на цих даних, можна зробити висновки, що зміни, які відбуваються під час холодової консервації рогівки відносно ендотеліальних клітин до суправітального забарвлення, відображають не пошкодження або загибель даних клітин; а порушення цілісності ендотеліального моношару як тканинної системи.

Аналіз цих суперечностей дозволив прийти до висновку, що в процесі холодової консервації спочатку гине тканинна система, що є не сумою окремих клітин; а особливою формою їх організації. Про це ж свідчить і те, що окремі клітини можна зберігати необмежено довго у тих умовах, де окремі тканини або органи не зберігаються на належному рівні (як, наприклад, при кріоконсервації).

Цей висновок був зроблений раніше одним з авторів даної статті і став приводом для перегляду нашого підходу до проблеми консервації рогівки [1]. У основі цього підходу лежить уявлення про те, що життєздатність клітини і життєздатність тканини не є тотожними поняттями.

Як вже було сказано, в умовах кріоконсервації можна дуже ефективно і необмежено довго зберігати статеві клітини, запліднені яйцеклітини, ствольні і пухлинні клітини. Разом з тим, кріоконсервація не стала табельним засобом в кератотрансплантології. Цей спосіб надійно забезпечує трансплантаційні властивості рогівки, необхідні для наскрізної пересадки. Проте це пояснюється не пошкодженням ендотелію, а руйнуванням ендотеліального моношару як цілісної тканинної системи.

Ця проблема ще тільки знаходиться в стані вивчення. Із з'ясуванням вказаних медико-біологічних взаємин може бути пов'язана розробка принципово нових підходів до консервації рогівки.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Артемов А. В.** Донорская роговица в аспекте современной патологии. — Одесса: Интерпринт. — 2007. — 186 С.
2. **Борзенко С. А.** Медико-технологические и методологические основы эффективной деятельности глазных тканевых банков России в обеспечении операций по сквозной трансплантации роговицы. // Автореферат дисс. докт. мед. наук. — М. 2008. — 50 С.
3. **Войно-Ясенецкий В. В.** Тканевая несовместимость и пути ее преодоления // М.: Медицина. — 1965. — 256 С.
4. **Каспаров АА., Розанова В. Н.** Отбор, методы стерилизации и консервации донорского материала для сквозной кератопластики // Медицинский реферативный журнал. — Сер. 8. — 1990. — №Ю. — с. 4-7.
5. **Куликов АТІ и соавт.** Жизнеспособность эндотелия роговицы при консервации с применением «Перфторан» // Общая реаниматология- 2007. — 3/1. — с. 11-16.
6. Основы пересадки роговой оболочки /под редакцией Н. А. Пучковской. — Киев: Здоров'я, 1971.
7. **Сухина Л. А., Перекрестов М. Б.** Эффективность применения лечебно-текстониической пластики роговицы лоскутом аутосклеры при гнойной язве роговицы (экспериментальное исследование). // Офтальмол. журнал. — 2006. — №3(11). — С. 183. 1
8. **Федоров С. Н., Ронкина Т. Н., Явишева Т. М.** Эндотелий роговицы человека. — М., 1993. — С. 126. 53
9. **Anderson S., Sundar Raj S., Fite D., Wessel H., Sundar Raj N.** Developmental egu'ated appearance of spliced variants of type XII collagen in the cornea // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 2000. — Vol. \ 1. — P. 55—63. 27
10. Antigenicity of porcine cornea as xenograft / Amano S, Shimomura N, Kaji Y at al. // Curr Eye Res. — 2003. — Vol. 26(6) — P. 313-318. 7
11. **Baud C A., Balvoine C** The intimate structure of Descemet's membrane and its pathological derivatives // Br. J Ophthalmol. — 1953. — Vol. 126. — P. 290—295. 39
12. **Blatt H. L., Rao G. N., Aquavella J. V.** Endothelial cell density in relation to morphology // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1979. — Vol. 18. — P. 856—859. 49
13. **Capella J. A., Kaufman H. E., Robbins J. E.** Preservation of viable corneal tissue. // Cryobiology. — 1976. — Vol. 2. — P. 116-121. 8
14. **Daxer A., Fratzi P.** Collagen fibril orientation in the human corneal stroma and its implications in keratoconus // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1997. — Vol. 38. — P. 121 — 129. 30
15. **Diaz-Araya C M., Madiqan M. C, Provis J. M.** Die Nerven des Strahlenkorpers // In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie / Ed. W. von Mollendorf. Berlin: Springer, 1992. — P. 134. 16
16. **Doughty M. J.** Prevalence of «non-hexagonal» cells in the corneal endothelium of young Caucasian adults and their inter-relationships // Ophthal PhysiolOpt. — 1998. — Vol. f8. — P.415—422. 50
17. **Doughty M. J.** Toward a quantitative analysis of corneal endothelial cell morphology: a review of techniques and their pplication // Optom Vis Sci. — 1989. — Vol. 66. — P. 626—642. 51
18. Effect of postmortem duration on endothelial cell density in short-term culture with McCarey-Kaufman medium. An experimental study with Swine corneas / Hagenah M, Lenk C, Winter R at al. // PMID: 1486269 [PubMed — indexed for MEDLINE]. 9
19. **Fine B. S., Yanoff M.** **Ocular Histology: A Text and Atlas.** — Hagerstown: Harper & Row. 1984. — 260 p. 38
20. **Freund D. E., McCally R. L., Farrell R. A.** Ultrastructure in anterior and posterior stroma of perfused human and rabbit corneas. Relation of transparency // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1995. — Vol. 3*6. — P. 1508—1523. 33
21. **Gipson I. K.** The epithelial basement membrane zone of the limbus // Eye. — 1989. — Vol. 3. — P. 132—141. 376
22. **Gipson I. K., Anderson R. A.** Actin filaments in normal and migrating corneal epithelial cells // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1977. — Vol. 16. — P. 161 — 168. 377
23. **Goldmann H.** Biomikroskopie des glaskorpers // Ophthalmologica. — 1954. — Vol. 127, — P. 334—341. 25
24. **Grignolo A.** Studies on the submicroscopical structure of the ocular tissues // Bull Ocul. — 1954. — Vol. 33. — P. 513—521. 40
25. **Hartmann C, Kolb M., Knauer I.** Klinische Spiegelmikroskopie, Technik, Organisation und einfache Kleinrechner-Morphometrie // Klin Monatsbl Augen-heilkd. — 1983. — Vol. 186. — P. 96—104. 47

26. **Heathcote J. G.** Collagen and its disorders // In: Garner A., Klintworth G. K. eds. Pathology of ocular diseases. A dynamic approach. — New York: Marchel Dekker. — 1994. — P. 1033—1084. 21
27. **Hogan ML, Alvarado J., Weddell J.** Histology of the eye. An Atlas and Textbook. — W. B. Saunders, 1971. — 697 p. 41
28. **Hogan M, Alvarado J., Weddell J.** Histology of the eye. An Atlas and Textbook. — W. B. Saunders, 1971. — 697 p. 45
29. **Hogan M. J., Feeney L.** Ultrastructure of the retinal vessels. Part I. The larger vessels // J Ultrastruct Res. — 1963. — Vol. 9. — P. 10—17. 19
30. **Holly F. J., Lemp M. A.** Tear physiology and dry eyes // Surv Ophthalmol. — 1977. — Vol. 22. — P. 69—87. 664
31. **Klassen H., Lund R. D.** Retinal graft-mediated pupillary responses in rats: restoration of a reflex function in the mature mammalian brain // J Neurosci. — 1990. — Vol. 10. — P. 578—587. 665
32. **Kohler J.L., Tobgy A. F.** Mikroskopische Untersuchungen einiger Augenmedien mit ultra-violettem und mit polarisiertem Licht // A von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol. — 1929. — Vol. 99. — P. 263—272. 42
33. **Komai Y., Ushiki T.** The three-dimensional organisation of collagen fibrils in the human cornea and sclera // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1991. — Vol. 32. — P. 2244—2258. 22
34. **Kuwabara T.** FStuding of the epitheliuWHO— 1976. — Vol. 15. 13
35. **Liub Z., Huanga A., Pflugfeldera S.** Evaluation of corneal thickness and topography in normal eyes using the Orbscan corneal topography system // Br J Ophthalmol. — 1999. — Vol. 83. — P. 774—778. 662
36. **Marshall G. J., Konstas A. G., Lee W. R.** Immunogold fine structural localization of extracellular matrix compounds in aged human cornea: II. Collagen types V—VI. // Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. — 1991. — Vol. 229. — P. 164—173. 18
37. **Marshall G. J., Konstas A. G., Lee W. R.** Immunogold ultrastructural localization of collagens in the aged human outflow system // Ophthalmology. — 1991. — Vol. 98. — P. 692—705. 28
38. **Maurice D. M.** The structure and transparency of the cornea // J Physiol. — 1957. — Vol. 136. — P. 263—274. 23
39. **Maurice D. M., Monroe F.** Cohesive strength of corneal lamellae // Exp Eye Res. — 1990. — Vol. 50. — P. 59—63. 32
40. **Meek K. ML, Blamires T., Elliott G. F.** The organisation of collagen fibrils in the human corneal stroma: a synchrotron X-ray diffraction study // Curr Eye Res. — 1987. — Vol. 6. — P. 841—846. 26
41. **Muiler L, Pels L, Vrensen G.** Ultrastructural organization of human corneal nerves // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1995. — Vol. 37. — P. 476—488. 37
42. **Muiler L. J., Pels E., Vrensen G. F. J. M.** Novel aspects of the ultrastructural organization of human corneal keratocytes // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1995. — Vol. 36. — P. 2557—2567. 36
43. **Nakayasu K., Tanaka M., Konomi H., Hayshi T.** Distribution of types I, II, III, IV, and V collagen in normal and keratoconus corneas // Ophthalmic Res. — 1986. — Vol. 18. — P. 1—15. 20
44. **Newton R. H., Meek K- M.** Circumcorneal annulus of collagen fibrils in the human limbus // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1998. — Vol. 39 — P. 1125—1134. 31
45. **Nichols B., Dawson C. R., Togni B.** Surface features of the conjunctiva and cornea // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1983. — Vol. 24. — P. 570—581. 24
46. **Nichols B., Dawson C. R., Togni B.** Surface features of the conjunctiva and cornea // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1983. — Vol. 24. — P. 570—581. 783
47. **Noden D. M.** The control of avian cephalic neural crest cytodifferentiation. I Skeletal and connective tissue // Dev Biol. — 1978. — Vol. 67. — P. 296—307. 44
48. **Offret G.** Quelques remarques sur le probleme biologique de la keratoplastie. Ann. Oculist. Paris, 4947, v, 106, fas. 10, 613—618. 12
49. **Patel S., Marshall /., Fitzke F. W.** 111. Refractive index of the human corneal epithelium and stroma // J Refract Surg. — 1995. — Vol. 11. — P. 100—105. 35
50. **Payrau P.** Conservation des corness par silicodessication // Ann. Oculist. — 1960. — Vol. 193. — P. 309—345. 2
51. **Pfister R. R.** The healing of corneal epithel abrasions in the rabbit: a scanning electron microscope study // Invest Ophthalmol. — 1975. — Vol. 14. — P. 648—657. 822
52. **Pfister R. R.** The normal surface of conjunctiva epithelium. A scanning electron microscopic study // Invest Ophthalmol. — 1975. — Vol. 14. — P. 267—279. 823
53. **Radner W., Zeheimayer M., Aufreiter R.** Interlacing and cross-angle distribution of collagen lamellae in the human cornea // Cornea. — 1998. — Vol. 17. — P. 537—543. 29
54. **Raynaud C, Bonicel P., Rigal D., Kantelip B.** Anatomie de la cornee // In: Encycl. Ved. Chir Elsevier, Paris, Ophthalmologie, 21—003-A-10, 1996. — 7 p. 663
55. **Renard G., Hirsch M., Galle P.** Ciliated cells of corneal endothelium. Functional and morphological aspects compared to cilia of other organs // Arch Ophthalmol, Paris. — 1976. — Vol. 36. — P. 59—68. 54
56. **Rohen J. W., Unger H. H.** Zur morphologie und pathologie der kammerbucht des auges // Abhandlg Mainz Akad D., Wiss U. Lit Mathem-Naturwiss Klas se. — 1959. — Vol. 3. — P. 1. 55.
57. **Segawa K-** Electron microscopy of dendritic cells in the human corneal epithelium. // Arch Ophthalmol. — 1964. — Vol. 72. — P. 650—659. 14 24
58. **Smelser G. K., Ozanics V.** New concepts in anatomy and histology of the cornea // In: The Cornea World Congress (eds J. H. King, J. W. McTigue). — Butterworth, 1965. 15
59. **Tamrn E. R., Croft M. A., Jungktinz W.** Agerelated loss of ciliary muscle mobility in the rhesus monkey. Role of the choroid // Arch Ophthalmol. — 1992. — Vol. 110. — P. 871—883. 52
60. **Tripathi R. C., Tripathi B. J.** Anatomy of the human eye, orbit and adnexa // In: The Eye, 3rd ed. (ed. H. Davson). — London: Academic Press, 1984. — P. 40,157. 43
61. **Tripathy B. J., Tripathi R. C., Stefansson K-, Adamis A.** Neuroectodermal origin of corneal endothelium and Keratocytes in human eye // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1985. — Vol. 26, 3. — P. 274—283. 46
62. **Turrs R., Friend J., Reim M.** Glucose concentration and hydration of the corneal stroma // Ophthalmic Res. — 1971. — Vol. 2. — P. 253—260. 34
63. **Van Trappen JL, Geboes K-, Missoten L.** Lymphocytes and langerhans cells in the normal human cornea // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 1985. — Vol. 26. — P. 220—225. 17
64. **Waring G. O., Bourne W. M., Edelhauser H. F.** The corneal endothelium. Normal and pathologic structure and function // Ophthalmology. — 1982. — Vol. 89. — P. 531—590. 48

Поступила 1.10.2009

Рецензент д-р. мед. наук С. А. Якименко