DOI: https://doi.org/10.25276/0235-4160-2019-1-39-43 УДК 617.73

Микроанатомия внутренней пограничной мембраны

П.В. Лыскин, В.Д. Захаров, М.И. Згоба

ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва

ΡΕΦΕΡΑΤ

Актуальность. Исследования в области микроанатомии витреоретинального контакта и внутренней пограничной мембраны (ВПМ) носят фрагментарный характер и разноречивы. В доступной литературе не удалось обнаружить необходимой информации о реальной анатомии ВПМ в различных отделах сетчатки. С целью уточнения микроанатомии витреоретинальных взаимоотношений были произведены собственные исследования.

Цель. Уточнить микроанатомию ВПМ в ее центральных и периферических отделах с применением сканирующей электронной микроскопии.

Материал и методы. Произведено исследование особенностей зоны ВПМ на поперечном срезе глаза человека от крайней периферии сетчатки у зубчатой линии до экватора и макулярной области методом сканирующей электронной микроскопии.

Результаты. Толщина структуры, соответствующей ВПМ на периферии сетчатки, составляет 4-5 мкм, имеет неплотную волокнистую структуру и не имеет четко определяемой границы с сетчаткой. Волокна СТ на периферии сетчатки вплетаются в нее параллельно, а не перпендикулярно. По мере приближения к центру волокнистые структуры на поверхности сетчатки становятся более конденсированными и уменьшаются по толщине. Ближе к экватору на поверхности сетчатки определяется ВПМ, структурированная в виде мембраны толщиной 1 мкм. В макулярной области ВПМ наиболее тонкая, толщиной 0,25 мкм. В макулярной области ВПМ моноструктурная, без признаков каких бы то ни было пор или подобных тому образований. Своего рода находкой стала микроанатомическая картина соединения сетчатки и СТ на крайней периферии, где отсутствовала очевидная различимая граница между сетчаткой, ВПМ и стекловидным телом, а «пограничная» область была представлена слоем неплотно упакованных коллагеновых волокон. Уточненные данные объективно подтверждают уменьшение толщины ВПМ от периферии к центру.

Выводы. Результаты исследований микроанатомии ВМП объективно подтверждают уменьшение толщины ВПМ от периферии к центру. В отличие от общепринятого мнения оказалось, что на периферии сетчатки волокна СТ вплетаются в нее параллельно, а не перпендикулярно.

Ключевые слова: внутренняя пограничная мембрана, ВПМ, стекловидное тело, сетчатка, микроанатомия, сканирующая электронной микроскопия.

Авторы не имеют финансовых или имущественных интересов в упомянутых материале и методах.

Офтальмохирургия. 2019;1:39-43.

ABSTRACT

Microanatomy of Internal Limiting Membrane

P.V. Lyskin, V.D. Zakharov, M.I. Zgoba

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow

Introduction. Currently there are only fragmentary and inconsistent studies of the vitreoretinal interface and the internal limiting membrane (ILM). It the available literature we did not succeed in searching for the necessary data on the actual anatomy of the ILM in various areas of the retina. In order to clarify microanatomy of the vitreoretinal interactions we performed our own studies.

Purpose. To clarify microanatomy of the ILM in its central and peripheral areas by means of the scanning electron microscopy (SEM) imaging.

Material and methods. A study of peculiarities of the ILM area using cross-sections of the human eye from the extreme periphery of the retina close to ora serrata, and to the equatorial and macular areas by means of SEM imaging.

Results. Results of our studies show that the ILM at the periphery of the retina is 4-5 μ m thick, has a loosely organized fibrous structure,

and has no distinct boundary with retina. Fibrils of the vitreous at the periphery of the retina braided into the retina in a parallel manner rather than perpendicularly. Approaching the center, the fibrous structures at the retinal surface become denser and thinner. Closer to the equator, there is formed the ILM structured as a membrane of 1 μ m thickness. In the macular zone the ILM has the least thickness of 250 nm. In the macular zone the ILM is mono-structural without any signs of pores or similar formations. A kind of finding was a micro-anatomic pattern at the joint site between vitreous and retina at the far periphery where, there were no distinct boundary between the retina, ILM, and vitreous with boundary region formed by the layer of sparsely packed collagen fibrils. Refined data fairly prove ILM thinning on the way from periphery towards the center.



Conclusions. Results of studies of ILM microanatomy fairly prove ILM thinning on the way from periphery towards the center. Contrary to the common belief it happened that vitreous fibrils at the periphery braid into the retina parallel to the latter rather than perpendicularly.

Key words: Internal limiting membrane, ILM, vitreous, retina, microanatomy, scanning electron microscopy. ■

No author has a financial or proprietary interest in any material or method mentioned.

Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery. 2019;1:39-43.

АКТУАЛЬНОСТЬ

овременные представления о микроанатомии внутренней пограничной мембраны (ВПМ) разноречивы. Существует две противоположные точки зрения. В частности, Green W.R и Sebag J. указывают, что толшина ВПМ зависит от локализации, а именно на крайней периферии она тонкая – 0,3 мкм, к экватору утолщается до 0,5 мкм, а в перифовеолярной области утолщается до 1,887 мкм [1]. Yamada E., напротив, указывает, что в фовеолярной области ВПМ чрезвычайно тонкая - 10-20 нм (0,1-0,2 мкм) [2]. Общепринятым является упоминание тезиса Hogan M.J., Alvorado J.A. с соавт. о том, что волокна стекловидного тела (СТ) на периферии сетчатки «вплетаются» в последнюю под прямым углом в отличие от других областей контакта, что объясняет невозможность механического отделения стекловидное тела от сетчатки на периферии без ее повреждения [3]. В более современной работе 2012 г. Henrich с соавт. приводят данные о толщине ВПМ в центральной области сетчатки. В работе указывается, что «в фовеолярной области ВПМ самая тонкая и толщина ее составляет приблизительно 100 нм (1/10 мкм), а толщина ВПМ парафовеолярной области существенно большая и составляет примерно 3 мкм». Таким образом, толщина ВПМ в фовеолярной области в 30 раз меньше толщины ВПМ в парафовеолярной области [4]. Следует обратить особое внимание на то, что исследования проводились на изолированной сетчатке человека, предва-

Для корреспонденции:

Лыскин Павел Владимирович, канд. мед. наук, научный сотрудник. ORCID ID: 0000-0002-5189-322X E-mail: plyskin@yahoo.com рительно отделенной от пигментного листка. После выделения сетчатки из оболочек глаза возможно изменение ее размеров и толщины сообразно ее тканевым биофизическим свойствам. Таким образом, при последующей фиксации могли сохраниться не истинные, а изменившиеся анатомические характеристики сетчатки и соответственно ВПМ. В отечественной литературе публикации, посвященные анатомии ВПМ глаза человека, отсутствуют, в доступной зарубежной литературе не удалось обнаружить необходимой информации об анатомии ВПМ, в частности, ее анатомических особенностях в центральных и периферических отделах. Кроме того, отсутствует исходная сравнительная детальная информация о структуре ВПМ. Исследования микроанатомии области витреоретинального контакта носят фрагментарный характер.

Традиционно используемые методы гистологических исследований с применением световой микроскопии не позволяют в должной мере исследовать микроанатомию ВПМ. Разрешение световой микроскопии невелико, и этот метод позволяет анализировать только плоскостные срезы исследуемых тканей. Исследование микроанатомической и пространственной структуры ВПМ с применением световой микроскопии невозможно. Гораздо более широкие возможности для исследований дает сканирующая электронная микроскопия. Сканирующая электронная микроскопия заключается в анализе отраженного электронного сигнала от анализируемой поверхности. Обладая высокой глубиной резкости, метод позволяет получать пространственную картину исследуемого объекта в широком диапазоне увеличения и с высоким разрешением. Именно этот метод был выбран для исследования микроанатомии ВПМ.

ЦЕЛЬ

Уточнить микроанатомию ВПМ в ее центральных и периферических отделах с применением сканирующей электронной микроскопии. В частности, уточнение, каким образом изменяется толщина ВПМ в зависимости от ее анатомической локализации, и уточнение микроанатомической картины витреоретинальных взаимоотношений в различных областях сетчатки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Произведено исследование четырех донорских глаз от двух доноров, возраста 43 и 45 лет, предоставленных глазным банком Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» под руководством д-ра мед. наук профессора Борзенка С.А. Между забором глаза у донора и началом проведения подготовки препарата прошло в среднем 9 часов. Исследуемые глаза имели правильную сферическую форму, без внешних патологических признаков. Исследуемые глаза были расценены как эмметропические. Материал фиксировался в жидкости Сент-Джиордьи семь суток. Дофиксация производилась в смеси: 100 мл фиксатора и 50 мл ацетона – три дня. Дальше материал проводили через ацетон, 100% спирт, спирт-эфир, производилась последующая заливка в целлоидин. Фиксация материала и заливка в целлоидин произведена в лаборатории патологической анатомии и гистологии глаза «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» под руководством канд. мед. наук Шацких А.В. Дальнейшие исследования произведены одним из авторов. После фиксации в целлоидине производился непрерывный срез в сагиттальной плоскости от роговицы к макулярной области по центральной оси глаза. Изготавливались срезы толщиной около 3 мм. Произвести срез точно через центр макулярной области сетчатки оказалось невозможным. Для исследования ВПМ макулярной области сетчатки на препарате парного глаза производился непрерывный срез в трансверсальной плоскости (параллельно плоскости центральной сетчатки). Следующим этапом целлоидин вымывался из препаратов эфиром. После предварительной специальной сушки в «критической точке» срез препарата, произведенный в сагиттальной плоскости, размещался на специальном столике, и на его поверхность в вакуумной камере производилось напыление золота. Из среза препарата, произведенного в трасверсальной плоскости, изготавливался препарат для исследования макулярной области сетчатки, с последующей специальной сушкой в «критической точке», помещением препарата на предметный столик и напылением золота. Исследование производилось сканирующим электронным микроскопом Cam Scan S-2 (Cambridge Instruments, Великобритания). Исследования выполнены в Общефакультетской лаборатории электронной микроскопии МГУ (зав. лабораторией Давидович Г.Н.). Морфометрия выполнялась с использованием масштабного маркера, который изменяет свою длину в процессе компьютерного увеличения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сканирующая электронная микроскопия области, соответствующей ВПМ на сплошном сагиттальном срезе, проведенном от роговицы до центральной области сетчатки. Такого рода прием обеспечил своего рода «картографирование» и возможность привязки исследуемых объектов к конкретной анатомической области глаза. Общий план фрагмента исследуемого препарата приведен на рис. 1. Произведено исследование особенностей зоны ВПМ на поперечном срезе глаза человека от крайней периферии сетчатки у зубчатой линии до экватора. Схема исследуемых участков представлена на рис. 2.

Сканирующая электронная микроскопия среза области между зубчатой линией и сетчаткой представлена на рис. 3. Очевидная различимая граница между сетчаткой и ВПМ отсутствует. Структура, которая может соответствовать ВПМ, представляет собой параллельно располагающиеся, неплотно упакованные волокна. Толщина волокнистой структуры, соответствующей ВПМ, 4,5 мкм. Волокнистая структура не имеет четкой границы с основным СТ, волокна которого располагаются параллельно поверхности сетчатки. Кроме того, нет определяемой границы между самой сетчаткой и располагающейся на ее поверхности волокнистой структуры, соответствующей ВПМ.

Сканирующая электронная микроскопия области, указанной на схеме цифрой 2, представлена на *рис. 4.* Очевидная граница между сетчаткой и СТ также отсутствует. На поверхности сетчатки, без четкой переходной границы, располагается неплотно организованная волокнистая структура с параллельно ориентированными волокнами. По отношению к области 1 плотность

ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНАЯ ХИРУРГИЯ



Рис. 1. Фрагмент поперечного среза глаза человека протяженностью 12 мм. На рисунке 1 стрелкой указана зубчатая линия. Пс – поверхность поперечного среза через склеру и сетчатку. Вп – поверхность, обращенная в сторону витреальной полости

Fig. 1. Fragment of the human eye cross-section 12 mm long. On fig. 1 arrow points to ora serrata. IC – surface of the cross-section through the sclera and retina. Bn – surface faced to the vireous

упаковки волокон несколько более выражена, толщина слоя соответствует 4 мкм. СТ, контактирующее с волокнистой структурой, соответствующей ВПМ, имеет гораздо менее плотную организацию и выраженную сетчатую структуру.



Рис. 2. Схема исследуемых областей ВПМ на поперечном срезе: 1, 2, 3, 4, 5 – последовательно исследованные области от непосредственной близости к зубчатой линии (1) до экваториальной области (5)

Fig. 2. ILM areas under study on the cross-section: 1, 2, 3, 4, 5 - Consistently invistigated zone of ILM from the are next to Ora Serrata (1) to equatorial zone (5)

ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНАЯ ХИРУРГИЯ



Рис. 3. Сканирующая электронная микроскопия сетчатки в непосредственной близости с зубчатой линией сетчатки, которая соответствует области, обозначенной на схеме глаза цифрой 1. Отсутствует очевидная граница между сетчаткой и ВПМ. Структура, соответствующая ВПМ, представляет собой параллельно расположенные, рыхло упакованные волокна. Толщина волокнистой структуры, соответствующей ВПМ, обозначена двойной стрелкой. Толщина – 4,5 мкм

Fig. 3. SEM of the retina in the ILM area SEM of the retina in the ILM area corresponds to the area 1 on the schematic eye. No evident boundary between the retina and ILM. Structure corresponding to the ILM consists of parallel sparsely packed fibers. Thickness of the fibrous structure corresponding to the ILM is shown with a double-arrow. The thickness is 4.5 μ m



Рис. 4. Сканирующая электронная микроскопия области, обозначенной на схеме цифрой 2. Отсутствует очевидная граница между сетчаткой и СТ. На поверхности сетчатки располагается неплотно организованная волокнистая структура с параллельно ориентированными волокнами (двойная стрелка). Толщина измерения соответствует 4 мкм. К волокнистой структуре примыкает стекловидное тело – выше стрелки. Волокнистая структура СТ имеет гораздо менее плотную организацию и выраженную сетчатую структуру

Fig. 4. SEM of the area 2 from the scheme above. No evident boundary between the retina and the vitreous. On the retinal surface there is a sparce fibrous structure with parallel fibrils. Layer is shown with a double-arrow. Thickness is $4 \mu m$. Density of the fibers is somewhat higher than in the area 1. The densely organized fibrous structure is adjoined by the vitreous (above the arrow). Fibrous structure of the vitreous has less dense and prominent mesh-like structure



Рис. 5. Сканирующая электронная микроскопия параэкваториальной области сетчатки, обозначенная на схеме цифрой 3. Толщина волокнистой структуры, обозначенной на фото двумя стрелками, соответствует 1,5 мкм

Fig. 5. SEM of the para-equatorial area of the retina (area 3 on the scheme). Thickness of the fibrous structure is denoted by two arrows is $1.5 \,\mu\text{m}$

Сканирующая электронная микроскопия параэкваториальной области сетчатки (на схеме указана стрелкой с цифрой 3) представлена на *рис. 5.* Толщина волокнистой структуры в параэкваториальной области соответствует 1,5 мкм.



Рис. 6. Экваториальная область, обозначенная на схеме цифрой 4. Граница между сетчаткой и ВПМ стала более очевидной. ВПМ практически моноструктурна. Толщина обозначена двумя стрелками, соответствует 1,5 мкм

Fig. 6. Equatorial area (area 4 on the scheme). Boundary between the retina and ILM became more evident. ILM is almost monostructural. Thickness of the fibrous structure denoted by two arrows is $1.5 \,\mu$ m

Сканирующая электронная микроскопия экваториальной области сетчатки представлена на *рис.* б и 7 (на схеме обозначена цифрами 4 и 5). По мере приближения к экваториальной области волокнистые структуры на поверхности сетчатки уменьшаются по толщине, плотность их возрастает, ВПМ становится моноструктурной, граница между сетчаткой и ВПМ становится отчетливо определимой *(рис. б)*. Несколько центральнее экватора (на схеме зона исследования обозначена цифрой 5) ВПМ приобретает вид мембраны и имеет четко определяемую границу с сетчаткой *(рис. 7)*, толщина ее соответствует 1 мкм.

Сканирующая электронная микроскопия макулярной области сетчатки представлена на рис. 8. ВПМ в макулярной области существенно тоньше по сравнению с экваториальной и параэкваториальной областями сетчатки, толщина ее соответствует 0,25 мкм, что соответствует 1/4 мкм. Таким образом, толщина ВПМ в макулярной области наиболее тонкая, в частности в 4 раза тоньше ВПМ экваториальной области.

ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам проведенных исследований толщина структуры, которая может соответствовать ВПМ на периферии сетчатки, соседствующей с зубчатой линией, составляет 4-5 мкм, имеет рыхлую волокнистую структуру, образуемую неплотно упакованными параллельно расположенными волокнами, и не имеет четко определяемой границы с сетчаткой и СТ. Волокна стекловидного тела на периферии сетчатки вплетаются в нее параллельно, а не перпендикулярно. По мере приближения к центру, в параперифирии волокнистые структуры на поверхности сетчатки становятся более конденсированными и уменьшаются по толщине. Ближе к экватору на поверхности сетчатки определяется ВПМ, структурированная в виде мембраны, толщина ее соответствует 1 мкм. По направлению от экваториальной области к центру ВПМ имеет отчетливую мембранную структуру. В макулярной области ВПМ самая тонкая, толщиной 0,25 мкм. В макулярной области ВПМ моноструктурна, без признаков каких бы то ни было пор или подобных тому образований. Своего рода находкой стала микроанатомическая картина соединения сетчатки и СТ на периферии. В отличие от общепринятого мнения оказалось, что

ВИТРЕОРЕТИНАЛЬНАЯ ХИРУРГИЯ



Рис. 7. Экваториальная область сетчатки с несколько более центральным смещением, обозначенная на схеме цифрой 5. Отчетливо видна граница между сетчаткой и ВПМ. Толщина обозначена двумя стрелками, соответствует 1 мкм

Fig. 7. Equatorial area of the retina closer to the center (area 5 on the scheme). Boundary between the retina and ILM is clearly visible. Thickness is shown by two arrows and equal to 1 μ m

волокна сетчатки на ее периферии вплетаются в нее параллельно, а не перпендикулярно, более того, отсутствует определяемая граница между сетчаткой и ВПМ. Структура, соответствующая ВПМ, представляет собой рыхло упакованные параллельно расположенные волокна. Уточненные данные объективно подтверждают уменьшение толщины ВПМ от периферии к центру. Наименьшая толщина ВПМ регистрируется в макуле.

выводы

Результаты исследований микроанатомии ВМП показывают уменьшение толщины ВПМ от периферии к центру. В отличие от общеприня-



Рис. 8. Фото сканирующей электронной микроскопии макулярной области сетчатки. На рисунке 8 представлены фото 1-4 области с последовательным пошаговым 10-кратным увеличением: 1 – общий вид макулярной области сетчатки. Отчетливо определяется фовеа; 2, 3 – очевидно существенное уменьшение толщины. ВПМ выглядит как тонкая моноструктурная мембрана. Обращает на себя внимание отсутствие каких бы то ни было пор на поверхности ВПМ; 4 – толщина ВПМ обозначена двумя стрелками. Соответствует 0,25 мкм

Fig. 8. SEM of the macular area. 4 photo of the same area with successive 10x magnifications. 1 – overall view of the macular area. Fovea is distinct. 2, 3 – Substantial thinning is evident. ILM looks like a thin monostructural membrane. Absence of any pores on the ILM surface is evident. 4 – ILM thickness is denoted by two arrows 0,25 μ m (½ μ m)

того мнения на периферии сетчатки волокна СТ вплетаются в нее параллельно, а не перпендикулярно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Green W.R, Sebag J. Vitreoretinal interface. In: Ryan S.J. (ed.). Retina. Elsevier, Mosby. 2006;3: 1921-1991. 2. Yamada E. Some structural features of the foveal centralis in the human retina. Arch. Ophthalmol. 1969;82: 151-159.

 Hogan M.J., Alvorado J.A., Weddell J.E. Histology of the human eye. – Philadelphia: W.B. Saunders company; 1976. p.613.

 Henrich P.B., Monnier C.A., Halfter W., Haritoglou C., Strauss R.W., Lim R.Y. et al. Nanoscale topographic and biomechanical studies of the human internal limiting membrane. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012;53: 2561-2570. PMID: 22410559.

Поступила 23.10.2018





РОССИЙСКАЯ ОФТАЛЬМОЛОГИЯ ОНЛАЙН WWW.EYEPRESS.RU

ООО «Издательство «Офтальмология»