

Литература

1. Борзенко С.А., Малюгин Б.Э., Тонаева Х.Д. и др. Способ выделения и органотипического культивирования аллогенного лимбального трансплантата. – Патент РФ № 2475218 от 20.02.2013 г.
2. Егоров Е.А., Брежнев А.Ю., Егоров А.Е. Нейропротекция при глаукоме: современные возможности и перспективы // РМЖ «Клиническая офтальмология». – 2014. – № 2. – С. 108-112.
3. Bull N.D., Johnson T.V., Martin K.R. Stem cells for neuroprotection in glaucoma // Prog. Brain Res. – 2008. – 173. – P. 511-519.
4. Ko M.L., Hu D.N., Ritch R. et al. Patterns of retinal ganglion cell survival after brain-derived neurotrophic factor administration in hypertensive eyes of rats // Neurosci. Lett. – 2001. – Vol. 305, № 2. – P. 139-142.
5. Lambiase A., Centofanti M., Micera A. et al. Nerve growth factor (NGF) reduces and NGF antibody exacerbates retinal damage induced in rabbit by experimental ocular hypertension // Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 1997. – № 235. – P. 780-785.
6. Liang C.M., Weng S.J., Tsai T.H. et al. Neurotrophic and neuroprotective potential of human limbus-derived mesenchymal stromal cells // Cytotherapy. – 2014. – October. – Vol. 16, Is. 10. – P. 1371-1383.
7. Pease M.E., McKinnon S.J., Quigley H.A. et al. Obstructed axonal transport of BDNF and its receptor TrkB in experimental glaucoma // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 2000. – № 41. – P. 764-774.
8. Quigley H.A. Neuronal death in glaucoma // Prog. Retin. Eye Res. – 1999. – Vol. 18. – P. 39-57.

Черных В.В.¹, Бородин Ю.И.², Бгатова Н.П.², Ноговицина С.Р.², Топорков И.А.¹, Еремина А.В.¹, Трунов А.Н.¹, Коненков В.И.²

Лимфатические структуры в цилиарном теле и хориоидеи глаза человека

¹ Новосибирский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России;

² ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии», Новосибирск

РЕФЕРАТ

Цель. Выявить и изучить ультраструктурную организацию лимфатических структур цилиарного тела и хориоидеи глаза человека.

Материал и методы. Проведено электронно-микроскопическое и иммуногистохимическое исследование тканей глаза, энуклеированных по плановым медицинским показаниям глаз больных (n=5).

Результаты. С помощью иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследований выявлены органоспецифические лимфатические структуры в цилиарном теле и сосудистой оболочке глаза.

Заключение. Предлагается рассматривать лимфатический регион глаза, в котором на основании полученных данных выделены первые 2 звена – тканевые щели – прелимфатики и лимфатические капилляры цилиарного тела. Структурированность путей оттока внутриглазной жидкости

может определять состояние трофики и дренажа структур глаза, внутриглазное давление и функцию органа зрения.

Ключевые слова: прелимфатики, органоспецифические лимфатические капилляры, увеосклеральный отток.

Актуальность

После выявления молекулярных маркеров эндотелия лимфатических сосудов, таких как LYVE-1, Podoplanin (D2-40) и Prox-1, в цилиарном теле глаза человека были обнаружены лимфатические сосуды [2, 3, 7], а наличие лимфатических структур в сосудистой оболочке глаза является вопросом, вызывающим острую научную полемику [4, 5]. По мнению ряда исследователей, открытие увеолимфатического пути оттока ВГЖ является весьма значимым для исследования механизмов развития глаукомы и других заболеваний глаза [6].

Однако дискуссия относительно существования лимфатических путей оттока и классификации «лимфатических сосудов» в структурах глаза продолжается [7].

Цель

Выявить и изучить ультраструктурную организацию лимфатических структур цилиарного тела и хориоидеи глаза человека.

Материал и методы

В качестве объекта исследования были взяты фрагменты цилиарного тела и хориоидеи энуклеированных по плановым медицинским показаниям глаз больных (n=5). У всех пациентов было получено информированное согласие на проведение операции и забор тканей глаза, а также использование данных исследования в научных целях.

Для морфологического изучения биологические образцы фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обрабатывали по стандартной гистологической методике и заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и с использованием антител. Все этапы иммуногистохимической реакции (депарафинизация, демаскировка, инкубация с первичными антителами и т.д.) проводили в автоматическом режиме на аппарате BENCHMARK/XT VENTANA (Ventana Medical Systems, США). Использовали моноклональные антитела к маркерам эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 и CD34 (Novocastra, Германия), лимфатических сосудов LYVE-1 (DCS ImmunoLine, Германия) и Prox-1 (Covance, Германия), к маркеру рецептора к фактору роста фибробластов FGFR (Abcam, Англия). Полученные препараты глаза изучали в световом микроскопе «Leica DM» (Германия). Для исследования в электронном микроскопе образцы хориоидеи размером до 1 мм³ фиксировали в 4% растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, дофиксировали в течение 1 часа в 1% растворе OsO₄ на фосфатном буфере (pH=7,4), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон (Serva, Германия). Из полученных блоков готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм на ультратоме Leica UC7/FC7 (Германия/Швейцария), окрашивали толудиновым синим, изучали под световым микроскопом «LEICA DME» и выбирали необходимые участки тканей для исследования в электронном микроскопе. Из отобранного материала получали ультратонкие срезы толщиной 35-45 нм, контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1400 (Япония).

Результаты

Для выявления лимфатических сосудов в цилиарном теле нами были использованы специфические маркеры эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и Prox-1. При иммуногистохимическом окрашивании препаратов тканей глаза на данные маркеры в обоих случаях наблюдали подобие трабекул вдоль мышечных волокон цилиарного тела. При электронно-микроскопическом исследовании образцов установлено, что вдоль мышечных волокон цилиарного тела располагались клетки с небольшим содержанием органелл в вытнутых узких участках цитоплазмы, имеющих межклеточные контакты типа наложения и открытые межклеточные контакты. Мы считаем, что данные структуры являются лимфатическими капиллярами в связи с тем, что они образуют каналы преимущественно вдоль мышечного волокна цилиарного тела, окрашиваются на маркеры эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и Prox-1. Они не окрашивались на маркеры кровеносных сосудов CD31 и CD34 и не имели базальной мембраны. Кроме того, они контактировали с коллагеновыми фибриллами, которые, по-видимому, играют роль стропных структур и не окрашивались на маркер к рецептору фибробластов FGFR-3, хотя сходны по структуре с отростками фибробластов, но отличаются от фибробластов структурой ядра и наличием микропиноцитозных везикул в цитоплазме.

Выявленные нами фибробластоподобные клетки, по-видимому, можно рассматривать как аналоги эндотелия лимфатических капилляров в цилиарном теле, а образованные ими каналы – аналоги лимфатических капилляров, имеющие органоспецифические особенности, которые собирают тканевую жидкость из сосудистой, частично ВГЖ (тканевая жидкость), бессосудистой зоны глаза, а также продукты метаболизма для направленного транспорта в лимфатическую систему, а затем в кровоток.

В цилиарном теле были выявлены интерстициальные пространства различного размера и электронной плотности, ограниченные коллагеновыми фибриллами, волокнами, фибробластами и их отростками. Обращала внимание структурированность интерстициального пространства: направленность коллагеновых волокон, фибробластов и их отростков была как вдоль пучков гладкомышечных волокон, так и к цилиарным отросткам.

При окрашивании хориоидеи гематоксилином и эозином в структуре хориокапиллярной пластинки выявляли пигментные клетки, кровеносные капилляры, коллагеновые волокна, фибробласты и каналы, похожие на лимфатические. При иммуногистохимическом окрашивании на маркеры эндотелия лимфатических сосудов Prox-1 и LYVE-

1 окрашивались клетки и их отростки, лежащие вдоль пигментных клеток и образующие каналы рядом с кровеносными капиллярами и сосудами. Следовательно, данные каналы можно отнести к лимфатическим каналам.

При иммуногистохимическом окрашивании на маркер фибробластов и миофибробластов маркировались клетки, расположенные вдоль лимфатических каналов и которые часто определялись в структуре выстилки лимфатических каналов. Было выявлено, что лимфатические каналы могут быть ограничены как клетками, окрашивающимися на маркер эндотелия лимфатических сосудов Prox-1 и LYVE-1, так и фибробластами, миофибробластами и пигментными клетками.

При исследовании в электронном микроскопе было выявлено, что строма хориокапиллярной пластинки пронизана пучками коллагеновых волокон, которые связаны с миофибробластами и пигментными клетками и, вероятно, играют роль каркаса, препятствующего значительному изменению размера данной части оболочки. Электронномикроскопическое исследование подтвердило, что лимфатические каналы располагаются между кровеносными капиллярами и кровеносными сосудами и образованы как эндотелиоподобными клетками, так и фибробластами, их отростками, миофибробластами и сопровождаются пигментными клетками. В переходной зоне между сосудистой оболочкой и склерой отмечали большие пространства, ограниченные удлинёнными клетками – так называемые «лакуны», которые, предположительно, рассматривают как лимфатические структуры. Лимфатические лакуны выстланы эндотелиоподобными клетками и фибробластами, которые неплотно контактируют между собой и не связаны пучками якорных филаментов, которые бы ограничивали значительные изменения их просветов.

Заключение

Согласно нашим представлениям о лимфатическом регионе, включающем не сосудистые пути движения тканевой жидкости – прелимфатики, лимфатические сосуды и регионарные лимфатические узлы [1], можно говорить о лимфатическом регионе глаза.

В структуре лимфатического региона глаза, на основании наших данных, мы выделяем первые два звена – тканевые щели – прелимфатики и органоспецифические лимфатические сосуды цилиарного тела, а также лимфатические каналы и лимфатические лакуны хориоидеи. Далее следуют

лимфатические сосуды мягких покровов головы, 3-им звеном лимфатического региона являются лимфатические узлы головы и шеи.

Полученные результаты, вероятно, свидетельствуют о том, что в дренажной системе глаза существует несколько механизмов оттока ВГЖ, направленных на поддержание различных звеньев гомеостаза органа зрения. Первый представлен трабекулярной сетью, шлеммовым каналом и водяными венами, сбрасывающими ВГЖ непосредственно в кровоток. Второй механизм включает три звена стандартного лимфатического региона [1] – тканевые щели цилиарного тела (прелимфатики), лимфатические капилляры цилиарного тела и лимфатические сосуды мягких покровов головы, регионарные лимфатические узлы головы и шеи, что позволяет рассматривать данный механизм оттока ВГЖ как отток через протективную (лимфатическую) [1] систему, вероятно, с целью утилизации продуктов метаболизма и клеточной деструкции.

Вероятно, степень структурированности и нарушения функционального состояния увеосклерального (увеолимфатического) [7] пути оттока ВГЖ во многом определяет выраженность трофических и метаболических нарушений в механизмах развития глаукоматозного процесса.

Литература

1. *Бородин Ю.И., Коненков В.И., Любарский М.С.* Лимфология. – Новосибирск, 2011. – 566 с.
2. *Черных В.В., Бородин Ю.И., Бгатов Н.П. и др.* Роль лимфатической системы в увеосклеральном оттоке внутриглазной жидкости // *Офтальмохирургия.* – 2015. – № 2. – С. 74-79.
3. *Birke K., Lütjen-Drecoll E., Kerjaschki D., Birke M.T.* Expression of Podoplanin and Other Lymphatic Markers in the Human Anterior Eye Segment // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2010. – Vol. 51, № 1. – P. 344-354.
4. *Koina M.E., Baxter L., Adamson S.J. et al.* Evidence for lymphatics in the developing and adult human choroid // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2015. – Vol. 56, № 2. – P. 1310-1327.
5. *Lutty G.A.* Adult Human Choroid: An Aymphatic Tissue? // *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2015. – Vol. 56, № 12. – P. 7417.
6. *Schroedl F., Kaser-Eichberger A., Schlereth S.L. et al.* Consensus statement on the immunohistochemical detection of ocular lymphatic vessels // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2014. – Vol. 55, № 10. – P. 6440-6442.
7. *Yücel Y.H., Johnston M.G., Ly T. et al.* Identification of lymphatics in the ciliary body of the human eye: a novel «uveolymphatic» outflow pathway // *Exp. Eye Res.* – 2009. – Vol. 89, № 5. – P. 810-809.