

УДК 617.7-007.681-07: 611.423

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ ГЛАЗА И ИХ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЕ

В.В. Черных, Н.П. Бгатова, А.В. Еремина, С.Р. Ноговицина, А.Н. Трунов

Остается актуальным вопрос о наличии лимфатического пути оттока и его роли в норме и при офтальмологических заболеваниях. Изучены фрагменты энуклеированных по медицинским показаниям глаз больных. С помощью иммуно-гистохимического и электронно-микроскопического исследований выявлены органоспецифические лимфатические структуры в органе зрения человека. В хориоиде глаза человека показано наличие лимфатических каналов и лимфатических лакун. Выявленные при терминальной стадии ПОУГ изменения свидетельствуют о нарушении лимфатического дренажа глаза, развивающегося с начальных стадий глаукоматозного процесса и приводящего к нарушению оттока ВГЖ через протективную (лимфатическую) систему. Состояние и организация путей оттока внутриглазной жидкости может определять функционирование органа зрения.

Ключевые слова: лимфатическая система глаза; лимфатические маркеры; первичная открытоугольная глаукома.

БАШТАЛГЫЧ АЧЫК БУРЧТУУ ГЛАУКОМАДА КӨЗДҮН БЕЗДЕРИНИН ТҮЗҮЛҮШҮНҮН ӨЗГӨЧӨЛҮКТӨРҮ ЖАНА АЛАРДЫН ӨЗГӨРҮШҮ

Офтальмологиялык ооруларда лимфанын агылып чыгуу жолдору бар экендиги жөнүндөгү маселе актуалдуу бойдон калууда. Көз ооруларынын медициналык көрсөткүчтөрү боюнча энуклеяланган фрагменттер изилделди. Иммуно-гистохимиялык жана электронно-микроскопиялык изилдөөлөрдүн жардамы менен адамдын көзүндөгү органга мүнөздүү лимфа структуралар табылды. Адамдын көзүнүн хориоидеясында лимфа каналдары жана лакуналары бар экендиги көрсөтүлдү. БАБГнун терминалдык стадиясында табылган өзгөрүүлөр көздүн глаукоматоздук процесстин башталгыч стадияларында өнүгүүчү жана ВГЖнын протективдуу (лимфа) системасы менен агылып чыгуусунун бузулушуна алып келген лимфа дренажын бузулушу жөнүндө айтат. Көз ичиндеги суюктуктун агылып чыгуу жолдорунун түзүлүшү жана абалы көздүн иштөөсүн аныктап берүүсү мүмкүн.

Түйүндүү сөздөр: көздүн лимфа системасы; лимфа маркерлери; башталгыч ачык бурчтуу глаукома.

FEATURES OF THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE LYMPHATIC SYSTEM OF EYE AND THEIR CHANGES IN PRIMARY OPEN-ANGLED GLAUCOMA

V.V. Chernykh, N.P. Bgatova, A.V. Eremina, S.R. Nogovitsina, A.N. Trunov

The question of the presence of the lymphatic pathway of the outflow and its role in the norm and in ophthalmic diseases remains relevant. The fragments of patients' eyes enucleated for medical reasons were researched. Organ-specific lymphatic structures in the visual organ were revealed with the help of immunohistochemical and electron microscopic researches. In the human choroid, the presence of lymphatic canals and lymphatic lacunae is indicated. Identified in the terminal stage of POAG changes that indicate the violation of the lymphatic drainage of the eye developing from the initial stages of the glaucomatous process and lead to violation of the outflow of intraocular aqueous outflow pathways through protective (lymphatic) system. The condition and organization of ways of outflow of intraocular fluid can determine the functioning of the visual organ.

Keywords: lymphatic system of the eye; lymphatic markers; primary open-angle glaucoma.

Актуальность. Одной из важнейших интеграционных систем организма, играющей значимую роль в процессах выведения ксенобиотиков, продуктов, возникающих в процессе жизнедеятельности клеток, развития деструктивно-воспа-

лительного процесса, метаболических нарушений и поддержания гомеостаза организма, является лимфатическая система [1–5]. После развития иммуногистохимических исследований и выявления молекулярных маркеров эндотелия лимфатических

сосудов, таких как LYVE-1, Podoplanin (D2-40) и Prox-1, появились первые публикации, свидетельствующие о наличии элементов лимфатической системы в органе зрения, а именно в цилиарном теле, хориоидее [6, 7]. Вопрос о наличии лимфатического пути оттока и его роли в норме и при офтальмологических заболеваниях остается дискутабельным.

Первичная открытоугольная глаукома (ПОУГ) – хроническое заболевание, характеризующееся постоянным или периодическим повышением внутриглазного давления с развитием трофических расстройств в путях оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ), в сетчатке и в зрительном нерве. Результаты многоцентровых эпидемиологических исследований, проведенных в последнее десятилетие в разных странах, свидетельствуют о значительном росте заболеваемости глаукомой [8, 9].

Материалы и методы. Были взяты фрагменты энуклеированных по медицинским показаниям глаз больных ($n = 28$). В основную группу вошли 17 глаз с диагнозом “терминальная стадия ПОУГ”. В контрольную группу вошли 11 глаз с диагнозом “меланома хориоидеи”. Всем пациентам обследованных групп диагноз ставился на основании стандартного офтальмологического обследования. У всех пациентов было получено информированное согласие на проведение операции, забор энуклеированного глаза, а также использование данных исследования в научных целях.

Для морфологического изучения биологические образцы фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обрабатывали по стандартной гистологической методике и заливали в парафин. Все этапы иммуногистохимических реакций (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 (Novocasa, 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 мм^3 фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, дофиксировали в течение 1 часа в 1%-ном растворе OsO_4 на фосфатном буфере ($\text{pH} = 7,4$), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрацией и заключали в эпон (Serva, Германия). Из полученных блоков готовили

полутонкие срезы толщиной 1 мкм на ультратоме Leica UC7/FC7 (Германия/Швейцария), окрашивали толуидиновым синим, изучали под световым микроскопом “LEICA DME”. Морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы Image J (Wayne Rasband, США). Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу, данные проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 10 производства Stat Soft Inc (USA). Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Манна – Уитни. Данные в графиках представлены в виде $M \pm m$, где M – средняя, m – ошибка средней. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95% ($p < 0,05$).

Результаты. При окрашивании препаратов глаза на маркеры эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 и CD34 наблюдали, что строма цилиарного тела равномерно пронизана большим количеством кровеносных капилляров, артериол и венул. При окрашивании препаратов глаза на маркеры эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и Prox-1 в обоих случаях наблюдали подобие трабекул вдоль мышечных волокон цилиарного тела (рисунок 1 а). Обнаруженные вытянутые клетки, образующие каналы преимущественно вдоль мышечного волокна цилиарного тела, окрашивались на маркеры эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и Prox-1, не окрашивались на маркеры кровеносных сосудов CD31 и CD34 и не имели базальной мембраны. Они контактировали с коллагеновыми фибриллами и по структуре были сходны с отростками фибробластов. При электронно-микроскопическом анализе было выявлено, что вдоль мышечных волокон цилиарного тела располагаются капилляры, похожие на лимфатические (рисунок 1 б). Развитие глаукоматозного процесса приводило к ряду изменений в структуре цилиарного тела. Наблюдалось значительное расширение интерстициальных пространств и возрастание просветов сосудов (рисунок 1 в). Иммуногистохимическое окрашивание препаратов цилиарного тела на Podoplanin выявило слабую степень экспрессии маркера эндотелия лимфатических сосудов при первичной открытоугольной глаукоме (рисунок 1 г).

Морфометрический анализ структуры цилиарного тела выявил: объемная плотность сосудов в цилиарном теле при терминальной стадии ПОУГ возрастала на $54,5\%$, объемная плотность интерстиция при терминальной стадии ПОУГ возрастала на $42,1\%$. При оценке объемной плотности мышечных волокон была установлена тенденция к её нарастанию при терминальной стадии ПОУГ, однако достоверности различий выявлено не было.

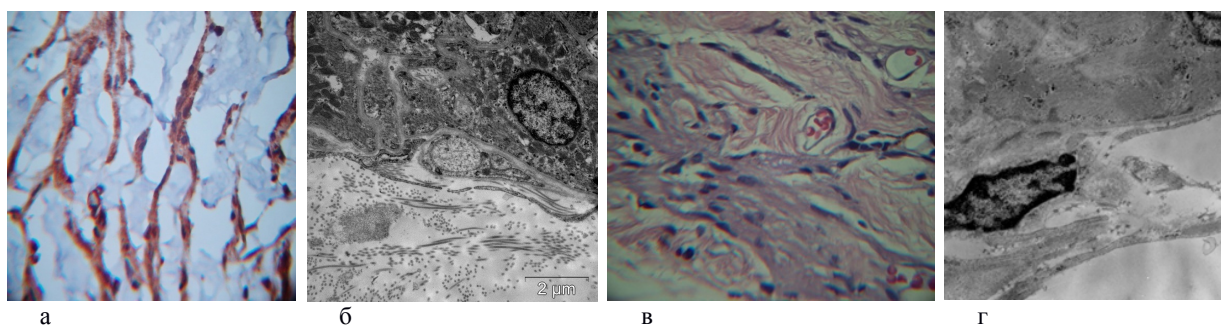


Рисунок 1 – Структура цилиарного тела в контрольной группе и при терминальной стадии ПОУГ. Увеличение: а, в – х 400; б, г – х 8000.
 а) LYVE-1 и Prox-1+ – лимфатические каналы вдоль пучков мышечных волокон в контрольной группе;
 б) открытые контакты в структуре лимфатического капилляра в контрольной группе;
 в) расширение интерстициальных пространств и возрастание просветов сосудов при терминальной стадии ПОУГ. Окраска гематоксилином и эозином; в) нарушение структурной целостности мембран эндотелиальных клеток лимфатического капилляра при терминальной стадии ПОУГ

При окрашивании образцов хориоидеи пациентов в контрольной группе гематоксилином и эозином в структуре хориокапиллярной пластинки выявляли пигментные клетки, кровеносные капилляры, коллагеновые волокна, фибробласты и каналы, похожие на лимфатические (рисунок 2 а). При иммуногистохимическом окрашивании на маркеры эндотелия лимфатических сосудов Prox-1, LYVE-1 и Podoplanin 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 (рисунок 2 б). Электронно-микроскопическое исследование подтвердило, что лимфатические каналы располагаются между кровеносными капиллярами и кровеносными сосудами и образованы фибробластами, их отростками, миофибробластами и сопровождаются пигментными клетками (рисунок 2 в). В переходной зоне между сосудистой оболочкой и склерой отмечали

большие пространства, ограниченные удлиненными клетками – так называемые лакуны, которые предположительно рассматривают как лимфатические структуры. Лимфатические лакуны выстланы фибробластоподобными клетками, которые неплотно контактируют между собой и не связаны пучками якорных филаментов, которые бы ограничивали значительные изменения размеров лакун (рисунок 2 г).

При исследовании лимфатических структур на границе склеры и решетчатой пластинки зрительного нерва в контрольной группе было установлено, что Podoplanin+ окрашенные структуры визуализировались на границе между склерой и зрительным нервом – как в склере, так и в области решетчатой пластинки.

При изучении материалов от пациентов с терминальной стадией ПОУГ в хориоидее, было установлено, что при терминальной стадии ПОУГ возрастали просветы кровеносных сосудов и лимфатических каналов (рисунок 3 а). Отмечалось

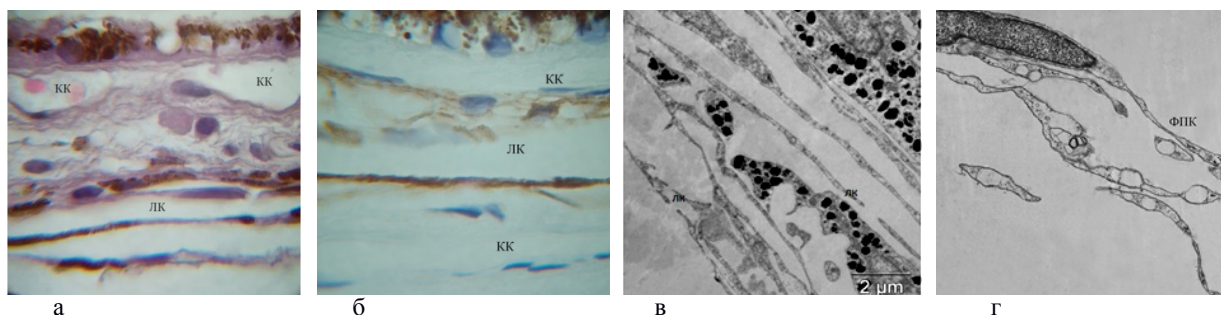


Рисунок 2 – Сосудистое русло хориоидеи в контрольной группе. Увеличение: а, б – х 900; в, г – х 8000.
 а) структура хориокапиллярной пластинки. КК – просвет кровеносного капилляра, ЛК – просвет лимфатического канала. Окраска гематоксилином и эозином; б) Podoplanin+ – лимфатический сосуд. ИГХ – выявление маркера лимфатических сосудов Podoplanin; в) разнонаправленное расположение пучков коллагеновых волокон; г) структура лимфатических лакун хориоидеи (ФПК – фибробластоподобная клетка, ФБ – фибробласт)

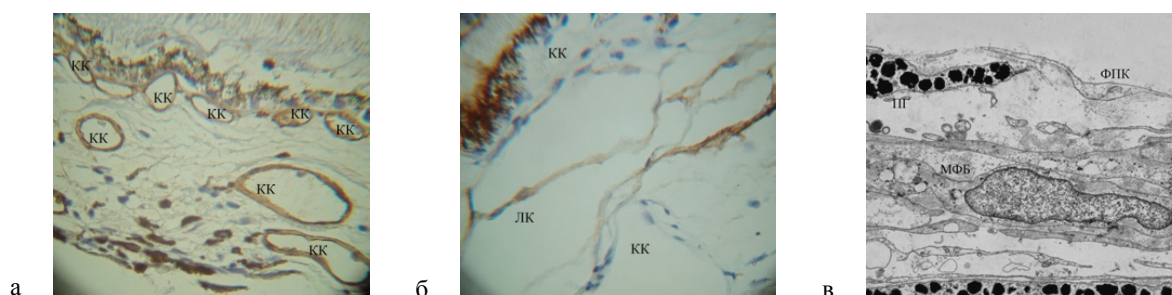


Рисунок 3 – Структура хориоидеи при терминальной стадии ПОУГ.

ЛК – лимфатический канал, КК – кровеносный капилляр. Увеличение: а, б – х 400; в – х 8000.

- а) расширение просветов кровеносных сосудов. ИГХ – выявление маркера кровеносных сосудов CD34;
 б) расширение просвета лимфатического канала. ИГХ – выявление маркера лимфатических сосудов Podoplanin;
 в) увеличение клеток, выстилающих лимфатический канал:
 фибробластоподобной (ФПК), пигментной клетки (ПГ) и миофибробласта (МФБ)

набухание и увеличение размеров перикапиллярных пространств, набухание стромы хориокапиллярной пластинки и нарушение связи якорных коллагеновых волокон с миофибробластами и пигментными клетками (рисунок 3 б), а также набухание клеток, выстилающих лимфатические каналы и увеличение размеров интерстиция (рисунок 3 в).

Морфометрический анализ структуры хориоидеи показал увеличение толщины хориоидеи более чем на 60 % при терминальной стадии ПОУГ по сравнению с контрольной группой, что было следствием отека и набухания компонентов стромы хориоидеи.

Заключение. Таким образом, с использованием иммуногистохимических и электронно-микроскопических методов исследования были выявлены лимфатические каналы в цилиарном теле. При терминальной стадии ПОУГ в цилиарном теле установлено значительное расширение интерстициальных пространств и возрастание просветов сосудов. В хориоидее глаза человека показано наличие лимфатических каналов и лимфатических лакун. При терминальной стадии ПОУГ в хориоидее было выявлено расширение просветов кровеносных сосудов и лимфатических каналов, набухание и увеличение размеров перикапиллярных пространств, набухание стромы хориокапиллярной пластинки.

Выявленные при терминальной стадии ПОУГ изменения свидетельствуют о нарушении лимфатического дренажа глаза, развивающегося с начальных стадий глаукоматозного процесса и приводящего к нарушению оттока ВГЖ через протективную (лимфатическую) систему, что может способствовать нарушению оттока ВГЖ и формированию порочного круга развития патологического процесса.

Литература

1. Бородин Ю.И. Лимфатический регион и региональная лимфодетоксикация / Ю.И. Бородин //

Хирургия. Морфология. Лимфология. 2004. №2. С. 5–6.

2. Коненков В.И. Лимфология / В.И. Коненков, Ю.И. Бородин, М.С. Любарский. Новосибирск: Манускрипт, 2012. 1104 с.
3. Петренко В.М. Функциональная анатомия лимфатической системы / В.М. Петренко. М.; Берлин: Директ Медиа, 2014. 116 с.
4. Черных В.В. Лимфатические структуры глаза и увеолимфатический (метаболический) путь оттока внутриглазной жидкости / В.В. Черных, Н.П. Бгатова // Национальный журнал глаукома. 2018. Т. 17. № 1. С. 3–13.
5. Negrini D. Lymphatic anatomy and biomechanics / D. Negrini, A. Moriondo // J. Physiol. 2011. Vol. 589. P. 2927–2934.
6. Kretschmer S. Visualization of Intrapulmonary Lymph Vessels in Healthy and Inflamed Murine Lung Using CD90/Thy-1 as a Marker / S. Kretschmer, I. Dethlefsen, S. Hagner-Benes et al. // PLOS ONE. 2013. February 8. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055201>.
7. Yanfang P., Wendi W., Tadayuki Y. Transcriptional regulation of podoplanin expression by Prox1 in lymphatic endothelial cells // Microvascular Research. 2014. Vol. 94. P. 96–102.
8. Трунов А.Н. Новые подходы к оценке выраженности воспалительных нарушений в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы / А.Н. Трунов, Н.П. Бгатова, А.В. Еремина и др. // Аллергология и иммунология. 2016. Т. 17. № 2. С. 107–111.
9. Tham Y.C. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis / Y.C. Tham, X. Li, T.Y. Wong et al.
10. // Ophthalmology. 2014. Vol. 121. P. 2081–2090.