

УДК 611.843.3:611.423

ЛИМФАТИЧЕСКИЕ СОСУДЫ В ОБОЛОЧКАХ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

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

В настоящее время данные о наличии лимфатических сосудов в оболочках зрительного нерва противоречивы. Нами было проведено исследование оболочек зрительного нерва в соответствии с положениями Консенсуса об идентификации лимфатических структур в органе зрения человека с использованием двух антител к маркерам эндотелия лимфатических сосудов (Podoplanin, LYVE-1) и антител к маркеру эндотелиоцитов кровеносных сосудов (CD31), а также с использованием морфологических критериев лимфатических сосудов. Выявлено, что маркер LYVE-1+ не является строго специфичным для определения лимфатических сосудов в органе зрения, так как выявлялись лимфатические и кровеносные сосуды, и в зрительном нерве, и в конъюнктиве.

Ключевые слова: зрительный нерв; лимфатические сосуды; иммуногистохимия; глаз человека; конъюнктив.

АДАМДЫН КӨЗҮНҮН КӨРҮҮ НЕРВИНИН КАБЫГЫНДАГЫ ЛИМФА ТАМЫРЛАРЫ

Азыркы учурда адамдын көзүнүн көрүү нервинин кабыгындагы лимфа тамырларынын болушу тууралуу маалыматтар бири-бирине карама-каршы. Биз лимфа тамырларынын эндотелиясынын маркерлерине эки антителди (Podoplanin, LYVE-1) жана кан тамырлардын эндотелиоциттеринин маркерине антителди, ошондой эле лимфа тамырларынын морфологиялык критерийлерин пайдалануу менен адамдын көзүндөгү лимфа түзүмдөрүнүн идентификациясы тууралуу Консенсустун жоболоруна ылайык көрүү нервинин кабыкчасына изилдөө жүргүздүк. LYVE-1+ маркери көрүү органындагы лимфа тамырларын аныктоо үчүн өзгөчө эмес экендиги аныкталды, анткени лимфа жана кан тамырлары көрүү нервинде да, конъюнктивде да табылды.

Түйүндүү сөздөр: көрүү нерви; лимфа тамырлары; иммуногистохимия; адамдын көзү; конъюнктив.

LYMPHATIC VESSELS IN SHELLS OF THE OPTIC NERVE OF THE HUMAN EYE

S.R. Nogovitsina, N.P. Bgatova, A.V. Eremina, A.N. Trunov, V.V. Chernykh, V.I. Konenkov, Yu.I. Borodin

The idea about lymph outflow of intraocular fluid and presence of lymphatics in the human eye is interesting, but disputable. There are many researches in this theme, though we have not univocal proofs of existence of lymphatic structures in the eye. This research presents the evidence of existence of lymphatic capillaries in the shells of the optic nerve using statements of the Consensus on the immunohistochemical detection of ocular lymphatics: immunostaining by Podoplanin and LYVE-1 lymphatic specific endothelial markers and CD31 vascular specific endothelial marker, and using the conjunctiva as positive control tissue. The authors found out that the LYVE-1 + marker is not strictly specific for the definition of lymphatic vessels in visual organ, because lymphatic and blood vessels were detected, both in the optic nerve and in the conjunctiva.

Keywords: optic nerve; lymphatic vessels; immunohistochemistry; human eye; conjunctiva.

Актуальность. В настоящее время данные о наличии лимфатических сосудов в оболочках зрительного нерва немногочисленны, противоречивы и поддерживаются не всеми исследователями. Предположение о наличии лимфатического оттока было впервые высказано Grüntzig и соавт. в 1977 г. при проведении эксперимента по изучению лимфатического дренажа глаза кроликов с помощью

введения радиоактивных меток [1]. Gausas и соавт. продемонстрировали лимфатические сосуды твердой оболочки зрительного нерва глаза человека с помощью иммуногистохимического окрашивания [2]. Однако дальнейшие исследования с использованием антител к эндотелиоцитам лимфатических сосудов Podoplanin и LYVE-1 показали, что эти маркеры неспецифичны в отношении

лимфатики органа зрения, так как окрашивают эндотелий кровеносных сосудов так же, как и эндотелий лимфатических сосудов [3].

Также продолжают дискуссии о наличии лимфатической системы в других отделах глаза человека. Нами были показаны лимфатические капилляры в цилиарном теле и лимфатические сосуды и лакуны в хориоидеи глаза человека, но имеющиеся литературные данные по этой теме являются неоднозначными, что подтверждается публикацией, свидетельствующей о необходимости консенсуса по принятию точных критериев лимфатических сосудов [4]. Согласно данному консенсусу, доказательство, что выявленные сосуды являются лимфатическими, должно основываться на предложенных критериях:

- 1) наличие/отсутствие эритроцитов;
- 2) использование более чем одного маркера эндотелия лимфатических сосудов в сравнении с теми регионами, где существование лимфатических сосудов хорошо установлено (в конъюнктиве глаза и роговице при воспалении);

- 3) использование электронной и иммуноэлектронной микроскопии. Консенсус был опубликован в 2014 году, но оболочки зрительного нерва так и не были исследованы в соответствии с его положениями.

Цель – выявление лимфатических сосудов в оболочках зрительного нерва.

Материал и методы. В качестве объекта исследования были взяты фрагменты зрительного нерва и конъюнктивы энуклеированных по плановым медицинским показаниям глаз. Энуклеация проводилась по поводу заболеваний, не влияющих на структурную организацию зрительного нерва (n = 5).

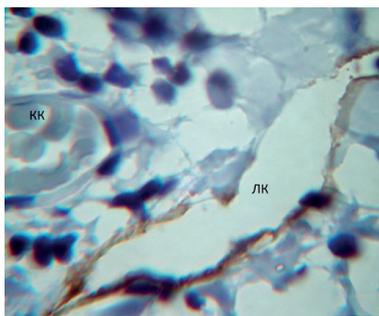


Рисунок 1 – Podoplanin+ – лимфатические капилляры конъюнктивы. ИГХ-выявление маркера эндотелия лимфатических сосудов Podoplanin с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 1000$, масляная иммерсия. ЛК – лимфатический капилляр, КК – кровеносный капилляр

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 образцы зрительного нерва и конъюнктивы фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида, 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 по стандартной методике. Использовали моноклональные антитела к маркеру эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 (Abcam, Англия), лимфатических сосудов LYVE-1 (Abcam, Англия) и Podoplanin (Monosan, Нидерланды). Полученные препараты глаза изучали в световом микроскопе «LEICA DME» (Германия).

Результаты и обсуждение. В качестве положительного контроля были использованы фрагменты конъюнктивы, где наличие лимфатических сосудов не вызывает сомнений. Иммуногистохимическое окрашивание с использованием моноклональных антител к маркеру эндотелиоцитов лимфатических сосудов Podoplanin выявило четкое позитивное окрашивание лимфатических сосудов конъюнктивы (рисунок 1). Также хорошо идентифицировались кровеносные сосуды при окрашивании с использованием моноклональных антител к маркеру эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31. Однако при окрашивании с использованием моноклональных антител к маркеру эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 окрашивались

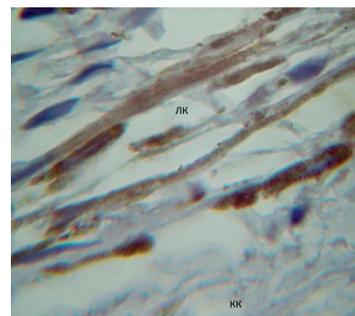


Рисунок 2 – Podoplanin+ – лимфатические капилляры оболочки зрительного нерва. ИГХ-выявление маркера эндотелия лимфатических сосудов Podoplanin с докраской гематоксилином. Увеличение $\times 1000$, масляная иммерсия. ЛК – лимфатический капилляр; КК – кровеносный капилляр

как лимфатические, так и кровеносные сосуды. При иммуногистохимическом окрашивании оболочек зрительного нерва с использованием моноклональных антител к маркеру эндотелиоцитов лимфатических сосудов Podoplanin выявляли позитивно окрашенные структуры в твердой оболочке зрительного нерва (рисунок 2). При использовании моноклональных антител к маркеру эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 окрашивались как лимфатические, так и кровеносные сосуды.

Выводы

Нами было проведено иммуногистохимическое исследование оболочек зрительного нерва с использованием двух антител к маркерам эндотелия лимфатических сосудов (LYVE-1, Podoplanin) и антитела к маркеру эндотелия кровеносных сосудов (CD31) и окрашиванием конъюнктивы глаза человека в качестве положительного контроля. Выявлены лимфатические сосуды в твердой оболочке зрительного нерва. При этом при LYVE-1+ окрашивании выявляли как лимфатические, так и кровеносные сосуды, как в зрительном нерве, так и в конъюнктиве, что дает основание полагать, что этот маркер не является строго специфичным для определения лимфатических сосудов в органе зрения.

Литература

1. *Grüntzig J.* Drainage of the radioactive lymphotropic tracers ^{198}Au -colloid and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sulfur-colloid from the orbit in rabbits (author's transl) / J. Grüntzig, J. Kiem, V. Becker, V. Schwarzhoff, L. Feinendegen, H. Schicha // *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 1977. Nov 25. № 204 (3). P. 161–75.
2. *Gausas R., Daly T. and Fogt F.* D2-40 Expression Demonstrates Lymphatic Vessel Characteristics in the Dural Portion of the Optic Nerve Sheath // *Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery.* 2007. № 23 (1). P. 32–36. doi 10.1097/01.iop.0000249431.04116.a8
3. *Killer H.* Does Immunohistochemistry Allow Easy Detection of Lymphatics in the Optic Nerve Sheath? / H. Killer, G. Jaggi, N. Miller, J. Flammer, P. Meyer // *Journal of Histochemistry & Cytochemistry.* 2008. № 56 (12). P. 1087–1092. doi:10.1369/jhc.2008.950840
4. *Schroedl F.* Consensus Statement on the Immunohistochemical Detection of Ocular Lymphatic Vessels / F. Schroedl, A. Kaser-Eichberger, S. Schlereth et al. // *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2014. № 55 (10). P. 6440.