

© Коллектив авторов, 2015
УДК 617.7

Ю.И.Бородин¹, Н.П.Бгатова¹, В.В.Черных², А.Н.Трунов², А.А.Пождаева¹, В.И.Коненков¹

СТРУКТУРА ЛИМФАТИЧЕСКИХ КАПИЛЛЯРОВ РЕСНИЧНОГО ТЕЛА ГЛАЗА ЧЕЛОВЕКА

¹ Лаборатория ультраструктурных исследований (зав. — проф. Н.П.Бгатова), Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии; ² научный отдел (зав. — проф. А.Н.Трунов), МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова, Новосибирский филиал

Методами световой микроскопии с использованием иммуногистохимии и электронной микроскопии исследована структурная организация интерстициальных пространств и сосудов ресничного тела глаза человека (n=5). В ресничном теле обнаружены широкие интерстициальные пространства — тканевые щели, ограниченные коллагеновыми волокнами и фибробластами. Выявлены также органоспецифические лимфатические капилляры. Согласно полученным данным и представлениям о лимфатическом регионе, выделены первые 2 звена лимфатического региона глаза: тканевые щели — прелимфатики и лимфатические капилляры ресничного тела. Третьим звеном лимфатического региона являются лимфатические узлы головы и шеи.

Ключевые слова: ресничное тело, прелимфатики, лимфатические капилляры, лимфатический регион глаза человека

До настоящего времени остается дискуссионным вопрос о путях оттока водянистой влаги (ВВ). Согласно имеющимся представлениям, основными структурами глаза, связанными с водной динамикой тканевой жидкости, являются ресничное тело (место продукции тканевой жидкости), трабекулярная сеть и увеосклеральный путь (основные пути оттока тканевой жидкости) [5]. Полагают, что ВВ выделяется эпителиальной выстилкой ресничных отростков и оставляет переднюю камеру в обычных условиях через трабекулярную сеть, венозный синус склеры (шлеммов канал) и далее через водяные вены, эпи- и интрасклеральные венозные сплетения поступает в системный кровоток [7]. При увеосклеральном пути тканевая жидкость течет через основание радужки, через интерстиций ресничного тела в супрахориоидальное пространство, двигаясь в склеру. Было предположено, что жидкость проникает в ткани орбиты периокулярно. Тем не менее, окончательно дренаж жидкости из супрахориоидального пространства не понятен. По мнению ряда исследователей [6], увеосклеральный отток может быть рассмотрен аналогично лимфодренажу тканевой жидкости в других органах, так как в ВВ могут быть белки из ресничной мышцы,

ресничных отростков и сосудистой оболочки [7]. Действительно, ВВ, заполняющая переднюю и заднюю камеры глаза, по своему составу похожа на плазму крови. Она способствует обмену веществ в стекловидном теле и сетчатке путем удаления продуктов метаболизма из структур переднего сегмента глаза. В связи с тем, что межклеточная жидкость ресничного тела богата белком, вполне вероятно, что ее дренаж должен осуществляться лимфатической системой [6], так как одной из ее функций является поддержание гомеостаза тканевой жидкости и удаление интерстициальной жидкости и белков. Долгое время считалось, что в структуре глаза отсутствуют лимфатические сосуды [6]. К настоящему времени при использовании иммуногистохимических маркеров эндотелиоцитов лимфатических сосудов выявлены лимфатические сосуды в ресничном теле [2, 9], однако не показана их ультраструктурная организация. Общепринято, что образующаяся тканевая жидкость проходит через рыхлую соединительную ткань вокруг кровеносных сосудов и через строму структур глаза, но не уделяется внимания структуре тканевых несосудистых путей оттока ВВ.

Сведения об авторах:

Бородин Юрий Иванович (e-mail: lymph@niikel.ru), Коненков Владимир Иосифович (e-mail: vikonenkov@gmail.com), Бгатова Наталья Петровна (e-mail: n_bgatova@ngs.ru), Пождаева Анастасия Алексеевна (e-mail: nastpoj@mail.ru), Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии, 630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2; Черных Валерий Вячеславович (e-mail: rimea@mntk.nsk.ru), Трунов Александр Николаевич (e-mail: trunov1963@yandex.ru), Новосибирский филиал, МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова, 630096, г. Новосибирск, ул. Колхидская, 10

Цель настоящего исследования — выявление и изучение ультраструктурной организации путей циркуляции ВВ в ресничном теле глаза человека.

Материал и методы. Объектом исследования были фрагменты энуклеированных по медицинским показаниям глаз больных людей ($n=5$). Для гистологического изучения материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обрабатывали по стандартной гистологической методике и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином — эозином и проводили иммуногистохимическую реакцию с использованием моноклональных антител к маркерам эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 и CD34 (Novocastra, Германия), лимфатических сосудов Lyve-1 (DCS ImmunoLine, Германия) и Pгох-1 (Covance, Германия), к рецептору фактора роста фибробластов — FGFR (Abcam, Англия). Все этапы реакции: депарафинизацию срезов, демаскировку, инкубацию с первичными антителами и т.д. осуществляли в автоматическом режиме, используя аппарат Benchmark/XT Ventana (Ventana Medical Systems, США). Для исследования в электронном микроскопе образцы глаза размером до 1 мм^3 фиксировали в 4% растворе параформальдегида, приготовленного на среде Хенкса, дофиксировали в течение 1 ч в 1% растворе OsO_4 на фосфатном буфере (рН 7,4), дегидратировали в этаноле возрастающей концентрации и заключали в эпон (Serva, Германия). Из полученных блоков готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм на ультратоме UC7/FC7 (Leica, Германия/Швейцария), окрашивали толуидиновым синим, изучали под световым микроскопом Leica DME (Leica, Германия) 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 (Jeol, Япония).

Результаты исследования. Иммуногистохимическое выявление маркеров эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 и CD34 показало, что строма ресничного тела равномерно пронизана большим количеством кровеносных капилляров, артериол и венул. Наиболее крупные сосуды были расположены у основания ресничных отростков (рис. 1, а). Различий в экспрессии исследованных маркеров CD34 и CD31 обнаружено не было.

При исследовании экспрессии маркеров эндотелиоцитов лимфатических сосудов Lyve-1 и Pгох-1 наблюдали подобие трабекул вдоль миоцитов ресничного тела (см. рис. 1, б). На срезах, окрашенных толуидиновым синим, по периферии гладких миоцитов были отмечены структуры, сходные с лимфатическими капиллярами (см. рис. 1, в). Выстилающие их клетки имели вытянутые ядра и узкие цитоплазматические выросты. При электронно-микроскопическом анализе (см. рис. 1, г, д) выявлено, что вдоль гладких миоцитов располагаются клетки с небольшим содержанием органелл в вытянутых узких участках цитоплазмы и имеющие межклеточные контакты типа

наложения и открытые межклеточные контакты. Подобные структуры, сходные с лимфатическими капиллярами, были отмечены и в строме ресничного тела (см. рис. 1, д).

Обнаруженные вытянутые клетки, образующие каналы, преимущественно вдоль гладких миоцитов ресничного тела экспрессировали маркеры эндотелиоцитов лимфатических сосудов Lyve-1 и Pгох-1 (см. рис. 1, б), но не выявлялись при использовании маркеров кровеносных сосудов CD31 и CD34 (рис. 2, а) и не имели базальной мембраны. Они контактировали с коллагеновыми фибриллами (см. рис. 1, г, д) и по структуре были сходны с отростками фибробластов, но не экспрессировали FGFR (см. рис. 2, а) и имели в цитоплазме редкие пузырьки.

В ресничном теле были отмечены широкие межтканевые щели, ограниченные коллагеновыми волокнами и фибробластами, что подтвердило иммуногистохимическое выявление FGFR (см. рис. 2, а). Особенно хорошо межтканевые щели выявлялись при электронно-микроскопическом исследовании. Наблюдали интерстициальные пространства различного размера, ограниченные коллагеновыми фибриллами, волокнами, фибробластами и их отростками (см. рис. 2, б). Коллагеновые волокна, фибробласты и их отростки были направлены как вдоль пучков гладких миоцитов, так и к ресничным отросткам.

Обсуждение полученных данных. До настоящего времени продолжают споры относительно существования и классификации лимфатических сосудов в структурах глаза человека [8]. Тем не менее, при применении иммуноэлектронного метода с использованием антител к эндотелию лимфатических сосудов, меченных золотом, а также при иммуногистохимической реакции и иммунофлюоресцентном методе выявления антител к подопланину и Lyve-1, были показаны лимфатические сосуды в ресничном теле глаза человека [2, 9]. Авторы описывали данные структуры как образующие трабекулы в ресничном теле, расположенные в виде узких полосок вдоль ресничной мышцы, иногда находящиеся отдельно в строме ресничного тела. В результате электронно-микроскопических исследований были обнаружены плоские клетки с тонкими цитоплазматическими выростами [2]. Они не экспрессировали маркеры эндотелия кровеносных сосудов (CD34), не имели базальной мембраны [9] и были охарактеризованы как лимфатические каналы. Им соответствуют выявленные нами в ресничном теле структуры, которые можно рассматривать как аналоги лимфатических капилляров, имеющие органоспецифические особен-

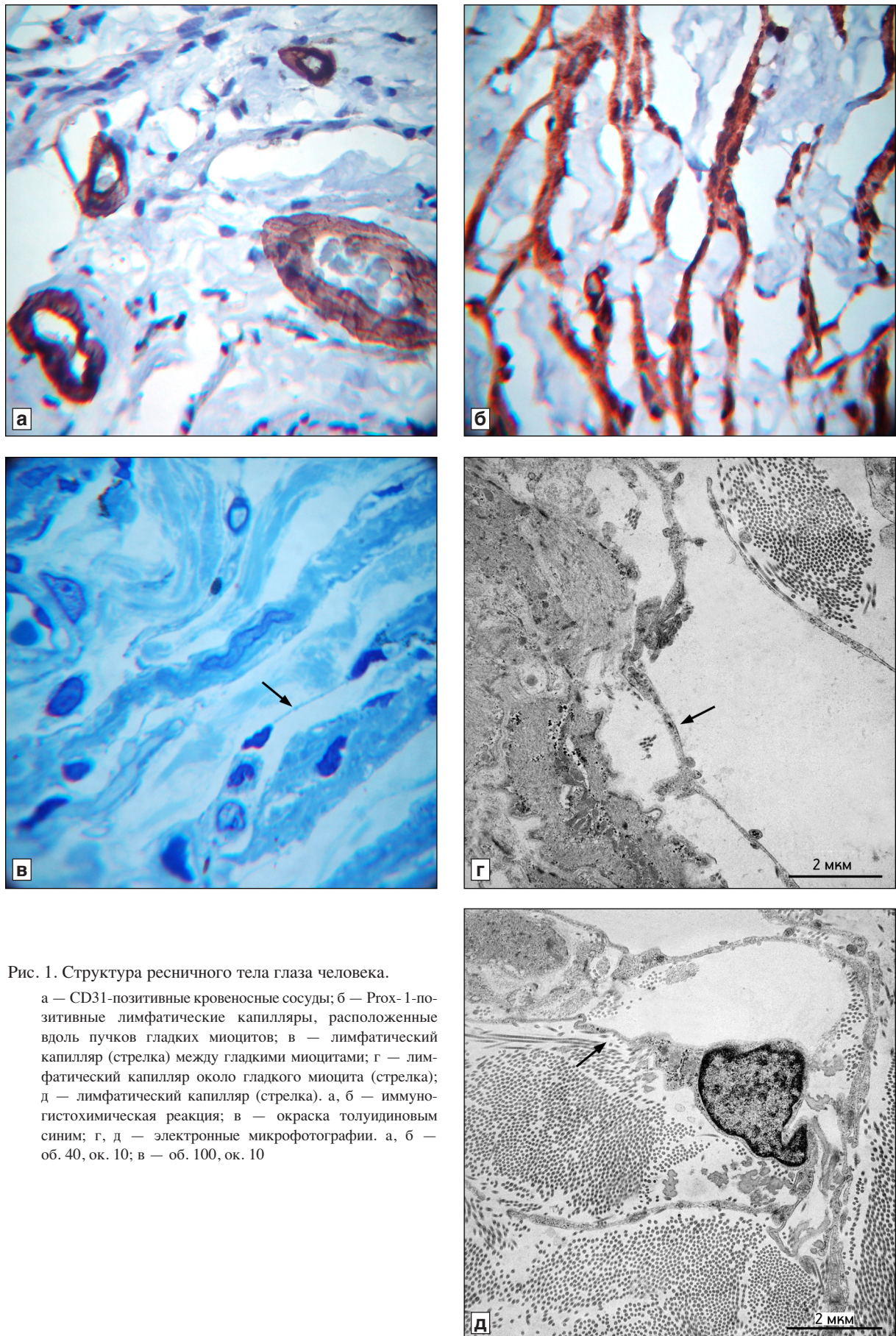


Рис. 1. Структура ресничного тела глаза человека.

а — CD31-позитивные кровеносные сосуды; б — Prox-1-позитивные лимфатические капилляры, расположенные вдоль пучков гладких миоцитов; в — лимфатический капилляр (стрелка) между гладкими миоцитами; г — лимфатический капилляр около гладкого миоцита (стрелка); д — лимфатический капилляр (стрелка). а, б — иммуногистохимическая реакция; в — окраска толуидиновым синим; г, д — электронные микрофотографии. а, б — об. 40, ок. 10; в — об. 100, ок. 10

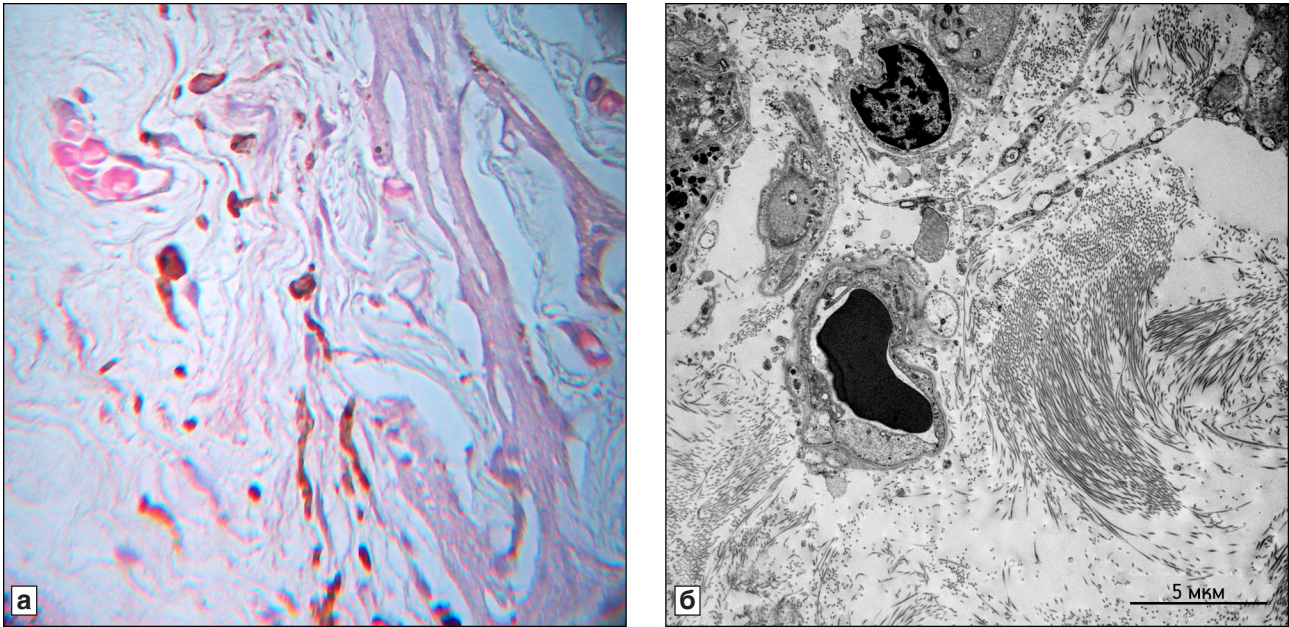


Рис. 2. Интерстициальные пространства ресничного тела глаза человека.

а — коллагеновые волокна, фибробласты и их отростки, направленные вдоль гладких миоцитов и к эпителию ресничного тела; б — интерстициальные пространства; параллельное расположение коллагеновых волокон и отростков фибробластов. а — иммуногистохимическая реакция выявления рецепторов фактора роста фибробластов с докраской гематоксилином. б — электронная микрофотография; а — об. 10, ок. 10.

ности. Лимфатические капилляры ресничного тела собирают тканевую жидкость и продукты метаболизма для направленного транспорта в лимфатическую систему, а затем в кровоток. К тому же, было показано [9], что через 15 мин после введения люминесцентных наносфер в переднюю камеру глаза овец они выявлялись в просвете Lyve-1^+ -лимфатических каналов ресничного тела. Через 4 ч после инъекции метку обнаруживали в шейном, заглоточном и поднижнечелюстном лимфатических узлах [9]. Эти данные указывают на присутствие лимфатических путей в ресничном теле глаза человека и на то, что жидкость и растворенные в ней вещества удаляются, по меньшей мере частично, через лимфатическую систему [6]. Предполагается, что при нарушении трабекулярной сети и усилении увеосклерального оттока будет происходить возрастание дренажа с участием лимфатической системы. Если обычный отток в сосудистой системе будет заблокирован, то более эффективным для дренажа ВВ окажется увеосклерально-лимфатический путь [6].

Нами также было показано наличие в ресничном теле широких интерстициальных пространств — тканевых щелей, ограниченных коллагеновыми волокнами и фибробластами. По терминологии M.Földi [3], тканевые щели, содержащие тканевую жидкость, являются путями несосудистой микроциркуляции в интерстиции — прелимфатиками. Они находятся вблизи

кровеносных сосудов, располагаются экстра- или интраадвентициально, либо окружают лимфатические капилляры [4]. По-видимому, тканевая жидкость в ресничном теле течет по интерстициальным пространствам — прелимфатикам.

Согласно нашим представлениям о лимфатическом регионе, включающем несосудистые пути движения тканевой жидкости — прелимфатики, лимфатические сосуды и регионарные лимфатические узлы [1], можно говорить о лимфатическом регионе глаза. В структуре последнего, на основании полученных данных, мы выделяем первые 2 звена — тканевые щели — прелимфатики и лимфатические каналы, аналоги лимфатических капилляров, ресничного тела. Далее следуют лимфатические сосуды мягких покровов головы, 3-м звеном лимфатического региона являются лимфатические узлы головы и шеи. Полученные результаты внушают мысль о существовании двух дренажных механизмов глаза. Первый — представлен трабекулярной сетью, венозным синусом склеры и водяными венами, сбрасывающими водное содержимое непосредственно в кровоток. Второй механизм включает все 3 звена стандартного лимфатического региона [1]: тканевые щели ресничного тела (прелимфатики), органоспецифические лимфатические капилляры ресничного тела и лимфатические сосуды мягких покровов головы, регионарные лимфатические узлы головы и шеи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бородин Ю.И. Лимфатический регион и регионарная лимфодетоксикация // Хирургия. Морфология. Лимфология, 2004. Т. 1, № 2. С. 5–6.
2. 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.
3. Földi M. The brain and the lymphatic system revisited // Lymphology. 1999. Vol. 32, № 2. P. 40–44.
4. Földi M., Csanda E., Simon M. et al. Lymphogenic pathways in the wall of cerebral blood Vessels // Angiologica. 1968. № 5. P. 250–268.
5. Goel M., Picciani R.G., Lee R.K., Bhattacharya S.K. Aqueous humor dynamics: a review // Open Ophthalmol. J. 2010. № 4. P. 52–59.
6. Kim M., Johnston M.G., Gupta N. et al. A model to measure lymphatic drainage from the eye // Exp. Eye Res. 2011. Vol. 93, № 5. P. 586–591.
7. Moustou A.E., Alexandrou P., Stratigos A.J. et al. Expression of lymphatic markers and lymphatic growth factors in psoriasis before and after anti-TNF treatment // An. Bras. Dermatol. 2014. Vol. 89, № 6. P. 891–897.
8. 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.
9. Yücel Y.H., Johnston M.G., Ly T. et al. Identification of lymphatics in the ciliary body of the human eye: a novel «uveo-lymphatic» outflow pathway // Exp. Eye Res. 2009. Vol. 89, № 5. P. 810–809.

Поступила в редакцию 15.03.2015
Получена после доработки 14.09.2015

THE STRUCTURE OF LYMPHATIC CAPILLARIES OF THE CILIARY BODY OF THE HUMAN EYE

*Yu.I.Borodin¹, N.P.Bgatova¹, V.V.Chernykh²,
A.N.Trunov², A.A.Pozhidayeva¹, V.I.Konenkov¹*

Using light microscopy, immunohistochemistry and electron microscopy, the structural organization of interstitial spaces and vessels of the ciliary body of the human eye (n=5) were studied. The ciliary body was found to contain wide interstitial spaces — tissue clefts bound by collagen fibers and fibroblasts. Organ-specific lymphatic capillaries were also demonstrated in the ciliary body. According to the present findings and the lymphatic region concept, the first 2 elements of the lymphatic region of the eye were described: tissue clefts — prelymphatics and lymphatic capillaries of the ciliary body. The third element of the lymphatic region are the lymph nodes of the head and neck.

Key words: *ciliary body, prelymphatics, lymphatic capillaries, lymphatic region of the human eye*

¹ Laboratory of Ultrastructural Research, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology; ² Research Department, S.N.Fyodorov «Eye Microsurgery» Interbranch Scientific and Technical Complex, Novosibirsk Branch