

# Лимфатические структуры глаза и увеолимфатический (метаболический) путь оттока внутриглазной жидкости. Часть 1

**Черных В.В.**, д.м.н., профессор, директор<sup>1</sup>;

**Бгатова Н.П.**, д.б.н., профессор, заведующая лабораторией ультраструктурных исследований<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава РФ, Новосибирский филиал, 630096, Российская Федерация, Новосибирск, ул. Колхидская, 10;

<sup>2</sup>НИИ клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения РАН, 630060, Российская Федерация, Новосибирск, ул. Тимакова, 2.

Авторы не получали финансирование при проведении исследования и написании статьи. Конфликт интересов: отсутствует.

**Для цитирования:** Черных В.В., Бгатова Н.П. Лимфатические структуры глаза и увеолимфатический (метаболический) путь оттока внутриглазной жидкости. Часть 1. *Национальный журнал глаукома*. 2018; 17(1):3-13.

## Резюме

**ЦЕЛЬ.** Выявить лимфатические структуры в органе зрения человека, изучить их ультраструктурную организацию и морфологические изменения в цилиарном теле и хориоидее при первичной открытоугольной глаукоме (ПОУГ).

**МЕТОДЫ.** Исследованы фрагменты энуклеированных по медицинским показаниям глаз больных (n=28). Основная группа — 17 глаз пациентов с диагнозом «терминальная стадия ПОУГ». Проведено иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных антител к маркерам эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 и CD34 («Novocastra», Германия), к маркерам эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 («Abcam», Англия), Podoplanin («Monosan», Нидерланды) и Prox-1 («Covance», Германия), к маркеру рецептора фактора роста фибробластов FGFR — («Abcam», Англия). Полученные препараты тканей глаза изучали в световом микроскопе Leica DME. Электронно-микроскопическое исследование тканей глаза проводили на электронном микроскопе JEM 1400 (Япония).

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Иммуногистохимический и ультраструктурный анализ выявил наличие в цилиарном теле лимфатических каналов и структурированных интерстициальных пространств (тканевые щели), сформированных коллагеновыми волокнами и фибробластами. Установлено, что в структуре хориоидеи присутствуют лимфатические каналы и лимфатические лакуны. Лимфатические каналы располагаются в сосудисто-капиллярной пластинке и ограничены фибробластоподобными и пигментными клетками, а лимфатические лакуны расположены в надсосудистой пластинке и выстланы фибробластоподобными клетками. Впервые лимфатические структуры выявлены на границе между склерой и решетчатой пластинкой зрительного нерва

и в его оболочках. При терминальной стадии ПОУГ в цилиарном теле отмечены структурные признаки отека и набухания стромы: расширение интерстициальных пространств, увеличение просветов венозных сосудов, уменьшение степени экспрессии маркеров эндотелия лимфатических сосудов. Сходные процессы при терминальной стадии ПОУГ обнаружены в хориоидее. Показано расширение просветов кровеносных сосудов и лимфатических каналов, набухание и увеличение размеров перикапиллярных пространств, набухание стромы хориокапиллярной пластинки и нарушение связи якорных коллагеновых волокон с миофибробластами и пигментными клетками. Выявлено достоверное увеличение толщины хориоидеи, возрастание объемных плотностей эпителия, интерстициальных пространств и сосудов, связанное с отеком и набуханием стромы хориоидеи, что указывает на развитие воспалительного процесса.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Полученные в исследовании новые фундаментальные данные расширяют современные представления о наличии элементов лимфатической системы в органе зрения человека и изменении их структуры при первичной открытоугольной глаукоме. Указанное позволяет сформулировать концепцию о существовании лимфатического (увеолимфатического) пути оттока внутриглазной (тканевой) жидкости, направленного на утилизацию и выведение продуктов метаболизма и клеточной деструкции. Структурные нарушения компонентов лимфатического пути играют важную роль в механизмах развития ПОУГ.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** лимфатические маркеры, элементы лимфатической системы глаза, ультраструктура, лимфатический путь оттока, первичная открытоугольная глаукома.

## Для контактов:

**Черных Валерий Вячеславович**, e-mail: rimma@mntk.nsk.ru

## ENGLISH

## Lymphatic structures of the eye and uveolymphatic (metabolic) pathway of intraocular fluid outflow. Part 1

CHERNYKH V.V., Med.Sc.D., Professor, Director<sup>1</sup>;

BGATOVA N.P., Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Ultrastructural Research<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>S.N. Fyodorov's Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk department, 10 Kolkhidskaya str., Novosibirsk, Russian Federation, 630071;

<sup>2</sup>Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Federal Research Center of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, 2 Timakova str., Novosibirsk, Russian Federation, 630117.

Conflicts of Interest and Source of Funding: none declared.

**For citations:** Chernykh V.V., Bgatova N.P. Lymphatic structures of the eye and uveolymphatic (metabolic) pathway of intraocular fluid outflow. Part 1. *Natsional'nyi zhurnal glaukoma*. 2018; 17(1):3-13.

### Abstract

**PURPOSE:** To identify the lymphatic structures of the human eye, study their ultrastructural organization and morphological changes in the ciliary body and the choroid in patients with primary open-angle glaucoma.

**METHODS:** Fragments of eye tissues enucleated for medical indications (n=28) were studied. The main group included 17 eyes of patients diagnosed with terminal stage primary open-angle glaucoma. The tissues underwent an immunohistochemical study using monoclonal antibodies to markers of the following agents: blood vessel endotheliocytes CD31 and CD34 («Novocasa», Germany), lymphatic endotheliocytes LYVE-1 («Abcam», England), Podoplanin («Monosan», The Netherlands) and Prox-1 («Covance», Germany), fibroblast growth factor receptor marker FGFR («Abcam», England). Obtained eye tissues were studied by means of Leica DME light microscope. Electron microscopy of the eye tissues was carried out using JEM 1400 electron microscope (Japan).

**RESULTS:** The immunohistochemical and ultrastructural analysis of the ciliary body revealed the presence of lymphatic channels and structured interstitial spaces (tissue slits) formed by collagen fibers and fibroblasts. Lymphatic canals and lacunae were also found in the choroid. Lymphatic channels were located in the vascular capillary layer and were confined to cells similar to fibroblasts and pigment cells, while lymphatic lacunae were found in the suprachoroid layer and were lined with cells similar to fibroblasts. For the first time lymphatic structures were found on the border between the sclera and the lamina

cribrosa and in the optic nerve sheath. The ciliary body in patients with terminal primary open-angle glaucoma shows the following structural signs of edema and stromal swelling: interstitial space widening, venous vessels lumen enlargement, reduction of the lymphatic endothelial cells marker expression. Similar processes were found in the choroid during the terminal stage of primary open-angle glaucoma: enlarged blood and lymphatic vessels lumens, pericapillary spaces swelling and enlargement, choriocapillary layer stroma swelling as well as the disruption of the anchoring collagen fibrils binding to myofibroblasts and pigment cells. The study revealed an associated with swelling significant increase in choroid thickness and volume density of the epithelium, interstitial spaces and vessels, which indicated inflammation.

**CONCLUSION:** The new fundamental data obtained during the study broadens the current understanding of lymphatic system elements presence in the human eye and their changes associated with primary open-angle glaucoma. This allows us to postulate the existence of a lymphatic (uveolymphatic) pathway of intraocular (tissue) fluid outflow, aimed at utilizing and excreting metabolic and cellular destruction products. Structural disturbances of the lymphatic outflow components play an important role in the mechanisms of primary open-angle glaucoma development.

**KEYWORDS:** lymphatic markers, ocular lymphatic system, ultrastructure, lymphatic outflow, primary open-angle glaucoma.

**Н**е вызывает сомнения, что одной из значимых медико-социальных проблем современной офтальмологии является увеличение числа лиц, страдающих глаукомой — патологическим процессом, занимающим ведущее место в развитии слабости зрения и слепоты во всех странах мира, с высоким уровнем экономического ущерба [1-6].

Считается, что в основе патогенеза первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ) лежат морфофункциональные нарушения в органе зрения, обуславливающие повышение внутриглазного давления (ВГД), которое приводит к патологическим изменениям в дренажной системе глаза, влияющим на сопротивление оттоку внутриглазной жидкости (ВГЖ). Развитие патологического процесса

приводит к деструкции и дезорганизации соединительной ткани, фибриноидному набуханию в области трабекулярного аппарата и прогрессирующему склерозированию трабекулярной зоны. Таким образом, механический процесс создает условия для возрастания гидравлического сопротивления в трабекулярной зоне и росту ВГД, создает условия для экскавации решетчатой пластинки склеры и постепенной гибели аксонов ганглиозных клеток зрительного нерва [7-12].

Однако до настоящего времени многие аспекты патогенеза ПОУГ, включая роль нарушений цитокиновой регуляции и иммунометаболических изменений, способных приводить к развитию деструктивно-воспалительного процесса, остаются недостаточно изученными. При этом наибольший интерес для исследования представляют трабекулярный аппарат, цилиарное тело и хориоидея, поскольку нарушение их структуры способно привести к затруднению оттока ВГЖ и повышению ВГД, что замыкает порочный круг заболевания [13].

В то же время известно, что одной из важнейших интеграционных систем организма, играющей значимую роль в процессах выведения ксенобиотиков, продуктов, возникающих в процессе жизнедеятельности клеток, развития деструктивно-воспалительного процесса, метаболических нарушений и поддержания гомеостаза организма, является лимфатическая система [14-17].

В научной литературе до последнего времени существовали представления об отсутствии лимфатических элементов во внутренних структурах глаза, которые базировались на результатах классических исследований, проведенных в 70-х годах XX века [18], и возможная роль лимфатической системы в развитии заболеваний органа зрения практически не обсуждалась.

И только в последнее десятилетие, в результате развития методов иммуногистохимического исследования и появления 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 [19-24].

Важной для понимания роли лимфатической системы в дренажной функции глаза является экспериментальная работа Kim M. et al. (2011). Авторами показано, что при введении люминесцентных микросфер в переднюю камеру глаза овцы они выявляются в просвете LYVE-1+ лимфатических каналов цилиарного тела экспериментального животного. Через четыре часа после инъекции метку обнаруживали в шейном, заглоточном и подчелюстном лимфатических узлах. Эти данные указывают на присутствие лимфатических каналов в цилиарном теле глаза человека, и что жидкость и растворенные в ней вещества оттекают, по меньшей мере частично, через лимфатическую систему [19].

Однако результаты, представленные в имеющихся научных публикациях, и вопрос о наличии и роли лимфатического пути оттока ВГЖ остаются предметом острой дискуссии [25].

Таким образом, данные о наличии элементов лимфатической системы в органе зрения и их роль в формировании оттока ВГЖ, учитывая значимость лимфатической системы в утилизации продуктов метаболизма и клеточной деструкции, остаются не общепринятыми и требуют дальнейшего изучения для создания методов патогенетически обоснованной терапии, профилактики и лечения пациентов с ПОУГ, что определяет актуальность исследований в этой области.

Цель настоящего исследования — выявить лимфатические структуры в органе зрения человека, изучить их ультраструктурную организацию и морфологические изменения в цилиарном теле и хориоидее при ПОУГ.

## Материалы и методы

Для решения поставленной в настоящем исследовании цели и задач 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». Меланома хориоидеи располагалась постэкваториально, без распространения на смежные ткани. Энуклеация проводилась по поводу заболевания, не влияющего на структурную организацию глаза.

В качестве критериев исключения из обеих групп являлось наличие у пациентов острых и обострения хронических воспалительных заболеваний органа зрения, неоваскулярной глаукомы, увеита различной этиологии и локализации, тотального гемофтальма, опухолевых и аутоиммунных процессов любой локализации.

*Офтальмологические методы исследования:* всем пациентам диагноз ставился на основании стандартного офтальмологического обследования, включающего определение остроты зрения, бинокулярной офтальмоскопии, сферопериметрии, эхоофтальмографии, оптической когерентной томографии, измерения внутриглазного давления (ВГД).

*Имуногистохимическое (ИГХ) исследование:* для морфологического изучения биологические образцы фиксировали в 4% 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 согласно протоколам производителей антител. Использовали моноклональные

антитела к маркерам эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 и CD34 («Novocasa», Германия); моноклональные тела к маркерам эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 («Abscam», Англия); Podoplanin («Monosan», Нидерланды) и Prox-1 («Covance», Германия); к маркеру рецептора фактора роста фибробластов FGFR («Abscam», Англия). Полученные препараты тканей глаза изучали в световом микроскопе Leica DME и фотографировали с помощью компьютерной программы Avignon.

**Электронно-микроскопическое исследование:** для исследования в электронном микроскопе образцы трабекулярного аппарата, цилиарного тела, хориоидеи размером до 1 мм<sup>3</sup> фиксировали в 4% растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, дофиксировали в течение 1 часа в 1% растворе OsO<sub>4</sub> 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 70-100 нм, контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1400 (Япония).

**Морфометрическое исследование:** морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы Image J («WayneRasband», США) при увеличении микрофотографий в 400 раз. Оценивали объемные плотности интерстициальных пространств, сосудов и мышечных элементов с использованием закрытой тестовой системы из 315 (15×21) точек, площадь тестовой системы составляла 22 125 мкм<sup>2</sup> (125×177 мкм).

### Статистические методы исследования

Полученные цифровые данные были подвергнуты статистическому анализу и представлены в виде таблицы и графиков. Анализ данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 10 производства StatSoftInc (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% ( $p < 0,05$ ).

Исследование было проведено в соответствии с принципами Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека», Федеральным законом

Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323 ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», а также требованиями Федерального закона от 27.07.2006 № 152-ФЗ (ред. от 21.07.2014) «О персональных данных» (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.09.2015). У всех пациентов было получено информированное согласие на операции, забор энуклеированного глаза, а также использование данных исследования в научных целях.

### Результаты

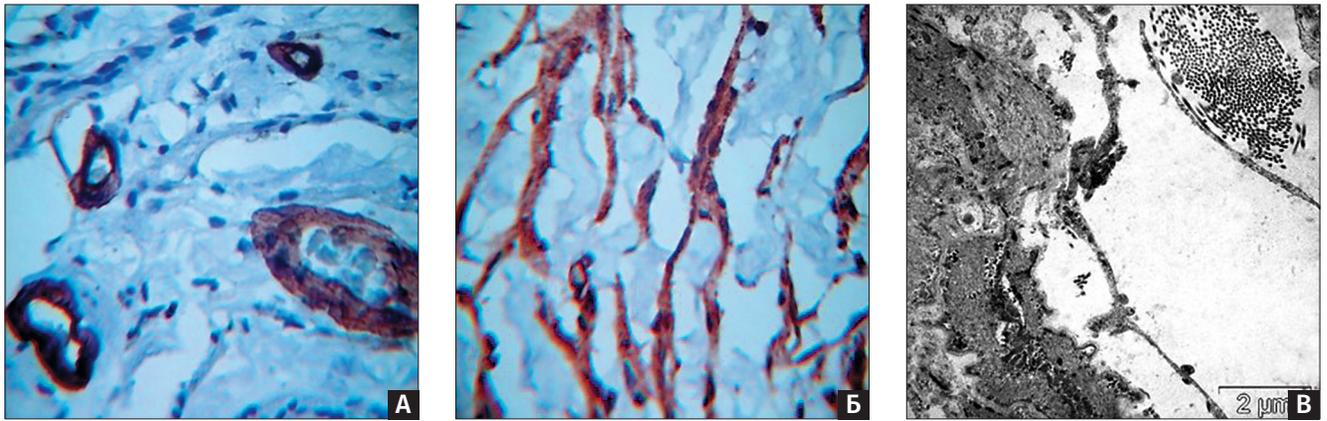
Первым этапом настоящего исследования являлось изучение структуры цилиарного тела пациентов контрольной группы. Результаты представлены на рис. 1.

Окрашивание препаратов глаза на маркеры эндотелиоцитов кровеносных сосудов CD31 и CD34 показало, что строма цилиарного тела равномерно пронизана большим количеством кровеносных капилляров, артериол и венул.

Наиболее крупные по размеру просветов кровеносные сосуды были расположены у основания цилиарных отростков. Форма просветов выявляемых кровеносных сосудов была преимущественно округлая или эллипсоидная (рис. 1А). 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 (рис. 1Б). Обнаруженные вытянутые клетки, образующие каналы, преимущественно вдоль мышечного волокна цилиарного тела, окрашивались на маркеры эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и Prox-1 (рис. 1Б), не окрашивались на маркеры кровеносных сосудов CD31 и CD34 (рис. 1А) и не имели базальной мембраны. Они контактировали с коллагеновыми фибриллами (рис. 1В) и по структуре были сходны с фибробластами и их отростками, но не всегда окрашивались на маркер фибробластов. При электронно-микроскопическом анализе было выявлено, что вдоль мышечных волокон цилиарного тела располагаются клетки, которые имеют небольшое содержание органелл в вытянутых узких участках цитоплазмы, межклеточные контакты типа наложения и открытые межклеточные контакты (рис. 1В, Г). Исходя из данных иммуногистохимического анализа и ультраструктурной организации, мы определили данные клетки как фибробластоподобные клетки, экспрессирующие маркеры эндотелия лимфатических сосудов.

Развитие глаукоматозного процесса приводило к ряду изменений в структуре цилиарного тела. Данные представлены на рис. 2.

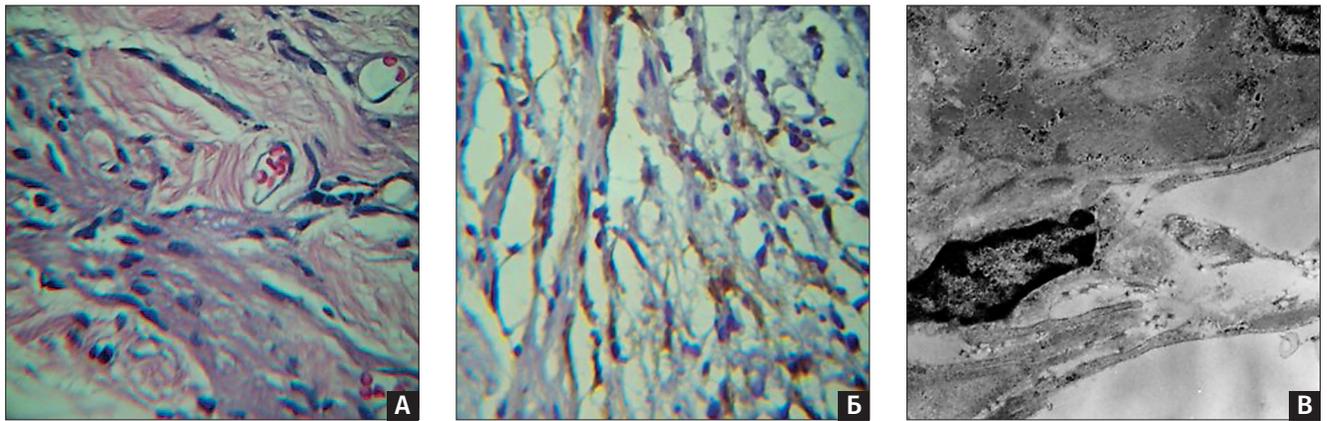
Наблюдалось значительное расширение интерстициальных пространств и возрастание просветов сосудов (рис. 2А).



**Рис. 1.** Структура цилиарного тела в контрольной группе: А — CD31+, кровеносные сосуды в цилиарном теле глаза человека; Б — Prox-1+, лимфатические каналы вдоль пучков мышечных волокон цилиарного тела; В — лимфатический канал около гладкомышечного волокна цилиарного тела; Г — открытые межклеточные контакты в структуре лимфатического канала в цилиарном теле. Ув.: А, Б — ×400; В, Г — ×8000



**Fig. 1.** Ciliary structure in control group patients: А — CD31+, human ciliary blood vessels; Б — Prox-1+, lymphatic vessels along the ciliary muscle bundles; В — lymphatic vessel near the smooth muscle fiber of the ciliary body; Г — open cell junctions in the ciliary lymphatic channel structure. Magnification: А, Б — ×400; В, Г — ×8000



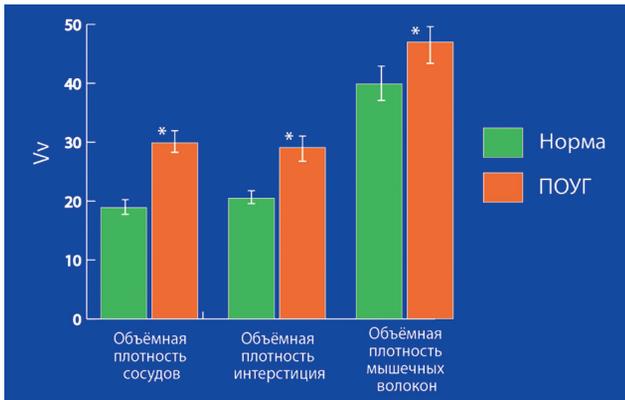
**Рис. 2.** Цилиарное тело при терминальной стадии ПОУГ: А — расширение интерстициальных пространств и возрастание просветов сосудов. Окраска гематоксилином и эозином; Б — слабая степень экспрессии маркера эндотелия лимфатических сосудов Podoplanin. ИГХ окрашивание на Podoplanin; В — нарушение структурной целостности клеток, ограничивающих лимфатический канал. Ув.: А, Б — ×400; В — ×8000

**Fig. 2.** Ciliary body in a patient with terminal POAG: А — dilatation of interstitial spaces and vessel lumens. Hematoxylin and eosin stain; Б — low degree expression of lymphatic vessel endothelium marker Podoplanin. IHC Podoplanin stain; В — cell structural integrity damage in the lymphatic vessel. Magnification: А, Б — ×400; В — ×8000

Иммуногистохимическое окрашивание препаратов цилиарного тела на Podoplanin выявило слабую степень экспрессии маркера эндотелия лимфатических сосудов при первичной открытоугольной глаукоме (рис. 2Б). Данный факт мог быть следствием

нарушения структурной целостности мембран фибробластоподобных клеток, образующих лимфатические каналы, при развитии глаукомы (рис. 2В).

Морфометрический анализ структуры цилиарного тела при терминальной стадии ПОУГ позволил

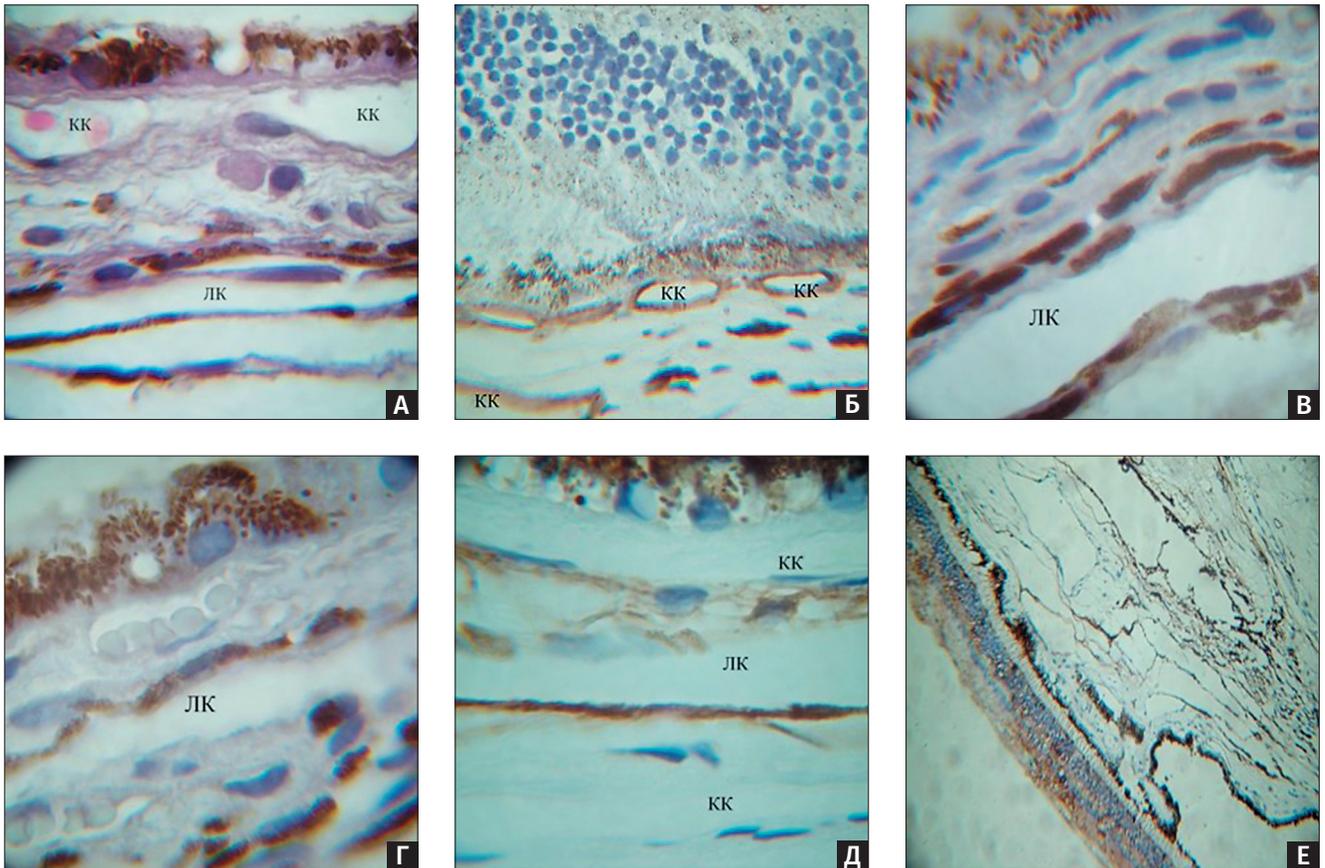


**Рис. 3.** Объемные плотности структур в цилиарном теле у пациентов с терминальной стадией ПОУГ и в контрольной группе, \* —  $p < 0,05$ , достоверное отличие от значений в контрольной группе

**Fig. 3.** Ciliary body structures volume density in patients with terminal POAG and the control group, \* —  $p < 0.05$ , significant difference from the control group values

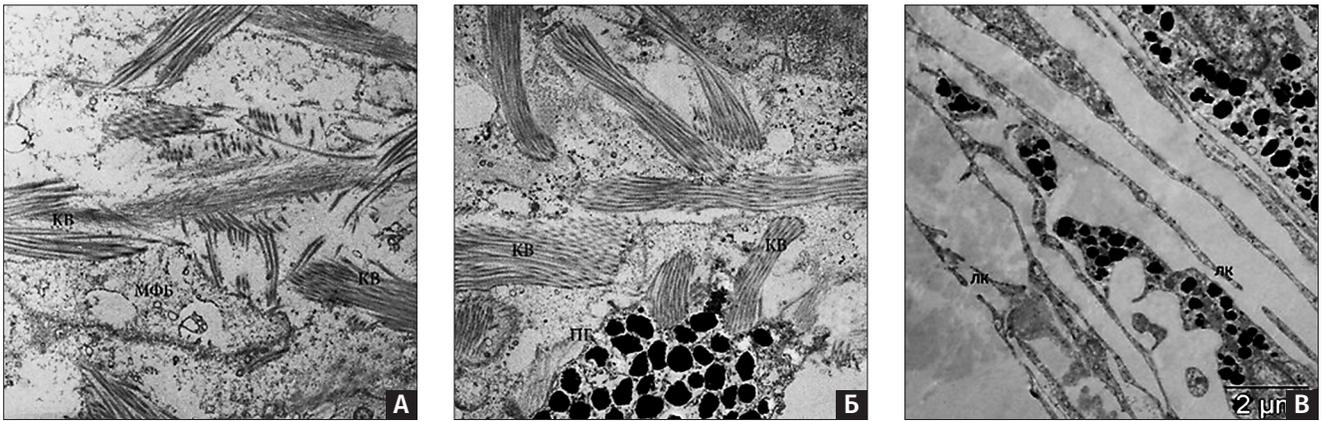
выявить ряд изменений (рис. 3). Объемная плотность сосудов в цилиарном теле в контрольной группе составила  $18,9 \pm 2,9$  мкм<sup>2</sup>, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 54,5% и составило  $29,2 \pm 3,9$  мкм<sup>2</sup>, что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ).

Объемная плотность интерстиция в цилиарном теле в контрольной группе составила  $20,5 \pm 2,1$  мкм<sup>2</sup>, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 42,1% и составило  $29,1 \pm 3,6$  мкм<sup>2</sup>, что было больше значения показателя в группе сравнения и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ). При оценке объемной плотности мышечных волокон была установлена тенденция к её нарастанию при терминальной стадии ПОУГ ( $39,9 \pm 4,7$  против  $47,0 \pm 5,2$  мкм<sup>2</sup>), однако достоверности различий выявлено не было. Данные представлены на рис. 3.

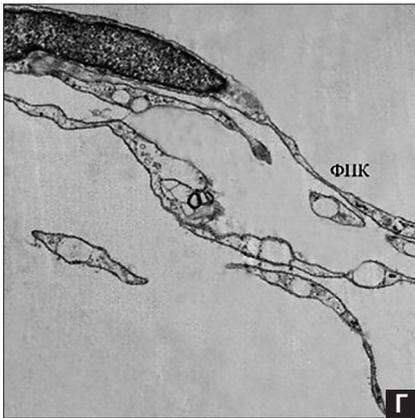


**Рис. 4.** Сосудистое русло хориоидеи в контрольной группе: А — структура хориокапиллярной пластинки. КК — просвет кровеносного капилляра, ЛК — просвет лимфатического канала. Окраска гематоксилином и эозином. Б, В, Г, Д, Е — ИГХ выявление маркеров: Б — CD34+, кровеносные сосуды; В — Prox-1+, лимфатический сосуд; Г — LYVE-1+, лимфатический сосуд; Д — Podoplanin+, лимфатический сосуд; Е — Podoplanin+, лимфатические сосуды на границе склеры и хориоидеи. Ув.  $\times 900$

**Fig. 4.** Choroidal vascular bed in the control group patients: А — choriocapillary structure. КК — blood capillary lumen, ЛК — lymphatic channel lumen. Hematoxylin and eosin stain. Б, В, Г, Д, Е — IHC marker test: Б — CD34+, blood vessel; В — Prox-1+, lymphatic vessel; Г — LYVE-1+, lymphatic vessel; Д — Podoplanin+, lymphatic vessel; Е — Podoplanin+, lymphatic vessels on the border between sclera and choroid. Magnification  $\times 900$



**Рис. 5.** Структура стромального каркаса хориоидеи в контрольной группе. KB — пучки якорных коллагеновых волокон, МФБ — миофибробласт, ПГ — пигментная клетка: А — разнонаправленное расположение пучков коллагеновых волокон; Б — якорные коллагеновые волокна вокруг пигментной клетки; В, Г — лимфатические каналы (ЛК) и структура лимфатических лакун хориоидеи (ФПК — фибробластоподобная клетка). Ув. ×8000



**Fig. 5.** Choroid stromal structure in the control group. KB — collagen anchoring fibrils, МФБ — myofibroblast, ПГ — pigment cell: А — multidirectional collagen fibrils; Б — collagen anchoring fibrils surrounding the pigment cell; В, Г — lymphatic channels (ЛК) and choroidal lymphatic lacunae structure (ФПК — fibroblast-like cell). Magnification ×8000

Таким образом, с помощью иммуногистохимического и электронно-микроскопического исследования в цилиарном теле глаза человека выявлены лимфатические каналы, образованные вытянутыми фибробластоподобными клетками, экспрессирующими маркеры эндотелия лимфатических сосудов, и их отростками. Кроме того, показано наличие структурированных интерстициальных пространств — тканевых щелей, ограниченных коллагеновыми волокнами и фибробластами.

По терминологии М. Földi (1999), 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. Следовательно, тканевая жидкость течет по структурированным интерстициальным пространствам — прелимфатикам.

Следующим этапом настоящего исследования было морфологическое и ультраструктурное изучение хориоидеи. Результаты представлены на рис. 4.

При окрашивании гематоксилином и эозином образцов хориоидеи пациентов контрольной группы в структуре хориокапиллярной пластинки выявляли пигментные клетки, кровеносные капилляры, коллагеновые волокна, фибробласты и каналы, похожие на лимфатические (рис. 4А).

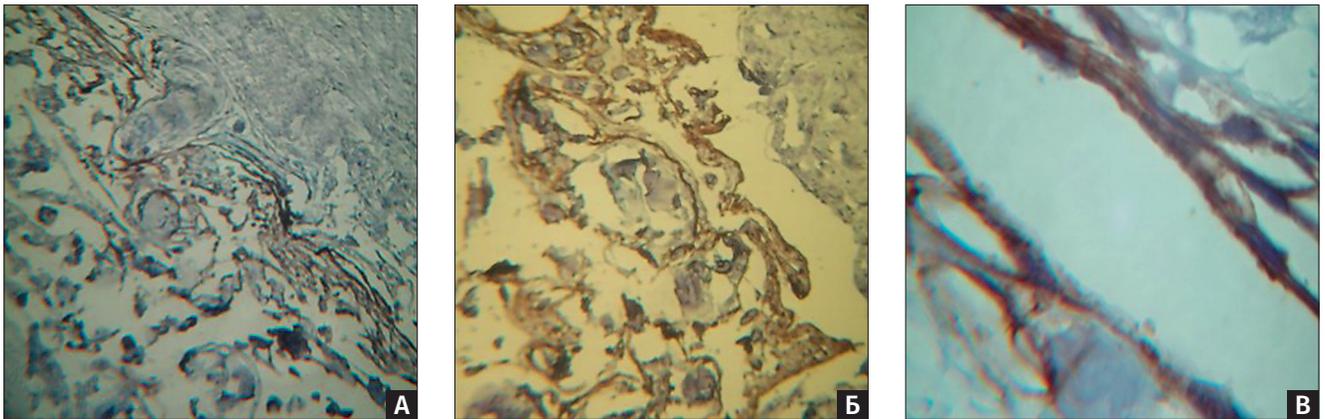
Иммуногистохимическое окрашивание на маркер эндотелия кровеносных сосудов CD34 показало, что лежащие рядом со слоем пигментных клеток сосуды являются кровеносными капиллярами (рис. 4Б).

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. Данные каналы были отнесены к лимфатическим (рис. 4В,Г,Д).

Иммуногистохимическое выявление маркера эндотелия лимфатических сосудов Podoplanin на границе склеры и хориоидеи продемонстрировало наличие в данной области лимфатических структур (рис. 4Е).

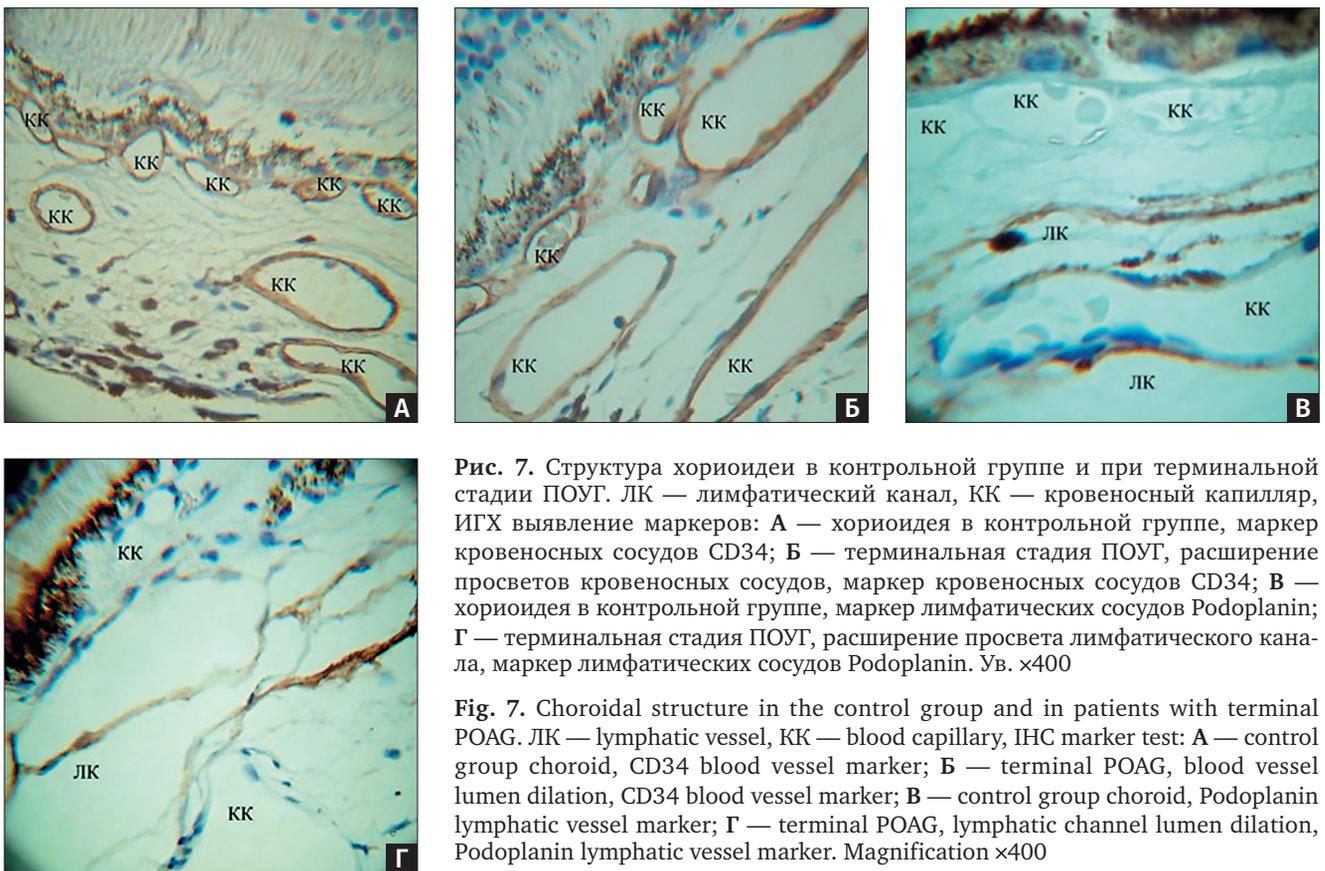
При исследовании в электронном микроскопе (рис. 5) было выявлено, что строма хориокапиллярной пластинки пронизана пучками коллагеновых волокон, которые связаны с миофибробластами и пигментными клетками и, вероятно, играют роль каркаса, препятствующего значительному изменению размера данной части оболочки (рис. 5А,Б).

Электронно-микроскопическое исследование подтвердило, что лимфатические каналы располагаются между кровеносными капиллярами и кровеносными сосудами и образованы фибробластоподобными клетками и их отростками, миофибробластами и сопровождаются пигментными клетками (рис. 5В).



**Рис. 6.** Структура фрагмента глаза в контрольной группе, ИГХ выявление маркера лимфатических сосудов Podoplanin: А, Б — на границе склеры и решетчатой пластинки; В — структура оболочки зрительного нерва. Ув. ×400

**Fig. 6.** Eye fragment structure, control group. IHC Podoplanin lymphatic vessels marker test: А, Б — on the border between sclera and choroid; В — optic nerve sheath structure. Magnification ×400



**Рис. 7.** Структура хориоидеи в контрольной группе и при терминальной стадии ПОУГ. ЛК — лимфатический канал, КК — кровеносный капилляр, ИГХ выявление маркеров: А — хориоидея в контрольной группе, маркер кровеносных сосудов CD34; Б — терминальная стадия ПОУГ, расширение просветов кровеносных сосудов, маркер кровеносных сосудов CD34; В — хориоидея в контрольной группе, маркер лимфатических сосудов Podoplanin; В — терминальная стадия ПОУГ, расширение просвета лимфатического канала, маркер лимфатических сосудов Podoplanin. Ув. ×400

**Fig. 7.** Choroidal structure in the control group and in patients with terminal POAG. ЛК — lymphatic vessel, КК — blood capillary, IHC marker test: А — control group choroid, CD34 blood vessel marker; Б — terminal POAG, blood vessel lumen dilation, CD34 blood vessel marker; В — control group choroid, Podoplanin lymphatic vessel marker; В — terminal POAG, lymphatic channel lumen dilation, Podoplanin lymphatic vessel marker. Magnification ×400

В переходной зоне между сосудистой оболочкой и склерой отмечали большие пространства, ограниченные удлиненными клетками, так называемые лакуны, которые предположительно рассматриваются как лимфатические структуры. Лимфатические лакуны были выстланы фибробластоподобными клетками, которые неплотно контактировали между собой и не были связаны пучками якорных

филаментов, которые бы ограничивали значительные изменения размеров лакун (рис. 5Г).

Учитывая предположение о существовании оттока ВГЖ по оболочкам зрительного нерва, представляло интерес выявление лимфатических структур на границе склеры и решетчатой пластинки зрительного нерва и в его оболочках в контрольной группе. Данные представлены на рис. 6.



**Рис. 8.** Структура лимфатических каналов хориоидеи при терминальной стадии ПОУГ: А — набухание перикапиллярных пространств; Б — нарушение связи якорных коллагеновых волокон с пигментными клетками; В — увеличение интерстициальных пространств и набухание клеток, выстилающих лимфатический канал: фибробластоподобной (ФПК), пигментной клетки (ПГ) и миофибробласта (МФБ). Ув.  $\times 8000$

**Fig. 8.** Choroid lymphatic channels structure in patients with terminal POAG: А — pericapillary spaces swelling; Б — collagen anchoring fibrils and pigment cells binding defect; В — interstitial spaces' dilation and lymphatic channel lining cells swelling: fibroblast-like cell (ФПК), pigment cell (ПГ) and myofibroblast (МФБ). Magnification  $\times 8000$

Было установлено, что Podoplanin+-окрашенные структуры визуализировались на границе между склерой и зрительным нервом — как в склере, так в области решетчатой пластинки (рис. 6А,Б), а также в оболочках зрительного нерва (рис. 6В).

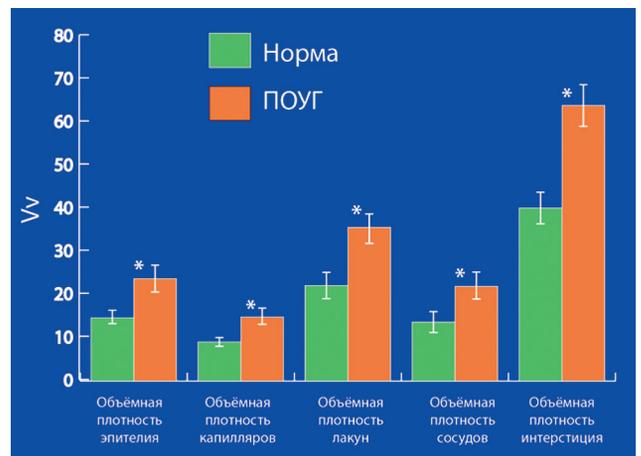
При изучении материалов, полученных от пациентов с терминальной стадией ПОУГ, в хориоидее были отмечены структурные изменения (рис. 7).

Было установлено возрастание просветов кровеносных сосудов и лимфатических каналов.

На рис. 8 представлены данные электронномикроскопического исследования. Отмечалось набухание и увеличение размеров перикапиллярных пространств (рис. 8А), набухание стромы хориокапиллярной пластинки и нарушение связи якорных коллагеновых волокон с миофибробластами и пигментными клетками (рис. 8Б), а также набухание клеток, выстилающих лимфатические каналы, и увеличение размеров интерстиция (рис. 8В).

Морфометрический анализ структуры хориоидеи при терминальной стадии ПОУГ также позволил выявить ряд изменений. Данные представлены на рис. 9.

Объемная плотность эпителия в контрольной группе составила  $14,8 \pm 2,3 \text{ мкм}^2$ , а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 60,8% и составило  $23,8 \pm 3,4 \text{ мкм}^2$ , что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ). Объемная плотность капилляров в контрольной группе составила  $9,1 \pm 1,6 \text{ мкм}^2$ , а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 63,7% и составило  $14,9 \pm 2,8 \text{ мкм}^2$ , что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 9.** Объемные плотности структур хориоидеи у пациентов с терминальной стадией ПОУГ, относительно контрольной группы; \* —  $p < 0,05$ , достоверное отличие от значений в контрольной группе

**Fig. 9.** Choroid structures volume density in patients with terminal POAG and the control group, \* —  $p < 0,05$ , significant difference from the control group values

Объемная плотность лакун в контрольной группе составила  $22,2 \pm 3,5 \text{ мкм}^2$ , а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 60,8% и составило  $35,7 \pm 4,1 \text{ мкм}^2$ , что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ).

Объемная плотность сосудов в контрольной группе составила  $13,7 \pm 1,9 \text{ мкм}^2$ , а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 60,4% и составило  $22,0 \pm 3,6 \text{ мкм}^2$ , что было больше значения показателя в контрольной

группе и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ). Объемная плотность сосудов в контрольной группе составила  $40,2 \pm 5,3$  мкм<sup>2</sup>, а при терминальной стадии ПОУГ значение изучаемого показателя возросло на 59,2% и составило  $64,0 \pm 6,6$  мкм<sup>2</sup>, что было больше значения показателя в контрольной группе и достоверно от него отличалось ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, было установлено 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. При этом пропорционально увеличивались объемные плотности структур сосудистой оболочки, таких как эпителиальный слой, капилляры, сосуды и интерстициальные пространства.

## Заключение

При использовании молекулярных маркеров эндотелиоцитов лимфатических сосудов в органе зрения выявлены структурные элементы лимфатической системы. В цилиарном теле, в тканях хориоидеи и супрахориоидального пространства, на границе склеры и решетчатой пластинки зрительного нерва, а также в оболочках зрительного нерва визуализированы тканевые щели (прелимфатики), лимфатические каналы и лакуны. Указанное позволяет сделать заключение о наличии в органе зрения кроме «оперативного» пути оттока ВГЖ, направленного на сброс воды и низкомолекулярных веществ непосредственно через систему шлеммова канала и его коллекторов в сосудистое русло, лимфатического (увеолимфатического) пути оттока внутриглазной (тканевой) жидкости, направленного на выведение и утилизацию крупномолекулярных продуктов метаболизма, а также появляющихся в циркуляции при развитии в органе зрения деструктивно-воспалительных, иммунных и других процессов биологически активных субстанций.

Вероятно, учитывая выявленное нами наличие лимфатических структур в органе зрения, особенно в оболочках зрительного нерва, такой отток может проходить через лимфатические структуры головного мозга, наличие которых было показано

в ряде исследований (синусы твердой мозговой оболочки имеют молекулярные маркеры лимфатических эндотелиальных клеток и могут выполнять функцию лимфатических путей оттока) [26]. Тем более было показано, что введение трассеров Evans blue в субарахноидальное пространство позволяет выявить метку через определенное время в шейных лимфатических узлах. Аналогичное продвижение маркера, вводимого в глаз овцы, было показано в исследованиях M. Kim et al. (2011) [19]. Однако такое допущение требует серьезного фундаментального подтверждения совместными исследованиями со специалистами, занимающимися изучением оттока цереброспинальной жидкости.

При первичной открытоугольной глаукоме обнаружены структурные изменения компонентов лимфатического (увеолимфатического) пути оттока, которые могут играть значительную роль в патогенезе заболевания. Так, в цилиарном теле выявлено расширение интерстициальных пространств, увеличение просветов венозных сосудов, а также уменьшение степени экспрессии маркера эндотелия лимфатических сосудов, что свидетельствует об отеке и воспалении в изучаемой области. В хориоидеи показано расширение просветов кровеносных сосудов и лимфатических каналов, набухание и увеличение размеров перикапиллярных пространств, набухание стромы хориокапиллярной пластинки и нарушение связи якорных коллагеновых волокон с миофибробластами и пигментными клетками, что также свидетельствует об отеке и наличии местного хронического воспаления в изучаемой области.

Таким образом, полученные в исследовании новые фундаментальные данные расширяют современные представления о наличии элементов лимфатической системы в органе зрения человека и изменении их структуры при первичной открытоугольной глаукоме. Указанное позволяет сформулировать концепцию о существовании лимфатического (увеолимфатического) пути оттока внутриглазной (тканевой) жидкости, направленного на утилизацию и выведение продуктов метаболизма и клеточной деструкции. Структурные нарушения компонентов лимфатического пути играют важную роль в механизмах развития первичной открытоугольной глаукомы.

## Литература

1. Егоров Е.А., Куроедов А.В. Отдельные клинико-эпидемиологические характеристики глаукомы в странах СНГ и Грузии. Результаты многоцентрового открытого ретроспективного исследования (часть 1). *РМЖ Клиническая офтальмология*. 2011;3:97-100.
2. Егоров Е.А., Куроедов А.В. Отдельные клинико-эпидемиологические характеристики глаукомы в странах СНГ и Грузии. Результаты многоцентрового открытого ретроспективного исследования (часть 2). *РМЖ Клиническая офтальмология*. 2012;1:19-23.
3. Stevens G.A., White R.A., Flaxman S.R., Price H., Jonas J.B., Keeffe J., Leasher J., Naidoo K., Pesudovs K., Resnikoff S., Taylor H., Bourne R.R. Vision Loss Expert Group. Global prevalence of visual impairment and blindness: magnitude and temporal trends, 1990-2010. *Ophthalmology*. 2013;120:2377-2384. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.05.025.

## References

1. Egorov E.A., Kuroyedov A.V. Separate clinical and epidemiological characteristics of glaucoma in the CIS and Georgia. Results of a multi-centre open retrospective study (Part 1). *RMJ Clinical ophthalmology*. 2011;3:97-100. (In Russ.).
2. Egorov E.A., Kuroyedov A.V. Separate clinical and epidemiological characteristics of glaucoma in the CIS and Georgia. Results of a multi-centre open retrospective study (Part 2). *RMJ Clinical ophthalmology*. 2012;1:19-23. (In Russ.).
3. Stevens G.A., White R.A., Flaxman S.R., Price H., Jonas J.B., Keeffe J., Leasher J., Naidoo K., Pesudovs K., Resnikoff S., Taylor H., Bourne R.R. Vision Loss Expert Group. Global prevalence of visual impairment and blindness: magnitude and temporal trends, 1990-2010. *Ophthalmology*. 2013;120:2377-2384. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.05.025.

4. Tham Y.C., Li X., Wong T.Y., Quigley H.A., Aung T., Cheng C.Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014;121:2081-2090. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013.
5. Kymes S.M., Plotzke M.R., Li J.Z., Nichol M.B., Wu J., Fain J. The increased cost of medical services for people diagnosed with primary open-angle glaucoma: a decision analytic approach. *Am J Ophthalmol*. 2010;150(1):74-81. doi: 10.1167/iov.09-5147.
6. Muratov S., Podbielski D.W., Jack S.M. Preference-based disease-specific health-related quality of life instrument for glaucoma: a mixed methods study protocol. *BMJ Open*. 2016;8(6): e012732. doi: 10.1136/bmjopen-2016-012732.
7. Нестеров А.П. Первичная открытоугольная глаукома: какая концепция более правомерна? *Офтальмологические ведомости*. 2008;4:63-67.
8. Еричев В.П., Егоров Е.А. Патогенез первичной открытоугольной глаукомы. *Вестник офтальмологии*. 2014;6:98-105.
9. Heijl A., Leske M., Bengtsson B., Hyman L., Bengtsson B., Hussein M. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression. Results from the early manifest glaucoma trial. *Arch Ophthalmol*. 2002;120:1268-1279.
10. Martus P., Stroux A., Budde W.M., Mardin C.Y., Korth M., Jonas J.B. Predictive factors for pro-gressive optic nerve damage in various types of chronic open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2005;6:999-1009. doi: 10.1016/j.ajo.2004.12.056.
11. Андреева Л.Д., Журавлева А.Н. Распределение основных типов коллагена в склере глаукомных глаз. *Российский офтальмологический журнал*. 2009;1:4-9.
12. Кулешова О.Н., Непомнящих Г.И., Айдагулова С.В., Шведова Е.В. Ультраструктура эндотелия дренажной системы глаза. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2008; 5:574-577.
13. Трунов А.Н., Бгатова Н.П., Еремина А.В., Дружинин И.Б., Пожидаева А.А., Трунова Л.А., Черных В.В. Новые подходы к оценке выраженности воспалительных нарушений в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы. *Аллергология и иммунология*. 2016;17(2):107-111.
14. Negrini D., Moriondo A. Lymphatic anatomy and biomechanics. *J Physiol*. 2011;589:2927-2934. doi: 10.1113/jphysiol.2011.206672/
15. Коненков В.И., Бородин Ю.И., Любарский М.С. Лимфология. Новосибирск: Манускрипт Publ., 2012. 1104 p.
16. Петров С.Ю. Лимфатическая система глаза. *Национальный журнал глаукома*. 2014;3:58-62.
17. Николенко В.Н., Шугаева К.Я., Гусейнов Т.С. Современные представления о структурно-функциональной организации лимфатической системы в физиологических условиях и при патологии. *Научное обозрение. Медицинские науки*. 2016;1:37-39.
18. Bill A. Blood circulation and fluid dynamics in the eye. *Physiol Rev*. 1975; 55(3):383-417. doi: 10.1152/physrev.1975.55.3.383.
19. Kim M., Johnston M.G., Gupta N., Moore S., Yücel Y.H. A model to measure lymphatic drainage from the eye. *Exp Eye Res*. 2011; 93(5):586-591. doi: 10.1016/j.exer.2011.07.006.
20. Nakao S., Hafezi-Moghadam A., Ishibashi T. Lymphatics and Lymphangiogenesis in the Eye. *J Ophthalmology*. 2012; Article ID 783163, <http://dx.doi.org/10.1155/2012/783163>
21. Yücel Y.H., Johnston M.G., Ly T., Patel M., Drake B., Gümüş E., Fraenkl S., Moore S., Tobbia D., Armstrong D., Horvath E., Gupta N. Identification of lymphatics in the ciliary body of the human eye: a novel "uveolymphatic" outflow pathway. *Exp Eye Res*. 2009;89(5):810-809. doi: 10.1016/j.exer.2009.08.010.
22. 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;51(1):344-354. doi: 10.1167/iov.08-3307.
23. Бородин Ю.И., Бгатова Н.П., Черных В.В., Трунов А.Н., Пожидаева А.А., Коненков В.И. Структура лимфатических капилляров ресничного тела глаза человека. *Морфология*. 2015;148(6):43-47.
24. Черных В.В., Дружинин И.Б., Еремина А.В., Ходжаев Н.С., Коненков В.И., Бородин Ю.И., Бгатова Н.П., Пожидаева А.А., Трунов А.Н. Роль лимфатической системы в увеосклеральном оттоке внутриглазной жидкости. *Офтальмохирургия*. 2015;2:74-79.
25. Schroedl F., Kaser-Eichberger A., Schlereth S.L., Bock F., Regenfuss B., Reitsamer H.A., Luty G.A., Maruyama K., Chen L., Lütjen-Drecoll E., Dana R., Kerjaschki D., Alitalo K., De Stefano M.E., Junghans B.M., Heindl L.M., Cursiefen C. Consensus statement on the immunohistochemical detection of ocular lymphatic vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(10):6440-6442. doi:10.1167/iov.14-15638.
26. Louveau A., Smirnov I., Keyes T.J., Eccles J.D., Rouhani S.J., Peske J.D., Derecki N.C., Castle D., Mandell J.W., Lee K.S., Harris T.H., Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 2015;523(7560):337-341. doi: 10.1038/nature14432.
4. Tham Y.C., Li X., Wong T.Y., Quigley H.A., Aung T., Cheng C.Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology*. 2014; 121:2081-2090. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.05.013.
5. Kymes S.M., Plotzke M.R., Li J.Z., Nichol M.B., Wu J., Fain J. The increased cost of medical services for people diagnosed with primary open-angle glaucoma: a decision analytic approach. *Am J Ophthalmol*. 2010; 150(1):74-81. doi: 10.1167/iov.09-5147.
6. Muratov S., Podbielski D.W., Jack S.M. Preference-based disease-specific health-related quality of life instrument for glaucoma: a mixed methods study protocol. *BMJ Open*. 2016; 8(6): e012732. doi: 10.1136/bmjopen-2016-012732.
7. Nesterov A.P. Primary open-angle glaucoma: which concept is more legitimate? *Ophthalmologic vedomosti*. 2008;4:63-67. (In Russ.).
8. Eriчев V.P., Egorov E.A. Pathogenesis of primary open-angle glaucoma. *Vestn Oftalmol*. 2014;6:98-105. (In Russ.).
9. Heijl A., Leske M., Bengtsson B., Hyman L., Bengtsson B., Hussein M. Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression. Results from the early manifest glaucoma trial. *Arch Ophthalmol*. 2002; 120:1268-1279.
10. Martus P., Stroux A., Budde W.M., Mardin C.Y., Korth M., Jonas J.B. Predictive factors for pro-gressive optic nerve damage in various types of chronic open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol*. 2005;6:999-1009. doi: 10.1016/j.ajo.2004.12.056.
11. Andreeva L.D., Zhuravleva A.N. Distribution of the main types of collagen in the sclera of glaucoma eyes. *Russian Ophthalmological J*. 2009;1:4-9. (In Russ.).
12. Kuleshova O.N., Nepomnyashchikh G.I., Aidagulova S.V., Shvedova E.V. Ultrastructure of the endothelium of the drainage system of the eye. *Bull Exper Biol Med*. 2008;5:574-577. (In Russ.).
13. Trunov A.N., Bgatova N.P., Eremina A.V., Druzhinin I.B., Pozhidaeva A.A., Trunova L.A., Chernykh V.V. New approaches to assessing the severity of inflammatory disorders in the pathogenesis of primary open-angle glaucoma. *Allergy and Immunology*. 2016;17(2):107-111. (In Russ.).
14. Negrini D., Moriondo A. Lymphatic anatomy and biomechanics. *J Physiol*. 2011; 589:2927-2934. doi: 10.1113/jphysiol.2011.206672/
15. Konenkov V.I., Borodin Yu.I., Lyubarsky M.S. Lymphologiya [Lymphology]. Novosibirsk: Manuscript Publ., 2012. 1104 p.
16. Petrov S.Yu. Lymphatic system of the eye. *Natsional'nyi zhurnal glaucoma*. 2014;3:58-62. (In Russ.).
17. Nikolenko V.N., Shugaeva K.Ya., Huseynov T.S. Modern ideas about the structural and functional organization of the lymphatic system in physiological conditions and in pathology. *Scientific review. Medical sciences*. 2016;1:37-39. (In Russ.).
18. Bill A. Blood circulation and fluid dynamics in the eye. *Physiol Rev*. 1975; 55(3):383-417. doi: 10.1152/physrev.1975.55.3.383.
19. Kim M., Johnston M.G., Gupta N., Moore S., Yücel Y.H. A model to measure lymphatic drainage from the eye. *Exp Eye Res*. 2011; 93(5):586-591. doi: 10.1016/j.exer.2011.07.006.
20. Nakao S., Hafezi-Moghadam A., Ishibashi T. Lymphatics and Lymphangiogenesis in the Eye. *J Ophthalmology*. 2012; Article ID 783163, <http://dx.doi.org/10.1155/2012/783163>
21. Yücel Y.H., Johnston M.G., Ly T., Patel M., Drake B., Gümüş E., Fraenkl S., Moore S., Tobbia D., Armstrong D., Horvath E., Gupta N. Identification of lymphatics in the ciliary body of the human eye: a novel "uveolymphatic" outflow pathway. *Exp Eye Res*. 2009;89(5):810-809. doi: 10.1016/j.exer.2009.08.010.
22. 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;51(1):344-354. doi: 10.1167/iov.08-3307.
23. Borodin Y.I., Bgatova N.P., Chernykh V.V., Trunov A.N., Pozhidaeva A.A., Konenkov V.I. Structure of lymphatic capillaries of the human ciliary body. *Morphology*. 2015;148(6):43-47. (In Russ.).
24. Chernykh V.V., Druzhinin I.B., Eremina A.V., Khodzhaev N.S., Konenkov V.I., Borodin Yu.I., Bgatova N.P., Pozhidaeva A.A., Trunov A.N. The role of the lymphatic system in the uveoscleral outflow of the intraocular fluid. *Ophthalmosurgery*. 2015;2:74-79. (In Russ.).
25. Schroedl F., Kaser-Eichberger A., Schlereth S.L., Bock F., Regenfuss B., Reitsamer H.A., Luty G.A., Maruyama K., Chen L., Lütjen-Drecoll E., Dana R., Kerjaschki D., Alitalo K., De Stefano M.E., Junghans B.M., Heindl L.M., Cursiefen C. Consensus statement on the immunohistochemical detection of ocular lymphatic vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(10):6440-6442. doi:10.1167/iov.14-15638.
26. Louveau A., Smirnov I., Keyes T.J., Eccles J.D., Rouhani S.J., Peske J.D., Derecki N.C., Castle D., Mandell J.W., Lee K.S., Harris T.H., Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 2015;523(7560):337-341. doi: 10.1038/nature14432.