

СТРУКТУРА ПЕРЕДНЕГО ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ *SUS SCROFA DOMESTICUS* ПРИ КРИОФИКСАЦИИ

¹Хомякова Н.В., ²Колоскова Э.Л., ²Сидоров И.И.

¹Больница РЖД-Медицина города Брянск, ²Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория, Супонево, Россия, e-mail: khomyakova76@yandex.ru

Для цитирования:

Хомякова Н.В., Колоскова Э.Л., Сидоров И.И. Структура переднего эпителия роговицы *Sus scrofa domesticus* при криофиксации. Морфологические ведомости. 2023;31(3):762. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).762](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).762)

Резюме. Классическая гистологическая картина переднего эпителия роговицы, известная по результатам стандартной гистологической техники и световой микроскопии препаратов химически фиксированного материала, описывает наличие трех клеточных слоев: базального – герминативного, среднего и поверхностного. На препаратах криофиксированного материала над клетками третьего слоя определяется еще один гомогенный слой, который принято идентифицировать как прекорнеальную слезную пленку, то есть слой жидкости. Анализ и сопоставление известных данных позволяют обозначить научную проблему, которая заключается в следующем. Структура гомогенного слоя ранее не изучалась, строение его неизвестно, следовательно, идентификация гомогенного слоя с прекорнеальной слезной пленкой не обоснована. Мы предполагаем, что гистологическая картина переднего эпителия на препаратах химически фиксированного материала является неполной, а гомогенный слой является структурным компонентом переднего эпителия. Цель исследования: изучить структуру переднего эпителия и гомогенного слоя на препаратах криофиксированного материала. Материал исследования - кадаверные глаза свиньи домашней (*Sus scrofa domesticus*). Методы исследования - световая микроскопия. В результате исследования впервые установлено, что гомогенный слой является структурным компонентом переднего эпителия роговицы. Между гомогенным слоем и слоем плоских клеток переднего эпителия определяется еще один слой в виде микроскопически выявляемой тонкой полоски. С учетом установленного факта следует заключить, что передний эпителий роговицы состоит из пяти слоев. Клетки в слоях находятся в уплотненном состоянии, степень которого увеличивается от базальной мембраны к фронтальной поверхности эпителия, достигая максимума на уровне гомогенного слоя. Клетки поверхностного слоя безъядерные, заполнены оксифильной массой, предположительно кератином, что указывает на процесс ороговения эпителиоцитов. Результаты исследования подтвердили предположение о том, что гистологическая картина на препаратах химически фиксированного материала является неполной. Идентификация гомогенного слоя с прекорнеальной слезной пленкой бесосновательна.

Ключевые слова: орган зрения, роговица, передний эпителий роговицы, криофиксация, свинья домашняя

Статья поступила в редакцию 02 декабря 2022

Статья принята к публикации 3 августа 2023

THE STRUCTURE OF THE ANTERIOR CORNEA EPITHELIUM OF THE *SUS SCROFA DOMESTICUS* AT THE CRYOFIXATION

¹Khomyakova NV, ²Koloskova EL, ²Sidorov II

¹Hospital Russian Railways-Medicine of the Bryansk City, Bryansk, ²Bryansk Branch of the Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory, Suponevo, Russia, e-mail: khomyakova76@yandex.ru

For the citation:

Khomyakova NV, Koloskova EL, Sidorov II. The structure of the anterior cornea epithelium of the *Sus scrofa domesticus* at the cryofixation. *Morphologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter*. 2023;31(3):762. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).762](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).762)

Summary. The classic histological picture of the anterior corneal epithelium, known from the results of standard histological techniques and light microscopy of preparations of chemically fixed material, describes the presence of three cell layers: basal - germinative, middle and superficial. On preparations of cryofixed material, another homogeneous layer is identified above the cells of the third layer, which is usually identified as the precorneal tear film, that is, a layer of liquid. Analysis and comparison of known data allows us to identify a scientific problem, which is as follows. The structure of the homogeneous layer has not been previously studied, its structure is unknown, therefore, the identification of the homogeneous layer with the precorneal tear film is not justified. We assume that the histological picture of the anterior epithelium on preparations of chemically fixed material is incomplete, and the homogeneous layer is a structural component of the anterior epithelium. Purpose of the study: the structure of the anterior epithelium and homogeneous layer on preparations of cryofixed material. The material for the study was preparations of the eyes of the domestic pig *Sus scrofa domesticus*, the research method was light microscopy. As a result of the study, it was established for the first time that the homogeneous layer is a structural component of the anterior corneal epithelium. Between the homogeneous layer and the layer of flat cells of the anterior epithelium, another layer is determined in the form of a microscopically detectable thin strip. Taking into account the established fact, it should be concluded that the anterior epithelium of the cornea consists of five layers. The cells in the layers are in a compacted state, the degree of which increases from the basement membrane to the frontal surface of the epithelium, reaching a maximum at the level of the homogeneous layer. The cells of the surface layer are anucleate, filled with an oxyphilic mass, presumably keratin, which indicates the process of keratinization of epithelial cells. The results of the study confirmed the assumption that the histological picture on preparations of chemically fixed material is incomplete. The identification of a homogeneous layer with the precorneal tear film is unfounded.

Keywords: organ of vision, cornea, anterior corneal epithelium, cryofixation, domestic pig

Article received 12 December 2022

Article accepted 3 August 2023

Введение. Передний эпителий (epithelium anterius) – эпителиальная ткань эктодермального происхождения – один из тканевых компонентов роговицы. Первое наиболее полное гистологическое описание переднего эпителия роговицы было дано Уильямом Боуменом (William Bowman, 1816-1892) в середине XIX века [1]. С этого времени классическая гистологическая картина переднего эпителия предусматривает наличие трех клеточных слоев: базального – герминативного, среднего и поверхностного, и, соответствующих им, трех типов эпителиальных клеток: базальных, полигональных (крыловидных) и плоских. Деление клеток на типы является условным, так как фактически в эпителии присутствует только один тип эпителиоцитов, а внешний вид клеток в слоях обусловлен стадией жизненного цикла [2-3]. Количество клеточных рядов переднего эпителия роговицы человека – 5-7. По данным электронной микроскопии апикальная часть плоских клеток поверхностного ряда покрыта мириадами микроворсин высотой 1-2 мкм [4-7]. Известно, что многослойный плоский эпителий роговицы экспрессирует подгруппу кератинов сходных с таковыми в эпидермальном эпителии, но ороговения клеток третьего слоя не происходит [2-3, 7-9]. На основании известного описания передний эпителий относят к многослойным плоским неороговевающим эпителиям (epithelium stratificatum squamosum noncornificatum).

Доказано морфологическое единообразие переднего эпителия роговицы человека и млекопитающих (обезьяны, свиньи, кошки, коровы, кролика, морской свинки, крысы, мыши, тюленя, кита, кашалота и морской свиньи). Количество рядов эпителиальных клеток варьирует от 3-5 у мыши до 12-18 у голубого кита [2]. Этот факт позволяет использовать глаза животных в качестве модели для клинических и экспериментальных исследований. Анализ научных данных более чем за столетний период позволяет сделать вывод о том, что трехслойная структура переднего эпителия роговицы специфична только для препаратов химически фиксированного материала. На препаратах криофиксированного материала над клетками тре-

тьего слоя определяется еще один – гомогенный слой, который принято идентифицировать как прекорнеальную слезную пленку [10-11]. Гомогенный слой в виде хлопьевидного материала на поверхности эпителия (т.н. the delicate flocculent layer on the surface of the epithelium) ранее был обнаружен и на некоторых препаратах, приготовленных для электронной микроскопии [4].

Важно обратить внимание на то, что представление о прекорнеальной слезной пленке, как слое жидкости, сложилось задолго до микроскопической визуализации гомогенного слоя. Структура прекорнеальной слезной пленки, основанная на наблюдении глазной поверхности и компонентном составе слезной жидкости, всегда рассматривалась во взаимосвязи с трехслойной структурой переднего эпителия роговицы. И в настоящее время прекорнеальной слезной пленкой (precorneal tear film) в научной литературе обозначают слой жидкости на поверхности роговицы, состоящий из трех компонентов: водного, муцинового (слизистого) и липидного. Муциновый компонент вырабатывают бокаловидные клетки конъюнктивы, крипты Генле и железы Манца. Водный компонент, то есть слезу (lacrimam), вырабатывают дополнительные железы конъюнктивы Краузе и Волфринга. Липидный компонент – смесь секретов сальных (мейбомиевых и Цейса) и потовых желез Молля. Формирование прекорнеальной слезной пленки связывают с функцией век. Полностью заполняя капиллярную щель между стенками конъюнктивального мешка, слезная жидкость каждые 7-10 секунд равномерно распределяется веками по поверхности роговицы, после чего начинается ее испарение. С каждым новым миганием цикл повторяется. Полагают, что в отношении переднего эпителия роговицы прекорнеальная слезная пленка выполняет защитную, метаболическую и светопреломляющую функции [12-15].

Следуя существующим представлениям о прекорнеальной слезной пленке Chen с соавт. (1997) поставили цель зафиксировать циклично формирующийся слой жидкости. Для этого они использовали ме-

тод криофиксации *in vivo* с замещением замораживанием (так называемый метод VC-FS, то есть «*in vivo cryofixation with freeze substitution*»). Под инсталляционной анестезией роговицу животного фиксировали смесью изопентана-пропана охлажденную жидким азотом, затем выполняли энуклеацию, помещали глаз в жидкий азот, после чего следовала биотомия и стандартная процедура приготовления препаратов. Методом световой и электронной микроскопии авторы визуализировали гомогенный слой толщиной 2-6 мкм над клетками переднего эпителия роговицы, который идентифицировали как слезную пленку (the tear film as a layer of homogeneous and fine network-like structure on the corneal surface). Гомогенный слой не исследовали, его удалили, применив 10-20% раствор ацетилцистеина [16].

Все приведенные выше данные являются общепризнанными. Они положены в основу концепции об анатомо-физиологическом взаимодействии многослойного плоского неороговевающего эпителия, покрытого мириадами микроворсин, с прекорнеальной слезной пленкой. Тем не менее, анализ и сопоставление известных данных позволяют обозначить дискуссионный вопрос, который заключается в следующем. Структура гомогенного слоя не изучалась, строение его неизвестно, следовательно, идентификация гомогенного слоя с прекорнеальной слезной пленкой не обоснована. Как следствие, существующая концепция содержит в себе множество противоречий, главным из которых является несоответствие структуры переднего эпителия роговицы его основным функциям - оптической и барьерной. Во-первых, рельеф фронтальной поверхности переднего эпителия с мириадами подвижных микроворсин на апикальной части поверхностных клеток не соответствует понятию оптической поверхности. Во-вторых, морфология поверхностных клеток не согласуется с барьерными функциями переднего эпителия [17]. Функцией микроворсин (*microvilli*) является увеличение площади всасывающей поверхности, а их подвижность за счет актиновых микрофиламентов предполагает наличие системы транспорта, что соотно-

сится с функцией клиренса и характерно для железистых эпителиев, но не кровеносных, к числу которых относится многослойный плоский эпителий роговицы. В-третьих, слезная пленка, в понимании ее как слоя жидкости на поверхности роговицы, не может быть отнесена ни к одной из известных групп тканей, а, следовательно, не может наделяться функциями тканей - защитной (барьерной) и метаболической (трофической).

Выявленные противоречия существующих представлений, дали нам основание предположить, что гистологическая картина переднего эпителия на препаратах химически фиксированного материала является неполной. Гомогенный слой может быть структурным компонентом переднего эпителия и может быть подробно исследован на препаратах криофиксированного материала.

Цель исследования: определить структуру переднего эпителия роговицы на гистологических препаратах криофиксированного материала.

Материалы и методы исследования. В качестве модели *ex vivo* использованы глаза свиньи домашней (вида свинья домашняя/*Sus domesticus/ Sus scrofa domesticus*), на основании анатомического и гистологического сходства ее роговицы с роговицей человека, включая гистологию переднего эпителия (количество рядов клеток 6-9) и анатомию слезных желез [17-20]. При выборе вида животного учитывался тот факт, что именно свиная роговица в настоящее время рассматривается в качестве каркаса для тканевой инженерии роговицы и в качестве ксеногенного субстрата для трансплантации роговицы [21-22]. Следовательно, результаты исследований могут пополнить базу данных по изучаемой проблеме. Глаза *Sus domesticus* получены на ферме крестьянского хозяйства через 30 минут после убоя здоровых животных для мясопереработки, то есть животные не были специально принесены в жертву для исследований. Глаза помещали в контейнер на влажный ватный диск, поверхность роговицы однократно увлажняли препаратом искусственной слезы. В течение двух часов материал транспортировали в гистологическую лабораторию.

Требованием к исследуемому материалу было сохранение его витальных характеристик. На момент криофиксации роговица глаза должна была быть визуально прозрачной, гладкой, зеркальной. В тоже время, условия получения материала исследования исключали возможность образования прекорнеальной слезной пленки.

Для криофиксации и биотомии глазного яблока использовали криостат-микротом CM 2850, Hestion Scientific Pty Ltd (Австралия). Криофиксацию выполняли при температуре $-21-23^{\circ}\text{C}$ до равномерного замораживания глазного яблока. Биотомию толщиной 5-7 мкм проводилась в вертикальной плоскости относительно положения глаза в орбите. Сагиттальные срезы помещали на предметное стекло. Для исследования переднего эпителия роговицы использовали микроскоп Nikon 4550S с цифровой специализированной камерой DS-Fi2 и блоком автономного управления Nikon DS-L3. Выбор и порядок применения отдельных приемов гистотехники преследовал одну цель - минимизировать воздействие на передний эпителий роговицы для максимального сохранения его структуры. В экспериментальных целях применяли 4% раствор натрия гидрокарбоната (NaHCO_3), меняющий кислотность внутриклеточной среды и приводящий к увеличению объема клеток переднего эпителия. Раствор гидроксида натрия (NaOH), способный изменять структуру кератина и растворять его, использовался для проверки предположения о наличии кератина в поверхностных клетках переднего эпителия [23]. Следуя поставленным целям, эмпирическим путем была подобрана 0,04N концентрация раствора NaOH для обработки поверхности роговицы. Окраску срезов проводили путем нанесения нескольких капель красителя на его поверхность с экспозицией 3-5 минут, после чего осторожно смывали краситель физиологическим раствором. Применяли растворы красителя-фиксатора эозина-метиленового синего по Май-Грюнвальду, гематоксилина и эозина. Исследовали свежеекрасшенные (влажные) срезы на временных препаратах. Воздействие на срезы спиртами, ксилолом, толуолом исключалось. В качестве кон-

трольного образца был приготовлен препарат сагиттального среза роговицы *Sus scrofa domestica* в обычной последовательности, фиксацией формалином, заливкой в парафин, окраской гематоксилином и эозином.

Результаты исследования и обсуждение. На контрольном препарате переднего эпителия определено три слоя клеток. Базальный слой – один ряд столбчатых клеток, средний слой – четыре ряда клеток крыловидной формы, поверхностный слой – пять рядов плоских клеток с ядрами палочковидной формы, ориентированными параллельно поверхности клеточного пласта. Общее количество рядов эпителиальных клеток на препарате химически фиксированного материала – десять (рис. 1). Исследование переднего эпителия на препаратах криофиксированного материала начинали с обзорной микроскопии неокрашенного препарата. На препарате сагиттального среза роговицы определяется строма, базальная мембрана и клетки переднего эпителия. Естественную завершенность архитектоники переднего эпителия придает поверхностно расположенный однородный слой с четкими границами в виде оптически плотных линий. Внутренняя граница слоя неровная, внешняя – идеально ровная. Содержимое слоя прозрачно (рис. 2). Мы обозначили оптически однородный слой как гомогенный (по его первоначальному виду).

На препарате сагиттального криостатного среза роговицы, окрашенного красителем-фиксатором эозином-метиленовым синим по Май-Грюнвальду, визуализировано три слоя клеток и гомогенный компонент на их поверхности. Первый – базальный слой, состоит из одного ряда клеток, прилежащих основанием к базальной мембране. Второй слой формируют три ряда клеток овальной формы с крупными ядрами и неровными границами. Третий слой формируют четыре ряда плоских по форме клеток с палочковидными ядрами, ориентированными параллельно фронтальной поверхности эпителия. Следующий компонент в виде однородного слоя имеет четкие внешнюю и внутреннюю границы. Внутренняя граница гомогенного слоя определяется как

тонкая полоска ткани, окрашенная в насыщенный синий цвет. На фоне гомогенного слоя с неопределенной регулярностью расположены неравномерно окрашенные объекты овальной формы, что указывает на относительную неоднородность внутри слоя. Таким образом, на

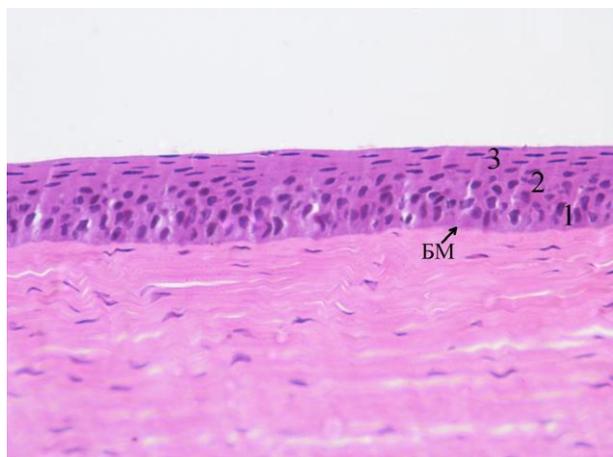


Рис. 1. Микрофото препарата переднего эпителия роговицы глаза домашней свиньи. Обозначения: БМ – базальная мембрана, 1 – базальный слой, 2 – средний слой полигональных (крыловидных) клеток, 3 – поверхностный слой плоских неороговевающих клеток. Фиксация формалином. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: x400

После воздействия на срез ткани 4% раствором NaHCO_3 , микроскопическая картина переднего эпителия роговицы изменяется. Толщина переднего эпителия увеличивается, исчезает внутренняя граница гомогенного слоя, он трансформируется в ряды плоских клеток, в структуре переднего эпителия появляются ряды клеток с зернистостью в цитоплазме. Поверхность эпителия остается идеально ровной (рис.4). При микроскопии препарата на большем увеличении (x1000) определяется выраженный вертикальный полиморфизм клеток, отличающихся по форме, состоянию ядра и цитоплазмы, типу межклеточных контактов. Клетки базального ряда имеют столбчатую форму, их ядра ориентированы перпендикулярно базальной мембране и немного смещены в апикальную часть клеток. Над базальными клетками видны четыре ряда клеток овальной формы с равномерно окрашенным ядром

препарате криофиксированного материала можно различить пять слоев: ранее известные три слоя клеток, тонкую полоску ткани, которая интенсивно окрашивается в синий цвет и гомогенный слой над ней (рис. 3).

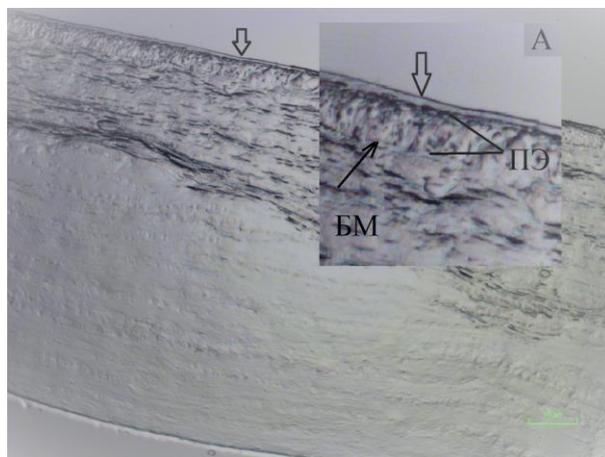


Рис. 2. Микрофото препарата сагиттального среза роговицы глаза домашней свиньи. Обозначения: А - увеличенный фрагмент микроскопического изображения, БМ - базальная мембрана переднего эпителия, ПЭ - клетки переднего эпителия, стрелка указывает на оптически прозрачный гомогенный слой. Криофиксация. Нативный препарат. Ув.: x100

и цитоплазмой, мембраны клеток окрашиваются неравномерно. Над ними определяются три ряда клеток в форме горизонтально ориентированных овалов с пикнотическим ядром и выраженной базофильной зернистостью в цитоплазме. Мембраны клеток прокрашиваются более интенсивно, между клетками видны щелевидные пространства. Непосредственно над слоем клеток с базофильной зернистостью определяется один ряд безъядерных клеток с неокрашенной цитоплазмой. Поверхностные ряды переднего эпителия состоят из уплотненных клеток с плотной плазмолеммой, в большинстве своем безъядерных. Клетки плотно прилегают друг к другу, мембраны соседних клеток сливаются, их общее число рядов на криофиксированных препаратах составляет 19, что на 9(!) рядов больше, чем на препаратах химически фиксированного материала.

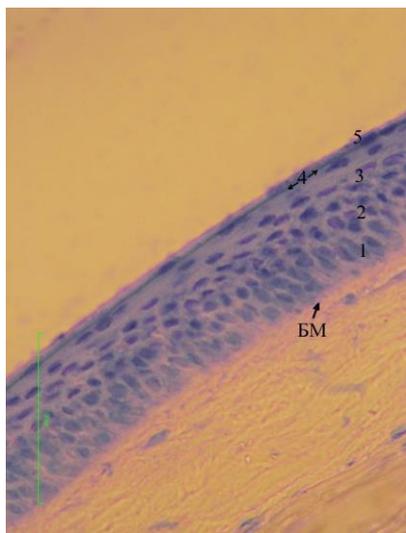


Рис. 3. Микрофото переднего эпителия рога свиной домашней свиньи. Обозначения: БМ – базальная мембрана, 1 – базальный слой, 2 – средний слой полигональных клеток, 3 – слой плоских клеток, 4 – полоска ткани, интенсивно окрашенная в синий цвет, 5 – гомогенный слой. Криофиксация. Окр. эозином-метиленовым синим по Май-Грюнвальду. Ув.: x400

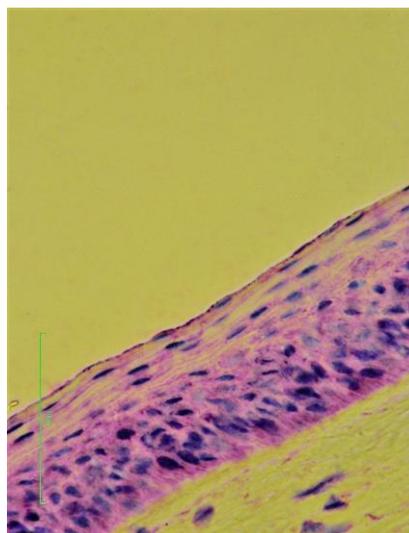


Рис. 4. Микрофото переднего эпителия рога свиной домашней свиньи. Расслоение клеточных слоев рога свиной домашней свиньи 4% раствором натрия гидрокарбоната (NaHCO_3). Криофиксация. Окр. эозином-метиленовым синим по Май-Грюнвальду. Ув.: x400

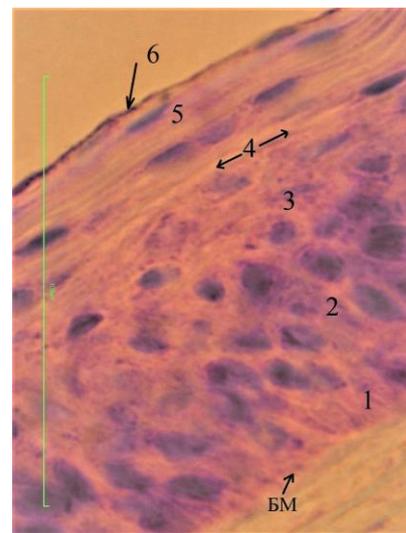


Рис. 5. Микрофото переднего эпителия рога свиной домашней свиньи (то же, что и на рис. 4). Обозначения: БМ – базальная мембрана, 1 – ряд базальных клеток, 2 – шиповатые клетки, 3 – зернистые клетки, 4 – ряд неокрашивающихся клеток, 5 – плоские безъядерные клетки, 6 – неклеточный компонент. Криофиксация. Окр. эозином-метиленовым синим по Май-Грюнвальду. Ув.: x1000

Над клетками пятого слоя определяется очень тонкий неклеточный компонент, неравномерно поглощающий метиленовый синий (рис. 5).

На препарате сагиттального среза рога свиной домашней свиньи, окрашенного гематоксилином и эозином, также видны пять слоев. Первый – слой базальных клеток, второй – слой полигональных клеток, третий – слой плоских клеток, четвертый – интенсивно окрашенная тонкая полоска ткани, пятый – гомогенный слой. Поверхность переднего эпителия идеально ровная (рис. 6). Нанесение 0,04N раствора NaOH касательно к поверхности гомогенного слоя вызывает набухание содержимого поверхностных клеток, изменение контура поверхности, появление выпуклой деформации. В поверхностном слое переднего эпителия визуализируются плотно прилегающие друг к другу безъядерные клетки, заполненные однородной оксифильной массой с мелкими гранулами базофильного вещества в центре (рис. 7). Однородная оксифильная масса, заполняющая клетки пятого слоя, изменяет свой объем под дей-

ствием 0,04N раствора NaOH, что косвенно указывает на присутствие кератина. На препарате с расслоением под рядами безъядерных клеток определяются клетки округлой формы с признаками пикноза, неплотными контактами по типу десмосом. Обобщая полученные результаты можно сделать вывод о том, что передний эпителий рога свиной домашней свиньи состоит из пяти клеточных слоев. Общее количество клеточных рядов на препаратах криофиксированного материала почти вдвое превышает количество рядов на препаратах химически фиксированного материала. Ряды клеток в слоях переднего эпителия находятся в уплотненном (сжатом) состоянии. Степень уплотнения постепенно увеличивается по направлению от базальной мембраны к фронтальной поверхности эпителия, достигая максимума на уровне гомогенного слоя. Клетки в слоях отличаются по форме, состоянию ядра и типу межклеточных контактов. Клетки пятого слоя безъядерные, заполнены оксифильной массой, предположительно кератином. На поверхности перед-

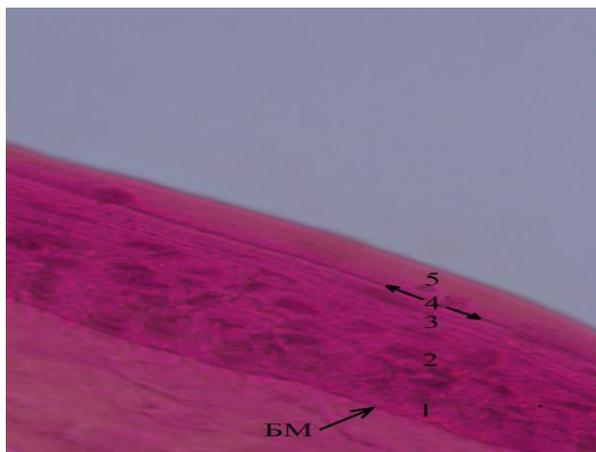


Рис. 6. Микрофото переднего эпителия роговицы домашней свиньи. Обозначения: БМ – базальная мембрана, 1 – базальный слой, 2 – средний слой полигональных клеток, 3 – слой плоских клеток, 4 – тонкая полоска ткани, 5 – однородный слой. Кривофиксация. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: $\times 400$

него эпителия определяется мембраноподобный не клеточный компонент, интенсивно поглощающий метиленовый синий.

Заключение. Таким образом, согласно существующим представлениям, передний эпителий роговицы человека и животных состоит из трех слоев клеток. Однако эти представления основаны исключительно на данных микроскопии препаратов химически фиксированного материала. На препаратах криофиксированного материала определяется четвертый, однородный слой, который принято идентифицировать с прекорнеальной слезной пленкой – метастабильным слоем жидкости, циклично формирующимся на поверхности роговицы каждые 7-10 секунд. Мы исследовали передний эпителий роговицы кадаверных глаз *Sus scrofa domestica*, фиксированных в криостате, как минимум, через 2,5 часа после энуклеации. Эти условия исключают присутствие прекорнеальной слезной пленки. Установлено, что передний эпителий роговицы состоит из пяти слоев. Ряды клеток в слоях находятся в уплотненном (сжатом) состоянии, степень уплотнения постепенно увеличивается по направлению от базальной мембраны к фронтальной поверхности эпителия, достигая максимума на уровне однородного слоя. Для визуализации

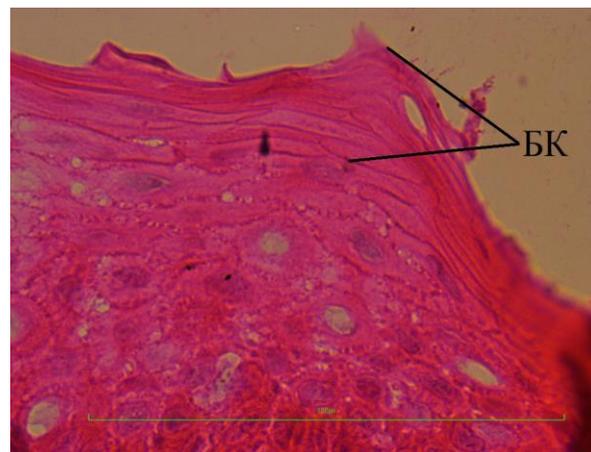


Рис. 7. Микрофото переднего эпителия роговицы домашней свиньи при обработке поверхности роговицы раствором 0,04N NaOH. Обозначения: БК – ряды безъядерных клеток Кривофиксация. Окр. гематоксилином и эозином. Ув.: $\times 1000$

клеточных рядов однородного слоя необходимо было создать условия для набухания клеток. Мы использовали раствор NaHCO_3 в физиологической концентрации 4%. Клетки поверхностных рядов увеличивались в объеме, контур поверхности эпителия не изменялся. Над клетками пятого слоя определяется очень тонкий не клеточный компонент, неравномерно поглощающий метиленовый синий. Для проверки предположения о наличии кератина в поверхностных клетках переднего эпителия применяли 0,04N раствор NaOH. Содержимое клеток поверхностных рядов увеличивалось в объеме, контур поверхности эпителия изменялся, появлялись выпуклые деформации и неровности поверхности эпителия. Увеличение объема клеток однородного слоя позволило визуализировать их содержимое, эти клетки безъядерные, заполнены оксифильной массой, предположительно кератином. Результаты исследований подтвердили предположение о том, что гистологическая картина на препаратах химически фиксированного материала является неполной и показывают, что идентификация однородного слоя над третьим слоем клеток переднего эпителия с прекорнеальной слезной пленкой, то есть со слоем жидкости, безосновательна.

Литература References

1. Metz A. *The Anatomy and Histology of the Human Eye*. Philadelphia, 1868. URL: <https://archive.org/details/anatomyhistology00metzuoft>
2. Ehlers N. *Morphology and histochemistry of the corneal epithelium of mammals*. *Cells Tissues Organs*. 1970;75(2):161–198. DOI:10.1159/000143448
3. Bülow N, Ehlers N. *Morphology and dopa reaction of cultivated corneal epithelial cells*. *Acta Ophthalmologica*. 2009;46(4):749–56. DOI:10.1111/j.1755-3768.1968.tb02873.x
4. McTigue JW. *The human cornea: a light and electron microscopic study of the normal cornea and its alterations in various dystrophies*. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1967;65:591–660. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4170533>
5. DelMonte DW, Kim T. *Anatomy and physiology of the cornea*. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(3):588–598. DOI:10.1016/j.jcrs.2010.12.037
6. Mannis MJ, Holland EJ, et al. *Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management*, 4th ed. New York: Elsevier, 2017. – 2016pp
7. Pfister RR. *The normal surface of corneal epithelium: a scanning electron microscopic study*. *Invest Ophthalmol*. 1973;12:654–668. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4582462/>
8. Pearton DJ, Ferraris C, Dhouailly D. *Transdifferentiation of corneal epithelium: Evidence for a linkage between the segregation of epidermal stem cells and the induction of hair follicles during embryogenesis*. *Intern J of Dev Biol*. 2004;48(2-3):197–201. DOI:10.1387/ijdb.1527238510.1387/ijdb.15272385
9. Kao WW. *Keratin expression by corneal and limbal stem cells during development*. *Exp Eye Res*. 2020;200:108206. DOI:10.1016/j.exer.2020.108206
10. Chen HB, Yamabayashi S, Ou B, et al. *Ultrastructural studies on the corneal superficial epithelium of rats by in vivo cryofixation with freeze substitution*. *Ophthalmic Res*. 1995;27:286–295. DOI:10.1159/000267738.
11. Chen HB, Ou B, Yamabayashi S, et al. *Ultrastructural study on rat precorneal tear film by the quick freezing freeze-substitution method*. *J Jpn Ophthalmol Soc*. 1996;100:453–457. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8712077/>
12. Mishima S. *Some Physiological Aspects of the Precorneal Tear Film*. *Arch of Ophthalmol*. 1965;73(2):233–241. DOI:10.1001/archophth.1965.00970030235017
13. Lemp M. *The Precorneal Tear Film*. *Archives of Ophthalmology*. 1970;83(1):89. DOI:10.1001/archophth.1970.00990030091017
14. Lemp MA. *Perspective Advances in Understanding and Managing Dry Eye Disease*. *Am J of Ophthalmol*. 2008;146(3):350–356. DOI:10.1016/j.ajo.2008.05.016
15. Lee WB, Holland EJ, Mannis MJ. *Ocular Surface Disease: Cornea, Conjunctiva and Tear Film*. New-York: Elsevier Health Sciences. 2013. 472 pp. DOI:10.1016/B978-1-4557-2876-3.00001-8
16. Chen HB, Yamabayashi S, Ou B, et al. *Structure and composition of rat precorneal tear film. A study by an in vivo cryofixation*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Scien*. 1997;38:381–387. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9040471/>
17. Camber O, Rehbindler C, Nikkila T, et al. *Morphology of the pig cornea in normal conditions and after incubation in a perfusion apparatus*. *Acta Vet Scand*. 1987;28(2):127–134. DOI: 10.1186/BF03548232
18. Barros RC, Van Kooten TG, Veeregowda DH. *Investigation of Friction-induced Damage to the Pig Cornea*. *The Ocular Surface*, 2015;13(4):315–320. DOI:10.1016/j.jtos.2015.05.004
19. Abhari S, Eisenback M, Kaplan HJ, et al. *Anatomic Studies of the Miniature Swine Cornea*. *Anat Rec (Hoboken)*. 2018 Nov;301(11):1955–1967. DOI: 10.1002/ar.23890
20. Hammond GM, Young RD, Muir DD, et al. *The microanatomy of Bowman's layer in the cornea of the pig: Changes in collagen fibril architecture at the corneal scleral limbus*. *Eur J of Anat*. 2020;24(5):399–406. URL: <http://www.eurjanat.com/web/paper.php?id=200195gh>
21. Oh JY, Kim MK, Lee HJ, et al. *Processing porcine cornea for biomedical applications*. *Tissue Eng Part C Methods*. 2009 Dec;15(4):635–645. DOI: 10.1089/ten
22. Yoeruek E, Bayouud T, Maurus C, et al. *Decellularization of porcine corneas and repopulation with human corneal cells for tissue-engineered xenografts*. *Acta Ophthalmol*. 2012 Mar;90(2):e125–131. DOI:10.1111/j.1755-3768.2011.02261.x
23. Christophers E, Kligman AM. *Visualization of the cell layers of the stratum corneum*. *J Invest Dermatol*. 1964;42:407–409

Авторы заявляют об отсутствии каких-либо конфликтов интересов при планировании, выполнении, финансировании и использовании результатов настоящего исследования

The authors declare that they have no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Хомякова Наталья Васильевна, кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог, Частное учреждение здравоохранения Больница РЖД-Медицина города Брянск, Брянск, Россия; e-mail: khomyakova76@yandex.ru

Natal'ya V. Khomyakova, Private healthcare Institution the Hospital Russian Railways-Medicine of the Bryansk City, Bryansk, Russia; e-mail: khomyakova76@yandex.ru

Колоскова Элеонора Леонидовна, кандидат ветеринарных наук, ведущий ветеринарный врач сектора серологии и лептоспироза, Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория, Брянск, Россия; e-mail: eleonora.koloskova@yandex.ru

Eleonora L. Koloskova, Candidate of Veterinary Sciences, Leading Veterinarian of the Serology and Leptospirosis Sector Bryansk Branch of the Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory, Suponevo, Russia; e-mail: eleonora.koloskova@yandex.ru

Сидоров Иван Иванович, кандидат биологических наук, заместитель директора, Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория, Брянск, Россия; e-mail: bmvl32@yandex.ru

Ivan I. Sidorov, Candidate of Biological Sciences, Deputy Director, Bryansk Branch of the Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory, Suponevo, Bryansk, Russia; e-mail: bmvl32@yandex.ru