

СВЕТОМИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ НАДЭПИТЕЛИАЛЬНОГО СЛОЯ ПЕРЕДНЕГО ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ *SUS SCROFA DOMESTICUS*

Хомякова Н.В.

Частное учреждение здравоохранения Больница «РЖД-Медицина города Брянск», Брянск, Россия;
e-mail: khomyakova76@yandex.ru

Для цитирования:

Хомякова Н.В. Светомикроскопическая визуализация надэпителиального слоя переднего эпителия роговицы *Sus scrofa domesticus*. Морфологические ведомости. 2025;33(1):859. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33\(1\).859](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33(1).859)

Резюме. Согласно данным электронной микроскопии препаратов химически фиксированного материала, поверхность переднего эпителия роговицы формируют мириады микроворсинок. Выравнивание поверхности переднего эпителия относят к функции слезной пленки. В качестве доказательства, подтверждающего существование слезной пленки, приводят интерференционные картины, наблюдаемые на поверхности роговицы. Этот оптический феномен объясняют отражением света от передней и задней поверхности липидного слоя слезной пленки. На гистологических препаратах криофиксированного *in vivo* материала слезную пленку идентифицируют с гомогенным материалом над микроворсинками плоских клеток третьего слоя переднего эпителия. Предполагают, что мембраноподобная структура на поверхности гомогенного материала может соответствовать липидному слою слезной пленки. В то же время, результаты микроскопии препаратов криостатных срезов доказывают, что передний эпителий роговицы состоит из 5 клеточных слоев. Пятый – гомогенный слой состоит из уплотненных рядов безъядерных клеток. На его поверхности также присутствует тонкий мембраноподобный компонент. В научной литературе отсутствуют данные о мембраноподобном компоненте переднего эпителия. Это означает, что описание структуры переднего эпителия роговицы остается незавершенным. Цель исследования: получить данные о мембраноподобном компоненте переднего эпителия роговицы. Материал исследования – глаза свиньи домашней (*Sus scrofa domesticus*). Методы исследования – световая микроскопия. В результате исследования сагиттальных криостатных срезов роговицы и препаратов-отпечатков с поверхности роговицы визуализирован надэпителиальный слой переднего эпителия в виде неклочкового компонента по типу пленки. Основными элементами пленки являются микропузырьки, внешне напоминающие фрагменты клеток и апоптотные тельца. Мы обозначили неклочковый компонент термином «надэпителиальная пленка». Есть основания полагать, что она формируется в результате апоптоза поверхностных клеток переднего эпителия роговицы в условиях жидкой среды – слезной жидкости. По нашим сведениям, публикуемые данные являются первым сообщением о присутствии неклочкового компонента в виде пленки на поверхности переднего эпителия роговицы. Строение и свойства надэпителиальной пленки подлежат всестороннему исследованию для определения ее роли и значения в физиологии переднего эпителия. При обсуждении вопроса о природе интерференционных картин на поверхности роговицы, надэпителиальная пленка, присутствующая на границе раздела двух сред (твердой – передний эпителий и жидкой – слезная жидкость), по нашему мнению, может рассматриваться как материальная основа тонкопленочной интерференции.

Ключевые слова: орган зрения, роговица, передний эпителий, надэпителиальная пленка, свинья домашняя

Статья поступила в редакцию 04 февраля 2024

Статья принята к публикации 10 апреля 2025

THE LIGHT MICROSCOPIC VISUALIZATION OF THE *SUS SCROFA DOMESTICUS* ANTERIOR CORNEAL EPITHELIUM SUPRA-EPITHELIAL LAYER

Khomyakova NV

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

For the citation:

Khomyakova NV. The light microscopic visualization of the *Sus scrofa domesticus* anterior corneal epithelium supra-epithelial layer. *Morphologicheskie Vedomosti – Morphological newsletter*. 2025;33(1):859. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33\(1\).859](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33(1).859)

Summary. According to the data of electron microscopy of chemically fixed material preparations, the surface of the anterior corneal epithelium is formed by myriads of microvilli. Smoothing of the surface of the anterior epithelium is attributed to the function of the tear film. As evidence confirming the existence of the tear film, interference patterns observed under certain conditions on the surface of the cornea are cited, which explain this optical phenomenon by the reflection of light from the anterior and posterior surfaces of the lipid layer of the tear film. In histological preparations of material cryofixed *in vivo*, the tear film is identified with the homogeneous material above the microvilli of the flat cells of the third layer of the anterior epithelium. It is assumed that the membrane-like structure on the surface of this homogeneous material may correspond to the lipid layer of the tear film. At the same time, the results of microscopy of cryostat section preparations prove that the anterior corneal epithelium consists of five cell layers. The fifth homogeneous layer consists of compacted rows of without nuclear cells. A thin membrane-like component is also present on its surface. There are no data on this membrane-like component of the anterior epithelium in the scientific literature. This means that a detailed description of the structure of the anterior corneal epithelium remains incomplete. The aim of the study was to obtain data on the membrane-like component of the anterior corneal epithelium. The material for the study was the eyes of a domestic pig (*Sus scrofa domesticus*). The method of the study was light microscopy. As a result of studying the sagittal cryostat sections of the cornea and imprint preparations from the surface of the cornea, the supra-epithelial layer of the anterior epithelium was visualized as a non-cellular component in the form of a film. The main elements of the film are microbubbles that outwardly resemble cell fragments and apoptotic bodies. We designated the non-cellular component as «supraepithelial film» layer. There is reason to believe that it is formed as a result of apoptosis of the surface cells of the anterior corneal epithelium in the liquid environment of the lacrimal fluid. To our knowledge, the published data are the first report of the presence of a non-cellular component in the form of a film on the surface of the anterior corneal epithelium. The structure and properties of the supraepithelial film are subject to comprehensive study to determine its role and significance in the physiology of the anterior epithelium. When discussing the nature of interference patterns on the corneal surface, the supraepithelial film present at the interface of two media (solid - anterior epithelium and liquid - lacrimal fluid), in our opinion, can be considered as the material basis of thin-film interference.

Keywords: organ of vision, cornea, corneal epithelium, supra-epithelial film, domestic pig

Article received 04 February 2024

Article accepted 10 April 2025

[https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33\(1\).859](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2025.33(1).859)

Введение. Роговица – передняя прозрачная часть фиброзной оболочки глазного яблока. Ее превращение в уникальную биологическую линзу оптической системы глаза происходит при участии переднего эпителия (лат.: *epithelium anterius*, англ.: *corneal epithelium*). По данным микроскопии препаратов химически фиксированного материала, передний эпителий роговицы состоит из трех клеточных слоев: базального – герминативного, среднего – слоя полигональных (крыловидных) клеток и поверхностного – слоя плоских неороговевающих клеток. Фронтальную поверхность переднего эпителия формируют мириады микроворсинок (*microvilli*) высотой 1-2 мкм [1-5]. Выравнивание рельефа переднего эпителия, т.е. придание ему качеств оптической поверхности, относят к функции слезной пленки (англ.: *tear film*), точнее – к функции слезной жидкости (англ.: *tear fluid*), тонким слоем распределяемой веками по поверхности глаза.

Согласно международной гистологической номенклатуре *Terminologia Histologica* - 2009, латинский термин «*irroratio lacrimarum*» – увлажняющие слезы (*irroratio* от *irroro* – орошать каплями, увлажнять; *lacrimarum* от *lacrimae* – мн. ч., род. – слезы), обозначает секрет слезных желез на поверхности конъюнктивы (лат.: *tunica conjunctiva palpebrum et bulbaris*). Часть бульбарной конъюнктивы, еще в начале прошлого века обозначаемую как *conjunctiva cornea*, в настоящее время обозначают как передний эпителий (лат.: *epithelium anterius*, англ.: *corneal epithelium*) [6-7]. Однако необходимо помнить о том, что как бы не обозначали покровный эпителий роговицы, он является частью эпителиальной ткани конъюнктивы эктодермального происхождения, плотно сращенной с соединительной тканью стромы роговицы. В качестве эквивалентов латинскому термину «*irroratio lacrimarum*» в *Terminologia Histologica* - 2009 указан английский термин «*tear film*» и русский термин «слезная пленка». Поиск научных публикаций по термину «*irroratio lacrimarum*» по базам данных PubMed и eLibrary результатов не дал. Количество публикаций, найденных по

термину «*tear film*/слезная пленка» составило 6620 и 4085, соответственно. Это свидетельствует о том, что латинский термин «*irroratio lacrimarum*» не используют в научных публикациях, заменяя его английским эквивалентом «*tear film*» и русским – «слезная пленка», заимствованным из англоязычных публикаций в дословном переводе. Термин «*tear film*» и, соответствующий ему «слезная пленка» единого определения не имеют. Слезную пленку представляют и как слой слезной жидкости (*tear fluid*), и как метастабильное защитное покрытие, и как трехмерную нежно-волоконистую структуру, и как механический и антимикробный барьер, обеспечивающий оптическую преломляющую поверхность, и как сложную смесь белков, липидов, метаболитов и электролитов, и т.д. [8-13]. Определение термина «слезная жидкость /*tear fluid*» также отсутствует. Например, Бржевский и Сомов (2003) понимают слезную жидкость как «сборного» состава влагу, которая образуется в конъюнктивной полости при смешивании секретов слезных и слизистых желез конъюнктивы, сальных и видоизмененных потовых желез свободного края век, а также транссудата плазмы крови [14]. В свою очередь, английский термин «*lacrimal fluid*» – секрет слезных желез рассматривают только как один из компонентов слезной жидкости и слезной пленки [15].

Учитывая, что во всех случаях слезную пленку представляют как структуру, которая каждые 7-10 секунд формируется из слезной жидкости, важно учесть следующее. Передний эпителий роговицы не секретит ни один из компонентов слезной жидкости. Водный компонент секретитруют добавочные слезные железы конъюнктивы Краузе и Волффринга. Слизистый секрет или муцин вырабатывают бокаловидные клетки конъюнктивы, крипты Генле и железы Манца. Как полагают, слизисто-водная смесь равномерно распределяется веками по поверхности переднего эпителия, заполняет пространство между микроворсинками, и, таким образом, выравнивает поверхность эпителия, формируя гладкую оптическую поверхность роговицы.

Липидный компонент секретируют Мейбомиевые железы и железы Цейса век. Он выполняет функцию герметизирующей пленки на границе с воздушной средой, препятствуя испарению слизисто-водного компонента [8, 11, 13-14, 16]. Итак, слезная жидкость покрывает микроворсинки переднего эпителия. Она состоит из трех компонентов: слизистого, водного и липидного. Все три компонента вместе известны как слезная пленка (рис. 1).

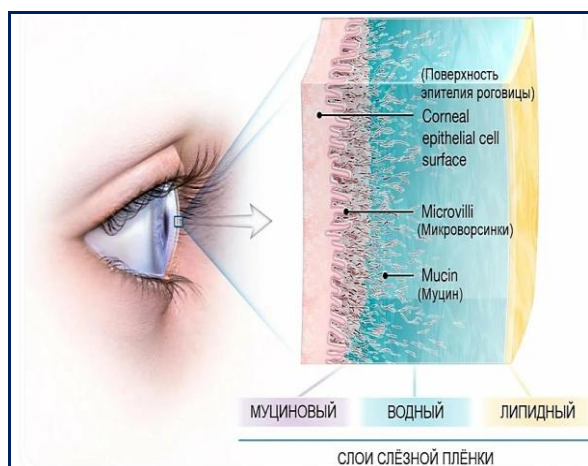


Рис. 1. Структура слезной пленки глаза человека (по <https://www.visus-novus.ru/uslugi/sindrom-sukhogo-glaza>)

На гистологических препаратах слезную пленку идентифицируют с гомогенным материалом над микроворсинками плоских клеток третьего слоя переднего эпителия роговицы. Предполагают, что «мембраноподобная» структура на поверхности гомогенного материала может соответствовать липидному слою слезной пленки [2, 10, 17].

Таким образом, термины «tear film/слезная пленка», принятые в качестве равнозначных латинскому термину «irroratio lacrimarum – увлажняющие слезы», фактически обозначают циклично формирующуюся слезную пленку над микроворсинками поверхностного ряда третьего слоя клеток. Слезная пленка морфологически не взаимосвязана с передним эпителием роговицы. В качестве прямого доказательства, подтверждающего существование слезной пленки, приводят интерференционные картины (англ.: interference patterns), наблюдаемые при

определенных условиях на поверхности роговицы. Этот оптический феномен объясняют отражением света от передней и задней поверхности липидного (масляного) слоя слезной пленки [18].

Ретроспективный анализ научных публикаций, посвященных слезной пленке, в подавляющем большинстве англоязычных, позволил дополнительно выяснить следующее. О наличии слезной жидкости на поверхности глазного яблока известно, по меньшей мере, с XVIII века. Keill (1747) подчеркивал роль слез в увлажнении роговицы, которая в противном случае была бы сухой и морщинистой от постоянного воздействия внешнего воздуха [19]. В публикациях XX-XXI веков для обозначения слезной жидкости (tear fluid) на поверхности роговицы используют и другие термины: «pre-corneal film», «precorneal tear film».

В 1946 году в журнале «Ophthalmological Society of the United Kingdom» была опубликована статья Wolff «The mucocutaneous junction of the lid-margin and the distribution of the tear fluid» [20]. В этой статье автор первым высказал предположение о том, что в состав пре-корнеальной пленки (the pre-corneal film) помимо водянистой слезной жидкости (the watery tear fluid) входят масляный секрет Мейбомиевых желез век (oily tarsal secretion) и слизистый секрет конъюнктивальных желез (the mucoid secretion of the conjunctival glands). Он сравнил слои пре-корнеальной слезной пленки (слизистый, водный и масляный) с тремя совершенно гладкими и ровными слоями краски. Wolff предложил рассматривать каждый из перечисленных компонентов, как отдельный слой, имеющий свое положение и функцию [20]. Его представления стали основой концепции трехслойной слезной пленки [21]. С точки зрения этой концепции объясняют все результаты исследований роговицы. В качестве примеров приведем некоторые из них. Norn (1960) исследовал образцы слезной пленки, полученные пипеточным методом, и обнаружил в ней ороговевшие клетки. Основываясь на том, что роговица покрыта неороговевающим эпителием, автор сделал вывод о том, что ороговевшие безъядерные клетки попадают в прекор-

неальную слезную пленку из эпителия кожи век [22]. Ehlers (1965), изучал роговицу животных и человека и пришел к выводу о том, что поверхность роговицы покрыта пленкой, обладающей определенной стабильностью, сжимаемостью и эластичностью, и, кроме того, несмотря на свое вертикальное положение, пленка более или менее не подвержена влиянию силы тяжести, что является особенностью, характерной для пленки [23]. Mishima (1965) исследовал роговицу животных и пришел к выводам о том, что слой прекорнеальной жидкости сохраняется на поверхности роговицы одинаковой толщины вопреки силе гравитации, поток слезной жидкости на поверхности роговицы отсутствует, маслянистый слой прекорнеальной пленки намного тоньше длины световой волны [8]. При микроскопии препаратов роговицы McTigue (1967) обнаружил на поверхности переднего эпителия слой хлопьевидного материала, названного им «the delicate flocculent layer on the surface of the epithelium» и идентифицировал его как слезную пленку [2]. McDonald (1969) исследовал оптические феномены на поверхности роговицы с использованием щелевой лампы и первым обосновал вывод о том, что интерференционные картины возникают в поверхностном слое масла, как результат отражения света от передней и задней поверхности масляного слоя прекорнеальной слезной пленки [18]. Brauningер и соавт. (1972) исследовали роговицу человека, проводя «физическую бомбардировку» слезной пленки микрокаплями масла и воды. Наблюдая под операционным микроскопом как частицы воды скатывались с поверхности роговицы, в то время как маслянистые частицы немедленно впитывались, авторы пришли к выводу о том, что передняя поверхность слезной пленки представляет собой маслянистый гидрофобный слой, обладающий достаточными внутренними упругими силами сцепления [24]. Holly (1980) объяснял формирование и стабильность липидного слоя прекорнеальной слезной пленки на примере формирования нефтяной пленки над чистой водной поверхностью [25]. С целью фиксации прекорнеальной слезной пленки на поверх-

ности роговицы Chen и соавт. (1997) применили метод криофиксации *in vivo* с замещением замораживанием (так называемый метод VC-FS или, «*in vivo cryofixation with freeze substitution*»). На препаратах сагиттальных срезов роговицы над клетками переднего эпителия авторы визуализировали слой гомогенного материала, который идентифицировали как слезную пленку: «...We have found that the tear film appears as a layer of homogeneous and fine network-like structure of 2 to 6 μm in thickness with a membrane-like layer covering its surface.» (цит. по Chen et al., 1997; с. 383, [10]). Плотная линия на поверхности сетчатой структуры была подтверждена как мембраноподобный слой: «...The dense line on the surface of the network-like structure was confirmed to be a membrane-like layer.» (цит. по Chen et al., 1997; с. 383, [10]). Авторы пришли к выводу о том, что «мембраноподобная» структура на поверхности гомогенного материала соответствует липидному слою слезной пленки: «...We conclude, therefore, that it is most likely to be the lipid layer of the tear film.» (цит. по Chen et al., 1997; с. 384, [10]). В этой части работы этих авторов необходимо обратить внимание на следующее. Слой гомогенного материала с мембраноподобной структурой на поверхности не был исследован, его удалили применением 10-20% раствора ацетилацетина [10].

В контексте перечисленных примеров, является очевидным, что исследования роговицы, гистологические в том числе, были направлены на изучение слезной пленки, существование которой над микроворсинками неороговевающих клеток не вызывало сомнений, как не вызывала сомнения и сама трехслойная структура переднего эпителия, известная по описанию препаратов химически фиксированного материала.

Как известно, «находясь в рамках одной парадигмы, трудно представить другую парадигму» (Адам Смит, 1723-1790). Тем не менее, анализ перечисленных выше результатов исследований [2, 8, 10, 18, 22-25], проведенный вне взаимосвязи с концепцией слезной пленки, позволил нам предположить иную структуру фронтальной поверхности покровного эпите-

лия роговицы, функционирующего (что особенно важно!) в контакте с жидкой средой «irroratio lacrimarum». На поверхности переднего эпителия роговицы стабильно присутствует некий тонкий морфологический компонент с гидрофобной поверхностью, обладающий эластичностью и внутренними упругими силами сцепления, повторяющий контур роговицы, при взаимодействии света (электромагнитных волн видимой части спектра) с которым возникает оптическое явление в виде интерференционных картин. Гистологическое описание данного компонента в научной литературе отсутствует. Однако известно, что еще в начале XX века Зальцман обращал внимание на то, что «к сожалению, на микроскопическом препарате редко можно видеть нормальное состояние переднего эпителия, так как он легко подвергается механическим повреждениям и посмертным изменениям (высыхание и т.п.); кроме того, уплотняющие жидкости влияют на эпителий раньше и сильнее, чем на остальные более глубокие части» (цит. по Zal'tsman, 1912, с. 467; [26]). Следовательно, предположения об артефактах, в том числе повреждениях поверхности переднего эпителия на препаратах химически фиксированного материала, существовали и ранее. В конце XX века были получены доказательства негативного влияния химических фиксаторов на поверхностные структуры роговицы и лучшего сохранения ткани при криофиксации *in vivo* с замораживанием (VC-FS) [27]. В 1997 году Chen HB с соавт. на препаратах криофиксированного материала над клетками третьего слоя переднего эпителия роговицы крысы визуализировали слой гомогенного материала с «мембраноподобной» структурой на поверхности [10]. По нашему мнению, этот результат имел перспективу стать отправной точкой дальнейших исследований переднего эпителия. Этого не случилось. В 2019 году мы опубликовали первые результаты исследования переднего эпителия роговицы на препаратах криостатных срезов [28]. Полученные нами данные подтвердили предположение о том, что гистологическая картина переднего эпителия на пре-

паратах химически фиксированного материала является неполной (рис. 2).

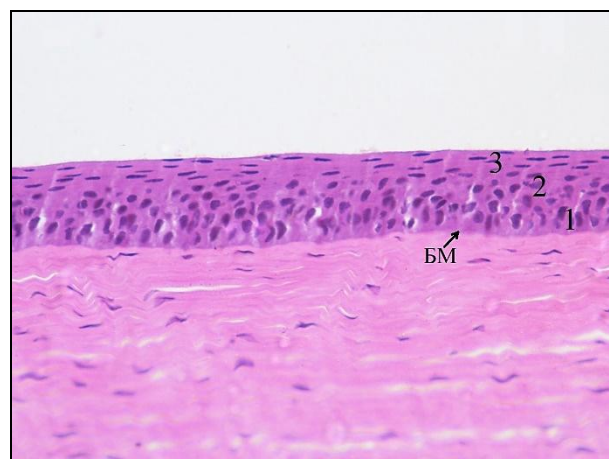


Рис. 2. Микрофото препарата переднего эпителия роговицы глаза свиньи домашней. Обозн.: БМ – базальная мембрана, 1 – слой базальных клеток, 2 – слой полигональных клеток, 3 – поверхностный слой плоских клеток. Окр.: гематоксилином и эозином. Ув.: x400

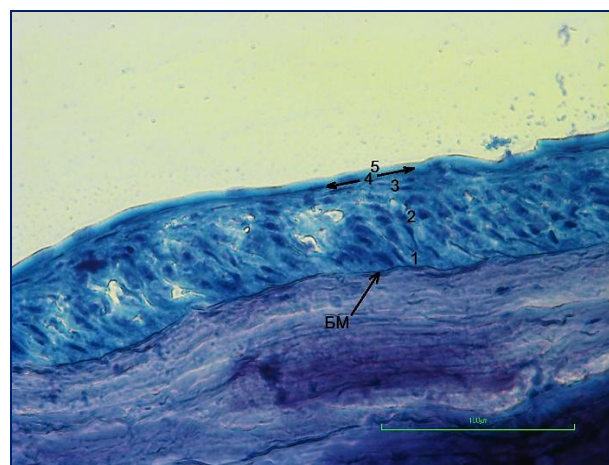


Рис. 3. Микрофото препарата переднего эпителия роговицы глаза свиньи домашней. Обозн.: БМ – базальная мембрана, 1 – слой базальных клеток, 2 – слой полигональных клеток, 3 – слой плоских клеток, 4 – тонкая полоска ткани, 5 – гомогенный слой. Окр.: метиленовым синим. Ув.: x 400

На препаратах криофиксированного материала определяется пять слоев эпителиоцитов. Таким образом, третий клеточный слой занимает всего лишь промежуточное положение в структуре переднего эпителия, что ставит под сомнение существование микроворсинок

(лат. microvillus, мн. ч. – microvilli) - подвижных пальцевидных выростов цитоплазматической мембраны, содержащих внутри цитоскелет из актиновых микрофиламентов, на апикальной части клеток третьего слоя многослойного плоского эпителия (рис. 3). Четвертый слой выделяется в виде тонкой полоски между третьим и пятым - гомогенным слоем, состоящим из предельно уплотненных рядов эпителиоцитов, безъядерных в своем большинстве. Следовательно, идентификация гомогенного слоя переднего эпителия роговицы со слезной пленкой, фактически со слоем жидкости, безосновательна. Из этого следует, что и объективных предпосылок для обсуждения природы интерференционных картин на поверхности роговицы с точки зрения концепции слезной пленки, предложенной применительно к трехслойной структуре переднего эпителия роговицы, в настоящее время нет. На поверхности пятого - гомогенного слоя - присутствует тонкий «мембраноподобный» компонент, подчеркивающий идеально гладкую поверхность эпителия [29-30]. В доступных нам базах научных публикаций мы не нашли описания «мембраноподобного» компонента переднего эпителия. Следовательно, гистологическое описание переднего эпителия роговицы все еще остается неполным. Эти обстоятельства мотивировали продолжение гистологических исследований переднего эпителия роговицы. Особое внимание мы уделили структуре его поверхности.

Цель исследования: изучить препараты-отпечатки с поверхности роговицы *Sus scrofa domestica* для получения данных о «мембраноподобном» компоненте переднего эпителия.

Материалы и методы исследования. В качестве модели *ex vivo* использованы глаза свиньи домашней (вид – свинья домашняя/*Sus domestica*/*Sus scrofa domestica*), исходя из анатомического и гистологического сходства с роговицей глаза человека по результатам гистологических исследований препаратов химически фиксированного материала [31-34]. Материал исследования получен на ферме крестьянского хозяйства через 30 минут после убоя здоровых живот-

ных для промышленной переработки мяса. Глаза помещали в контейнер на влажные ватные диски, на поверхность роговицы однократно капали офтальмологическое средство из группы регидрантов. Время транспортировки материала в гистологическую лабораторию составляло приблизительно два часа. Эти условия не допускали формирование слезной пленки. В лаборатории безотлагательно приступали к приготовлению препаратов.

Предпосылкой исследования препаратов-отпечатков с поверхности роговицы послужили наблюдения, полученные при микроскопии переднего эпителия на препаратах криостатных срезов, описания которых приводятся в начале раздела «Результаты и обсуждение». Для приготовления сагиттальных срезов глаза использовали криостат-микротом CM 2850, Hestion Scientific Pty Ltd (Австралия). Кривофиксацию выполняли при температуре 21-23°C до равномерного замораживания глазного яблока; срез толщиной 5-7 мкм производили в вертикальной плоскости относительно положения глаза в орбите. Срезы помещали на предметное стекло и окрашивали 0,1% водным раствором метиленового синего. Для увеличения объема клеток гомогенного слоя использовали 4% раствор натрия гидрокарбоната (NaHCO_3), который наносили на срез роговицы или касательно к поверхности среза роговицы через иглу инсулинового шприца. Исследовали свежеокрашенные срезы на временных препаратах. Воздействие на срезы спиртами, ксилолом, толуолом исключалось.

Для приготовления препаратов-отпечатков с поверхности переднего эпителия роговицы руководствовались иным порядком. Глаз извлекали из контейнера и омывали физиологическим раствором из медицинского шприца объемом 5 мл с целью удаления поверхностных загрязнений. Роговица глаза визуально сохраняла прозрачность, гладкость и зеркальность. Как только поверхность роговицы начала подсыхать, предметное стекло прокатывали по роговице от лимба до лимба, рассчитывая на прилипание «мембраноподобного» компонента к сухой поверхности стекла (рис. 4). Отпечатки окрашивали

0,1% водным раствором метиленового синего с экспозицией 3-5 минут, после чего осторожно смывали краситель физиологическим раствором. Воздействие на отпечатки спиртами, ксилолом, толуолом исключалось.

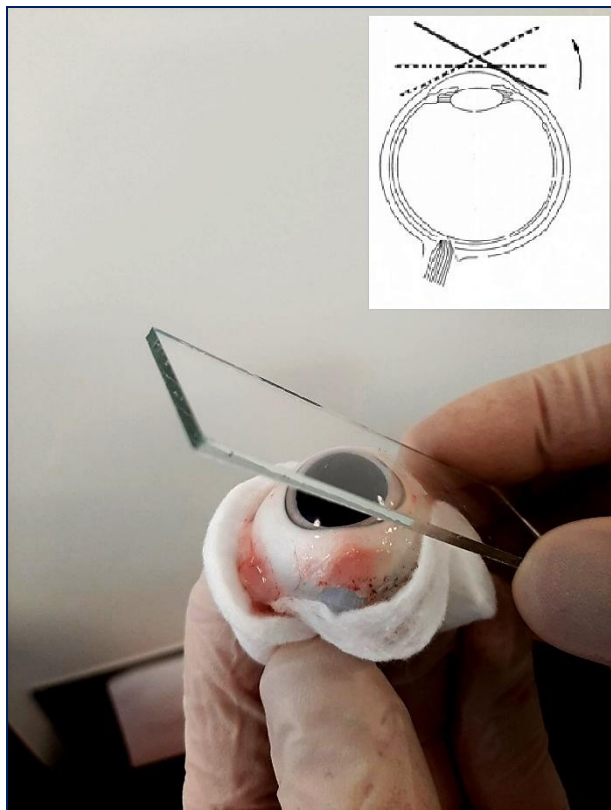


Рис. 4. Фото процедуры снятия отпечатка с поверхности переднего эпителия роговицы глаза свиньи домашней на предметное стекло

Результаты и обсуждение. При исследовании сагиттальных криостатных срезов глазного яблока, мы обратили внимание на следующее. Во-первых, поверхность переднего эпителия роговицы всегда выглядит идеально ровной и на нативных, и на окрашенных препаратах. В качестве примера представляем микрофото препарата сагиттального среза роговицы после воздействия на срез 4% раствором NaHCO_3 (рис. 5). Во-вторых, при локальном воздействии 4% раствором NaHCO_3 , после набухания клеток гомогенного слоя на их поверхности можно различить компактно расположенные микропузырьки с базофильными гранулами внутри. В качестве иллюстрации представляем микрофотографию препарата

переднего эпителия, окрашенного 0,1% водным раствором метиленового синего (рис. 6).

Трансформация гистологической картины переднего эпителия позволяет видеть ряды безъядерных клеток, плотно прилежащих друг к другу, мембраны клеток сливаются. Непосредственно над слоем безъядерных клеток определяется скопление микропузырьков с базофильными гранулами внутри. Мы предположили, что микропузырьки могут присутствовать на всей поверхности переднего эпителия роговицы и формировать надэпителиальный неклеточный слой. Для проверки этого предположения, были исследованы препараты-отпечатки с поверхности переднего эпителия роговицы на предметное стекло.

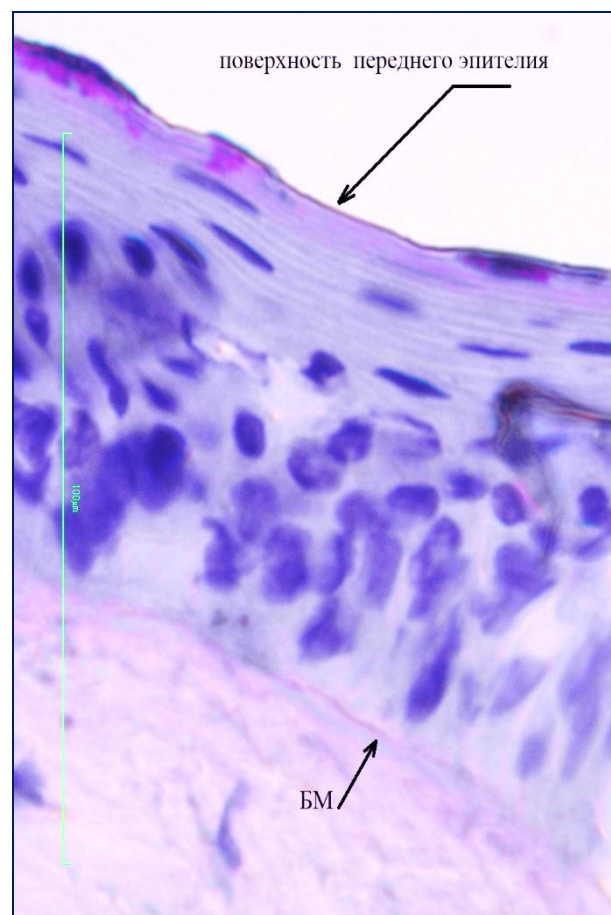


Рис. 5. Микрофото препарата сагиттального среза роговицы глаза свиньи домашней. Обозн.: БМ – базальная мембрана. Окр. метиленовым синим. Ув.: x 1000

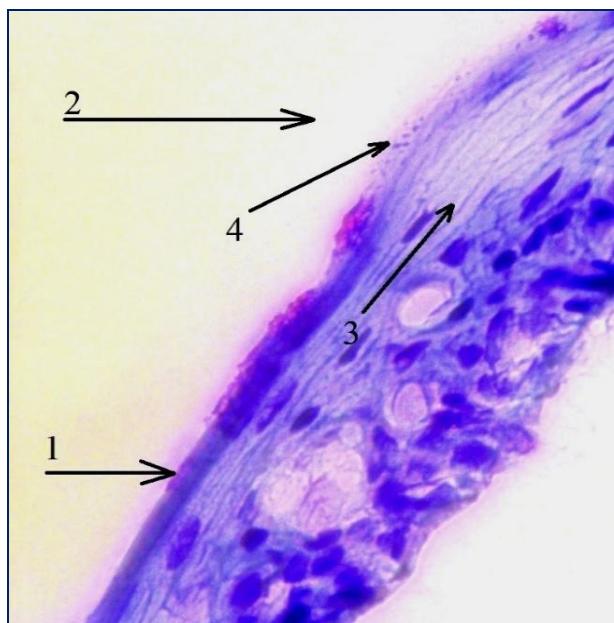


Рис. 6. Микрофото препарата сагиттального среза роговицы глаза свиньи домашней. Обозн.: 1 - гомогенный слой переднего эпителия, 2 - расслоение клеточных рядов гомогенного слоя после локального воздействия 4% раствором NaHCO_3 , 3 - ряды безъядерных клеток; 4 - скопление микропузырьков. Окр. метиленовым синим. Ув.: $\times 400$

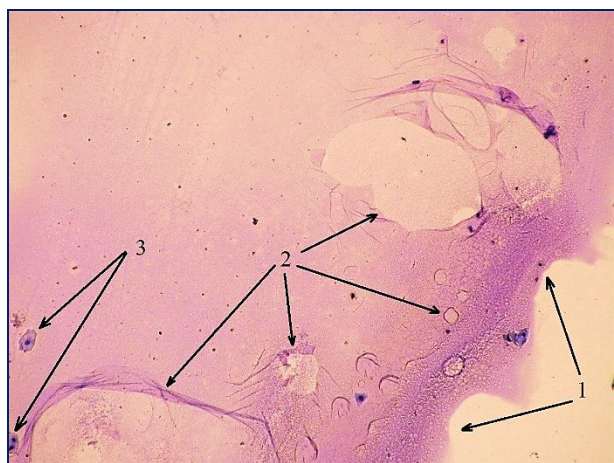


Рис. 7. Микрофото препарата-отпечатка с поверхности переднего эпителия роговицы глаза свиньи домашней. Обозн.: 1 - край пленки, соответствующий лимбу, 2 - разрывы пленки, 3 - эпителиальные клетки. Окр.: метиленовым синим. Ув.: $\times 100$

При микроскопии препаратов-отпечатков визуализирован тонкий прозрачный неклеточный компонент по типу пленки. Текстура пленки оптически более

плотная на периферии. Разрывы и складки пленки показывают ее многослойность. Определяется, как минимум, два слоя пленки (рис. 7).



Рис. 8. Микрофото препарата надэпителиальной пленки роговицы глаза свиньи домашней. Окр. метиленовым синим. Ув.: $\times 400$

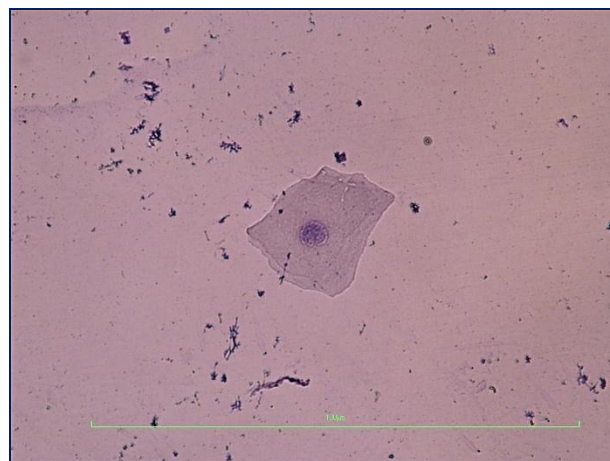


Рис. 9. Микрофото препарата надэпителиальной пленки роговицы глаза свиньи домашней. Микропузырьки с базофильными гранулами, в центре - эпителиальная клетка с фрагментированным ядром. Окр.: метиленовым синим. Ув.: $\times 1000$

Основными элементами пленки являются микропузырьки с базофильными гранулами в центре, внешне напоминающие фрагменты клеток и апоптозные тельца (рис. 8). На фоне пленки видны единичные эпителиальные клетки: одни имеют однородно базофильные ядра, другие - фрагментированные ядра (рис. 9). При сравнении микропузырьков на пре-

паратах сагиттальных срезов с микропузырьками пленки на препаратах-отпечатках с поверхности переднего эпителия определено их сходство.

На основании полученных данных сделан вывод о том, что неклеточный компонент на поверхности гомогенного слоя переднего эпителия роговицы на сагиттальных срезах и морфологический компонент в виде пленки, обнаруженный на препаратах-отпечатках с поверхности переднего эпителия, являются отображением одного и того же компонента переднего эпителия в двух взаимно перпендикулярных проекциях. Мы обозначили неклеточный компонент термином «надэпителиальная пленка».

В настоящее время представление о структуре переднего эпителия роговицы животных и человека базируются на описании препаратов химически фиксированного материала. Это позволяет утверждать, что передний эпителий состоит из трех клеточных слоев, его поверхность формируют жизнеспособные клетки, апикальная часть которых покрыта микроворсинками высотой 1-2 мкм, над которыми каждые 7-10 секунд движением век формируется слой слезной жидкости, выполняющий защитную, метаболическую и оптическую функции. Исходя из этих данных, считают, что завершение жизненного цикла клеток переднего эпителия происходит путем слущивания неороговевающих клеток (третьего слоя) в слезную пленку («...after which the superficial cells undergo desquamation into the tear film», цит. по Mannis et Holland, 2017; с. 32, [16]). Еще раз подчеркнем, существующие представления базируются на данных микроскопии препаратов химически фиксированного материала, т.е. препаратов, имеющих грубые артефакты.

Результаты исследований переднего эпителия на препаратах, приготовленных из криофиксированного материала, показывают, что передний эпителий роговицы состоит из пяти клеточных слоев. Эпителиоциты в слоях отличаются по геометрической форме клеток, обусловленной степенью сжатия клеток в слое, состоянию ядра, цитоплазмы, типу межклеточных контактов. Однако, эти отличия не

дают основания подразделять эпителиальные клетки на типы, в переднем эпителии присутствует только один тип эпителиоцитов, внешний вид клеток в слоях обусловлен стадией жизненного цикла (для эпителиоцитов это стадии деградации) [35-36]. Клетки пятого – гомогенного слоя – безъядерные, заполнены гомогенной оптически прозрачной массой, предположительно кератином. В результате исследования препаратов-отпечатков с поверхности переднего эпителия роговицы нами визуализирован неклеточный компонент в виде двухслойной пленки, состоящей из микропузырьков, внешне напоминающих фрагменты клеток и апоптозные тельца, т.е. неклеточных элементов с сохранной плазмолеммой. Мы обозначили неклеточный компонент термином «надэпителиальная пленка», подчеркивая его морфологическую взаимосвязь с клетками переднего эпителия роговицы.

Формированию надэпителиальной пленки, по нашему мнению, могут способствовать два фактора. Первый – поглощение клетками переднего эпителия роговицы естественного ультрафиолетового излучения [37]. Доказано, что эпителиальные клетки роговицы проявляют ультрафиолет-индуцированный апоптоз, и, одновременно, сниженную потребность в устранении сильно поврежденных клеток [38-39]. Как известно, фрагменты клеток и апоптозные тельца быстро подвергаются фагоцитозу, однако, их нахождение в жидкой среде или суспензии клеток позволяет избежать фагоцитоза [40]. Следовательно, вторым фактором, необходимым для открепления поверхностных эпителиоцитов от клеточного матрикса и накопления апоптозных телец/фрагментов клеток на поверхности эпителия, должна быть жидкая среда. Является очевидным то, что в качестве жидкой среды нужно рассматривать «irroratio lacrimarum» – увлажняющие слезы, или иначе – секрет слезных желез конъюнктивы (англ.: lacrimal fluid). Сочетание перечисленных факторов, должно создавать физиологические условия для завершения жизненного цикла клеток переднего эпителия роговицы путем апоптоза. Результатом накопления апоптозных телец и

фрагментов эпителиальных клеток на поверхности переднего эпителия, граничащего с жидкой средой конъюнктивальной полости (*irroratio lacrimarum*), является формирование надэпителиальной пленки. Если наши предположения верны, надэпителиальную пленку следует рассматривать как неклоточный надэпителиальный слой переднего эпителия роговицы, формирующийся в результате апоптоза поверхностных клеток (пятого – гомогенного слоя) в условиях жидкой среды конъюнктивальной полости.

Заключение. Таким образом, результаты исследования показали, что на поверхности пятого слоя переднего эпителия роговицы глаза *Sus scrofa domestica* присутствует неклоточный компонент, состоящий из микропузырьков - надэпителиальная пленка. Общий вид пленки дает основания полагать, что такие качества, как гидрофобность поверхности, стабильность, сжимаемость, эластичность, наличие внутренних упругих сил сцепления, неподверженность влиянию силы гравитации – более свойственны надэпителиальной пленке, а не слезной пленке,

т.е. слою слезной жидкости, как это было определено ранее. Именно упругими свойствами надэпителиальной пленки, по нашему мнению, можно объяснить нарастающее уплотнение эпителиоцитов по вертикали в слоях переднего эпителия. При обсуждении вопроса о природе интерференционных картин на поверхности роговицы, надэпителиальная пленка присутствующая на границе раздела двух сред (твердой – передний эпителий и жидкой – *Irroratio lacrimarum*/слезная жидкость/*lacrimal fluid*), по нашему мнению, может рассматриваться как материальная основа тонкопленочной интерференции. Публикуемые в настоящей статье данные являются первым сообщением о неклоточном компоненте в виде пленки на поверхности переднего эпителия роговицы. Обнаруженный компонент – надэпителиальная пленка – подлежит всестороннему исследованию для определения его роли и значения в физиологии переднего эпителия и роговицы в целом.

Литература References

1. Bron A, Tripathi R, Tripathi B. *Wolff's Anatomy of the Eye and Orbit*. 8th edition. Taylor & Francis. 1998.- P.752
2. 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
3. Pfister RR. The normal surface of corneal epithelium: a scanning electron microscopic study. *Invest Ophthalmol*. 1973;12:654-668
4. Nichols B, Dawson CR, Togni B. Surface features of the conjunctiva and cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1983;24:570-576
5. Collin SP, Collin HB. A comparative SEM study of the vertebrate corneal epithelium. *Cornea*. 2000;19:218-30. <https://doi.org/10.1097/00003226-200003000-00017>
6. Fuks E. *Учебник глазных болезней*. М., Гос. Мед. Изд., 1933.- In Russian
7. Arkhangel'skiy VN. *Mnogotomnoe rukovodstvo po glaznym boleznyam: V 2-kh kn*. 1962.-S.346. In Russian
8. Mishima S. Some physiological aspects of the precorneal tear film. *Arch Ophthalmol*. 1965;73:233-241. <https://doi.org/10.1001/archophth.1965.00970030235017>
9. Wysenbeek YS, Loya N, Ben Siro I et al. The Effect of Sodium Hyaluronate on the Corneal Epithelium. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1998;29(2):194-199
10. 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 Sci*. 1997;38:381-387
11. Ohashi Y, Dogru M, Tsubota K. Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clin Chim Acta*. 2006;369(1):17-28. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.12.035>
12. Masoudi S. Biochemistry of human tear film: A review. *Exp Eye Res*. 2022;220:109101. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109101>
13. Golden MI, Meyer JJ, Zeppieri M et al. Dry Eye Syndrome. 2024. In: StatPearls [Internet-resource]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; URL: https://www.researchgate.net/publication/380793871_Dry_Eye_Syndrome
14. Brzhevskiy VV, Somov EE. *Rogovichno-kon'yunktival'ny kseroz (diagnostika, klinika, lechenie)*. S-Pb: Levsha. Sankt-Peterburg, 2003.- S. 5-12. In Russian
15. Mircheff AK. Lacrimal fluid and electrolyte secretion: a review. *Curr Eye Res*. 1989;8(6):607-17. <https://doi.org/10.3109/02713688908995761>
16. Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea: Fundamentals, Diagnosis and Management*, 4th ed. New York: Elsevier, 2017.- P. 32
17. Tran CH, Routledge C, Miller J et al. Examination of murine tear film. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:3520-3525. <https://doi.org/10.1167/iov.03-0178>
18. McDonald JE. Surface phenomena of the tear film. *Am J Ophthalmol*. 1969;67:56-64. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(69\)90008-7](https://doi.org/10.1016/0002-9394(69)90008-7)
19. Keill J. The anatomy of the human body, abridg'd: or, a short and full view of all the parts of the body. Together with their several uses drawn from their compositions and structures. London, 1747. P. 180. https://archive.org/details/bim_eighteenth-century_anatomy-of-the-human-b_keill-james_1747/page/180/mode/2up?q=tears
20. Wolff E. The muco-cutaneous junction of the lidmargin and the distribution of the tear fluid. *Trans Ophthalmol Soc UK*. 1946;66:291-308

21. Cher I. Another way to think of tears: blood, sweat, and... «dacruon». *Ocul Surf.* 2007;5(3):251-254. [https://doi.org/10.1016/s1542-0124\(12\)70615-8](https://doi.org/10.1016/s1542-0124(12)70615-8)
22. Norn MS. Cytology of the precorneal film. *Acta Ophthalmologica*, 1960;38(2):67-71. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.1960.tb00183.x>
23. Ehlers N. The precorneal film. *Biomicroscopical, histological and chemical investigations. Acta ophthalmol suppl.* 1965; 81:19-34
24. Brauninger GE, Shah DO, Kaufman HE. Direct physical demonstration of oily layer on tear film surface. *Am J Ophthalmol.* 1972;73:132-134. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(72\)90315-7](https://doi.org/10.1016/0002-9394(72)90315-7)
25. Holly FJ. Tear film physiology. *Am J Optom Physiol Opt.* 1980;57:252-257. <https://doi.org/10.1097/00006324-198004000-00008>
26. Zal'tsman M. Anatomiya i gistologiya chelovecheskogo glaza v normal'nom sostoyanii, ego razvitie i starenie. Izdatel'stvo Chikagского университета. 1912.-S.467. In Russian
27. 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 Research.* 1995; 27(5), 286–295. <https://doi.org/10.1159/000267738>
28. Khomyakova NV. Osobennost' gistologicheskoy kartiny perednego epiteliya v kriostatnykh srezakh rogovitsy. *Veterinariya i kormlenie.* 2019;3:46-48. In Russian. <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-3-14>
29. Khomyakova NV. Mikroskopicheskoe issledovanie perednego epiteliya rogovitsy v eksperimente. *Veterinariya i kormlenie.* 2020;7:67-69. In Russian. <https://doi.org/10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-7-18>
30. Khomyakova NV. Struktura perednego epiteliya rogovitsy Sus scrofa domesticus pri kriofiksatsii. *Morfologicheskie vedomosti.* 2023;31(3):59-66. In Russian. [https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31\(3\).762](https://doi.org/10.20340/mv-mn.2023.31(3).762)
31. 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
32. Barros RC, Van Kooten TG, Veeragowda DH. Investigation of Friction-induced Damage to the Pig Cornea. *Ocul Surf.* 2015;13(4):315-320. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2015.05.004>
33. Abhari S, Eisenback M, Kaplan HJ et al. Anatomic Studies of the Miniature Swine Cornea. *Anat Rec (Hoboken).* 2018;301(11):1955-1967. <https://doi.org/10.1002/ar.23890>
34. 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 limbus. *Eur J of Anat.* 2020;24(5):399-406
35. Ehlers N. Morphology and histochemistry of the corneal epithelium of mammals. *Cells Tissues Organs.* 1970;75(2):161-198. <https://doi.org/10.1159/000143448>
36. Bülow N, Ehlers N. Morphology and dopa reaction of cultivated corneal epithelial cells. *Acta Ophthalmologica.* 2009;46(4):749-756. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.1968.tb02873.x>
37. Podskochy A. Protective role of corneal epithelium against ultraviolet radiation damage. *Acta Ophthalmol Scand.* 2004;82(6):714-717. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0420.2004.00369.x7>
38. Podskochy A, Gan L, Fagerholm P. Apoptosis in UV-exposed Rabbit Corneas. *Cornea.* 2000;19(1):99–103. <https://doi.org/10.1097/00003226-200001000-00019>
39. Mallet JD, Dorr MM, Drigeard Desgarnier MC, et al. Faster DNA Repair of Ultraviolet-Induced Cyclobutane Pyrimidine Dimers and Lower Sensitivity to Apoptosis in Human Corneal Epithelial Cells than in Epidermal Keratinocytes. *PLoS One.* 2016;11(9):e0162212
40. Luchnikov EF, Abrosimov A Ju. Gibel' kletki (apoptoz). Moskva: Meditsina; 2001.- 192s. In Russian

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

The Author declares that she has no conflicts of interest in the planning, implementation, financing and use of the results of this study

Автор выражает благодарность заместителю директора Брянского филиала «Федеральный центр охраны здоровья животных» Сидорову Ивану Ивановичу и ведущему врачу отдела серологии и лептоспироза Колосковой Элеоноре Леонидовне за техническое содействие и помощь в приготовлении гистологических препаратов

The Author is grateful to Ivan Sidorov, to Deputy Director of the Federal Center for Animal Health Protection Bryansk Branch, and to Eleonora Koloskova, to Leading Physician of the Serology and Leptospirosis Department for technical assistance and help in preparing histological preparations

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

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

INFORMATION ABOUT AUTHOR

Natal'ya V. Khomyakova, Candidate of Medical Sciences, Ophthalmologist, Private Healthcare Institution - the Hospital «Russian Railways-Medicine», Bryansk, Russia;
e-mail: khomyakova76@yandex.ru