Особенность гистологической картины переднего эпителия в криостатных срезах роговицы

Хомякова Н.В.
Khomyakova N.

DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-3-14
Удк 591.8

Хомякова Н.В., кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог, НУЗ "Отделенческая больница на станции Брянск-II" ОАО РЖД, Брянск, Khomyakova76@yandex.ru
Колоскова Э.Л., кандидат ветеринарных наук, заместитель начальника диагностической лаборатории, ФГБУ "Брянская МВЛ", Брянск, eleanora.koloskova@yandex.ru

Сидоров И.И., кандидат биологических наук, директор ФГБУ "Брянская МВЛ", Брянск, BMVL32@yandex.ru

Ключевые слова: передний эпителий, криостатные срезы, световая микроскопия

Резюме. Классическая гистологическая картина переднего эпителия роговицы (epithelium anterius) животных и человека предполагает наличие трех слоев эпителиальных клеток: слоя базальных клеток, среднего слоя крыловидных клеток и поверхностного слоя плоских (неороговевающих) клеток. Изменение порядка приготовления гистологического препарата, замена химической фиксации материала на криофиксацию, позволяет стабилизировать над массой клеток переднего эпителия гистологический компонент в виде гомогенного слоя с четкими границами и гладкой поверхностью. Результаты были получены методом свето-

Для цитирования / For citation

Хомякова, Н.В. Особенность гистологической картины переднего эпителия в криостатных срезах роговицы / Н.В.Хомякова, Э.Л. Колоскова, И.И. Сидоров // Ветеринария и кормление. - 2019. - №3 - С.46-48.
Khomyakova, N. A Distinctive Feature of the Histological Picture of the Anterior Epithelium in the Cryostatic Sections of the Cornea / N. Khomyakova, E. Koloskova, I. Sidorov I. //Veterinaria I kormlenie. 2019. N3, P.46-48

A Distinctive Feature of the Histological Picture of the Anterior Epithelium in the Cryostatic Sections of the Cornea

Khomyakova N., Non State Healthcare Institution "Otdelencheskaya Hospital at the Station Bryansk-II" Joint Stock Company "Russian Railways", Bryansk, Khomyakova76@yandex.ru

Koloskova E., Federal State Budgetary Institution "Bryansk Interregional Veterinary Laboratory", Bryansk, eleanora.koloskova@yandex.ru

Sidorov I., Federal State Budgetary Institution "Bryansk Interregional Veterinary Laboratory", Bryansk, BMVL32@yandex.ru

Key words: anterior epithelium, cryostatic sections, light microscopy/

Abstract. The histological picture of the anterior corneal epithelium (epithelium antierius) of animals and humans suggests the presence of three layers of epithelial cells: the layer of basal cells, the middle layer of pterygoid cells and the surface layer of flat (non-keratinizing) cells. It is this structure of the anterior epithelium is implied in the discussion of the fundamental issues of physiology and pathology of the surface of the cornea (corneal surface). The analysis of the literature allows us to conclude that a generally known histological picture is specific only for the preparations that have undergone a standard multistage preparation procedure, the first stage of which, in all cases, is a chemical fixation of the material. At the same time, it is known, that the microscopic structure of the tissue subjected to chemical fixation is always, to some extent, an artifact, because it is accompanied by the compaction of the tissue, and "fixing fluids affect the epithelium earlier and stronger than the other deeper parts", which probably cannot but affect the quality of the information received. It is proved, that the methods of quickly cryofixation allow better preserve the ultrastructure of the anterior epithelium. We have studied histological preparations of the cryostatic sections of the cornea of cadaveric eyes of the *sus scrofa domesticus* (domestic pig) stained with hematoxylin and eosin. Microscopic study was carried out using a light microscope. The result of the study showed that the replacement of the chemical fixation of the material with a cryofixation in a cryostat makes it possible to stabilize above the mass of cells of the anterior epithelium a previously unknown histological component - an optically transparent homogeneous layer with clear boundaries and a smooth surface, giving a natural completeness to the structure of the anterior corneal epithelium. This fact has both theoretical and practical significance because only three layers of cells of the anterior epithelium of the cornea of animals and humans are known up to date. The presence of a homogeneous layer over the mass of epithelial cells determines a special feature of the histological picture in the cryostatic sections and demonstrates a more complex structure of the anterior epithelium of the cornea.

вой микроскопии при изучении криостатных срезов роговицы окрашенных гематоксилином и эозином. Гистологическая картина в препаратах криостатных срезов демонстрирует более сложное строение переднего эпителия, изучение которого необходимо продолжить.

Введение

Первое, наиболее полное, гистологическое описание роговицы было дано Уильямом Боуменом (William Bowman, 1816–1892) в середине XIX века [1]. С этого времени классическая гистологическая картина переднего эпителия (epithelium antierius) роговицы животных и человека предполагает наличие трех слоев эпителиальных клеток: слоя базальных клеток, среднего слоя крыловидных клеток и поверхностного слоя плоских (неороговевающих) клеток. Базальный слой представляет собой один пласт высоких

Рисунок 1. Иллюстрация нормального строения переднего эпителия роговицы. Окраска гематоксилином-эозином. (Ehlers N et al, 2010)

Figure 1. Illustration of the normal structure of the anterior corneal epithelium. The sample was stained with hematoxylin-eosin. (Ehlers N et al, 2010)

Рисунок 2. Микрофотография препарата сагиттального криостатного среза роговицы. Образец окрашен гематоксилином-эозином. Световая микроскопия. x 1000. Обозначения: а – строма роговицы, b – базальная мембрана, c – эпителиальные клетки, c1 – слой базальных клеток, c2 – средний слой крыловидных клеток, c3 – слой поверхностных плоских клеток, d – гомогенный слой с четкими границами и гладкой поверхностью.

Figure 2. Micrograph of cryostat sagittal section of the cornea. The sample was stained with hematoxylin-eosin. Light microscopy. x 1000. Designations: a – stroma of the cornea, b – basement membrane, c – epithelial cells, c1 – layer of basal cells, c2 – middle layer of wing cells, c3 – surface layer of flat cells, d – homogeneous layer with clear boundaries and a smooth surface.

призматических клеток, ядра которых смещены в апикальную часть. Средний (промежуточный) слой складывается из рядов крыловидных клеток, ядра клеток имеют округлые очертания. Поверхностный слой состоит из плоских клеток, ядра которых своей осью ориентированы параллельно поверхности роговицы [2-8]. (Рис.1)

Анализ литературы позволил сделать вывод, что известная гистологическая картина специфична только для препаратов, прошедших стандартную многоступенчатую процедуру приготовления, включающую химическую фиксацию, обезвоживание и уплотнение (заливку) материала. В тоже время общеизвестно, что микроскопическое строение фиксированной ткани всегда, в той или иной мере, является артефактом, поскольку сопровождается уплотнением или сжатием ткани (до 40%) [9]. Еще в начале XX века М. Зальцман (M.Salzmann, 1912) в книге "Анатомия и гистология человеческого глаза в нормальном состоянии, его развитие и увядание" писал: "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" [10]. Исследованиями Chen H.B с соавт. (1995–1997г.) было доказано негативное влияние химических фиксаторов на поверхностные структуры роговицы и продемонстрировано преимущество методов быстрой криофиксации [11,12]. Однако, несмотря на перечисленные факты, классическая гистологическая картина переднего эпителия роговицы по-прежнему считается иллюстрацией его нормального строения, используется при обсуждении вопросов физиологии поверхности роговицы (corneal surface) и оценке патологических процессов роговицы животных и человека.

По нашему мнению, сложившийся порядок приготовления препаратов роговицы вносит ограничения в процесс исследования её отдельных структурных компонентов, что не может не отразиться на объеме и качестве получаемой информации.

Цель работы: исследовать передний эпителий (epithelium anterius) в препаратах криостатных срезов роговицы.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на 10 кадаверных глазах *sus scrofa domestica* (свиньи домашней). Энуклеация проводилась через 30 минут после забоя животного. Требованиям к исследуемому биоматериалу было сохранение его витальных характеристик (прозрачности, зеркальности и гладкости). Для этого глаза с осторожностью помещались в контейнер, их поверхность увлажнялась препаратом искусственной слезы. Отступив от рутинного порядка приготовления гистологических препаратов, мы заменили фиксацию материала в формалине, обезвоживание в спиртах и уплотнение в парафине на криофиксацию. Приготовленные на криостате HESTION (Австралия) сагиттальные срезы роговицы толщиной ~ 5 мкм помещались на предметное стекло, окрашивались гематоксилином-эозином. Микроскопическое исследование препаратов проводилось с использованием светового микроскопа Nikon 4550S, оснащенного цифровой специализированной цветной камерой DS-Fi2 и блоком автономного управления Nikon DS-L3.

Результаты и их обсуждение

Гистологическая картина переднего эпителия в препаратах криостатных срезов роговицы, отличается от ранее известного описания, полученного на основании микроскопии препаратов, материал для которых был подвергнут химической фиксации. В препаратах криостатных сагиттальных срезов роговицы, окрашенных гематоксилином-эозином визуализируются: строма (а), базальная мембрана (b), клетки переднего эпителия (с). (Рис.2) Контуры эпителиальных клеток базального (с1), среднего (с2) и поверхностного слоя (с3) в препаратах нечеткие, но разница формы клеток в слоях определяется. Над массой эпите-

лиальных клеток визуализируется гистологический компонент в виде гомогенного оксифильного слоя с четкими границами и гладкой поверхностью, придающий естественную завершенность архитектонике переднего эпителия роговицы. При световой микроскопии на малом и среднем увеличении, гомогенный слой в целом представляется оптически однородным. Воспроизведение гистологической картины достигнуто во всех случаях приготовления препаратов.

Таким образом, результаты исследования доказывают, что криофиксация в криостате, как первый этап приготовления гистологических препаратов роговицы, позволяет сохранить структуру покровного эпителия и стабилизировать в материале исследования ранее неизвестный гистологический компонент, который определяет особенность гистологической картины переднего эпителия в препаратах криостатных срезов. Этот факт имеет значение, поскольку до настоящего времени известно только о трех слоях клеток переднего эпителия роговицы животных и человека. В целом, гистологическая картина в препаратах криостатных срезов демонстрирует более сложное строение переднего эпителия, изучение которого необходимо продолжить.

Литература

1. Metz A. The Anatomy and Histology of the Human Eye. Philadelphia, 1868. 181 с.
2. Многоотомное руководство по глазным болезням /Под ред. В. Н. Архангельского - М.: Медгиз, 1962, Т 2, книга 1, С. 208-211.
3. McTigue, J. W. The human cornea: a light and electron microscopic study of the normal cornea and its alterations in various dystrophies / J. W. McTigue // Trans. Am. Ophthalmol. Soc. - 1967. - Vol. 65. - P. 591-660.
4. Кацнельсон З.С. Практические занятия по гистологии и эмбриологии / З.С.Кацнельсон, И.Д.Рихтер, - 2-е изд, перераб. -М.-Л., Сельхозиздат, 1963. 276 с.
5. Хем А., Кормак Д. Гистология: Пер. с англ.- М.: Мир,1983.-Т.4. С. 228-231.
6. Анатомия домашних животных: учебник для высш. с.-х.учеб. заведений / под ред. А. И. Акаевского. -4-е изд., испр.и доп. -М.: Колос, 1984. -546 с.
7. Вит В.В. Строение зрительной системы человека. - Одесса: Астропринт, 2003. С. 170-178.
8. Morphological evaluation of normal human corneal epithelium / N. Ehlers [et al.] //Acta Ophthalmol. -2010. - Vol. 88. - № 8. - P. 858-61.
9. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. - 4-е изд., - Л.: Медгиз, 1961. - 343 с.
10. Salzmann, M. The Anatomy and Histology of the Human Eyeball in the Normal State: Its Development and Senescence / M. Salzmann // Chicago: University Chicago Press. - 1912.
11. Ultrastructural studies on the corneal superficial epithelium of rats by in vivo cryofixation with freeze substitution / H.B Chen et al. // Ophthalmic Res. -1995. - Vol. 27. - № 5. - P. 286-295.
12. Ultrastructural study on rat precorneal tear film by the quick freezing freeze-substitution / Chen H.B. et al.// Nippon Ganka Gakkai Zasshi. - 1996.- Vol. 100. - № 6.- P. 453-457.

References

1. Metz A. The Anatomy and Histology of the Human Eye. Philadelphia, 1868. 181 с.
2. Mnogotomnoe rukovodstvo po glaznym boleznyam. Pod red. V. N. Arhangel'skogo, 1962, V. 2, P. 208-211.
3. McTigue, J. W. The human cornea: a light and electron microscopic study of the normal cornea and its alterations in various dystrophies / J. W. McTigue // Trans. Am. Ophthalmol. Soc. - 1967. - Vol. 65. - P. 591-660.
4. Kacnel'son Z.S., Rihter I.D. Prakticheskie zanjatija po gistologii i jembriologii, Sel'hozizdat, 1963. 276 P.
5. Hem A., Kormak D. Gistologija: Per. s angl., 1983. V.4, P. 228-231.
6. Anatomija domashnih zhivotnyh: uchebnik dlja vyssh. s.-h.ucheb. zavedenij. Pod red. A. I. Akaevskogo. Kolos, 1984. 546 P.
7. Vit V.V. Stroenie zritel'noj sistemy cheloveka. Astroprint, 2003. p.170-178.
8. Morphological evaluation of normal human corneal epithelium / N. Ehlers [et al.] //Acta Ophthalmol. -2010. - Vol. 88. - № 8. - P. 858-61.
9. Merkulov G.A. Kurs patologogistologicheskoy tehniki, Medgiz, 1961. 343 P.
10. Salzmann, M. The Anatomy and Histology of the Human Eyeball in the Normal State: Its Development and Senescence / M. Salzmann // Chicago: University Chicago Press. - 1912.
11. Ultrastructural studies on the corneal superficial epithelium of rats by in vivo cryofixation with freeze substitution / H.B Chen et al. // Ophthalmic Res. -1995. - Vol. 27. - № 5. - P. 286-295.
12. Ultrastructural study on rat precorneal tear film by the quick freezing freeze-substitution / Chen H.B. et al.// Nippon Ganka Gakkai Zasshi. - 1996.- Vol. 100. - № 6.- P. 453-457.