

© А. Б. Киладзе, 2013  
УДК 611.841.2.018:598.51

А. Б. Киладзе

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПЕРЕДНЕГО ЭПИТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА АФРИКАНСКОГО СТРАУСА

Лаборатория морфологических адаптаций позвоночных (зав. — д-р биол. наук О. Ф. Чернова),  
Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, Москва

Цель работы — гистологическое исследование переднего эпителия роговицы (ПЭР) взрослого самца африканского страуса *Struthio camelus* Linnaeus, 1758 (Struthioniformes). Общая толщина ПЭР равна  $48,5 \pm 1,1$  мкм. Исследована геометрия эпителиоцитов. Базальные клетки (высота —  $21,4 \pm 1,8$  мкм, ширина —  $5,9 \pm 0,4$  мкм, индекс конфигурации —  $3,8 \pm 0,5$ ) имеют столбчатую форму. Промежуточные клетки (высота —  $6,2 \pm 0,3$  мкм, ширина —  $12,0 \pm 0,8$  мкм, индекс конфигурации —  $0,54 \pm 0,06$ ) — преимущественно эллипсоидной формы. Поверхностные клетки (высота —  $3,8 \pm 0,3$  мкм, ширина —  $22,4 \pm 1,7$  мкм, индекс конфигурации —  $0,180 \pm 0,020$ ) имеют плоскую форму. Индекс уплощения эпителиоцитов поверхностного слоя составляет  $5,8 \pm 0,5$ . Выявлена отрицательная корреляционная зависимость ( $r = -0,72 \pm 0,13$ ) между высотой и шириной эпителиоцитов.

**Ключевые слова:** глаз, передний эпителий роговицы, морфометрия, страус

Современные представления о цитологической структуре переднего эпителия роговицы (ПЭР) глазного яблока тесным образом связаны с физиологическими, эколого-функциональными и прикладными аспектами, нашедшими применение в медицине, ветеринарии и эколого-биологической практике. Гистофизиология ПЭР, являющегося многослойным плоским неороговевающим, базируется на таких фундаментальных процессах, как пролиферативная активность, сводящаяся к последовательной генерации клеточных слоев, дифференцировка, подразумевающая функциональную специализацию клеток, а также десквамация, отражающая отторжение метаболически дегенеративных плоских клеток от поверхности ПЭР. Очевидно, что внутренний гомеостаз ПЭР поддерживается постоянной пролиферацией клеток базального слоя, которые, мигрируя к поверхностному слою, замещают слущивающиеся клетки. В этой связи ПЭР широко используют в качестве тест-системы в экологических исследованиях для анализа цитогенетических эффектов, вызванных техногенным загрязнением (радиационным и химическим), а также при исследовании различных патологических состояний, при этом основная функция ПЭР сводится к обеспечению механической защиты подлежащей стромы и предохранению ее от проникновения инфекции [4]. Гистопатология ПЭР (например, ксероз роговицы, кератопатия и др.) формирует одно из актуальнейших прикладных направлений в офтальмологии [9].

Все названные выше направления придают актуальность настоящей работе, посвященной изучению структурной организации ПЭР африканского страуса *Struthio camelus* Linnaeus, 1758, строение которого изучено лишь в самых общих аспектах. Ранее нами установлено, что ПЭР составляет примерно 5,6% от толщины роговицы глаза страуса [1]. Кроме того, проведено исследование поверхностной архитектоники ПЭР у страуса, имеющей особый микропаттерн, сформированный клетками, микроворсинками, микроскладками, при этом у родственного ему вида — эму *Dromaius novaehollandiae* Latham, 1790, плотность клеток на поверхности ПЭР несколько меньше [7, 8]. Очевидно, что полученные результаты могут иметь важное диагностическое значение в таксономических исследованиях.

Цель настоящей работы — рассмотреть гистологическую структуру ПЭР страуса, морфометрический анализ его общей толщины, а также соотношения его отдельных клеток, принадлежащих к разным слоям, что особенно важно в контексте косвенного отражения гистофизиологических процессов.

**Материал и методы.** Исследованы 6 роговиц глазных яблок трех особей двухлетних самцов страуса, выращенных в ООО «Русский страус» (Серпуховский р-н Московской обл., дер. Старые Кузьменки). Роговицы фиксировали в 10% нейтральном формалине, заливали в парафин, срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином — эозином [2] и изучали с помощью микроскопа BIOREVO BZ-9000 (Keyence Corporation, Япония). При помощи окулярно-

### Сведения об авторах:

Киладзе Андрей Бондович (e-mail: andreykiladze@yandex.ru), лаборатория морфологических адаптаций позвоночных, Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, 119071, Москва, Ленинский пр-т, 33

го микрометра МОВ-1-15 (Россия), используя микроскоп Carl Zeiss (VEB Carl Zeiss, Германия), измеряли толщину ПЭР, ширину и высоту эпителиоцитов. Цифровые данные обрабатывали методами дескриптивной и корреляционно-регрессионной статистики, используя компьютерную программу STATISTICA 6, разработанную компанией StatSoft (США) [5]. Индекс конфигурации эпителиоцитов рассчитывали как частное от деления высоты клеток на их ширину. Для оценки степени уплощения эпителиоцитов поверхностного слоя ПЭР использовали индекс уплощения, который равен отношению высоты эпителиоцитов базального слоя к высоте эпителиоцитов поверхностного слоя [1].

**Результаты исследования.** В ПЭР отчетливо различимо его подразделение на три слоя — базальный, промежуточный (шиповатый) и поверхностный (рис. 1). Общее количество клеточных рядов ПЭР не превышает 6–7. Базальный слой состоит из клеток, преимущественно с булавовидно утолщенными апикальными частями. Имеются клетки кубической или столбчатой формы. Цитоплазма эпителиоцитов базального слоя светлее, чем клеток вышележащих слоев, при этом округлые ядра располагаются преимущественно либо в центре, либо смещены к апикальному полюсу. Клетки базального слоя формируют своеобразную палисадную систему за счет плотного примыкания друг к другу.

Промежуточный слой состоит из 2–4 рядов клеток, отличающихся по строению и морфометрическим показателям от эпителиоцитов базального слоя. По своей форме они варьируют от округлых до эллипсоидных, причем клетки, примыкающие к базальному слою, нередко имеют форму инвертированной капли. Вместе с тем, по

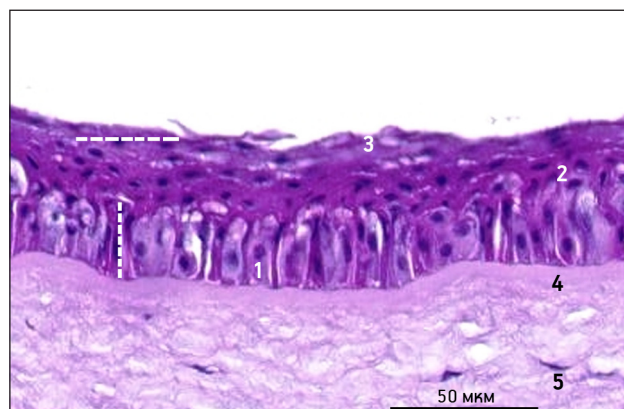


Рис. 1. Передний эпителий роговицы (ПЭР) глаза африканского страуса.

1 — клетки базального слоя; 2 — шиповатые, или крыловидные, клетки промежуточного слоя; 3 — чешуевидные клетки поверхностного слоя; 4 — передняя пограничная пластинка; 5 — собственное вещество роговицы. Пунктирные линии — Т-образная топология расположения клеток базального и поверхностного слоев ПЭР. Окраска гематоксилином—эозином

сравнению с клетками базального слоя эпителиоциты промежуточного слоя в своем большинстве несколько приплюснутые, равно как и их ядра.

Поверхностный слой сформирован двумя рядами эпителиоцитов. На поверхности расположены уплощенные чешуеобразные клетки, содержащие ядра. Результаты морфометрического анализа важнейших параметров клеток ПЭР приведены в таблице.

Индекс конфигурации эпителиоцитов, отражающий трансформацию клеток в зависимости

**Некоторые морфометрические показатели эпителиоцитов переднего эпителия роговицы глаза взрослого самца африканского страуса *Struthio camelus* Linnaeus, 1758 (*Struthioniformes*) (n=10)**

| Исследованные параметры                                                                         | $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ | Lim         | $\pm \sigma$ | Cv, % |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------|--------------|-------|
| Эпителиоциты базального слоя:                                                                   |                           |             |              |       |
| высота, мкм                                                                                     | 21,4 $\pm$ 1,8            | 12,50–29,69 | 5,7          | 26,67 |
| ширина, мкм                                                                                     | 5,9 $\pm$ 0,4             | 4,69–7,81   | 1,4          | 24,07 |
| индекс конфигурации                                                                             | 3,8 $\pm$ 0,5             | 2,00–6,33   | 1,6          | 40,89 |
| Эпителиоциты промежуточного слоя:                                                               |                           |             |              |       |
| высота, мкм                                                                                     | 6,2 $\pm$ 0,3             | 4,69–7,81   | 0,9          | 15,07 |
| ширина, мкм                                                                                     | 12,0 $\pm$ 0,8            | 6,25–15,63  | 2,4          | 20,37 |
| индекс конфигурации                                                                             | 0,54 $\pm$ 0,06           | 0,38–1,00   | 0,19         | 35,19 |
| Эпителиоциты поверхностного слоя:                                                               |                           |             |              |       |
| высота, мкм                                                                                     | 3,8 $\pm$ 0,3             | 2,34–4,69   | 0,9          | 24,54 |
| ширина, мкм                                                                                     | 22,4 $\pm$ 1,7            | 15,63–31,25 | 5,5          | 24,65 |
| индекс конфигурации                                                                             | 0,180 $\pm$ 0,020         | 0,11–0,30   | 0,07         | 38,89 |
| Индекс уплощения эпителиоцитов поверхностного слоя по отношению к эпителиоцитам базального слоя | 5,8 $\pm$ 0,5             | 3,33–8,49   | 1,6          | 27,48 |

Примечание. n — количество промеров; Lim — лимиты параметра;  $\sigma$  — среднее квадратическое отклонение; Cv — коэффициент вариации.

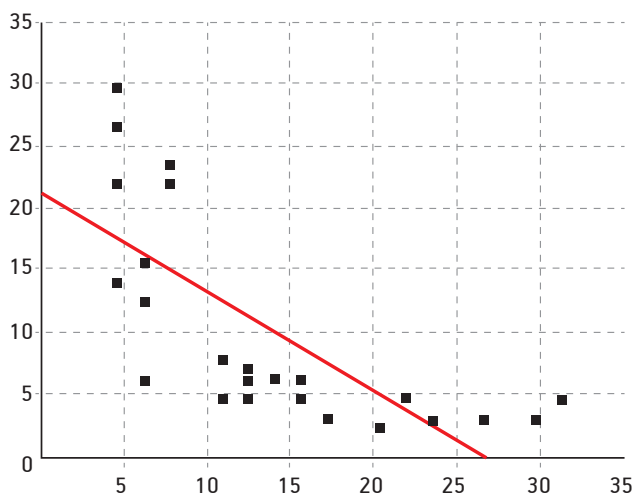


Рис. 2. Корреляционно-регрессионная зависимость между высотой и шириной эпителиоцитов переднего эпителия роговицы (ПЭР) глаза африканского страуса ( $n=30$ ).

По оси абсцисс — ширина эпителиоцитов (мкм); по оси ординат — высота эпителиоцитов (мкм)

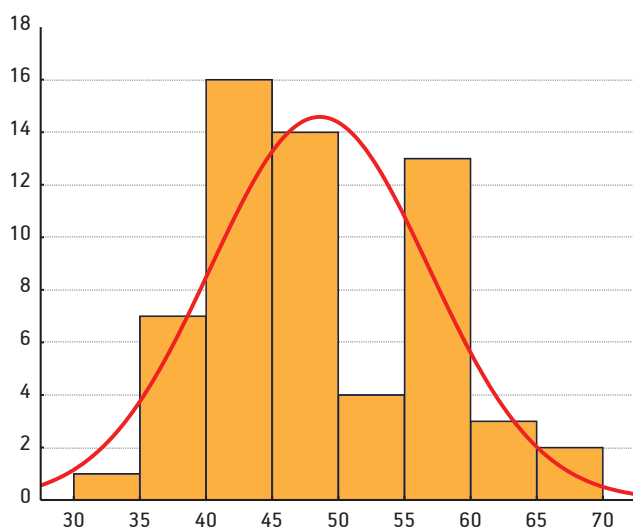


Рис. 3. Графическая вариация толщины переднего эпителия роговицы (ПЭР) африканского страуса ( $n=60$ ).

По оси абсцисс — толщина ПЭР (мкм); по оси ординат — количество измерений

от высоты и ширины в исследуемых слоях ПЭР, демонстрирует различные значения в зависимости от геометрии клеток. При этом справедливы следующие утверждения: 1) чем клетка выше и уже, тем индекс конфигурации больше; 2) чем клетка ниже и шире, тем индекс конфигурации меньше. В этой связи следует обратить внимание на то, что среднее значение индекса конфигурации эпителиоцитов базального слоя в 7 раз превосходит

аналогичный показатель клеток промежуточного слоя и в 21 раз — эпителиоцитов поверхностного слоя. Судя по этому индексу, клетки базального слоя характеризуются столбчатой конфигурацией, промежуточного — овальной, а поверхностного — плоской. Индекс уплощения эпителиоцитов поверхностного слоя ПЭР по отношению к высоте клеток базального слоя в среднем составляет  $5,8 \pm 0,5$ , что обуславливает высокую степень полиморфизма клеток за счет активных гистологических процессов, связанных с дифференцировкой.

За счет перпендикулярного (ортогонального) расположения столбчатые клетки базального слоя и покрывающие их сверху плоские клетки поверхностного слоя формируют Т-образную топологическую структуру ПЭР (см. рис. 1), что объясняется полиморфной системой клеток, свойственных базальному и поверхностному слоям ПЭР. Т-образная топология формируется за счет того, что по мере продвижения к поверхности ПЭР клетки трансформируются таким образом, что высота эпителиоцитов постепенно уменьшается, а ширина основания соответственно увеличивается (рис. 2), о чем свидетельствует статистически значимая высокая отрицательная корреляционная зависимость ( $r \pm m_r = -0,72 \pm 0,13$ ).

Толщина ПЭР у страуса варьирует в пределах 34,38–65,63 мкм, в среднем составляя  $48,5 \pm 1,1$  мкм, при размахе изменчивости, равном 31,25 мкм. Среднее квадратическое отклонение толщины ПЭР равно 8,21 мкм. Коэффициент вариации составил 16,93%, что отражает среднюю изменчивость признака. Вместе с тем, полученный результат является статистически значимым. Визуальный характер вариации толщины представлен на гистограмме, совмещенной с графиком нормального распределения, где точка перегиба указывает на среднее значение толщины ПЭР (рис. 3).

**Обсуждение полученных данных.** ПЭР является однотипной гистологической структурой, включающей 3 слоя эпителиоцитов, которые свойственны всем представителям наземных позвоночных, включая человека, что, вероятно, связано с едиными механизмами морфологических адаптаций к условиям внешней среды. В данном контексте ПЭР является естественным барьером, препятствующим попаданию в глубокие слои роговицы патогенной микрофлоры, а также негативному воздействию атмосферных излучений. Так, показано, что толщина ПЭР в летний период несколько увеличивается, что связано

с усилением защитных свойств ПЭР от солнечной радиации, активизирующейся в теплое время года. Этим фактором можно объяснить и некоторое превышение толщины ПЭР в центральной части, испытывающей более сильное воздействие атмосферных излучений по сравнению с периферийной областью глаза [12].

В этой связи, полагаясь на качественную однородность ПЭР, следует остановиться на морфометрических различиях. Учитывая, что в процессе эволюции страус вторично утратил способность к полету и успешно освоил наземную среду обитания, целесообразно сравнить морфометрические показатели ПЭР страуса с наиболее высокоорганизованными представителями Vertebrata — млекопитающими, у которых ПЭР довольно хорошо изучен. Так, у новозеландского белого кролика толщина ПЭР в области лимба равна  $37,6 \pm 1,4$  мкм, а в центральной части —  $45,8 \pm 2,2$  мкм [12]. Толщина ПЭР домашней кошки, включающего от 6 до 8 рядов клеток, составляет в центре роговицы  $37,7 \pm 0,8$  мкм, а ближе к периферии (в 3 мм от центра) —  $37,9 \pm 1,5$  мкм [6]. Если у домашних собак толщина ПЭР в норме варьирует в пределах 57–65 мкм, то у других хищников она изменяется от 25 до 40 мкм [13]. У мышей ПЭР увеличивается в толщину от 12,7 мкм у новорожденных до 49,3 мкм на 30-е сутки постнатального онтогенеза [14]. У человека толщина ПЭР в центральной части составляет  $57,8 \pm 1,7$  мкм [3]. Установлено значимое снижение толщины ПЭР в центральной зоне у детей при длительном ношении ортокератологических линз ( $57,65 \pm 0,49$  мкм до ношения и  $48,00 \pm 0,63$  мкм после 1,5-летнего ношения) [3].

Таким образом, толщина ПЭР страуса находится примерно в одних морфометрических границах с толщиной ПЭР у представителей других позвоночных. Вот почему страуса, имеющего те или иные патологии ПЭР, рассматривают в качестве одного из важнейших экспериментальных животных для оценки терапевтических эффектов в офтальмологической практике [10].

При анализе 40 видов млекопитающих установлены корреляции между толщиной ПЭР, количеством клеточных слоев, а также количеством эпителиальных клеток в разных группах [11]. Показано, что морфометрические характеристики ПЭР приматов имеют большее сходство с таковыми плотоядных, чем травоядных животных. В данном контексте апробированные нами индексы конфигурации и уплощения эпителиоцитов поверхностного слоя ПЭР страуса необхо-

димо рассматривать лишь как дополнительный показатель в комплексном морфометрическом инструментарии гистолога. При этом их ценность, по нашему мнению, заключается в возможности сопоставления клеток в разных слоях ПЭР, что позволит выявить степень линейной трансформации эпителиоцитов, обусловленной дифференцировкой, а также послужит основой для дальнейшего сравнительного анализа эпителиальных клеток на примере других позвоночных.

Представленный гистологический анализ ПЭР глазного яблока страуса позволил расширить представления об его структуре, отличающейся высоким уровнем пластичности при адаптации к условиям внешней среды.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ для ведущих научных школ (проект НШ-5928.2012.4).*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Киладзе А. Б. и Чернова О. Ф. Африканский страус (резервный потенциал в использовании продуктов страусоводства). М., Т-во науч. изданий КМК, 2011.
2. Микроскопическая техника: Руководство. Под ред. Д. С. Саркисова и Ю. Л. Перова. М., Медицина, 1996.
3. Нагорский П. Г., Белкина В. В., Глок М. А. и Черных В. В. Состояние эпителия и стромы роговицы у детей с миопией, использующих ортокератологические линзы (по данным оптической когерентной томографии). Современная оптометрия, 2012, № 2, с. 18–27.
4. Фадеева Е. О. Экология грача (*Corvus frugilegus* L.) в антропогенных ландшафтах Окско-Донского междуречья. М., Т-во науч. изданий КМК, 2007.
5. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. М., ООО Бином-Пресс, 2008.
6. Choo J. D., Caroline P. J., Harlin D. D. et al. Morphologic changes in cat epithelium following continuous wear of orthokeratology lenses: a pilot study. Contact Lens and Anterior Eye, 2008, v. 31, p. 29–37.
7. Collin H. B. and Collin S. P. The corneal surface of aquatic vertebrates: microstructures with optical and nutritional function? Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences, 2000, v. 355 (1401), p. 1171–1176.
8. Collin S. P. and Collin H. B. The corneal epithelial surface in the eyes of vertebrates: environmental and evolutionary influences on structure and function. J. Morphol., 2006, v. 267, № 3, p. 273–291.
9. Fabiani C., Barabino S., Rashid S. and Dana M. R. Corneal epithelial proliferation and thickness in a mouse model of dry eye. Eye Res., 2009, v. 89, № 2, p. 166–171.
10. Katsuyama I. Experimental animals for evaluation of therapeutic effects on corneal epithelial damages. European Patent № EP1380205 A1. Paris: Jouve, 2004.
11. Merindano M. D., Canals M., Potau J. M. et al. Morphometrical features of the corneal epithelium in mammals. Anat. Histol. Embryol., 1998, v. 27, № 2, p. 105–110.

12. Reiser B. J., Ignacio T. S., Wang Y. et al. *In vitro* measurement of rabbit corneal epithelial thickness using ultrahigh resolution optical coherence tomography. *Vet. Ophthalmol.*, 2005, v. 8, № 2, p. 85–88.
13. Zarfoss M., Bentley E., Milovancev M. et al. Histopathologic Evidence of Capecitabine Corneal Toxicity in Dogs. *Vet. Pathol.*, 2007, v. 44, p. 700–702.
14. Zieske J. D. Corneal development associated with eyelid opening. *Int. J. Dev. Biol.*, 2004, v. 48, p. 903–911.

Поступила в редакцию 07.07.2011

Получена после доработки 10.12.2012

# **STRUCTURAL ORGANIZATION OF ANTERIOR CORNEAL EPITHELIUM OF THE AFRICAN OSTRICH EYE**

A. B. Kiladze

This investigation was aimed at the histological study of anterior corneal epithelium (ACE) of adult male ostrich *Struthio*

*camelus* Linnaeus, 1758 (Struthioniformes). The total thickness of ACE was equal to  $48.5 \pm 1.1 \mu\text{m}$ . The geometry of epithelial cells was investigated. The basal cells had columnar shape; their average height was equal to  $21.4 \pm 1.8 \mu\text{m}$ , average width — to  $5.94 \pm 0.45 \mu\text{m}$ , configuration index was  $3.84 \pm 0.50$ . The intermediate cells were predominantly ellipsoidal in shape; their average height was equal to  $6.2 \pm 0.3 \mu\text{m}$ , average width — to  $12.0 \pm 0.8 \mu\text{m}$ , configuration index was  $0.54 \pm 0.06$ . The superficial cells were squamous, their average height was equal to  $3.8 \pm 0.3 \mu\text{m}$ , average width — to  $22.4 \pm 1.7 \mu\text{m}$ , configuration index was  $0.18 \pm 0.02$ . Index of flattening of epithelial cells of the superficial layer was  $5.8 \pm 0.5$ . Negative correlation ( $r_{\pm m} = -0.72 \pm 0.13$ ) was detected between the height and the width of the epithelial cells.

**Key words:** eyeball, anterior corneal epithelium, morphometry, ostrich

Laboratory of Morphological Adaptations of the Mammals, RAS A. N. Severtzov Institute of the Problems of Ecology and Evolution, Moscow