

О.М. Слободян¹, Х.І. Рудницька²,
В.Ф. Сімонов³, А.П. Гриценко³,
К.І. Войценко⁴

¹ Буковинський Державний медичний університет, Чернівці

² Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів

³ «Grace Clinic», Київ

⁴ Комунальне підприємство «Центральна міська лікарня Червоноградської міської ради», Червоноград, Україна

Надійшла: 26.04.2024

Прийнята: 05.06.2024

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.97-101>

УДК: 611.841.018.1.019

МІКРОСТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ШАРІВ РОГІВКИ ЩУРА В НОРМІ

Slobodyan O.M. , Rudnytska Kh.I. , Simonov V.F. , Hrytsenko A.P. , Voytsenko K.I.  Microstructural organization of the layers of the rat cornea in norm.

Bukovynian State Medical University, Chernivtsi; Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv; «Grace Clinic», Kyiv; Municipal enterprise "Central city hospital of Chervonograd city council", Chervonograd, Ukraine.

ABSTRACT. Actuality. From the above, today there is enough information in the domestic and foreign specialized literature about the structure of the retina at the micro level, but we decided to supplement and expand this issue thanks to our own research on the morphological organization of the layers of the cornea of rats. Therefore, I believe that this study is relevant both from the point of view of experimental morphology and from a practical point of view. **The aim** of our research was a detailed study of the layered structure of the rat cornea in norm. **Methods.** The study was conducted on 15 sexually mature, purebred white male rats, weighing 120-130 g. 1 group of animals was used in our research: (15 animals) - intact. Before taking the material of the experimental site, the animal was removed from the experiment with the help of diethyl ether. The eyeballs of rats were used for microscopic examination (intersecting at the limbus area). Preparations for histological examination were prepared according to generally accepted methods. **Results.** According to our research, at the microstructural level of the cornea of intact laboratory rats, a stratified squamous nonkeratinized epithelium (anterior epithelium), corneal stroma and endothelium (posterior corneal epithelium) are clearly visualized. The stratified squamous nonkeratinized epithelium of the cornea in most areas forms 3-5 cell rows that form three main cell layers: basal, middle and superficial. The corneal stroma is thick, massive, formed by numerous clearly arranged connective tissue plates, with well-organized collagen matrix fibers. Descemet's membrane (posterior border plate) is located deeper, which covers the back surface of the cornea's stroma. Descemet's membrane, which contains collagen fibers and an amorphous substance, is the basal membrane of the posterior epithelium (endothelium) of the cornea. The posterior epithelium of the cornea (the endothelium of the anterior chamber of the eye) is preserved, represented by a single layer of flat cells that tightly adhere to Descemet's membrane and separate the posterior surface of the cornea from the vitreous fluid of the anterior chamber of the eye. In the future, these results will make it possible to create a micro-morphological basis of the norm in order to use it when comparing the changes that occur in the layers of the cornea during experimental modeling of the studied nosologies of various genesis. In the future, this will provide an opportunity to establish the most optimal period for correction and, as a result, stabilization of pathological effects.

Key words: cornea, membranes of the eye, norm, experiment, pathology, rat.

Citation:

Slobodyan OM, Rudnytska KhI, Simonov VF, Hrytsenko AP, Voytsenko KI. [Microstructural organization of the layers of the rat cornea in norm]. Morphologia. 2024;18(2):97-101. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2024.2.97-101>

 Slobodyan O.M. 0000-0003-4833-0730;  Rudnytska Kh.I. 0000-0002-9474-7863;

 Simonov V.F. 0009-0000-8103-4883;  Hrytsenko A.P. 0009-0008-6369-9433;

 Voytsenko K.I. 0009-0003-5104-9509

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Вивчення структурної організації тканин окремих органів підслідних лабораторних тварин є необхідним на сьогоднішньому етапі з у зв'язку з їх чисельним використанням в експериментальній медицині з метою моделювання патологічних процесів та вивчення патоморфологічних проявів в динаміці [1-5]. Враховуючи виключну роль рогівки і складність її організації надзвичайно важливо розуміти особливості її будови з метою створення морфологічного субстрату норми, з яким в подальшому буде проводитись порівняльна характеристика отриманого матеріалу на різних термінах перебігу змодельованого патологічного процесу. Це висвітлено у ряді фахових вітчизняних та зарубіжних наукових публікацій і стосується вивчення динаміки патоморфологічних змін у ряді структур [6-11].

З вище зазначеного на сьогоднішньому етапі вітчизняній та зарубіжній фаховій літературі є достатньо інформації щодо будови сітківки на мікрорівні, але ми вирішили доповнити і розширити це питання завдяки власним дослідженням, що стосуються морфологічної організації шарів рогівки щурів. Тому, вважаю, що дане дослідження є актуальним як з точки зору експериментальної морфології, так і з практичної точки зору.

Мета дослідження: з'ясувати особливості мікроструктурної організації шарів рогівки щура в нормі.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 15 статевозрілих, безпородних білих щурах-самцях, масою 120-130 г. У роботі використовували 1 групу тварин: (15 тварин) – інтактні. Усі тварини знаходились в умовах віварію і процедури, що стосувалися питань утримання, догляду, маркування та всі інші маніпуляції проводилися із дотриманням положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985), "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Закону України № 3447 – IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», правил поводження з експериментальними тваринами згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [12-14]. Комісією з біоетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького встановлено, що проведені наукові дослідження відповідають етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01.11.2000 року. Перед забором матеріалу дослідної ділянки тварину виводили з експерименту за допомогою дієтилового ефіру. Для мікроскопічного дослідження використовували очні яблука щурів (пересікалися по ділянці лімба). Препарати

для гістологічного дослідження готували за загальноприйнятою методикою [15]. Мікроскопічні дослідження та фотографування препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа МБІ-1 і цифровим фотоапаратом Nikon D 3100.

Результати та їх обговорення

У результаті мікроструктурного дослідження рогівки інтактних лабораторних щурів чітко візуалізується багатошаровий плоский незроговілий епітелій (передній епітелій), власна речовина (строма рогівки) та ендотелій (задній епітелій рогівки). Багатошаровий плоский незроговілий передній епітелій рогівки у контрольних щурів збережений, на більшості ділянок утворює 3-5 клітинних рядів, які формують три основні клітинні шари: базальний, середній та поверхневий (рис. 1).

Клітини базального (гермінативного) шару низької призматичної форми, основою прилягають до базальної мембрани, чітко впорядковані, щільно прилягають одні до одних, розташовані густим стовпчастим частоколом, їх ядра переважно округлої форми, об'ємні, світло-базофільні, містять дрібні зернисті включення інтенсивно-конденсованого хроматину. В ділянці лімба візуалізуються мало диференційовані стовбурові клітини переднього епітелію рогівки. Над шаром базальних клітин розташовується декілька рядів полігональних криловидних епітеліальних клітин середнього шару. Переважна більшість клітин середнього шару переднього епітелію рогівки орієнтовано довгою віссю більш паралельно по відношенню до поверхні рогівки, у порівнянні з клітинами базального шару, які розташовуються перпендикулярно. Епітеліоцити середнього шару локалізуються дещо розріджено, їх ядра об'ємні, овальні, забарвлюються гематоксиліном у блідо фіолетовий колір. Клітини поверхневого шару переднього епітелію рогівки дископодібної або плоскої форми, з просвітленою цитоплазмою, формують декілька рядів. Ядра епітеліоцитів поверхневого шару ущільнені, виразно базофільні, більшість з них паличкоподібної форми, орієнтовані довгою віссю переважно паралельно до поверхні рогівки. Власна речовина (строма рогівки) товста, масивна, утворена чисельними чітко впорядкованими сполучнотканинними пластинками, з добре організованими волокнами колагенового матриксу (рис. 2).

Колагенові волокна сполучнотканинних пластинок власної речовини рогівки розташовуються впорядковано, з'єднуються в пучки або розміщуються ізольовано. Сусідні пучки колагенових волокон місцями переплітаються між собою.

Між сполучнотканинними пластинками строми візуалізуються видовженої форми кератоцити (рис. 2). Кератоцити зустрічаються в різних ділянках строми рогівки, проте їх щільність в передній частині строми є вищою ніж у задніх відділах власної речовини рогівки.



Рис. 1. Мікроструктурна організація рогівки інтактного лабораторного щура. 1 – багатoshаровий плоский незроговілий епітелій; 2 – фрагмент мембрани Боумена; 3 – власна речовини рогівки; 4 – ядра кератоцитів 5 – мембрана Десцемета; 6 – ендотелій (задній епітелій рогівки). Гематоксилін та еозин. ×400.

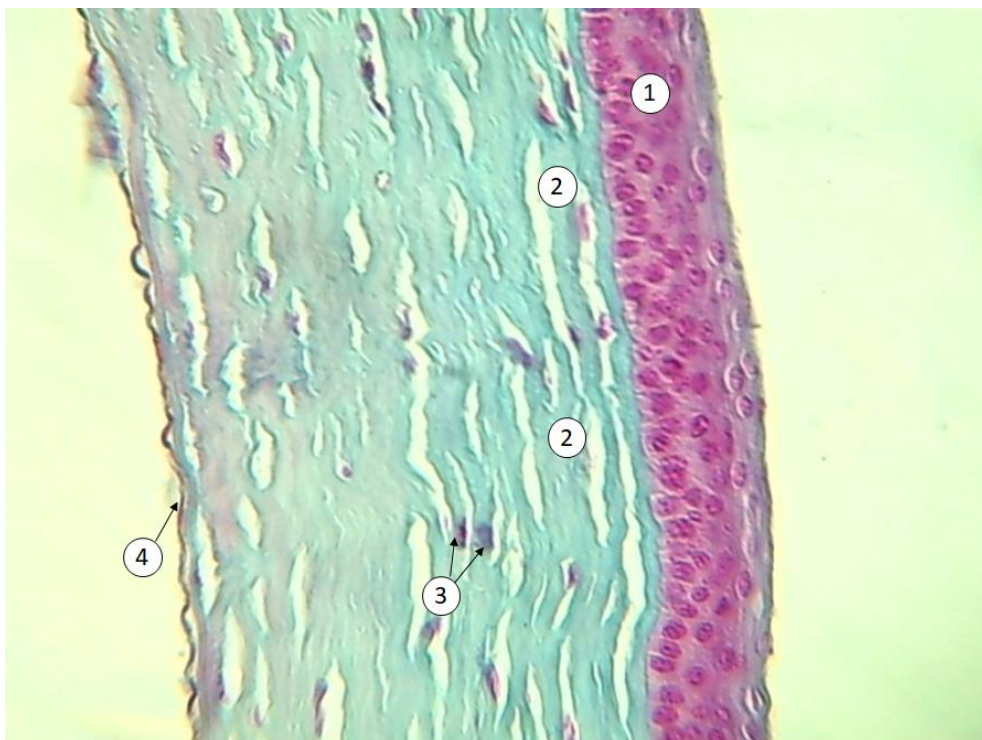


Рис. 2. Гістологічна структура рогівки лабораторного щура в нормі. 1 – багатoshаровий плоский незроговілий епітелій; 2 – сполучнотканинні пластинки власної речовини рогівки; 3 – ядра кератоцитів; 4 – задній епітелій (ендотелій передньої камери ока). Азан за Гейденгайном. ×400.

Переважає більшість кератоцитів з цитоплазмою, що формує чисельні відростки та видовженим помірно базофільним ядром середнього розміру. Також наявні кератоцити з дрібними, різко видовженими та ущільненими інтенсивно базофільними ядрами. Забарвлення цитоплазми кератоцитів переважно помірно базофільне. Рідше візуалізуються кератоцити з помірно еозинофільним забарвленням цитоплазми. Окрім кератоцитів в передній частині строми рогівки також розташовуються дендритні клітини, які також зустрічаються в передньому епітелії рогівки. В задній частині строми також локалізуються макрофаги.

Глибше розташовується Десцеметова мембрана (задня погранична пластинка), яка вкриває задню поверхню власної речовини рогівки. Десцеметова мембрана, яка містить колагенові волокна та аморфну речовину є базальною мембраною заднього епітелію (ендотелію) рогівки.

Задній епітелій рогівки (ендотелій передньої камери ока) збережений, представлений одним шаром плоских клітин, які щільно прилягають до десцеметової мембрани та відмежовують задню поверхню рогівки від скловидної рідини передньої камери ока. На поперечних розрізах рогівки ендотеліоцити мають вигляд виразно ущільнених клітин плоскої форми. Відстань між ядрами сусідніх ендотеліальних клітин значна.

Підсумок

У результаті проведеного мікроструктурного дослідження встановлено кількісну поширену морфологічну ідентичність у структурній організації між шарами рогівки щура, що відповідає поширеній стратифікації шарів рогівки людини в нормі.

Перспективи подальших досліджень

Глибоке вивчення структурної організації

шарів рогівки інтактних тварин (щури), що використовуються в якості об'єктів з метою створення експериментальних патологій дасть можливість створити морфологічне підґрунтя норми. В подальшому при вивченні патоморфологічних змін у шарах рогівки при моделюванні експериментальних нозологій дасть можливість встановити оптимальні з точки зору патоморфології терміни проведення медикаментозної корекції змін у шарах рогівки при прогресуючих явищах діабетичного кератиту.

Результати проведеного дослідження у майбутньому дозволять провести порівняльну морфологічну характеристику між шарами рогівки інтактної та експериментальної груп тварин та нададуть можливість спираючись на вихідні параметри обґрунтувати терміни початку та схему медикаментозної корекції змін у шарах рогівки при експериментальному стрептозотоніндукованому цукровому діабеті на підставі співставлення патоморфологічних проявів у субхронічний та хронічний періоди експериментального стрептозотоніндукованого цукрового діабету. Це надасть нам можливість встановити найбільш оптимальний період проведення корекції з метою стабілізації проявів діабетичного кератиту.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Морфофункціональні особливості органів у пре- та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операцій та ожирінні» (номер державної реєстрації 0120U002129).

Літературні джерела References

1. Sridhar MS. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol*. 2018;66(2):190-194. doi: 10.4103/ijo.IJO_646_17. PMID: 29380756; PMCID: PMC5819093.
2. Courson JA, Rumbaut RE, Burns AR. Impact of Obesity and Age on Mouse Corneal Innervation at the Epithelial-Stromal Interface. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2024;65(5):11. doi: 10.1167/iops.65.5.11.
3. Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;134:7-23. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.04.001. Epub 2015 Jun 4. PMID: 26310146.
4. Herasymyuk IYe, Shkilniuk IM. [Peculiarities of the structure of the organ of vision and its blood supply in normal rabbits]. *Bulletin of morphology*. 2010;16(3):516–520.
5. Kovalenko VM, Stefanov OV, Maksymov

- YuM, Trahtenberh IM. Eksperymentalne vyvchennia toksychnoi diyi potentsiynyh likarskyh zasobiv. [Experimental study of the toxic effect of potential medicinal products]. Kyiv : Avicena, 2001. 588 p.
6. Harkovenko RV, Pushkar MS, Yashchenko AM. [Lectin histochemistry of the retina and optic nerve of rats in normal conditions and with hyperhomocysteinemia]. *The world of biology and medicine*. 2009;3(1):173–179.
7. Jiang MS, Yuan Y, Gu ZX, Zhuang SL. Corneal confocal microscopy for assessment of diabetic peripheral neuropathy: A meta-analysis. *Br. J. Ophthalmol*. 2015;100:9–14.
8. Tavakoli M, Mitu-Pretorian M, Petropoulos IN, Fadavi H, Asghar O, Alam U, Ponirakis G, Jeziorska M, Marshall A, Efron N. Corneal Confocal Microscopy Detects Early Nerve Regeneration in Diabetic Neuropathy After Simultaneous Pancreas and

Kidney Transplantation. Diabetes. 2012;62:254–260.

9. Tavakoli M, Kallinikos P, Iqbal A, Herbert A, Fadavi H, Efron N, Boulton AJM, Verjee MA. Corneal confocal microscopy detects improvement in corneal nerve morphology with an improvement in risk factors for diabetic neuropathy. Diabet. Med. 2011;28:1261–1267.

10. Markoulli M, Flanagan J, Tummanapalli SS, Wu J, Willcox M. The impact of diabetes on corneal nerve morphology and ocular surface integrity. Ocul. Surf. 2018;16:45–57.

11. Bommer C, Sagalova V, Heesemann E, Manne-Goechler J, Atun R, Bärnighausen T, Davies J, Vollmer S. Global Economic Burden of Diabetes in Adults: Projections From 2015 to 2030. Diabetes Care. 2018;41:963–970.

12. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on

the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union. 2010;53(L276):33-79.

13. Louhimies S. Directive 86/609/EEC on the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Alternatives to Laboratory Animals. 2002;30(2):217-219.

14. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg: Council of Europe. 1986;123:52.

15. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI. [Basics of histological technique and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions. Tutorial]. Zhytomyr : Polissya. 2015: 286 p.

Слободян О.М., Рудницька Х.І., Сімонов В.Ф., Гриценко А.П., Войценко К.І. Мікроструктурна організація шарів рогівки щура в нормі.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Вивчення структурної організації тканин окремих органів піддослідних лабораторних тварин є необхідним на сьогоднішні питання у зв'язку з їх чисельним використанням в експериментальній медицині з метою моделювання патологічних процесів та вивчення патоморфологічних проявів в динаміці. Враховуючи виключну роль рогівки і складність її організації надзвичайно важливо розуміти особливості її будови з метою створення морфологічного субстрату норми, з яким в подальшому буде проводитись порівняльна характеристика отриманого матеріалу на різних термінах перебігу змодельованого патологічного процесу. Це висвітлено у ряді фахових вітчизняних та зарубіжних наукових публікацій і стосується вивчення динаміки патоморфологічних змін у ряді структур. З вище зазначеного на сьогодні у вітчизняній та зарубіжній фаховій літературі є достатньо інформації щодо будови сітківки на мікрорівні, але ми вирішили доповнити і розширити це питання завдяки власним дослідженням, що стосуються морфологічної організації шарів рогівки щурів. Тому, вважаю, що дане дослідження є актуальним як з точки зору експериментальної морфології, так і з практичної точки зору. **Метою** нашого дослідження стало детальне вивчення поширокої будови рогівки щура в нормі. **Методи.** Дослідження проводили на 15 статевозрілих, безпородних білих щурах-самцях, масою 120-130 г. У роботі використовували 1 групу тварин: (15 тварин) – інтактні. Для мікроскопічного дослідження використовували очні яблука щурів (пересікалися по ділянці лімба). Препарати для гістологічного дослідження готували за загальноприйнятою методикою. Мікроскопічні дослідження та фотографування препаратів здійснювали за допомогою мікроскопа МБІ – 1 і цифровим фотоапаратом Nikon D 3100. **Результати.** Як показали наші дослідження, на мікроструктурному рівні рогівки інтактних лабораторних щурів чітко візуалізується багат шаровий плоский не зроговілий епітелій (передній епітелій), власна речовина (строма рогівки) та ендотелій (задній епітелій рогівки). Багат шаровий плоский незроговілий передній епітелій рогівки на більшості ділянок утворює 3-5 клітинних рядів, які формують три основні клітинні шари: базальний, середній та поверхневий. Власна речовина (строма рогівки) товста, масивна, утворена чисельними чітко впорядкованими сполучнотканинними пластинками, з добре організованими волокнами колагенового матриксу. Глибше розташовується Десцеметова мембрана (задня погранична пластинка), яка вкриває задню поверхню власної речовини рогівки. Десцеметова мембрана, яка містить колагенові волокна та аморфну речовину є базальною мембраною заднього епітелію (ендотелію) рогівки. Задній епітелій рогівки (ендотелій передньої камери ока) збережений, представлений одним шаром плоских клітин, які щільно прилягають до десцеметової мембрани та відмежовують задню поверхню рогівки від скловидної рідини передньої камери ока. Дані результати у майбутньому дозволять створити мікро морфологічне підґрунття норми з метою використання його при проведенні порівняння виникаючих змін в шарах рогівки при експериментальному моделюванні вивчаємих нозологій різного генезу. У майбутньому це надасть можливість встановити найбільш оптимальний період з метою проведення корекції і як наслідок стабілізації проявів патологічного впливу.

Ключові слова: рогівка, оболонки ока, норма, експеримент, патологія, щур.