

Обзорная статья



УДК 611.841.2

doi:10.18499/2225-7357-2022-11-2-78-86

1.5.22 – клеточная биология

3.3.1 – анатомия человека

Роговица: анатомо-функциональные особенности, новые методы прижизненной диагностики патологических состояний

Н. В. Фисенко✉

Научно-исследовательский институт глазных болезней, Москва, Россия

Аннотация. Роговица – сложноорганизованная, прозрачная часть фиброзной оболочки глазного яблока. Она обеспечивает защиту интраокулярных структур от различных повреждений и служит основным элементом оптической системы глаза. В ней выделяют эпителий, Боуменову мембрану, строму, Десцеметову мембрану и эндотелий. Роговица является аваскулярной тканью. Питательные вещества поступают в ее слои из слезной жидкости, внутриглазной жидкости (ВГЖ) и перилимбальной сплетения. Аfferentная иннервация роговицы обеспечивается длинными ресничными нервами, формирующими субэпителиальное и суббазальное сплетения. Многорядный неороговевающий эпителиальный слой роговицы представлен различными типами клеток, которые связаны друг с другом посредством непрерывного адгерентного пояса, а с подлежащей, синтезируемой ими базальной мембраной – полудесмосомами. Боуменова мембрана сформирована плотной сетью коллагеновых волокон I и V типа и якорными фибриллами коллагена IV и VII типа. Строма состоит из пластин, образованных коллагеном различных типов, а также из протеогликанов, эластина, гликопротеинов и клеток (преимущественно, кератоцитов). Десцеметова мембрана – базальная мембрана, секретируемая эндотелиальными клетками (ЭК). Она представляет собой сеть, образованную молекулами коллагена VIII типа, полупроницаемую для биологически активных эндогенных веществ, циркулирующих в ВГЖ. Эндотелиальный слой состоит из компактно расположенных высококодифференцированными клеток гексагональной формы. В условиях *in vivo* клеточный цикл ЭК остановлен в G1-фазе. Наличие в эндотелиальном слое плотных и щелевидных межклеточных контактов, а также осмотические давление, создаваемое трансмембранным переносом веществ, поддерживает динамическое равновесие между поступлением ВГЖ в строму роговицы и ее оттоком в переднюю камеру глаза, препятствуя отеку роговицы. Современные методы исследования прижизненного состояния роговой оболочки глаза включают в себя зеркальную микроскопию эндотелия, оптическую когерентную томографию и сканирующую конфокальную микроскопию. Эти исследования позволяют установить локализацию и этиологию патологического процесса, оценить особенности слоев роговицы (в т.ч. при кераторефракционных хирургических вмешательствах и в послеоперационном периоде).

Ключевые слова: BRAF, RAS, NTRK, RET, рак щитовидной железы

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Фисенко Н.В. Роговица: анатомо-функциональные особенности, новые методы прижизненной диагностики патологических состояний // Журнал анатомии и гистопатологии. 2022. Т. 11, №2. С. 78–86. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-2-78-86>

REVIEW ARTICLES

Review article

Cornea: anatomical and functional features, new methods of *in vivo* diagnostics of abnormalities

N. V. Fisenko✉

Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia

Abstract. The cornea is a highly organized, transparent part of fibrous tunic of an eyeball. It acts as the primary infectious and structural barrier of the eye. The cornea is the major refractive element of an adult eye. It consists of epithelium, Bowman's membrane, stroma, Descemet's membrane and endothelium. Although the normal human cornea is avascular, it is supplied via perilimbal blood vessels, the aqueous humor (AqH) and tear film. Afferent innervation to the cornea is provided by long ciliary nerves, which form subepithelial and subbasal nerve plexus. Epithelium is a stratified, non-keratinizing squamous layer that consists of various cell types. Epithelial cells are connected to each other by zonula adherens, and to the basement membrane via hemidesmosomes. Bowman's membrane is composed of randomly-oriented type I and V collagen fibrils and anchoring type IV and VII collagen fibrils. The stroma consists of cells (principally keratocytes) and distinct lamella formed by collagen fibers, proteoglycans, elastin and glycoproteins. Descemet's membrane is a basal membrane, secreted by endothelial cells. It is a network organized by type VIII collagen molecules, which modulate the passage of growth factors, cytokines and nutrients from the AqH into the corneal stroma and backward. Corneal endothelium is a monolayer of hexagonal cells tightly adherent to one another. *In vivo* endothelial cells are arrested in G1-phase of

cell cycle. The endothelium forms a physiological barrier between the nutrient-rich AqH and the corneal stroma. Tight and gap cell junctions and dynamic pump–leak system maintains corneal deturgescence and permit sufficient nutrient delivery into the stroma and epithelium. Disruption of the endothelial cells results in corneal edema. Modern non-contact real-time imaging of the cornea include specular microscopy, optical coherence tomography and in vivo confocal laser scanning microscopy. These methods can help to visualize corneal layers (during keratorefractive surgery, pre- and postoperative periods), detect localization and etiology of pathological changes.

Key words: cornea, epithelium, stroma, Descemet's membrane, endothelium, ion channels, in vivo visualization

Conflict of interests: the author declares no conflict of interests.

For citation: Fisenko N.V. Cornea: anatomical and functional features, new methods of in vivo diagnostics of abnormalities. *Journal of Anatomy and Histopathology.* 2022. V. 11, №2. P. 78–86. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-2-78-86>

Известно, что роговица представляет собой сложноорганизованную, многослойную, прозрачную структуру, которая, наряду с конъюнктивой и склерой, формирует наружную (фиброзную) оболочку глаза. Она обеспечивает защиту интраокулярных структур от механических и химических повреждений, а также от проникновения инфекционных возбудителей [42]. Роговица является основным элементом оптической системы глаза: ее преломляющая сила равна около 43 диоптрий, что составляет примерно 3/4 всей физической рефракции. Данная особенность связана с высокой степенью прозрачности и асферичной формой роговой оболочки. Так, ее горизонтальный диаметр составляет 11,5–12,0 мм, вертикальный – на 1 мм меньше. Средний радиус кривизны передней поверхности роговицы равен 7,7 мм, а радиус кривизны задней поверхности – 6,8 мм. В центральной зоне ее толщина составляет 0,5–0,6 мм, а на периферии – до 1,0 мм [12].

Роговица представлена эпителием, передней пограничной (Боуменовской) мембраной, стромой, задней пограничной (Десцеметовой) мембраной и эндотелием. Н.С. Дуа и соавт. в 2013 году выявили новый преддесцеметовый слой, расположенный в зоне задней стромы [13]. Однако проведенные исследования роговицы (изучение ее прижизненного состояния, морфологический и иммуногистохимический анализ), не позволяют сделать однозначный вывод о существовании преддесцеметового слоя [32, 39, 41].

Эпителиальный слой

Многорядный неороговевающий эпителий толщиной около 50 мкм формирует наружный слой роговицы. Поверхностно расположены два-три ряда плоских полигональных эпителиальных клеток. Плотные межклеточные контакты препятствуют попаданию слезной жидкости, инфекционных агентов и токсических веществ в межклеточное пространство [42]. Кроме того, плоские эпителиальные клетки отличает наличие микроскладок и микроворсинок, покрытых гликокаликсом. Эти структуры, погружаясь в муциновый слой прекорнеальной слезной пленки, обеспечи-

вают ее целостность и стабильную адгезию к передней поверхности роговицы. Глубже расположены два-три ряда крыловидных клеток, также соединенных друг с другом плотными контактами. Эпителиоциты этих двух типов не способны к митотическому делению, их жизненный цикл составляет 7–10 дней и завершается апоптозом с последующей десквамацией. Базальный слой эпителия образован клетками столбчатой формы, которые делятся митозом и могут дифференцироваться в плоские и крыловидные. Эти клетки соединены друг с другом посредством непрерывного адгерентного пояса (опоясывающей десмосомы), а с подлежащей, синтезируемой ими базальной мембраной – полудесмосомами [43].

По данным трансмиссивной электронной микроскопии в базальной мембране эпителия выделяют переднюю светлую пластинку (*lamina lucida*) и заднюю плотную пластинку (*lamina densa*). *Lamina lucida* образована, в основном, ламинином, а *lamina densa* – коллагеном IV и VII типов, ламинином, гепарансульфатпротеогликанами и энтактином. Иммуногистохимические исследования базальной мембраны свидетельствуют о различном распределении ее компонентов в центральной зоне и на периферии, в области лимба [44, 45].

Ламинины – крупномолекулярные белки, состоящие из трех полипептидных цепей (α -, β - и γ -), структура которых специфична для разных изоформ. Основной функцией ламинина является стабилизация структуры базальной мембраны, благодаря связыванию с коллагеном IV типа, энтактином и другими молекулами экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) [27].

Перлекан является основным гепарансульфатпротеогликаном в составе базальной мембраны эпителия. Он состоит из большого белкового ядра и ковалентно связанных с ним трех цепей гепарансульфата, что позволяет ему взаимодействовать с различными компонентами ЭЦМ и структурами на поверхности клеток [44]. В экспериментальных исследованиях, выполненных *in vivo*, было показано, что повреждение стромы роговицы и повышение внутриглазного давления, стимулирую-

ют синтез перлекана в тканях [48]. Вместе с тем, его отсутствие приводит к нарушению дифференцировки клеток эпителия роговицы и его истончению [22].

Энтактин (нидоген) – это малый гликопротеин, представленный двумя изоформами в составе базальной мембраны эпителия. Энтактин-1 и 2 образуют плотные, нековалентно связанные комплексы с молекулами ламинина-1 и менее прочные – с коллагеном IV типа, формируя таким образом сетчатую структуру базальной мембраны [20].

Коллаген является основным компонентом ЭЦМ роговицы. Молекулы коллагенов IV и VII типа, представляют собой спирали, сформированные из трех закрученных полипептидных α -цепей, стабилизированных водородными связями. На С-конце мономеров расположен глобулярный неколлагиновый домен – NC1, на N-конце – 7S домен [2]. Молекулы коллагена IV и VII типа в составе базальной мембраны эпителия играют ключевую роль в формировании якорного комплекса адгезии, который затрагивает эпителиальный слой, переднюю пограничную мембрану и строму [3].

Передняя пограничная (Боуменова) мембрана

Передняя пограничная мембрана расположена между базальной мембраной эпителия роговицы и стромой. Она была описана английским анатомом и офтальмологом баронетом W. Bowman и позже получила его имя. Толщина Боуменова слоя составляет в среднем 8–15 мкм, в течение жизни он постепенно истончается. Боуменова мембрана образована плотной сетью коллагеновых волокон I и V типа, а также якорными фибриллами коллагена IV и VII типа. Подобная структурная организация обеспечивает высокую прочность данного слоя. Однако при повреждении Боуменова слоя, как правило, образуется рубец, а соответственно, локальное помутнение роговицы [12, 50].

Строма

Строма (собственное вещество роговицы) состоит из компонентов ЭЦМ (коллагена, протеогликанов, эластина, гликопротеинов) и клеток (преимущественно кератоцитов). Ее толщина составляет около 500 мкм. К основным структурным элементам этого слоя относят коллагеновые фибриллы, которые сформированы в волокна, образующие пластины шириной 0,5–250 мкм и толщиной до 2,5 мкм. Строма роговицы в норме насчитывает 200–250 пластин; подобная структурная организация обеспечивает ее механическую прочность и прозрачность [34]. В задних отделах стромы расстояние между коллагеновыми фибриллами больше, чем в передних, что служит одной из причин повышения

уровня светорассеяния в этой зоне, а также, в случае отека стромы, накопления жидкости [33].

Клетки стромы

В процессе эмбриогенеза клетки нейрального гребня мигрируют в заполненное гиалуроновой кислотой и водянистой влагой пространство между эпителиальным и эндотелиальным слоями роговицы [24]. Постепенно они дифференцируются в активные кератоциты – основные клеточные элементы стромы, продуцирующие коллаген, протеогликаны, гликопротеиды и матриксные металлопротеиназы [10]. Плоская веретеновидная форма и наличие кератоподий позволяют клеткам сформировать разветвленную сеть между коллагеновыми пластинами стромы. Компактная форма кератоцитов, белки-кристаллины (производных альдегиддегидрогеназы) в их цитоплазме, а также неравномерное распределение в строме (более низкая плотность в задних отделах и центральной зоне по сравнению с передними отделами и периферией, соответственно) нивелируют коэффициент светорассеяния [51]. Помимо кератоцитов в строме роговицы обнаруживают антигенпрезентирующие дендритные клетки, участвующие в формировании иммунного ответа при повреждении [18], и стволовые клетки, расположенные в области лимба [15].

Экстрацеллюлярный матрикс стромы

Принято считать, что кератоциты стромы секретируют и синтезируют фибриллярные коллагены I, V и XI типов в виде проколлагенов, отличающихся наличием пропептидов на N- и C-концах. При полном отщеплении этих фрагментов эндопептидазами из проколлагена I типа образуется молекула, представляющая собой три полипептидные α -цепи, закрученные в спираль, с концевыми N- и C-телопептидами. Затем, благодаря взаимодействию нескольких молекул коллагена, реализуемому через N- и C-телопептиды, формируется фибрилла. По данным электронной микроскопии она представляет собой структуру, разделенную на периоды длиной 65 нм, каждый из которых включает в себя светлую и темную зоны [5]. Диаметр (25–35 нм) и число фибрилл, образующих волокна стромы роговицы, определяется количеством в их составе молекул коллагена V и, в ряде случаев, XI типов [15].

К фибрилл-ассоциированным коллагенам с прерывающейся тройной спиралевидной нитью в роговице относят коллагены XII и XIV типов. Они расположены на поверхности фибрилл и, вероятно, играют роль в структурной организации стромальных коллагеновых волокон и пластин [31]. Коллаген VI типа связывает различные молекулы ЭЦМ стромы, в том числе фибронектин, коллагены,

гепарансульфатпротеогликаны. Помимо этого, он оказывает влияние на миграцию, пролиферацию и апоптоз кератоцитов [15].

Известно, что в состав ЭЦМ стромы входят малые лейцин-богатые протеогликаны I (декорин и бигликан) и II (фибромодулин, люмикан, кератокан) классов [17]. Бигликан и декорин взаимодействуют с молекулами коллагена I, II и III типа в составе соединительной ткани. Результаты экспериментальных исследований показали, что у мышей отсутствие генов, кодирующих бигликан и декорин, приводит к увеличению диаметра части коллагеновых фибрилл, их неравномерному распределению в передних и задних слоях стромы роговицы. Снижение уровня декорина приводит к компенсаторному повышению синтеза бигликана [52]. Кроме того, декорин связывается с рецепторами трансформирующего фактора роста β , уменьшая его активность и препятствуя процессу фиброобразования стромы [54].

Люмикан определяется во всех отделах стромы роговицы к моменту завершения ее эмбриогенеза и только в задних – на протяжении всей жизни. Этот протеогликан взаимодействует с коллагеном I типа. Вероятно, его основной функцией является регулирование образования фибрилл необходимого диаметра и их дальнейшей организации в волокна и пластины. В исследованиях *in vivo* было определено, что у мышей дефицит люмикана в ЭЦМ приводит к снижению прозрачности стромы роговицы, а снижение уровня кератана – к ее истончению [30]. При первичном секвенировании молекул фибромодулина и люмикана была выявлена идентичность их структуры на 50%. В процессе эмбриогенеза фибромодулин определяется в задних отделах стромы и на ее периферии. Однако у взрослых организмов этот протеогликан экспрессируется в основном в склере, его низкий уровень отмечен в строме в зоне лимба [15].

Фибронектин – это крупномолекулярный многофункциональный гликопротеид, состоящий из двух цепей, соединенных дисульфидными связями вблизи С-конца [2]. В ЭЦМ стромы роговицы определяется матриксный (нерастворимый) фибронектин, который характеризуется специфическими высокоафинными участками для связывания интегринов, коллагена и протеогликанов. В ответ на повреждение роговицы кератоциты активно синтезируют этот гликопротеид, обеспечивающий восстановление матрикса в процессе заживления [15].

Задняя пограничная (Десцеметова) мембрана

Задняя пограничная (Десцеметова) мембрана – это базальная мембрана толщиной 10–12 мкм, секретируемая эндотелиальными клетками (ЭК). В 1758 году профессор

анатомии J. Descemet первым указал на наличие этого слоя в составе роговой оболочки глаза. Появление электронной микроскопии в середине XX века позволило ученым разных стран, независимо друг от друга, оценить структурные изменения Десцеметовой мембраны в течение жизни человека [23, 35]. С. Murphy и соавт. установили, что на 12-й неделе гестации она имеет типичное для базальной мембраны строение и включает в себя lamina lucida толщиной 37,3 нм и lamina densa – 36,7 нм. К окончанию второго триместра Десцеметова мембрана представлена 10 слоями, причем каждый новый слой добавляется со стороны эндотелия на протяжении всего пренатального периода. Помимо этого, утолщение мембраны сопровождается появлением расположенных перпендикулярно, между lamina densa, коротких (170 нм) и тонких (40 нм) волокон. По-видимому, увеличение их количества постепенно приводит к компактизации lamina densa и практически полному исчезновению lamina lucida в этих зонах и появлению специфической полосатой исчерченности. Таким образом, к моменту рождения человека Десцеметова мембрана, по данным электронной микроскопии, имеет полосатую исчерченность, а ее толщина равна 3 мкм. На протяжении жизни ЭК роговицы секретируют ЭЦМ, который на электронограммах имеет более гомогенную структуру. В связи с этим, в Десцеметовой мембране взрослого человека выделяют два слоя: пренатальный передний полосатый и постнатальный задний неполосатый [11, 35]. Основным компонентом матрикса считают молекулы коллагена VIII типа, которые образуют сеть, полупроницаемую для биологически активных эндогенных веществ, поступающих из внутриглазной жидкости (ВГЖ) в строму [27, 38]. Фибриллы коллагена IV типа, ламинин, фибронектин, энтактин и перлекан являются частью якорного комплекса адгезии, обеспечивающего соединение эндотелиальных клеток, Десцеметовой мембраны и стромы [11].

Эндотелиальный слой

Как известно, на 5-й – 6-й неделе гестационного периода задняя поверхность роговицы выстлана кубическими клетками нейрального гребня. Со второй декады жизни человека ежегодно физиологическая потеря ЭК в центральной зоне составляет около 0,6%, и к 60-летнему возрасту их плотность равна 2600 клеток/мм². Снижение количества ЭК сопровождается изменением их формы (полиморфизм) и увеличением площади (полимегатизм) Толщина эндотелиального слоя роговицы с возрастом уменьшается, составляя у новорожденного – 10 мкм, а у взрослого человека – 4–5 мкм [8, 14].

Полагают, что в условиях *in vivo* клеточный цикл ЭК роговицы остановлен в

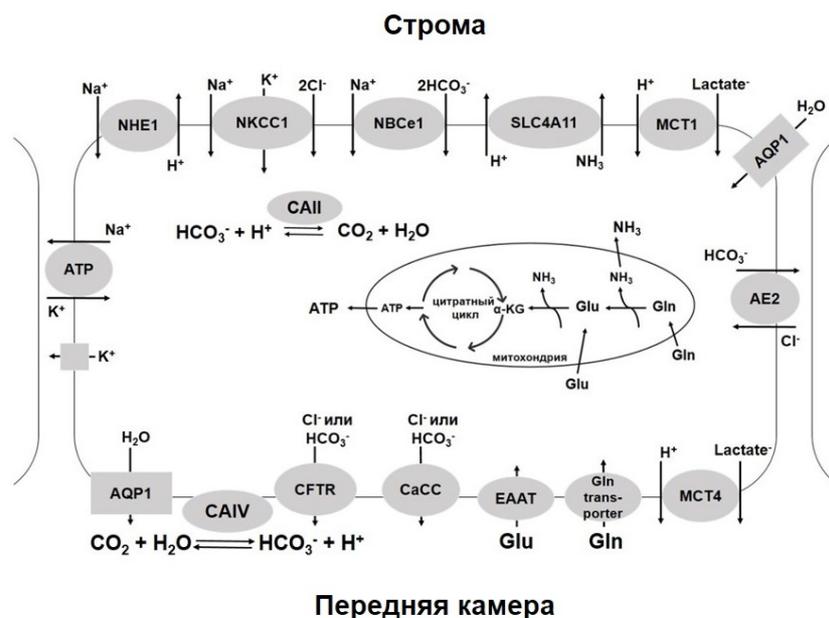


Рис. 1. Ионные каналы эндотелиальной клетки. Обозначения: ATP – Adenosine triphosphate (аденозинтрифосфорная кислота); NHE1 – Na⁺/H⁺-exchanger-1 (Na⁺/H⁺-обменник); NKCC1 – Na⁺:K⁺:2Cl⁻-cotransporter (Na⁺:K⁺:2Cl⁻-котранспортер); NBCe1 – 1Na⁺:2HCO₃⁻-cotransporter (1Na⁺:2HCO₃⁻-котранспортер); SLC4A11 – Sodium bicarbonate transporter-like protein 11 (NH₃/H⁺-котранспортер); MCT1 – Monocarboxylate transporter 1 (монокарбоксилатный транспортер 1 типа); MCT4 – Monocarboxylate transporter 4 (монокарбоксилатный транспортер 4 типа); AQP1 – Aquaporin 1 (аквапорин 1 типа); AE2 – Cl⁻/HCO₃⁻-exchanger (Cl⁻/HCO₃⁻-обменник); CaCC – Calcium activated Chloride Channel (кальций-зависимый хлоридный канал); CFTR – Cystic Fibrosis Transmembrane conductance (трансмембранный регуляторный белок муковисцидоза); CA IV – Carbonic anhydrase IV (карбоангидраза 4 типа); CA II – Carbonic anhydrase II (карбоангидраза 2 типа); α-KG – α-Ketoglutarate (α-кетоглутарат); Glu – glutamate (глутамат); Gln – glutamine (глутамин); EAAT – Excitatory Amino Acid Transporters (высокоаффинные транспортеры глутамата); Gln transporter (транспортер глутамина).

G1-фазе, что по-видимому, обусловлено контактным торможением, а также действием биологически активных эндогенных веществ, входящих в состав ВГЖ [25]. Как известно, основную роль в смене фаз клеточного цикла играют циклин-зависимые киназы (cyclin-dependent kinases, CDK). Активация этих регуляторных ферментов происходит при связывании со специфическими белками – циклинами (A, B, D и E), уровень экспрессии которых специфичен для каждой фазы клеточного цикла. Ингибиторы циклин-зависимых киназ (cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI) препятствуют формированию комплексов циклин – CDK, тем самым блокируя клеточный цикл на различных этапах. Так, например, взаимодействие «циклин E – CDK2» определяет переход ЭК роговицы из G1- в S-фазу цикла. Однако активация специфического CKI – белка p27Kip1 приводит к подавлению активности CDK2 и остановке клеточного цикла эндотелиоцитов роговицы в G1-фазе [26].

Эндотелиальный слой играет ключевую роль в поддержании ЭЦМ стромы в относительно дегидратированном состоянии и сохранении прозрачности роговицы. Его отличает наличие различных типов межклеточных соединений, выраженная метаболическая активность клеток и высокая плотность ионных каналов. Щелевидные пространства шириной

30 мкм между эндотелиоцитами сужаются по направлению к передней камере до 3 мкм, с плотным прилеганием плазмолем друг к другу в их апикальной трети [28]. Среди основных трансмембранных белков плотных межклеточных контактов эндотелия роговицы выделяют клаудин [21], окклюдин и специфические молекулы адгезии JAM-A (Junctional adhesion molecule-A). К внутриклеточным компонентам плотных соединений относят белок ZO-1 (zonula occludens 1), который, взаимодействуя с трансмембранными полипептидами, обеспечивает барьерную функцию эндотелия. Кроме того, ZO-1 стабилизирует адгезионные межклеточные контакты, сформированные α-, β-, γ- катенинами, N-кадгеринами и коннексином-43 [19]. Щелевидные соединения представляют собой трансмембранные каналы, осуществляющие обмен молекулами между клетками, направленный на поддержание их электрохимического взаимодействия.

Относительно небольшая протяженность плотных межклеточных соединений не позволяет им в полной мере препятствовать проникновению ВГЖ передней камеры через эндотелиальный слой [6]. В норме содержание влаги в строме составляет около 78%. При этом, за счет постоянного уровня давления набухания волокон (около 60 мм рт.ст.) и

функционирования ионных каналов эндотелиального слоя, поддерживается структурная организация ЭЦМ и, соответственно, прозрачность роговицы [29].

Ионные каналы эндотелиальных клеток

Динамическое равновесие между поступлением ВГЖ в строму роговицы и ее оттоком в переднюю камеру глаза определяется как наличием в эндотелиальном слое межклеточных контактов, так и осмотическим давлением, создаваемым трансмембранным переносом веществ [14]. Крупные полипептидные молекулы формируют в базолатеральной и апикальной мембране ЭК каналы, связывающие цитоплазму с внеклеточным пространством (рис. 1).

На движение ионов по этим каналам влияют, в том числе, градиент их концентрации и электрический потенциал плазматической мембраны [29]. Большое количество митохондрий в цитоплазме ЭК определяет их высокий метаболический потенциал. В этих органеллах происходит катаболизм аминокислот с образованием углекислого газа (CO_2), воды (H_2O), а также высвобождением аденозинтрифосфорной кислоты, АТФ (Adenosine triphosphate, ATP) [53] (рис. 1).

Na^+/K^+ -АТФаза представляет собой фермент, образованный α - и β -полипептидными цепями и располагающийся на базолатеральной мембране ЭК. α -цепь осуществляет гидролиз АТФ и трансмембранный обмен трех цитоплазматических ионов Na^+ на два внеклеточных иона K^+ . Накопление последних внутри ЭК приводит к открытию K^+ -каналов, через которые осуществляется движение K^+ по градиенту концентрации во внеклеточное пространство. Дефицит цитоплазматических ионов Na^+ приводит к активации $1\text{Na}^+:2\text{HCO}_3^-$ -котранспортера ($1\text{Na}^+:2\text{HCO}_3^-$ -cotransporter, NBCe1) и Na^+/H^+ -обменника (Na^+/H^+ -exchanger-1, NHE1) – каналов, расположенных на базолатеральной мембране ЭК. Таким образом, за счет электрохимического градиента ионов Na^+ , NBCe1 симпортом обеспечивает перенос в цитоплазму анионов HCO_3^- . NHE1 антипортом выводит катионы H^+ в межклеточное пространство и строму, индуцируя внутриклеточное взаимодействие H_2O и CO_2 для восполнения уровня H^+ в цитоплазме и накопления HCO_3^- [6, 7]. Сходную функцию выполняет расположенный на базолатеральной мембране NH_3/H^+ -котранспортер (Sodium bicarbonate transporter-like protein 11, SLC4A11), который осуществляет перенос ионов H^+ в строму совместно с аммиаком (NH_3), выделяющемся при гидролизе глутамина в митохондриях [53]. В то же время $\text{Na}^+:\text{K}^+:2\text{Cl}^-$ -котранспортер ($\text{Na}^+:\text{K}^+:2\text{Cl}^-$ -cotransporter, NKCC1) и $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -обменник ($\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ -exchanger, AE2), находящиеся на базолатеральной мем-

бране, способствуют поступлению анионов Cl^- в цитоплазму. В результате происходит повышение равновесного потенциала для ионов HCO_3^- и Cl^- , приводящее к открытию контролируемых катионами Ca^{2+} каналов (трансмембранного регуляторного белка муковисцидоза, Cystic Fibrosis Transmembrane conductance – CFTR и кальций-зависимого хлоридного канала, Calcium activated Chloride Channel – CaCC) на апикальной мембране ЭК и выходу анионов HCO_3^- и Cl^- в переднюю камеру. В том же направлении, при участии монокарбоксилатных транспортеров (Monocarboxylate transporter, MCT) 1-го и 4-го подтипов, расположенных на базолатеральной и апикальной мембране, соответственно, происходит перенос лактат-анионов через ЭК из стромы в переднюю камеру [6, 7] (рис.1).

Также на базолатеральных и апикальных мембранах ЭК роговицы обнаружены аквапорины 1 типа (Aquaporin 1, AQP1), формирующие каналы для переноса молекул H_2O из стромы в цитоплазму, а затем – в переднюю камеру (рис. 1). Структура этих белков представлена четырьмя полипептидными цепями, каждая из которых пронизывает плазматическую мембрану шесть раз, образуя внеклеточные (A-, C-, E-) и внутриклеточные (B-, D-) петли. Только B- и E- петли погружены в мембрану, где они перекрываются с формированием канала. Таким образом, аквапорин, являясь тетрамером, образует четыре независимых друг от друга канала для трансцеллюлярного переноса молекул H_2O [47].

Кровоснабжение и иннервация роговицы

Как известно, роговица представляет собой аваскулярную структуру. Питательные вещества поступают в ее слои из слезной жидкости, водянистой влаги передней камеры, а также густого перилимбального (перикорнеального) сплетения, образованного капиллярными концевыми ветвями [12]. В его состав входят передние конъюнктивальные сосуды, передние цилиарные артерии, и эписклеральные сосуды [1, 36].

Роговица обладает высокой чувствительностью, что обусловлено ее выраженной иннервацией. Смыкание верхнего и нижнего века в ответ на внешнее воздействие обеспечивается роговичным рефлексом, инициируемым раздражением сенсорных окончаний эпителиального слоя роговицы. Аfferентная иннервация роговой оболочки обеспечивается длинными ресничными нервами. Они отходят от носоресничного нерва (ветвь глазного нерва), прободают склеру и располагаются, как правило, в верхней трети роговицы, пронизывая боуменову мембрану и формируя субэпителиальное и суббазальное сплетения. Особенностью нервных волокон роговицы является отсутствие у них миелиновой оболочки, что вероятно связано с

необходимостью сохранения прозрачности роговицы [40, 42].

Современные методы диагностики прижизненного состояния роговицы

В настоящее время более 216,6 млн человек в мире страдают заболеваниями органа зрения, из них у 4,5 млн пациентов выявлено снижение прозрачности роговой оболочки глаза, обусловленное различными причинами. Поражение роговицы занимает пятое место в структуре офтальмопатологии после катаракты, аномалий рефракции, глаукомы и возрастной макулярной дегенерации [16].

К современным методам оценки прижизненного состояния роговицы относят зеркальную микроскопию эндотелия, оптическую когерентную томографию (ОКТ), и сканирующую конфокальную микроскопию.

Впервые в 1994 году американский офтальмолог W.M. Bourne представил результаты изучения прижизненного состояния эндотелиального слоя роговицы методом зеркальной эндотелиальной микроскопии. В настоящее время это один из наиболее широко распространенных неинвазивных способов диагностики, позволяющий оценить плотность ЭК, среднюю площадь ЭК, коэффициент варибельности, частотность гексагональных клеток, а также толщину роговицы [9]. На основании полученных данных могут быть выявлены на ранней стадии генетически детерминированные поражения эндотелиального слоя и Десцеметовой мембраны (эндотелиальная дистрофия Фукса и др.) и вторичные патологические изменения ЭК, возникающие после различных видов интраокулярных вмешательств или как исход локального воспаления.

В основу ОКТ заложен интерферометрический анализ оптических свойств биологических систем с использованием низкокогерентного излучения инфракрасного диапазона. ОКТ, применяемая для оценки состояния роговой оболочки, позволяет установить локализацию патологического процесса, оценить его прогрессирование [4]. Так, например, ОКТ используют для визуализации инфильтрации слоев роговицы при кератитах и для определения степени врастания фиброваскулярной ткани в строму при птеригиуме. Достаточно часто ОКТ выполняют пациентам с буллезной кератопатией для дифференциальной диагностики транзиторного помутнения роговицы, обусловленного разреженностью стромы из-за отека ткани, и необратимого снижения ее прозрачности из-за фиброза [49].

Первые результаты прижизненной лазерной сканирующей конфокальной микроскопии роговой оболочки глаза были опубликованы В. Masters и М. Farmer в 1993 г., а в 1994 г. В. Masters и А.А. Thaeг представили данные целевой сканирующей конфокальной микроскопии. Данный метод позволяет получить до 350 срезов роговицы толщиной около

5 мкм в виде отдельных изображений. В результате может быть осуществлена прижизненная визуализация эпителия, субэпителиального нервного сплетения, стромы и эндотелия роговицы и обнаружена воспалительная клеточная инфильтрация ткани [37]. Кроме того, в ряде случаев, конфокальная микроскопия позволяет выявить в слоях роговицы мицелий и споры грибов, или таких возбудителей, как *Acanthamoeba* (цисты и трофозоиты), и установить этиологию воспалительного процесса [46].

Заключение

Представленные в обзоре литературы данные свидетельствуют о сложных анатомо-физиологических особенностях роговой оболочки глаза. Уникальная структурная организация позволяет роговице одновременно выполнять роль защитного барьера, отграничивающего интраокулярные элементы от патологических внешних воздействий, и быть основной частью оптической системы глаза. Нарушение структуры ее слоев и взаимосвязи между ними в большинстве случаев приводит к помутнению роговицы и снижению зрения. Использование современных методов визуализации структур переднего сегмента глаза (зеркальной микроскопии эндотелия, ОКТ и сканирующей конфокальной микроскопии) позволяет провести дифференциальную диагностику патологических состояний роговицы и определить оптимальную тактику лечения.

Список источников / References

1. Офтальмология: национальное руководство. Под ред. Аветисова С.Э., Егорова Е.А., Мошетовой Л.К. и др. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019 [Oftal'mologiya: natsional'noe rukovodstvo. Pod red. Avetisova SE, Egorova EA, Moshetovoi LK. i dr. 2-e izd. Moscow: GEOTAR-Media; 2019] (in Russian).
2. Пальцев М.А., Иванов А.А., Северин С.Е. Межклеточные взаимодействия. 2-е издание. М.: Медицина; 2003 [Pal'tsev MA, Ivanov AA, Severin SE. Mezhhkлетochnye vzaimodeistviya. 2-e izd. Moscow: Meditsina; 2003] (in Russian).
3. Adachi E, Hopkinson I, Hayashi T. Basement-Membrane Stromal Relationships: Interactions between Collagen Fibrils and the Lamina Densa. *International Review of Cytology*. 1997;173:73–156.. doi: 10.1016/S0074-7696(08)62476-6
4. Ang M, Baskaran M, Werkmeister RM, Chua J, Schmidl D, Aranha dos Santos V, et al. Anterior segment optical coherence tomography. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2018 Sep;66:132–56. doi:10.1016/j.preteyeres.2018.04.002
5. Karsdal MA. Biochemistry of collagens, laminins and elastin. Structure, function and biomarkers. Cambridge: Academic Press; 2016.
6. Bonanno JA. Identity and regulation of ion transport mechanisms in the corneal endothelium. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2003 Jan

- 1;22(1):69–94. doi: 10.1016/s1350-9462(02)00059-9
7. Bonanno JA. Molecular Mechanisms Underlying the Corneal Endothelial Pump. *Experimental Eye Research*. 2012 Feb 1;95(1):2–7. doi: 10.1016/j.exer.2011.06.004
 8. Bourne WM. Biology of the corneal endothelium in health and disease. *Eye*. 2003 Nov;17(8):912–8. doi: 10.1038/sj.eye.6700559
 9. Chaurasia S, Vanathi M. Specular microscopy in clinical practice. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2021;69(3):517–24. doi: 10.4103/ijo.IJO_574_20
 10. Cintron C, Covington HI, Kublin CL. Morphologic analyses of proteoglycans in rabbit corneal scars. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1990 Sep;31(9):1789–98.
 11. de Oliveira RC, Wilson SE. Descemet's membrane development, structure, function and regeneration. *Experimental Eye Research*. 2020 Aug;197:108090. doi: 10.1016/j.exer.2020.108090
 12. DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2011 Mar;37(3):588–98. doi: 10.1016/j.jcrs.2010.12.037
 13. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J. Human Corneal Anatomy Redefined. *Ophthalmology*. 2013 Sep;120(9):1778–85. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.01.018
 14. Edelhauser HF. The Balance between Corneal Transparency and Edema The Proctor Lecture. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2006 May 1;47(5):1755–67. doi: 10.1167/iovs.05-1139
 15. Espana EM, Birk DE. Composition, structure and function of the corneal stroma. *Experimental Eye Research*. 2020 Sep;198:108137. doi: 10.1016/j.exer.2020.108137
 16. Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, Ackland P, Braithwaite T, Cicinelli MV, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*. 2017 Dec;5(12):e1221–34. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30393-5
 17. Frikeche J, Maiti G, Chakravarti S. Small leucine-rich repeat proteoglycans in corneal inflammation and wound healing. *Experimental Eye Research*. 2016 Oct;151:142–9. doi: 10.1016/j.exer.2016.08.015
 18. Hamrah P, Huq SO, Liu Y, Zhang Q, Dana MR. Corneal immunity is mediated by heterogeneous population of antigen-presenting cells. *Journal of Leukocyte Biology*. 2003 May 22;74(2):172–8. doi: 10.1189/jlb.1102544
 19. He Z, Forest F, Gain P, Rageade D, Bernard A, Acquart S, et al. 3D map of the human corneal endothelial cell. *Scientific Reports*. 2016 Jul;6(1):29047. doi: 10.1038/srep29047
 20. HO MSP, Böse K, Mokkapati S, Nischt R, Smyth N. Nidogens—Extracellular matrix linker molecules. *Microscopy Research and Technique*. 2008;71(5):387–95. doi: 10.1002/jemt.20567
 21. Inagaki E, Hatou S, Yoshida S, Miyashita H, Tsubota K, Shimmura S. Expression and Distribution of Claudin Subtypes in Human Corneal Endothelium. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2013 Nov 8;54(12):72587–65. doi: 10.1167/iovs.13-12022
 22. Inomata T, Ebihara N, Funaki T, Matsuda A, Watanabe Y, Ning L, et al. Perlecan-Deficient Mutation Impairs Corneal Epithelial Structure. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012 Mar 9;53(3):1277–84. doi: 10.1167/iovs.11-8742
 23. Johnson DH. The Ultrastructure of Descemet's Membrane. *Archives of Ophthalmology*. 1982 Dec 1;100(12):1942–47. doi: 10.1001/archophth.1982.01030040922011
 24. Johnston MC, Noden DM, Hazelton RD, Coulombre JL, Coulombre AJ. Origins of avian ocular and periocular tissues. *Experimental Eye Research*. 1979 Jul;29(1):27–4. doi: 10.1016/0014-4835(79)90164-7
 25. Joyce N. Proliferative capacity of the corneal endothelium. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2003 May;22(3):359–89. doi: 10.1016/s1350-9462(02)00065-4
 26. Joyce NC. Cell cycle status in human corneal endothelium. *Experimental Eye Research*. 2005 Dec;81(6):629–38. doi: 10.1016/j.exer.2005.06.012
 27. Kabosova A, Azar DT, Bannikov GA, Campbell KP, Durbeej M, Ghohestani RF, et al. Compositional Differences between Infant and Adult Human Corneal Basement Membranes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2007 Nov 1;48(11):4989–99. doi: 10.1167/iovs.07-0654
 28. Kreutziger GOscar. Lateral membrane morphology and gap junction structure in rabbit corneal endothelium. *Experimental Eye Research*. 1976 Sep;23(3):285–93. doi: 10.1016/0014-4835(76)90129-9
 29. Li S, Kim E, Bonanno JA. Fluid transport by the cornea endothelium is dependent on buffering lactic acid efflux. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2016 Jul 1;311(1):C116–26. doi: 10.1152/ajpcell.00095.2016
 30. Liu C-Y, Birk DE, Hassell JR, Kane B, Kao WW-Y. Keratocan-deficient Mice Display Alterations in Corneal Structure. *Journal of Biological Chemistry*. 2003 Jun;278(24):21672–7. doi: 10.1074/jbc.M301169200
 31. Massoudi D, Malecaze F, Galiacy SD. Collagens and proteoglycans of the cornea: importance in transparency and visual disorders. *Cell and Tissue Research*. 2015 Jul 24;363(2):337–49. doi: 10.1007/s00441-015-2233-5
 32. McKee HD, Irion LCD, Carley FM, Brahma AK, Jafarinasab MR, Rahmati-Kamel M, et al. Re: Dua et al.: Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet layer (Dua's layer) (*Ophthalmology* 2013;120:1778–85). *Ophthalmology*. 2014 May;121(5):e24–5. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.12.021
 33. Meek KM, Boote C. The use of X-ray scattering techniques to quantify the orientation and distribution of collagen in the corneal stroma. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2009 Sep;28(5):369–92. doi: 10.1016/j.preteyeres.2009.06.005
 34. Meek KM, Knupp C. Corneal structure and transparency. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2015 Nov;49:1–16. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.07.001
 35. Murphy C, Alvarado J, Juster R. Prenatal and postnatal growth of the human Descemet's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1984;25(12):1402–15.
 36. Papas EB. The limbal vasculature. *Contact Lens and Anterior Eye*. 2003 Jun;26(2):71–6. doi: 10.1016/S1367-0484(02)00054-1
 37. Petroll WM, Robertson DM. In vivo confocal microscopy of the cornea: New developments in

- image acquisition, reconstruction and analysis using the HRT-Rostock Corneal Module. The ocular surface. 2015 Jul 1;13(3):187–203. doi: 10.1016/j.jtos.2015.05.002
38. Saikia P, Medeiros CS, Thangavadeivel S, Wilson SE. Basement membranes in the cornea and other organs that commonly develop fibrosis. *Cell and Tissue Research*. 2018 Oct 3;374(3):439–53. doi: 10.1007/s00441-018-2934-7
 39. Schlötzer-Schrehardt U, Bachmann BO, Tourtas T, Torricelli AAM, Singh A, González S, et al. Ultrastructure of the Posterior Corneal Stroma. *Ophthalmology*. 2015 Apr;122(4):693–9. doi: 10.1016/j.ophtha.2014.09.037
 40. Shaheen BS, Bakir M, Jain S. Corneal nerves in health and disease. *Survey of Ophthalmology*. 2014 May;59(3):263–85. doi: 10.1016/j.survophthal.2013.09.002
 41. Sharma VK, Sinha R, Sati A, Agarwal M. Was it thickened Dua's layer? Clinical, tomographical, and histopathological correlation: A case report. *European Journal of Ophthalmology*. 2020 Nov 30;112067212097427. doi: 10.1177/1120672120974271
 42. Sridhar MS. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian journal of ophthalmology*. 2018 Feb;66(2):190–4. doi: 10.4103/ijo.IJO_646_17
 43. Theerakittayakorn K, Thi Nguyen H, Musika J, Kunkanjanawan H, Imsoonthornruksa S, Somredngan S, et al. Differentiation Induction of Human Stem Cells for Corneal Epithelial Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Oct 22;21(21):7834. doi: 10.3390/ijms21217834
 44. orricelli AAM, Singh V, Santhiago MR, Wilson SE. The Corneal Epithelial Basement Membrane: Structure, Function, and Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2013 Sep 27;54(9):6390–6400. doi: 10.1167/iovs.13-12547
 45. Tuori A, Uusitalo H, Burgeson RE, Terttunen J, Virtanen I. The Immunohistochemical Composition of the Human Corneal Basement Membrane. *Cornea*. 1996 May;15(3):286–94. doi: 10.1097/00003226-199605000-00010
 46. Vaddavalli PK, Garg P, Sharma S, Sangwan VS, Rao GN, Thomas R. Role of Confocal Microscopy in the Diagnosis of Fungal and Acanthamoeba Keratitis. *Ophthalmology*. 2011 Jan;118(1):29–35. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.05.018
 47. Verkman AS, Ruiz-Ederra J, Levin MH. Functions of aquaporins in the eye. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2008 Jul;27(4):420–33. doi: 10.1016/j.preteyeres.2008.04.001
 48. Vittitow J, Borrás T. Genes expressed in the human trabecular meshwork during pressure-induced homeostatic response. *Journal of Cellular Physiology*. 2004 Jan 29;201(1):126–37. doi: 10.1002/jcp.20030
 49. Wang SB, Cornish EE, Grigg JR, McCluskey PJ. Anterior segment optical coherence tomography and its clinical applications. *Clinical and Experimental Optometry*. 2019 May 1;102(3):195–207. doi: 10.1111/cxo.12869
 50. Wilson SE. Bowman's layer in the cornea—structure and function and regeneration. *Experimental Eye Research*. 2020 Jun;195:108033. doi: 10.1016/j.exer.2020.108033
 51. Yam GHF, Riau AK, Funderburgh ML, Mehta JS, Jhanji V. Keratocyte biology. *Experimental Eye Research*. 2020 Jul;196:108062. doi: 10.1016/j.exer.2020.108062
 52. Zhang G, Chen S, Goldoni S, Calder BW, Simpson HC, Owens RT, et al. Genetic Evidence for the Coordinated Regulation of Collagen Fibrillogenesis in the Cornea by Decorin and Biglycan. *Journal of Biological Chemistry*. 2009 Jan 9;284(13):8888–97. doi: 10.1074/jbc.M806590200
 53. Zhang W, Li H, Ogando DG, Li S, Feng M, Price FW, et al. Glutaminolysis is Essential for Energy Production and Ion Transport in Human Corneal Endothelium. *EBioMedicine*. 2017 Feb;16:292–301. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.01.004
 54. Zhang W, Ge Y, Cheng Q, Zhang Q, Fang L, Zheng J. Decorin is a pivotal effector in the extracellular matrix and tumour microenvironment. *Oncotarget*. 2018 Jan 3;9(4). doi: 10.18632/oncotarget.23869

Информация об авторах

✉ Фисенко Наталья Владимировна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник отдела патологии оптических сред глаза НИИ глазных болезней. Ул. Россолимо, 11, Москва, 119021; natfisenko@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7198-4498>

Information about the authors

✉ Natal'ya V. Fisenko – Cand. Med. Sci., Senior Researcher, Department of Pathology of the Optical Media of the Eye of the Research Institute of Eye Diseases. Ul. Rossolimo, 11, Moscow, 119021; natfisenko@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-7198-4498>

Статья поступила в редакцию 16.03.2022; одобрена после рецензирования 29.04.2022; принята к публикации 16.05.2022.
The article was submitted 16.03.2022; approved after reviewing 29.04.2022; accepted for publication 16.05.2022.