

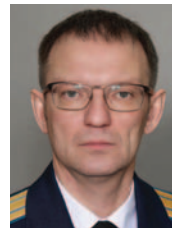
Импрессионная цитология как метод цитологической диагностики в офтальмологии. Обзор литературы



И.А. Злобин



С.В. Чурашов



А.Н. Куликов

В.С. Чирский, В.Ф. Черныш, И.О. Гаврилюк

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации
ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2023;20(1):53–60

Импрессионная цитология (от латинского impressio — воздействие, вдавливание) — минимально инвазивный метод цитологического исследования поверхностного эпителия роговицы, лимба и конъюнктивы с применением для забора клеточного материала различных сорбирующих аппликаторов. Спектр заболеваний, в диагностике которых традиционно применяют импрессионную цитологию, в основном связан с патологическими процессами, происходящими в конъюнктиве. Такими заболеваниями являются синдром Шегрена, синдром сухого глаза, мукополисахаридоз, дефицит витамина А, трахома, плоскоклеточная неоплазия глазной поверхности и др. Появление концепции лимбальных эпителиальных стволовых клеток роговичного эпителия открыло новые диагностические возможности импрессионной цитологии в офтальмологии.

Ключевые слова: импрессионная цитология, заболевания глазной поверхности, лимбальная недостаточность

Для цитирования: Злобин И.А., Чурашов С.В., Куликов А.Н., Чирский В.С., Черныш В.Ф., Гаврилюк И.О. Импрессионная цитология как метод цитологической диагностики в офтальмологии. Обзор литературы. *Офтальмология*. 2023;20(1):53–60. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2023-1-53-60>

Прозрачность финансовой деятельности: Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах

Конфликт интересов отсутствует

Impression Cytology as a Method of Cytological Diagnostics in Ophthalmology. Literature Review

I.A. Zlobin, S.V. Churashov, A.N. Kulikov, V.S. Chirsky, V.F. Chernysh, I.O. Gavrilyuk

Military Medical Academy named after S.M. Kirov

Academician Lebedev str., 6, Saint Petersburg, 194044, Russian Federation

ABSTRACT

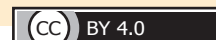
Ophthalmology in Russia. 2023;20(1):53–60

Impression cytology (from the Latin impressio — impact, indentation) is a minimally invasive method of cytological examination of the surface epithelium of the cornea, limbus and conjunctiva using various sorbing applicators for the collection of cellular material. The spectrum of diseases, in the diagnosis of which impression cytology is traditionally used, is mainly associated with pathological processes occurring in the conjunctiva. Such diseases as: Sjogren's syndrome, dry eye syndrome, mucopolysaccharidosis, vitamin A deficiency, trachoma, squamous cell neoplasia of the ocular surface, etc. With the advent of the concept of limbal epithelial stem cell, new diagnostic possibilities of impression cytology in ophthalmology occurred.

Keywords: impression cytology, ocular surface diseases, limbal stem cells deficiency

For citation: Zlobin I.A., Churashov S.V., Kulikov A.N., Chirsky V.S., Chernysh V.F., Gavrilyuk I.O. Impression Cytology as a Method of Cytological Diagnostics in Ophthalmology. Literature Review. *Ophthalmology in Russia*. 2023;20(1):53–60. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2023-1-53-60>

Financial Disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned
There is no conflict of interests



ВВЕДЕНИЕ

Импрессионная цитология (от латинского *impressio* — воздействие, вдавливание) — минимально инвазивный метод цитологического исследования поверхностного эпителия роговицы, лимба и конъюнктивы с применением для забора клеточного материала различных сорбирующих аппликаторов [1].

Спектр заболеваний, в диагностике которых традиционно применяют импрессионную цитологию, в основном связан с патологическими процессами, происходящими в эпителии конъюнктивы, такими как синдром Шегрена, синдром сухого глаза (ССГ), мукополисахаридоз, дефицит витамина А, трахома, плоскоклеточная неоплазия глазной поверхности и др.

Метод дает возможность контролировать и своевременно определять тактику и способы консервативного лечения таких пациентов. Интерес к методу особенно возрос с появлением концепции лимбальных стволовых клеток роговичного эпителия [2].

ИСТОРИЯ МЕТОДА

Первое сообщение о методе цитологической диагностики заболеваний глазной поверхности (ГП) появилось в 1977 г. в статье R.W. Thatcher и соавт. «Conjunctival impression cytology». Авторы с целью получения отпечатков эпителия конъюнктивы разработали пластиковое устройство из полистирола, которое состояло из круглого диска с рукояткой, располагавшейся к нему под углом 120°. Для того чтобы после получения клеточного материала с ГП диск мог отламываться от рукоятки, на нее были нанесены насечки. Диск после аппликации на ГП отделяли от рукоятки, после этого обрабатывали растворами красок по Райуа и Гимзе. Затем проводили световую микроскопию окрашенных клеточных образцов. Метод получил название импрессионной цитологии (ИЦ) и был применен для цитологической диагностики

аденовирусного, герпетического и весеннего конъюнктивита. При этом оценивали количество лейкоцитов (нейтрофилов, эозинофилов, лимфоцитов и изучали морфологические изменения в эпителиальном пласте клеток конъюнктивы [3] (рис. 1).

В том же 1977 г. P.R. Egbert и соавт. забор клеточного материала для ИЦ осуществляли с помощью аппликаторов из синтетической ацетатцеллюлозной фильтровальной бумаги разных фирм-производителей (Duralon, Polyvic, Mitex, Millipore). Перед аппликацией нарезали полоски из этой бумаги размерами 2×6 мм. Аппликации проводили на различных участках бульбарной и тарзальной конъюнктивы пациента как с применением предварительной эпибульбарной анестезии, так и без нее. После забора клеточного материала для транспортировки в исследовательскую лабораторию ацетатцеллюлозные аппликаторы (АЦА) помещали в специальный контейнер. Морфологическую оценку клеток конъюнктивы и выявление бокаловидных клеток (БК) проводили с помощью световой микроскопии. Перед окрашиванием полученного клеточного материала периодической кислотой Шиффа осуществляли его фиксацию в 96 % этиловом спирте. Авторы метода пришли к выводу, что АЦА фирмы Millipore типа VS с «микроскопическим» размером пор обеспечивают получение более качественных отпечатков клеточного материала. В работе были даны практические рекомендации по применению метода ИЦ в клинической практике и перечислены заболевания, при которых его диагностические возможности оказались востребованными [4] (рис. 2).

Необходимость при транспортировке в лабораторию (по методу P.R. Egbert и соавт.) помещать полученный клеточный материал в специальные контейнеры создавала определенные сложности для выполнения ИЦ в амбулаторных условиях, и метод не нашел широкого применения [5].

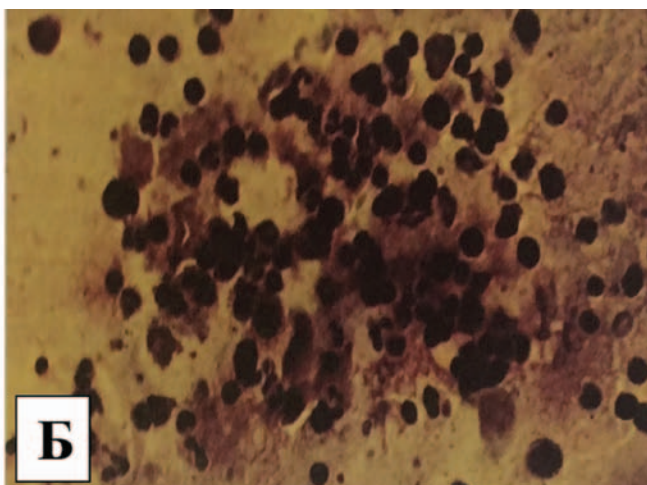
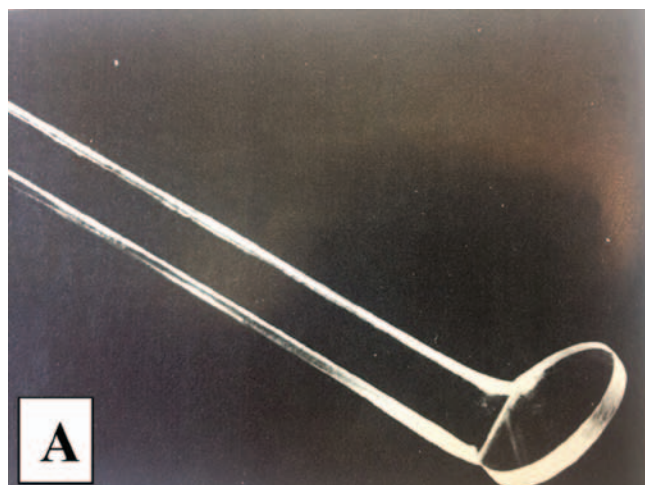


Рис. 1. А — пластиковое устройство из полистирола для забора отпечатков эпителия конъюнктивы. Б — цитологический препарат конъюнктивы, окраска по Романовскому — Гимзе [3]

Fig. 1. А — plastic device made of polystyrene for taking impressions of conjunctival epithelium. Б — cytological preparation of conjunctiva, stained by Romanovsky—Giemsa

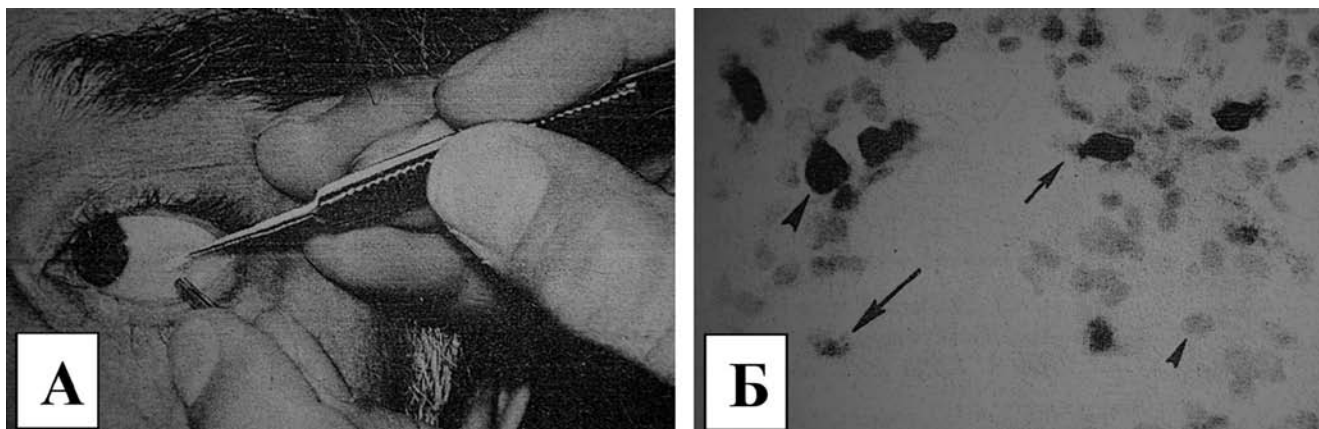


Рис. 2. А — способ забора эпителия конъюнктивы на ацетатцеллюлозный аппликатор, изготовленный из ацетатцеллюлозной фильтровальной бумаги разных фирм-производителей (Duralon, Polyvic, Mitex, Millipore). Б — цитологический препарат конъюнктивы, окраска периодической кислотой Шиффа (ШИФ-реакция), стрелочками показаны бокаловидные клетки конъюнктивы [4]

Fig. 2. A — the way of conjunctival epithelium sampling on acetate cellulose applicator made of acetate cellulose filter paper of different manufacturers (Duralon, Polyvic, Mitex, Millipore). Б — cytological preparation of conjunctiva stained with periodic Schiff acid (Schiff reaction), arrows show conjunctival goblet cells

В то же время изучение диагностических возможностей метода продолжилось. Так, в 1983 г. J.D. Nelson и соавт., изучая адсорбирующую способность АЦА с различным диаметром пор, установили, что поры больших размеров (0,44–0,47 мкм) адсорбировали клетки лучше. Однако при этом отмечалась высокая частота повреждения плазмолеммы клеток, что, в свою очередь, снижало информативность метода ИЦ. Маленький размер пор (0,20–0,22 мкм), адсорбируя клетки хуже, сохранял целостность цитоплазматической мембраны клеток. Поэтому большинством офтальмологов стали использоваться усредненные размеры АЦА с диаметром пор 0,22–0,44 мкм. Для создания равномерного дозированного прижатия АЦА к ГП авторы также предлагали использовать офтальмодинамометр с усилием (давлением) в 40 г [6, 7].

В 1985 г. S.C. Tseng предложил в дополнение к окраске клеточного материала реактивом Шиффа использовать гематоксилин. Это существенно повышало точность микроскопического исследования [8].

В 1990 г. компания Biopore (США) для хранения и транспортировки полученного клеточного материала разработала миниатюрное мембранное устройство в комплекте с пробиркой до ¼ дюйма в диаметре, которую заполняли раствором фиксатора [Millicell-CM 0,4 PISCN 012550, Millipore Corp., Бедфорд, Массачусетс, США]. Благодаря этому существенно расширились возможности применения ИЦ в клинических и амбулаторных условиях, а также в эксперименте [5, 9, 10].

Усовершенствованный таким образом метод получения клеточного материала, описанный P.R. Egbert и соавт., давал ряд преимуществ ИЦ перед такими цитологическими методами, как мазок-отпечаток и метод соскоба поверхностных эпителиальных клеток с конъюнктивы. Последние являются более травматичными и позволяют получать для цитологического исследования ограниченное, не всегда достаточное количество клеточного

материала. Важным достоинством метода ИЦ является простота выполнения и достоверность результата, так как он может выполняться в амбулаторных условиях, не причиняя значительного дискомфорта пациенту [11]. Усовершенствованный метод забора клеточного материала на поверхность АЦА и способ окраски, предложенные P.R. Egbert и соавт., используются по сей день [12].

МЕТОДИКА ЗАБОРА И ОКРАСКИ КЛЕТОЧНОГО МАТЕРИАЛА

Методика забора материала зависит от локализации исследуемого эпителия на ГП [13].

Так, R. Singh и соавт. для забора клеточного материала конъюнктивы и роговицы (с захватом лимбальной зоны или без нее) использовали АЦА в виде диска диаметром 13 мм. Диск разрезали на две половины, каждую из которых в зависимости от цели исследования прикладывали к интересующим участкам [7].

А.И. Еременко для дозированного забора клеточного материала с конъюнктивы на АЦА размером пор 0,47 мкм (марка HATH, Millipore) использовал специально созданный инструмент. Инструмент обеспечивал компрессию на ГП в 15 г, что повысило точность результатов исследования по сравнению с техникой, предложенной P.R. Egbert и соавт. [4, 14].

В клинике офтальмологии им. проф. В.В. Волкова Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова до 2017 г. забор клеточного материала производят путем аппликации на глазную поверхность ацетатцеллюлозного аппликатора (АЦА) (MCE Membrane Pore: 0,45 (μm), Diameter: 8 (mm), Biolot, Россия) различной протяженности, от 60 до 360 градусов, после предварительной эпibuльбарной анестезии трехкратным закапыванием 0,5 % раствора проксиметакаина. Экспозиция аппликации — 10 сек.¹ (рис. 3).

¹ Рационализаторское предложение № 13663/6.

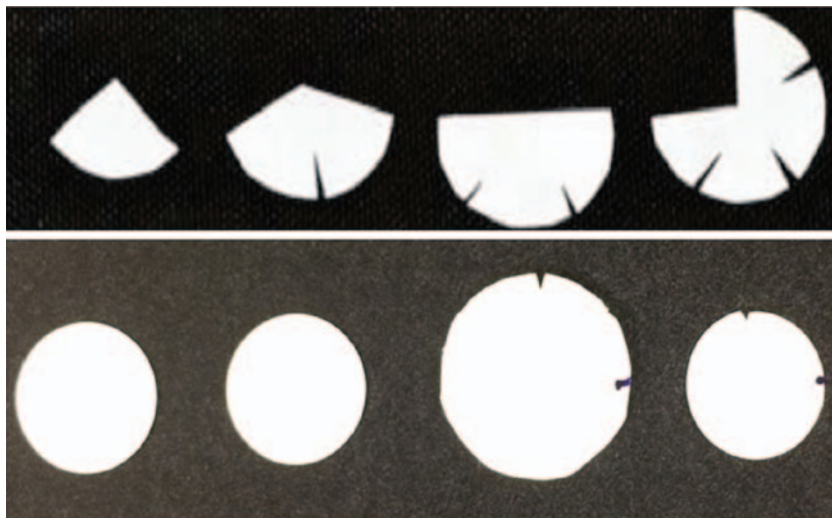


Рис. 3. АЦА из ацетата целлюлозы различной площади

Fig. 3. ACA from acetate cellulose of different area (acetate-cellulose applicators)

В 2017 году И.О. Гаврилюк и соавт. предложили метод аппликации, при котором забор клеточного материала роговицы на АЦА (диаметр пор 0,45–0,47 мкм) выполнялся одномоментно со всей ее поверхности. С этой целью из стандартного ацетатцеллюлозного диска вырезали круглый диск диаметром, соответствующим диаметру исследуемой роговицы. На диск наносили 4 взаимно перпендикулярных разреза от края до парацентральной зоны. При этом вне оптической зоны формировали 4 отдельных «лепестка», которые во время аппликации обеспечивали равномерное прилегание аппликатора на всей поверхности роговицы [15]² (рис. 4).

² Рационализаторское предложение № 14774/5 от 13.11.2017.

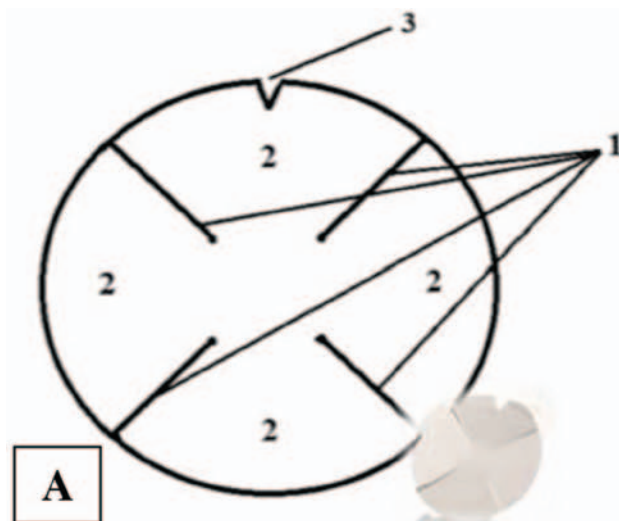


Рис. 4. А — адаптированный аппликатор ацетатцеллюлозного диска MF-Millipore для цитологического исследования в I и III серии экспериментов: 1 — четыре взаимно перпендикулярных разреза, 2 — четыре «лепестка» диска, 3 — метка в виде треугольного участка, вырезанного из верхнего края; Б — забор клеточного материала с поверхности роговицы пациента

Fig. 4. А — adapted “MF-Millipore” acetate-cellulose disk applicator for cytological examination in series I and III of experiments: 1 — four mutually perpendicular incisions, 2 — four “petals” of the disk, 3 — marker in the form of a triangular area cut from the upper edge; Б — collection of cellular material from the corneal surface of the patient

МЕТОДИКА ОКРАСКИ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

Большинство авторов перед окраской фиксацию полученного на АЦА клеточного материала проводят в 96 % этиловом спирте по методу P.R. Egbert и соавт. [4, 14–17].

В зависимости от цели исследования для окраски материала могут использоваться различные красители. Так, реактив Шиффа и альциановый синий применяют для окраски бокаловидных клеток [4, 6, 7]. Хемофлуоресцентный краситель используют для обнаружения амёбных цист [18]. С помощью окраски по методике Папаниколау оценивают изменения в клетках, вызванные вирусами герпеса, цитомегаловирусом, хламидией, а также определяют клетки воспалительного ряда [8]. Метод окраски

по Романовскому — Гимзе (азур, эозин, метиленовый синий) используют для выявления бактериальной флоры и оценки цитологических изменений в клетках [16]. Для оценки изменений в клетках и выявления клеток воспалительного ряда иногда используют окраску гематоксилином и эозином [19].

После окрашивания клеточного материала, дегидратации АЦА (проводкой через спирты) и просветления ксилолом выполняют световую микроскопию [4, 7, 14, 16, 17, 20–22].

В клинике офтальмологии им. профессора В.В. Волкова Военно-медицинской академии окраску цитологических материалов проводят как на предметном стекле,

так и с помощью автоматизированной подвижной платформы для серийной подготовки импрессионно-цитологических препаратов (рис. 5) [15].

ИМПРЕССИОННАЯ ЦИТОЛОГИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГП

Спектр заболеваний, в диагностике которых традиционно применяют ИЦ, в основном связан с патологическими процессами, происходящими в конъюнктиве. Такими заболеваниями являются синдром Шегрена, синдром сухого глаза (ССГ), мукополисахаридоз, дефицит витамина А, трахома, плоскоклеточная неоплазия глазной поверхности и др. [5–7, 12].

В отечественных публикациях до недавнего времени метод ИЦ применяли в основном для:

- диагностики ССГ. Цель исследования — в основном изучение морфологической характеристики эпителиального пласта конъюнктивы (выявление в эпителиальных клетках зерен кератогиалина, изменений ядерно-цитоплазматического соотношения и др.), выявление слизи и лимфоцитов, а также БК [16];
- изучения микрофлоры ГП (определение рода и вида микроорганизмов методом ПЦР при ССГ) [23].

Появление концепции стволовых клеток роговичного эпителия открыло новые диагностические возможности ИЦ как метода определения фенотипа эпителия, покрывающего роговицу, в том числе в условиях помутнения сосудистого генеза [24].

Согласно этой концепции, базальные клетки роговичной части лимба, расположенные в складках палисада (палисадах) Vogt роговичной части лимба, являются олигопотентными стволовыми клетками эпителия роговичного фенотипа. Эти лимбальные эпителиальные стволовые клетки (ЛЭСК) в течение жизни обеспечивают постоянную эпителиальную массу роговицы в процессе нормального оборота клеток и заживление эпителиальных дефектов. Они также являются естественным барьером для нарастания на роговицу конъюнктивального эпителия. Тотальная гибель ЛЭСК клинически проявляется состоянием, получившим название недостаточности эпителиальных стволовых клеток лимба (коротко — лимбальной недостаточности — ЛН). При этом происходит так называемая «конъюнктивализация роговицы» — на роговицу медленно нарастает эпителий конъюнктивы с инвазией в строму поверхностных и глубоких сосудов с формированием фиброваскулярного паннуса — сосудистого бельма. В случае



Рис. 5. Этапы приготовления цитологического микропрепарата на предметном стекле и автоматизированной подвижной платформе для серийной подготовки импрессионно-цитологических препаратов

Fig. 5. Stages of cytological microslide preparation on a slide and automated moving platform for serial preparation of imprecise cytological preparations

частичной гибели популяции ЛЭСК конъюнктивализация роговицы происходит в основном только в секторе их гибели. Причинами возникновения ЛН являются заболевания и травматические повреждения лимбальной зоны [25].

Таким образом, поверхность васкуляризированной роговицы может быть полностью или частично покрыта конъюнктивальным эпителием и роговичным эпителием, так как причиной васкуляризации роговицы может служить не только ЛН.

Оптическая кератопластика на глазах с сосудистым бельмом, покрытым конъюнктивальным эпителием (тотальная ЛН), обречена на неудачу ввиду неизбежности рецидива конъюнктивализации роговицы (трансплантата). Операция показана только после устранения ЛН с восстановлением нормального эпителиального покрова роговицы. Это достигается посредством предварительной операции пересадки на роговицу стволовых клеток роговичного эпителия — лимбальной трансплантации (ЛТ) [25, 26].

При решении вопроса о показаниях к ЛТ определяющим является установление фенотипа эпителия

вакуляризированной роговицы. Среди всех признаков только наличие в эпителии БК, характерных для конъюнктивного эпителия, достоверно подтверждает диагноз ЛН [26].

Диагностика ЛН методом ИЦ основана на обнаружении бокаловидных клеток в эпителии, покрывающем роговицу. Первое сообщение о применении ИЦ в диагностике ЛН сделал в 1989 году S.C. Tseng [27]. Чувствительность метода колеблется от 87 до 97 % [20, 27–29]. При этом для окраски полученного на АЦА клеточного материала возможно использование таких стандартных методик, как окраска:

- реактивом Шиффа (периодической кислотой Шиффа),
- альциановым синим,
- по Романовскому — Гимзе.

В первом случае в окрашенном препарате бокаловидные клетки на фоне эпителиальных клеток окрашиваются в фиолетовый цвет, во втором — в голубой цвет и в третьем — на фоне окрашенного в синий цвет эпителиального пласта клеток бокаловидные клетки не окрашиваются и выглядят оптически пустыми.

С помощью метода ИЦ мы исследовали клинкоморфологическую характеристику эпителия роговицы при тотальном сосудистом бельме различной этиологии у 44 пациентов (на 44 глазах) с сосудистым бельмом роговицы различной этиологии. На основании морфологических результатов определяли оптимальную тактику хирургического лечения данных пациентов. По морфологическим данным ИЦ пациентов разделили на 2 группы. В группу 1 вошли 30 пациентов, у которых эпителий по данным ИЦ оказался роговичным. Этим пациентам была выполнена сквозная кератопластика (СКП). Во 2-ю группу вошли 14 пациентов, у которых был выявлен эпителий конъюнктивного фенотипа. У восьми из них роговичный фенотип эпителия был восстановлен посредством операции лимбальной трансплантации, затем этим пациентам также выполнили СКП. Таким образом, ИЦ позволила провести клинкоморфологическую оценку фенотипа эпителия, покрывающего сосудистое бельмо, и аргументированно определить показания к выбору той или иной тактики хирургического лечения таких больных, а также диагностировать ЛН на глазах с сосудистым бельмом [30] (рис. 6).

По данным экспертов интернациональной рабочей группы по лимбальным стволовым клеткам International Limbal Stem Cell Working Group, ИЦ является «золотым стандартом» диагностики ЛН [26].

В то же время имеются сообщения, что если наличие в эпителии БК подтверждает диагноз ЛН, то полное их отсутствие ее не исключает [31]. Так, при тяжелой или средней степени тяжести синдрома сухого глаза в сочетании с ЛН не всегда удается выявить БК на поверхности конъюнктивы и в образцах препаратов, полученных с роговицы, и таким образом исключить ЛН [32, 33].

В настоящее время перспективными методами определения фенотипа эпителия, покрывающего роговицу (в клеточном материале, полученном при ИЦ), являются:

- иммуноцитохимическое исследование специфических маркеров эпителиальных клеток конъюнктивы и роговицы, таких как цитокератины 3, 7, 13 и 19 и муцины — MUC1 и MUC5AC [34–38];

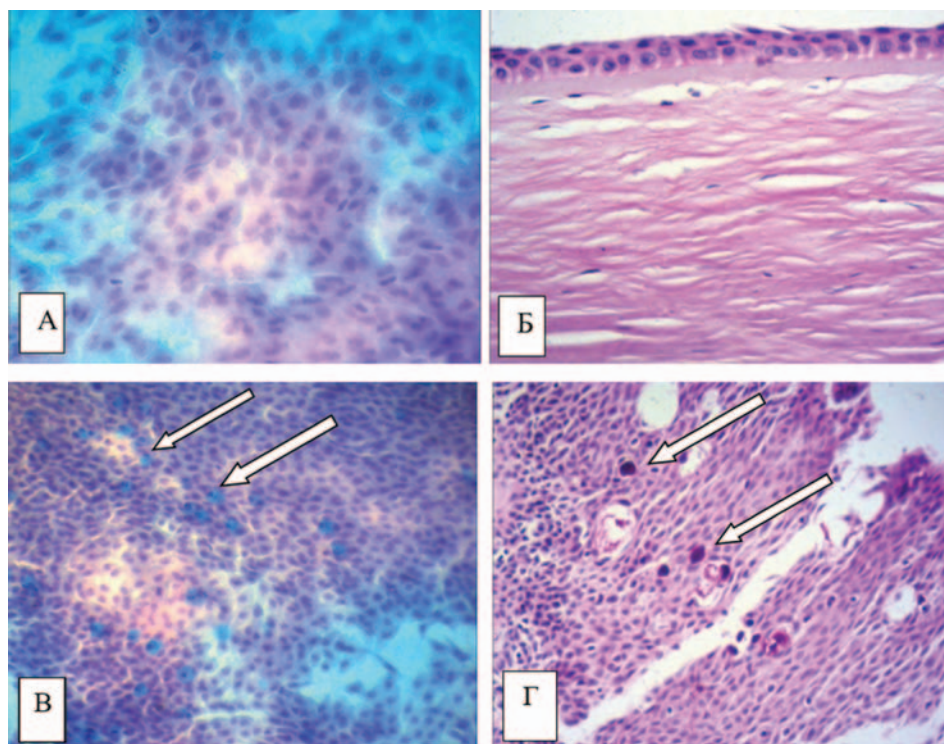


Рис. 6. А — эпителий роговичного фенотипа по данным ИЦ; Б — гистологический срез роговицы, в эпителии которого отсутствуют БК; В — эпителий конъюнктивного фенотипа, белыми стрелками показаны БК; Г — гистологический срез фиброваскулярного паннуса, удаленного во время поверхностной кератэктомии, отмечается наличие БК (белые стрелки) в составе эпителия. Окраска цитологических препаратов: гематоксилин и альциановый синий; окраска гистологических препаратов: периодической кислотой Шиффа (ШИН — реакция). Увеличение 400

Fig. 6. А — corneal epithelium phenotype according to CI; Б — histological section of the cornea with no BCs in the epithelium; В — epithelium of conjunctival phenotype, white arrows show BCs; Г — histological section of fibrovascular pannus removed during superficial keratectomy, BCs are seen in epithelium (white arrows). Staining of cytological preparations: hematoxylin and alcian blue; staining of histological preparations: periodic Schiff acid (SHIN — reaction). Magnification 400

- проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР) специфичной матричной-РНК (мРНК) к цитокератинам 3, 7, 13, 19 и муцинам MUC1 и MUC5AC [39].

Будучи в определенной степени более сложными (по сравнению с простым обнаружением БК в эпителиальном покрове сосудистого бельма), данные методики исследования являются специфическими и более точными — достоверность их колеблется в пределах от 95 до 99 % [39,40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ИЦ является информативным, высокоточным, малоинвазивным и относительно недорогим методом цито-

логического исследования с возможностью определения фенотипа эпителия глазной поверхности.

Благодаря указанным преимуществам и усиливающемуся интересу офтальмологов к заболеваниям глазной поверхности в настоящее время импрессионная цитология становится все более и более востребованной.

УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Злобин И.А. — сбор и обработка материалов, написание текста;
Чурашов С.В. — концепция исследования, научное редактирование текста;
Куликов А.Н. — научное редактирование текста;
Чирский В.С. — анализ морфологических данных, редактирование текста;
Черныш В.Ф. — анализ полученных данных, редактирование текста;
Гаврилюк И.О. — подготовка иллюстраций, анализ обзора литературы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Nelson JD. Impression cytology. *Cornea*. 1988;7(1):71–81.
- Thoft RA, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1983;24:1442–1443.
- Thatcher RW, Darougar S, Jones B. Conjunctival impression cytology. *Arch Ophthalmol.* 1977;95(4):678–681. DOI: 10.1001/archophth.1977.04450040144022
- Egbert PR, Lauber S, Maurice DM. A simple conjunctival biopsy. *Am J Ophthalmol.* 1977;84(6):798–801. DOI: 10.1016/0002-9394(77)90499-8
- McKelvie P. Ocular surface impression cytology. *Adv Anat Pathol.* 2003;10(6):328–337. DOI: 10.1097/00125480-200311000-00003
- Nelson JD, Havener VR, Cameron JD. Cellulose acetate impressions of the ocular surface. Dry eye states. *Arch Ophthalmol.* 1983;101(12):1869–1872. DOI: 10.1001/archophth.1983.01040020871007
- Singh R, Joseph A, Umapathy T. Impression cytology of the ocular surface. *Br J Ophthalmol.* 2005;89(12):1655–1659. DOI: 10.1136/bjo.2005.073916
- Tseng SC. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology.* 1985;92(6):728–733. DOI: 10.1016/s0161-6420(85)33967-2
- Dart J. Impression cytology of the ocular surface — Research tool or routine clinical investigation? *Br J Ophthalmol.* 1997;81(11):930. DOI: 10.1136/bjo.81.11.930
- Lopin E, Deveney T, Asbell PA. Impression Cytology: Recent Advances and Applications in Dry Eye Disease. *Ocul Surf.* 2009;7(2):93–110. DOI: 10.1016/s1542-0124(12)70301-4
- Nolan GR, Hirst LW, Wright RG. Application of impression cytology to the diagnosis of conjunctival neoplasms. *Diagn Cytopathol.* 1994;11(3):246–249. DOI: 10.1002/dc.2840110310
- Calonge M, Diebold Y, Sáez V. Impression cytology of the ocular surface: a review. *Exp Eye Res.* 2004;78(3):457–472. DOI: 10.1016/j.exer.2003.09.009
- Thia Z-Z, Tong L. Update on the role of impression cytology in ocular surface disease. *Taiwan J Ophthalmol.* 2019;9(3):141–149. DOI: 10.4103/tjo.tjo_57_19. Collection Jul-Sep 2019.
- Еременко А.И., Янченко С.В. Модифицированная импрессионная цитология у больных вторичным синдромом «сухого глаза», обусловленным инстилляциями глазных капель с наличием консерванта. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2009;9(114):48–50. [Eremenko AI, Yanchenko SV, Kiselyov AV. Modified impression cytology at the patients with the «dry eye», caused preservative containing eye drops. *Kuban scientific medical bulletin = Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik*. 2009;9(114):48–50 (In Russ.)].
- Гаврилюк И.О., Куликов А.Н., Черныш В.Ф. Усовершенствование методики подготовки препаратов эпителия роговицы для импрессионной цитологии с целью витальной оценки его фенотипа в эксперименте. *Современные технологии в офтальмологии*. 2017;4:55–57. [Gavrilyuk I.O., Kulikov A.N., Chernysh V.F. Improvement of a technique for preparation of corneal epithelium preparations for impression cytology with the purpose of vitality assessment of its phenotype in experiment. *Modern technologies in ophthalmology = Sovremennyye tekhnologii v oftalmologii*. 2017;4:55–57 (In Russ.)].
- Бржеский В.В., Егорова Г.Б., Егоров Е.А. Синдром «сухого глаза» и заболевания глазной поверхности: клиника, диагностика, лечение. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. [Brzheskiy V.V., Egorova G.B., Egorov E.A. Dry eye syndrome and ocular surface diseases: clinic, diagnostics, treatment. Moscow: GEOTAR-Media, 2016 (In Russ.)].
- Волкович Т.К., Самсонова И.В., Имшенецкая Т.А. Импрессионная цитология: диагностические возможности в офтальмологии. *Российская детская офтальмология*. 2016;1:46–52. [Volkovich TK, Samsonova IV, Imshenetskaya TA. Impression cytology: diagnostic possibilities in ophthalmology. *Russian ophthalmology of children = Rossiyskaya detskaya oftalmologiya*. 2016;1:46–52 (In Russ.)].
- Chawla F, Armstrong M, Carley F. Acanthamoeba keratitis — an increasing. *Cont Lens Anterior Eye.* 2014;37(2):120. DOI: 10.1016/j.clae.2013.09.002. Epub 2013 Oct 28.
- Чирский В.С., Чурашов С.В., Злобин И.А. Определение исходов раннего консервативного лечения щелочных ожогов роговицы и лимба различной продолжительности с использованием импрессионной цитологии в эксперименте. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2016;1(53):131–137. [Chirsky V.S., Churashov S.V., Zlobin I.A. Determination of the outcomes of early conservative treatment of alkaline burns of the cornea and limbus of different extent using impingement cytology in experiment. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy = Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoy akademii*. 2016;1(53):131–137 (In Russ.)].
- Злобин И.А., Чурашов С.В., Черныш В.Ф. Применение импрессионной цитологии в оценке фенотипа эпителия роговицы при решении вопроса о показании к операции оптической кератопластики. *Вестник Российской Военно-медицинской академии*. 2016;1(53):46–49. [Zlobin I.A., Churashov S.V., Chernysh V.F. Application of impression cytology in evaluation of corneal epithelium phenotype when deciding on indications for optical keratoplasty operation. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy = Vestnik Rossiyskoy Voenno-meditsinskoy akademii*. 2016;1(53):46–49 (In Russ.)].
- Kanavi MR, Hosseini B, Javadi F. Impression cytology in eyes with clinical and confocal scan features of acanthamoeba keratitis. *J Ophthalmic Vis Res.* 2013;8(3):207–212.
- Sawada Y, Yuan C, Huang AJW. Impression cytology in the diagnosis of acanthamoeba keratitis with surface involvement. *Am J Ophthalmol.* 2004;137(2):323–328. DOI: 10.1016/j.ajo.2003.09.019
- Graham JE, Moore JE, Jiru X. Ocular pathogen or commensal: A PCR-based study of surface bacterial flora in normal and dry eyes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007;48:5616–23. DOI: 10.1167/iops.07-0588
- Thoft R.A., Friend J. Biochemical transformation of regenerating ocular surface epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1977;16(1):14–20.
- Черныш В.Ф., Бойко Э.В. Ожоги глаз. Состояние проблемы и новые подходы. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. [Chernysh V.F. Boyko E.V. Eye burns. State of the problem and new approaches. Moscow: Geotar-Media, 2017 (In Russ.)].
- Deng SX, Borderie V., Chan CC. Global consensus on definition, classification, diagnosis, and staging of limbal stem cell deficiency. *Cornea.* 2019;38(3):364–437. DOI: 10.1097/ICO.0000000000001820
- Tseng SC. Concept and application of limbal stem cells. *Eye (Lond)*. 1989;3:141–157. DOI: 10.1038/eye.1989.22
- Baradaran-Rafii A, Javadi M-A, Kanavi MR. Limbal Stem Cell Deficiency in Chronic and Delayed-onset Mustard Gas Keratopathy. *Ophthalmology.* 2010;117(2):246–252. DOI: 10.1016/j.optha.2009.07.012
- López-García JS, Rivas L, García-Lozano I. Analysis of Corneal Surface Evolution After Moderate Alkaline Burns by Using Impression Cytology. *Cornea.* 2006;25(8):908–913. DOI: 10.1097/01.ic.0000225711.54888.e8
- Злобин И.А., Чурашов С.В., Куликов А.Н., Чирский В.С., Черныш В.Ф., Гаврилюк И.О. Выбор тактики хирургического лечения сосудистых бельм на основе импрессионной цитологии. *Российский офтальмологический журнал*. 2022;15 (2 (Прил.)):61–68. [Zlobin I.A., Churashov S.V., Kulikov A.N., Chirsky V.S., Chernysh V.F., Gavrilyuk I.O. Choosing the tactics of surgical treatment of vascular leukomas based on impression cytology. *Russian Ophthalmological Journal = Rossiyskiy oftalmologicheskii zhurnal*. 2022;15(2 (appl.)):61–68 (In Russ.)]. DOI: 10.21516/2072-0076-2022-15-2-supplement-61-68
- Sangwan VS, Murthy SI, Vemuganty GK. Cultivated corneal epithelial transplantation for severe ocular surface disease in vernal keratoconjunctivitis. *Cornea.* 2005;24(4):426–30. DOI: 10.1097/01.ic.0000151508.49565.8a
- Kim KH, Park SW, Kim MK. Effect of age and early intervention with a systemic steroid, intravenous immunoglobulin or amniotic membrane transplantation on the ocular outcomes of patients with Stevens-Johnson syndrome. *Korean journal of ophthalmology.* 2013;27:331–340. DOI: 10.3341/kjo.2013.27.5.331. Epub 2013 Sep 10.
- Ohji M, Ohmi G, Kiritoshi A. Goblet cell density in thermal and chemical injuries. *Arch Ophthalmol.* 1987;105(12):1686–1688. DOI: 10.1001/archophth.1987.01060120084031
- Jirsova K, Dudakova L, Kalasova S. The OV-TL 12/30 clone of anti-cytokeratin 7 antibody as a new marker of corneal conjunctivalization in patients with limbal stem cell deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(8):5892–5898. DOI: 10.1167/iops.10-6748

35. Poli M, Janin H, Justin V. Keratin 13 immunostaining in corneal impression cytology for the diagnosis of limbal stem cell deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(13):9411–9415. DOI: 10.1167/iov.10-7049
36. Chaloin-Dufau C, Pavitt I, Delorme P. Identification of keratins 3 and 12 in corneal epithelium of vertebrates. *Epithelial Cell Biol*. 1993;2:120–125.
37. Kivela T, Uusitalo M. Structure, development and function of cytoskeletal elements in non-neuronal cells of the human eye. *Prog Retin Eye Res*. 1998;17:385–428. DOI: 10.1016/s1350-9462(98)00001-9
38. Barbaro V, Ferrari S, Fasolo A. Evaluation of ocular surface disorders: a new diagnostic tool based on impression cytology and confocal laser scanning microscopy. *Br J Ophthalmol*. 2010;94:926–932. DOI: 10.1136/bjo.2009.164152. Epub 2009 Sep 8.
39. Garcia I, Etxebarria J, Boto-de-Los-Bueis A. Comparative study of limbal stem cell deficiency diagnosis methods: detection of MUC5AC mRNA and goblet cells in corneal epithelium. *Ophthalmology*. 2012;119:923–929. DOI: 10.1016/j.ophtha.2011.10.031
40. Ramirez-Miranda A, Nakatsu MN, Zarei-Ghanavati S. Keratin 13 is a more specific marker of conjunctival epithelium than keratin 19. *Molecular Vision*. 2011;17:1652–1661.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации
Злобин Илья Александрович
клинический ординатор
ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0003-0981-8370>

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации
Чурашов Сергей Викторович
доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры офтальмологии им. профессора В.В. Волкова
ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0003-1197-9237>

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации
Куликов Алексей Николаевич
доктор медицинских наук, профессор, начальник кафедры офтальмологии им. профессора В.В. Волкова
ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-5274-6993>

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации
Чирский Вадим Семенович
доктор медицинских наук, профессор, начальник кафедры патологической анатомии
ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0003-3215-3901>

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации
Черныш Валерий Федорович
кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры офтальмологии им. профессора В.В. Волкова
ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0003-0122-4164>

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации
Гаврилюк Илья Олегович
кандидат медицинских наук, преподаватель кафедры офтальмологии им. профессора В.В. Волкова
ул. Академика Лебедева, 6, Санкт-Петербург, 194044, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0003-0932-2818>

ABOUT THE AUTHORS

Military Medical Academy named after S.M. Kirov
Zlobin Ilya A.
clinical resident of the Ophthalmology department named after Prof. V.V. Volkov
Academician Lebedev str., 6, Saint Petersburg, 194044, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0003-0981-8370>

Military Medical Academy named after S.M. Kirov
Churashov Sergey V.
MD, Professor, Professor of the Ophthalmology department named after Prof. V.V. Volkov
Academician Lebedev str., 6, Saint Petersburg, 194044, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0003-1197-9237>

Military Medical Academy named after S.M. Kirov
Kulikov Alexey N.
MD, Professor, head of the Department and Clinic of ophthalmology; chief ophthalmologist of the Ministry of Defense of the Russian Federation
Academician Lebedev str., 6, Saint Petersburg, 194044, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-5274-6993>

Military Medical Academy named after S.M. Kirov
Chirsky Vadim S.
MD, Professor, head of the Department of pathological anatomy; chief pathologist of the Russian Ministry of Defence.
Academician Lebedev str., 6, Saint Petersburg, 194044, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0003-3215-3901>

Military Medical Academy named after S.M. Kirov
Chernysh Valery F.
PhD, Associate Professor of the Ophthalmology department named after Prof. V.V. Volkov
Academician Lebedev str., 6, Saint Petersburg, 194044, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0003-0122-4164>

Military Medical Academy named after S.M. Kirov
Gavriluk Ilya O.
PhD, lecturer of the Ophthalmology department named after Prof. V.V. Volkov
Academician Lebedev str., 6, Saint Petersburg, 194044, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0003-0932-2818>

**BAUSCH + LOMB**

Офтальмологическая хирургическая
система Stellaris


ТОРСОН

Офтальмологический трехмерный
оптический когерентный томограф
DRI OCT Triton

**A.R.C.
LASER**

Лазерный
фотодеструктор «Q-Las»


ТОРСОН

Операционный микроскоп
OMS-800

Интраокулярная линза
ENVISTA® / ENVISTA® TORIC

Линза Akreos AO

Линза Akreos AO MI60