

ДИАГНОСТИКА ЛИМБАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ГЛАЗАХ С ТОТАЛЬНЫМИ СОСУДИСТЫМИ БЕЛЬМАМИ МЕТОДОМ ИМПРЕССИОННОЙ ЦИТОЛОГИИ

Чурашов С.В., Злобин И.А.*, Черныш В.Ф., Малафеева А.Ю.
 ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова»,
 Санкт-Петербург

DOI: 10.25881/BPNMSC.2021.29.11.020

Резюме. Основными причинами возникновения лимбальной недостаточности на глазах с сосудистыми бельмами являются ожоги, травмы, хроническое воспаление, процессы рубцевания, нарушения увлажнения глазной поверхности, излишняя хирургическая активность в лимбальной зоне и т.д. Ответ на вопрос о фенотипе эпителия, покрывающего бельмо роговицы, может дать метод импрессионной цитологии.

Цель: Дать оценку информативности метода импрессионной цитологии в диагностике лимбальной недостаточности на глазах с сосудистыми бельмами роговицы.

Методы: Под наблюдением находилось 35 пациентов (35 глаза) в возрасте от 25 до 80 лет с тотальными сосудистыми бельмами роговицы. Причинами формирования сосудистых бельм на глазах были: эндотелиально-эпителиальная дистрофия (ЭЭД) в IV стадии (n = 10); рецидивирующий метагерпетический кератит (n = 5); рецидив бельма после традиционной оптической сквозной кератопластики (n = 10); тяжелые химические ожоги (n = 10). Для определения фенотипа эпителия поверхности бельм применяли усовершенствованный метод импрессионной цитологии.

Ключевые слова: роговица, лимбальная недостаточность, импрессионная цитология.

Введение

По данным отечественных авторов удельный вес патологии роговицы среди слепых и слабовидящих людей находится в диапазоне от 4 до 5%, что коррелирует с данными ВОЗ [1; 2].

В последние десятилетия установлено, что одной из причин сосудистого помутнения роговицы является гибель стволовых клеток роговичного эпителия, которая получила название лимбальная недостаточность (ЛН) [3–5].

Основными причинами возникновения ЛН на глазах с сосудистыми бельмами являются ожоги, травмы, хроническое воспаление, процессы рубцевания, нарушения увлажнения глазной поверхности, излишняя хирургическая активность в лимбальной зоне и т.п. [6].

На международном роговичном обществе в 2012 г. предложили определение ЛН. ЛН — это заболевание глазной поверхности, вызванное снижением популяции и/или функции лимбальных стволовых клеток, приводящим к нарушению процессов репарации эпителия роговицы. Данное состояние характеризуется развитием конъюнктивализации роговицы и/или наличием других признаков эпителиальной дисфункции, таких как персистирующие или рецидивирующие эрозии роговицы с неоваскуляризацией или без нее, воспаление и рубцевание глазной поверхности [7].

DIAGNOSIS OF LIMBAL STEM CELLS DEFICIENCY IN EYES WITH TOTAL VASCULAR BELLAMS BY IMPRESSION CYTOLOGY

Churashov S.V., Zlobin I.A.*, Chernysh V.F., Malafeeva A.Yu.

S.M. Kirov Military medical academy, St. Petersburg

Abstract. The main causes of limbal stem cells deficiency (LSCD) in eyes with vascular leucorrhoea are burns, trauma, chronic inflammation, scarring processes, irregularities in the moisture of the ocular surface, excessive surgical activity in the limbal zone, etc. The answer to the question about the phenotype of the epithelium covering the corneal leucorrhoea can be given by the method of impression cytology.

Aim: To assess the information content of the method of impression cytology in the diagnosis of LSCD in eyes with vascular corneal leucorrhoea.

Materials and methods: The study included 35 patients (35 eyes) aged 25 to 80 years with total vascular corneal leucorrhoea. The reasons for the formation of vascular leucorrhoea in the eyes were: endothelial-epithelial dystrophy in stage IV (n = 10); recurrent metaherpetic keratitis (n = 5); recurrence of thorns after traditional optical penetrating keratoplasty (n = 10); severe chemical burns (n = 10). An improved method of impression cytology was used to determine the phenotype of the surface epithelium of the leucorrhoea.

Keywords: cornea, limbal stem cells deficiency, impression cytology.

Ответ на вопрос о фенотипе эпителия, покрывающего бельмо роговицы, могут дать морфологические методы исследования [8; 9]. В связи со своей доступностью, простотой и экономичностью в нашей клинике широкое распространение получил метод импрессионной цитологии (ИЦ), известный еще с исследований Egbert P.R. с соавт. (1977), как минимально агрессивный метод изучения поверхностного эпителия роговицы и конъюнктивы [10–12].

Данная работа посвящена изучению возможности ИЦ в морфологической диагностике ЛН и зрительной реабилитации пациентов с тотальными сосудистыми бельмами роговицы.

Цель исследования. Дать оценку информативности метода ИЦ в диагностике лимбальной недостаточности на глазах с сосудистыми бельмами роговицы.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 35 пациентов (35 глаза) в возрасте от 25 до 80 лет с тотальными сосудистыми бельмами роговицы.

Причинами формирования сосудистых бельм на глазах были: эндотелиально-эпителиальная дистрофия (ЭЭД) в IV стадии (n = 10); рецидивирующий метагерпетический кератит (n = 5); рецидив бельма после традиционной оптической сквозной кератопластики (n = 10); тяжелые химические ожоги (n = 10).

* e-mail: iliavma2020@gmail.com

Всем пациентам было выполнено рутинное офтальмологическое обследование с обязательным измерением суммарной слезопродукции и исследованием времени разрыва прероговничной слезной пленки.

Для определения фенотипа эпителия поверхности бельма применяли усовершенствованный метод ИЦ. [13] Забор клеточного материала осуществляли как с поверхности бельма роговицы, так и с назальной части бульбарной конъюнктивы, в месте наиболее плотной концентрации бокаловидных клеток (БК) [14].

Забор клеточного материала выполняли с помощью ацетатцеллюлозного диска «Mse membrane» 0,45 μm диаметром 8 мм. Предварительно выполнялась эпибульбарная анестезия 0,4% раствором инокаина. Экспозиция аппликации — 10 с.

Фиксацию материала осуществляли в 96% этиловом спирте с последующим окрашиванием гематоксилином и альциановым синим. С помощью световой микроскопии определяли наличие в препарате БК. Наличие таковых в микропрепаратах эпителия бельма, а также в составе эпителия конъюнктивы свидетельствовало о фенотипе поверхностного эпителия бельма роговицы.

Для морфологического подтверждения достоверности метода ИЦ эпителий трепанированного при сквозной кератопластике (СКП) диска сосудистого бельма или удаленного в ходе поверхностной кератотомии фиброваскулярного паннуса роговицы проводили гистологическое исследование. Приготовление гистологических препаратов выполняли по стандартной методике. Для выявления мукополисахаридов как маркера бокаловидных клеток в эпителии роговицы (трансплантата) проводили ШИК-реакцию.

Результаты

По результатам ИЦ пациенты были разделены на 3 группы:

Группа «А» — 23 пациентов, у которых БК в эпителии бельма не были обнаружены, но они были выявлены в назальной части бульбарной конъюнктивы.

Группа «Б» — 9 пациентов с наличием БК как в эпителии бельма роговицы, так и назальной части бульбарной конъюнктивы.

Группа «В» — 3 пациента, у которых БК не были выявлены ни в эпителии бельма роговицы, ни в назальной части бульбарной конъюнктивы.

Также при гистологическом исследовании эпителия роговичных дисков, иссеченных при СКП у всех пациентов группы «А», бокаловидных клеток в его составе также обнаружено не было. У пациентов группы «Б» в эпителии иссеченного в ходе лимбальной трансплантации и поверхностной кератэктомии фиброваскулярного паннуса роговицы, по данным гистологического исследования, в составе цилиндрического эпителия были обнаружены БК. Группа «В» была исключена из исследования, поскольку у пациентов данной группы был выявлен синдром сухого глаза средней тяжести по классификации Е.Е. Сомова

(2008), были даны рекомендации по дальнейшему лечению, а пациенты взяты под наблюдение.

Усовершенствованная методика ИЦ при проведении морфологического, визуально-количественного анализа позволяет определить морфологический статус эпителия роговичного бельма и по его характеру разделить пациентов на три группы. Оказалось, что из 35 глаз с сосудистыми бельмами роговицы роговичный фенотип имел место на 23 (65%) глазах.

Случаи с конъюнктивальным эпителием составили 9 (25%) глаз. Данные ИЦ во всех случаях были подтверждены как при цитологическом исследовании назальной части бульбарной конъюнктивы у пациентов групп «А» и «Б», так и при гистологическом исследовании эпителия роговичных дисков, иссеченных из бельма при сквозной кератопластике, и эпителия фиброваскулярного паннуса, удаленного при лимбальной трансплантации (ЛТ) в ходе поверхностной кератэктомии.

Случаи, в которых по данным ИЦ фенотип эпителия установить не удалось составили 3 (10%) глаз.

Результаты ИЦ являются основанием для разделения пациентов по показаниям к выполнению СКП (на глазах с роговичным эпителием бельма) или ЛТ (при бельмах с эпителием конъюнктивального фенотипа). Проведенное пациентам оперативное лечение подтвердило правильность выделения этих групп.

Полученные данные подтвердили возможность исследования характера эпителия на глазах с сосудистыми бельмами с помощью ИЦ при решении вопроса о показаниях к оптическо-реконструктивным операциям на глазах с тотальными сосудистыми бельмами.

Выводы

1. ИЦ является доступной и достаточно точной методикой диагностики, позволяющей производить оценку фенотипа эпителия, покрывающего роговицу.
2. Результаты ИЦ позволяют разделять пациентов по показаниям к выполнению СКП (на глазах с роговичным эпителием бельма) или ЛТ (при бельмах с эпителием конъюнктивального фенотипа).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов (The authors declare no conflict of interest).

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Нероев В.В. Организация офтальмологической помощи населению Российской Федерации // Вестник офтальмологии. — 2014. — Т.130, №6. — С. 8–12. [Neroev VV. Organization of ophthalmological care for the population of the Russian Federation. Bulletin ophthalmology. 2014; 130(6): 8–12. (In Russ).]
2. World Health Organization. Global data on visual impairments 2010. World Health Organization. Geneva: WHO, 2012: 17.
3. Черныш В.Ф., Бойко Э.В. Ожоги глаз — состояние проблемы и новые подходы. — СПб.: ВМА, 2008. — С. 133. [Chernysh VF, Boiko EV. Eye burns — the state of the problem and new approaches. SPb: VMA; 2008: 133 (In Russ).]
4. Dua HS. Limbal stem cell deficiency: concept, aetiology, clinical presentation, diagnosis and management. Indian J of Ophthalmol. 2000; 48(2): 83–92.

5. Holland EJ. The evolution of epithelial transplantation for severe ocular surface disease and a proposed classification system. *Cornea*. 1996; 15: 549–556.
6. Танаева Х.Д. Лимбальная трансплантация как способ индукции локальной иммунной толерантности при кератопластике высокого риска // Вестник трансплантологии и искусственных органов. — 2011. — Т.8 — №2. — С. 95–102. [Tanaeva KhD. Limbal transplantation as a method of induction of local immune tolerance in high-risk keratoplasty. *Bulletin of Transplantology and Artificial Organs*. 2011; 8(2): 95–102. (In Russ).]
7. Global consensus on definition, classification, diagnosis, and staging of limbal stem cell deficiency. *Cornea*. 2019; 38(3): 364–437. doi: 10.1097/ICO.0000000000001820.
8. Федоров А.А. Морфологические основы научных исследований в офтальмологии // Вестник офтальмологии. — 2013. — № 5. — С.10–22. [Fedorov AA. Morphological foundations of scientific research in ophthalmology. *Bulletin of ophthalmology*. 2013; 5: 10–22. (In Russ).]
9. Шапиро Н.А. Принципы цитологической диагностики злокачественных опухолей: цветной атлас // Репроцентр М. — 2008. — С. 350. [Shapiro NA. Principles of cytological diagnosis of malignant tumors: color atlas. *Reprocentr M*; 2008: 350. (In Russ).]
10. Egbert PR. A simple conjunctival biopsy. *Am. J. Ophthalmol*. 1977; 84(6): 798–801. doi: 10.1016/0002-9394(77)90499-8.
11. Nelson JD. Impression cytology. *Cornea*. 1988; 7(1): 71–81.
12. Singh R. Impression cytology of the ocular surface. *Br. J. Ophthalmol*. 2005; 89: 1655–59. doi: 10.1136 / bjo.2005.073916.
13. Гаврилюк И.О., Кликов А.Н., Черныш В.Ф. и др. Усовершенствование методики подготовки препаратов эпителия роговицы для импрессионной цитологии с целью витальной оценки его фенотипа в эксперименте // Современные технологии в офтальмологии. — 2017. — № 4. — С. 55–57. [Gavrilyuk IO, Kulikov AN, Chernysh VF et al. Improvement of the method of preparation of preparations of the corneal epithelium for impression cytology for the purpose of vital assessment of its phenotype in the experiment. *Modern technologies in ophthalmology*. 2017; 4: 55–57. (In Russ).]
14. Zuazo F. Conjunctival impression cytology in patients with normal and impaired OSDI scores. *Arch.soc. esp. oftalmol*. 2014; 89(10): 391–396. doi: 10.1016/ j.oftal.2014.04.013.