

11. Gherghel D., Hosking S.L., Mantry S. Corneal pachymetry in normal and keratoconic eyes: Orbscan II versus ultrasound // J. Cataract Refract. Surg. – 2004. – Vol. 30, N 6.
12. Hollingsworth J.G., Bonshek R.E., Efron N. Correlation of the appearance of the keratoconic cornea in vivo by confocal microscopy and in vitro by light microscopy // Cornea .- 2005.- Vol. 24, N 4.
13. Lambiase A., Merlo D., Mollinari C. Molecular basis for keratoconus: Lack of TrKA expression and its transcriptional repression by Sp3 // Proc. Natl. Acad Sci. USA. – 2005. – Vol. 102, N 46.
14. Балашевич Л.И., Качанов А.Б., Никулин С. А. Некоторые особенности ранней диагностики кератоконуса // Материалы IV Евро-Азиатской конф. по офтальмохирургии Раздел II. – Екатеринбург, 2006.
15. Горскова Е.Н., Севостьянов Е.Н. Характеристика апикальной вершины роговицы при кератоконусе по данным видеокератографии // Актуальные вопросы медицины. Материалы научн.- практ. конф., посвящ. 66-летию Челяб. Обл. клин. Б-цы. – Челябинск, 2004.
16. Зиангирова Г.Г., Антонова О.В. Причины некробиоза и апоптоза роговичных эпителиальных клеток в течении первичного приобретенного кератоконуса // Известия Академии наук Сер. Биологическая. – 2002.- № 5.
17. Каспарова Е.А. Ранняя диагностика, лазерное и хирургическое лечение кератоконуса: Автореф. дис. канд мед. наук // Москва, 2003.
18. Костин О.А., Ульянов А.Н., Шиловских О.В. Epi-LASIK в лечении начальных стадий кератоконуса // Материалы IV Евро-Азиатской конф. по офтальмохирургии Раздел II. – Екатеринбург, 2006.
19. Мурова Л.Х. Коррекция кератоконуса жесткими газопроницаемыми контактными линзами: Автореф. дис. канд мед. наук // Уфа, 2005.
20. Севостьянов Е.Н., Горскова Е.Н. Кератоконус // Челябинск. Издательство «ПИРС». 2006.
21. Слонимский А.Ю. Тактика ведения больного при остром кератоконусе // Клинич. Офтальмология. – 2004. – Т. 5, № 2.

CARACTERISTICA CITOMORFOLOGICĂ A CONJUNCTIVEI ÎN SINDROMUL DE „OCHI USCAT” LA PURTĂTORII DE LENTILE DE CONTACT

Iulia Lopata

Catedra Oftalmologie USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

The cytomorphology characteristics of conjunctiva in the “dry eye” at the contact lens wearers

The diagnosis of dry eye is a very important problem. In this work the autor presents the cytomorphology study of the conjunctiva at the contact lens wearers with dry eye grade I and grade II, in comparation with a group of wearers of contact lenses without signs of dry eye.

Rezumat

Diagnosticul sindromului de „ochi uscat” reprezintă o problemă importantă la ziua de azi. În lucrare este prezentat rezultatul studiului citomorfologic a conjunctivei la purtătorii de lentile de contact cu sindrom de „ochi uscat” grad I și grad II, în comparație cu un lot de control - purtători de lentile de contact fără semne de uscăciune oculară.

Actualitatea temei

Anterior majoritatea cercetărilor asupra acțiunii biologice ale lentilelor de contact asupra globului ocular a fost orientată către studii a corneei. Conjunctivita papilară, apărută la purtătorii de lentile de contact, a atras atenția cliniciștilor la conjunctiva palpebrală [Efron, 1997]. Acum e clar, că din cauza deosebirilor morfologice, funcționale și imunologice este necesar de a studia toate porțiunile de conjunctivă.

Pentru a mări interesul către studiul sindromului de „ochi uscat” (SOU) între învățații tineri din Germania și pentru a menține eforturile lor, compania Dr.Mann Pharma, Berlin a înmînat asociației oftalmologilor profesionali din Germania (BVA) premiul pentru cea mai bună lucrare. Dr. Erich Knop și Dr. Frank Shira au fost învingătorii pentru cercetări în studierea structurii criptelor conjunctivale prin metoda imunohistologică, prin scanare și microscopie electronică. Ei au dovedit, că suprafața conjunctivei care pare netedă la examen biomicroscopic are o structură tridimensională. Aceasta este descris și în histologia secolului IX, dar în literatura de azi nu se dă atenție. În unele cripte au fost depistate celule caliciforme în cantitate mare, cunoscute prin funcția lor secretorie. De rînd cu ele au fost găsite și alte celule secretorii. Studiarea ultrastructurii a arătat prezența glandulocitelor cu granule apicale secretorii. Criptele conjunctivale sînt o parte a sistemului imune, de ce ne dovedește depistarea în regiunea lor a foliculilor limfatici

Epiteliul conjunctival se socotea asemănător cu cel a corneei, dar la examene mai detaliate s-a dovedit, că este de o altă genă. Epiteliul corneean se dezvoltă din celulele tronculare ale limbului, pe cînd epiteliul conjunctival – din celulele tronculare a fornixurilor [Wei et al., 1993; Wei et al., 1995]. De la celulele tronculare a fornixurilor celulele migrează prin două căi. Una - de la fornix către conjunctiva bulbară și limb, alta - către conjunctiva palpebrală și rebordurile palpebrale.

La formarea lacrimii ea parte nu numai glanda lacrimală, dar și celulele caliciforme și cele epiteliale. În conjunctivă se află antigeni superficiali, molecule alipite prin adezivitate și citochine [Hingorani et al., 1998]. Celulele inflamatorii, produse de către conjunctivă, asigură o stare normală a suprafeței oculare [Begley et al., 1998].

Celulele caliciforme provin din aceleași celule predecesorii, ca și celulele conjunctivale [Wei et al., 1996]. Celulele caliciforme pot fi colectate și studiate prin metoda de citologie prin impregnare (infundare). În literatură este descrisă doar conjunctiva bulbară (este mai accesibilă pentru studiu). Celulele caliciforme și alte glande lacrimale accesorii sînt repartizate pe toată conjunctiva, inclusiv în porțiunea tarsală a conjunctivei palpebrale [Bergmanson et al., 1999]. Celulele bulbare secretă molecule de mucină (MUC), care într-o formă de hidratare devin componente importante structurale și funcționale ale filmului lacrimal [Inatomi et al., 1996]. Se deosebesc nouă tipuri de mucină, numerotate de la MUC 1 pînă la MUC 8 cu două MUC 5. MUC 1 este o mucină membrano – aglutinantă, care datorită moleculelor cu dimensiuni mari este capabilă de a ieși după stratul de glicocalicși, pentru a preîntîmpina adeziunea bacteriilor la suprafață [Inatomi et al., 1995]. Posibil că MUC 1 aderă și la membrana celulară a conjunctivei, și a corneei [Inatomi et al., 1995], dar unii autori se îndoiesc de prezența lui în epiteliul corneean [Jumblatt et al., 1999]. Unul dintre mucine MUC 5 (MUC 5 AC) este primit din lacrimă cu fișiiile Shirmer [Jumblatt et al., 1999], dar fracțiunile lacrimale, colectate special din filmul lacrimal nu au fost studiate. Este dovedit, că tot epiteliul conjunctival superficial produce mucină pentru filmul lacrimal [Watanabe et al., 1995]. În celulele tractului gastrointestinal și celulele aparatului respirator, unde mucinele sunt bine studiate, ele funcționează ca niște bufere, antioxidante și inhibitori ai adeziunii bacteriene. Un rol asemănător a mucinelor specifice oculare nu este încă descris [Jumblatt et al., 1999].

Stratul intern mucinic e format din mucopolizaharide acide, ce se află în stare de gel și săruri. Stratul mucinic este foarte subțire (0,02-0,05 mkm) și ocupă doar 0,5% din toată grosimea filmului lacrimal [Haberich F.J. et al., 1982]. În componența lui au fost depistate molecule polare de glucozaminoglicane, ce se referă la mucopolizaharide acide [Dohlman C.H. et al., 1976; Haberich F.J., 1982; Iwata S., 1971]. Pînă în prezent nu este dovedită proveniența lor adevărată.

Unii autori presupun, că sinteza de mucină are loc în celulele epiteliale ale corneei și conjunctivei, care se află la suprafață [Iwata S. et al., 1971], alții – în celulele caliciforme Becher a conjunctivei [Holly F.J., 1973, 1987]. Sunt aduse date despre caracterul parțial mucos ale glandelor lacrimale accesorii a conjunctivei [Haberich F.J. et al., 1982; Holly F.J., 1987].

Cea mai interesantă este ipoteza lui Haberich F.J. și Lingelbach B., conform căreia porțiunea nesolubilă a astratului de mucină, care vine în contact cu membrana superficială a epiteliului conjunctival și corneean este produsă chiar de celulele epiteliale. În același timp cavitățile dintre micropilii și micropliurile acestei membrane, deja acoperite de stratul de mucină bazal, conțin compuși mucoproteici solubili în apă, care se secretă de celulele Becher și glandele lacrimale accesorii a conjunctivei.

Starea de bine a țesuturilor superficiale oculare este determinată de starea normală a structurilor oculare [Liotet et al., 1987; Versura et al., 1999]. Astfel suprafața oculară este o unitate funcțională, ce constă din epiteliul corneean și conjunctival, filmul lacrimal (FL) și alte structuri [Versura et al., 1999]. La schimbarea calității funcționale, fizice sau chimice a unei dintre aceste structuri se dereglează balanța între ele și apar simptome de disconfort vizual, simptome de inflamare subclinică și schimbări citologice [Tseng et al., 1984; Versura et al., 1999].

Biomicroscopia părții anterioare a globului ocular și determinarea stării FL la pacienții cu SOU ne oferă o informație insuficientă despre calitatea FL și despre structurile, ce participă la formarea lui, deaceia este foarte importantă aprecierea stării epiteliului conjunctival și a celulelor caliciforme în cazul patologiei date. Examenul citomorfologic nu a primit o aplicare largă în practica oftalmologului pentru diagnosticarea patologiei oculare. Pentru un studiu desfășurat al stării epiteliului conjunctival și al celulelor caliciforme am efectuat examenul citomorfologic al acestor structuri.

Obiectivele studiului

A studia schimbările citomorfologice ale epiteliului conjunctival și ale celulelor caliciforme în SOU de diferit grad la purtătorii de lentile de contact.

Materiale și metode de cercetare

S-a efectuat examenul citomorfologic a amprentei conjunctivale la 20 pacienți (40 ochi) cu sindrom de “ochi uscat” grad I și 20 pacienți (40 ochi) cu SOU grad II. Lot de control au fost 20 pacienți (40 ochi) purtători de lentile de contact fără semne subiective și obiective de sindrom de “ochi uscat”.

S-a colectat materialul în felul următor: cu hîrtie de filtru s-au făcut cîteva mișcări pe conjunctiva fornixului inferior și conjunctiva palpebrală, care s-a aplicat ulterior pe lamela de sticlă. S-a efectuat fixarea și colorația după Himze.

Frotiul primit a fost studiat la microscop. În frotiul colorat după Himze celulele caliciforme a conjunctivei Becher se deosebesc după colorația în roz a citoplazmei, care completează aproape întreaga celulă, împingînd nucleul spre membrana ei. Cantitatea acestor celule la pacienții cu SOU, ce se dezvoltă pe fondul dereglării producerii de mucină, scade progresiv. La un astfel de examen la unii pacienți se pot depista distrofia celulelor epiteliale. Ele se deosebesc printr-un nucleu picnotizat și o citoplasmă colorată palid - blue.

Criteriile citologice de studiu sunt expuse după metoda Kruse F.E., 1985 [2] (*tab.1*).

Rezultatele au fost apreciate după baluri (*tab.2*) [Schilling H.J., Koch J.M., Waubke T.N.].

Tabelul 1

Criteriile citologice (după Kruse F.E.)

Criteriile	Stare normală	Stare patologică
Complexul celular lateral	Se conține	Lipsește
Corelația între nucleu și citoplasmă	De la 1:1 pînă la 2:1	4:1 și mai mult
Nucleele celulelor	Ovale omogene	Alungite, anizomofia nucleelor, endomitoze
Celulele caliciforme	În cantitate mare	Puține sau lipsesc
Descuamarea celulelor	Nu este	Prezentă

Tabelul 2

Rezultatele după baluri

Corelația nucleu nucleu/citoplasmă (0-3 puncte)	1:1-2:1	0 puncte
	3:1-4:1	1 puncte
	5:1-7:1	2 puncte
	8:1 și mai mult	3 puncte
Schimbarea nucleului 0-3 puncte	Izomorfia	0 puncte
	Izomorfia ușoară	1 puncte
	Anizomorfia, alungite și/ sau celule multinucleare si/sau sunt prezente	3 puncte
	endomitoze	
	Anizomorfia, alungite și/ sau celule multinucleare și/sau endomitoze multiple	3 puncte
Celulele sub formă de colbă 0-2 puncte	În normă	0 puncte
	Aproape că nu sunt	1 puncte
	Nu sunt	3 puncte
Distrofia 0-1puncte	Absentă	0 puncte
	Prezentă	1 puncte

Clasificarea după stadiu este elucidată în *tabelul3*.

Tabelul 3

Clasificarea după stadiu

Puncte	Stadiu
0-2 puncte	Stadiu 0
3-4 puncte	Stadia 1
5-7 puncte	Stadiu 2
8-9 puncte	Stadia 3

Stadiu 0 – varianta normei

Stadiu 1 – corespunde formei ușoare de evoluție a sindromului de “ochi uscat”

Stadiu 2 – forma medie

Stadiu 3 – forma gravă.

Rezultate

Rezultatele examinării amprentei conjunctivale în loturile de studiu și de control sunt prezentate în tabelul 4.

Examinarea amprentei conjunctivale a evidențiat în lotul de control 2 (5%) cazuri de izomorfie nucleară ușoară și 3 (7,5%) cazuri de scădere a numărului de celule caliciforme. Alte schimbări în lotul de studiu nu s-au depistat.

Tabelul 4

Indicii citomorfologici la pacienții cu SOU și din lotul de control

Nr.	Modificările microscopice	SOU grad I		SOU grad II		Lot de control	
		Nr. de ochi (40)	%	Nr. de ochi (40)	%	Nr. de ochi (40)	%
1.	Schimbări microscopice (corelația între nucleu și citoplasmă):						
	1:1	5	12,5	-	-	34	85,0
	2:1	3	7,5	2	5,0	6	15,0
	3:1	23	57,5	13	32,5	-	-
	4:1	9	22,5	18	45,0	-	-
	5:1	-	-	7	17,5	-	-
	6:1	-	-	-	-	-	-
	7:1	-	-	-	-	-	-
2.	Schimbări de nucleu:						
	izomorfie	15	37,5	4	10,0	38	95,0
	izomorfie ușoară	23	57,5	24	60,0	2	5,0
	anizomorfie	2	5,0	12	30,0	-	-
	celule multinucleare	-	-	-	-	-	-
3.	Celule sub formă de colbă						
	în normă	10	25,0	-	-	27	67,5
	aproape nu sînt	26	65,0	6	15,0	3	7,5
	absente	4	10,0	34	85,0	-	-
4.	Distrofie celulară:						
	absentă	10	25,0	2	5,0	40	100
	prezentă	30	75,0	38	95,0	-	-
Indexul citomorfologic		3,225±0,151		6,275±0,479		0,15±0,057	
Veridicitatea în raport cu lotul de control		P<0,001		P<0,001			

O mărire a volumului nucleului față de citoplasmă s-a depistat în 70 (87,5%) cazuri la purtătorii de LC cu SOU: în 32 (45,7%) cazuri în SOU grad I și în 38 (54,3%) cazuri în SOU grad II. Corelația 3:1a avut loc în 36 (51,4%) cazuri; 4:1 în 27 (38,6%) cazuri și 5:1 în 7 (10,0%) cazuri.

Schimbări de nucleu au avut loc în 61 (76,3%) cazuri, dintre care izomorfie ușoară în 47 (77,0%) cazuri și anizomorfie în 14 (23,0%) cazuri.

Scăderea cantității de celule caliciforme la examenul amprentei conjunctivale s-a constatat în 32 (40%) cazuri. Lipsa celulelor caliciforme a avut loc în 38 (47,5%) cazuri.

Distrofia celulară s-a confirmat în 68 (85%) cazuri.

La pacienții cu SOU grad I corelația nucleu - citoplasmă 3:1 s-a apreciat în 23 (57,5%) cazuri și 4:1 în 9 (22,5%) cazuri. Izomorfie ușoară a avut loc în 23 (57,5%) cazuri. Anizomorfie de nucleu a fost în 2 (5%) cazuri. Un număr scăzut de celule goblet s-a constatat în 26 (65%)

cazuri. Lipsa celulelor caliciforme s-a stabilit în 4 (10%) cazuri. Distrofia celulelor epiteliale a avut loc în 30 (75%) cazuri.

Indexul citomorfologic la purtătorii de lentile de contact (LC) cu SOU grad I a fost $3,225 \pm 0,151$ (veridicitatea în raport cu lotul de control – $p < 0,001$).

În grupul purtătorilor de LC cu SOU grad II corelație nucleu - citoplasmă 3:1 s-a determinat în 13 (32,5%) cazuri, 4:1 în 18 (45,0%) cazuri și 5:1 în 7 (17,5%) cazuri. Izomorfie ușoară s-a stabilit în 24 (60,0%) cazuri și anizomorfie în 12 (30,0%) cazuri. Un număr scăzut de celule goblet a fost în 6 (15,0%) cazuri. Lipsa acestui tip de celule a avut loc în majoritatea cazurilor - 34 (85,0%). Distrofia celulară a predominat în acest grup, fiind prezentă în 38 (95,0%) cazuri.

Indexul citomorfologic a fost la purtătorii de LC cu SOU grad II - $6,275 \pm 0,479$ (veridicitatea în raport cu grupul de control a fost $p < 0,001$).

Modificările date sunt într-o legătură corelativă pozitivă înaltă cu schimbările biomicroscopice ($\rho = 0,98$) și cu modificările FL ($\rho = 0,99$).

Astfel s-a confirmat că odată cu mărirea gradului de afectare cu SOU crește indexul citomorfologic, care denotă schimbări ale epiteliului conjunctival și ale celulelor caliciforme.

Studiul efectuat confirmă datele expuse de alți autori, că la pacienții cu SOU schimbările citologice se referă atât la celulele caliciforme, cât și la celulele epiteliale a conjunctivei, în particular, conform datelor J.D.Nelson și J.C.Wright [1984, 1994], J.R.Wittpenn [1986].

Concluzii

Este argumentată includerea la etapa de diagnostic a pacienților cu suspexție la sindrom de „ochi uscat” a examenului citomorfologic al amprentei conjunctivale.

Bibliografie

1. Horwath J., Schmut O. The Influence of Environmental Factors on the Development of Dry Eye. *Contactologia* 2000, (22):21-29.
2. Kruse F.E.//*Ophthalmology*. Vol.92, 1985, p.34-51.
3. Nelson JD, Ubels JL. *Dry Eye Syndromes. A handbook for diagnosis and management.* - Alcon Laboratories, 1991.
4. Tseng S.C.G.//*Ophthalmology*. Vol.92. 1985, p.728-733.
5. Бржевский В.В., Сомов Е.Е. Роговично-конъюнктивальный ксероз (диагностика, клиника, лечение) – СПб. Издательство „Сага”, 2002, 145 стр.
6. Тост Ф., Дункер Г., Дрожжина Г.И.// *Офтальмол. журн.*-№3, 1999, стр. 192-195.