

МОРФОЛОГІЧНІ ТА ФЕНОТИПОВІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН КОН'ЮНКТИВИ У ХВОРИХ НА СИНДРОМ "СУХОГО ОКА" В ПЕРІМЕНОПАУЗИ

Антоненко О.В.¹, Скрипник Р.Л.¹, Тихончук Н.А.², Юрченко О.В.³

¹ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

² Київська міська клінічна лікарня № 9, м. Київ, Україна

³ Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології імені Р.Е. Кавецького НАНУ, м. Київ, Україна

Ключові слова: гормональна дисфункція, синдром "сухого ока", морфологічне, імуноцитохімічне дослідження, келихоподібні клітини.

Проблема синдрому "сухого ока" (ССО) за останні роки обумовлена значною розповсюдженістю цього захворювання і зниженням якості життя пацієнтів. На проведеному в 2007 році Міжнародному семінарі по ССО (DEWS) було визначено, що це багатовфакторне захворювання слезного апарату і поверхні ока, яке проявляється симптомами очного дискомфорту, порушенням зору і стабільності СП з потенціальним ураженням поверхні ока [1, 3, 5, 6, 8, 13, 14, 15]. Патологічні зміни рогики, що властиві ССО внаслідок порушення стабільності прекорнеальної слізної плівки, супроводжуються вираженим суб'єктивним дискомфортом і розвитком специфічних ксеротичних змін кон'юнктиви і рогики.

В структурі всіх хворих офтальмологічного профілю розповсюдженість ССО досягає 45%. Співвідношення пацієнтів в сторону жінок збільшується у віці 45-65 років. Отримані за останні роки дані розповсюдженості ССО серед жінок, старших 40 років, в Україні – 57,3%, за результатами скринінгового епідеміологічного дослідження "DE-Screen", співвідносяться зі світовими даними – близько 70% [5, 9, 18, 19].

Зміни гормонального статусу у жінок в періменопаузі займають окреме місце серед багаточисельних офтальмологічних і системних захворювань, що призводять до розвитку ССО. Прогресивне збільшення тривалості життя жінок, висока частота клімактеричних розладів (до 48%) і, тиким чином, зниження якості життя обумовлюють актуальність проблеми діагностики і лікування ССО у жінок в клімактерії [2, 10, 16, 17].

Самопочуття жінки, яке визначає не тільки стан фізичного та психічного комфорту, а також працездатність жінок, можливість виконувати різноманітні соціальні функції, залежить від течії клімактеричного періоду. Вазомоторні та емоціонально-психічні порушення в періменопаузі проявляються у вигляді клімактеричного синдрому (КС) різного ступеню вираженості. Порушення, що виникають на фоні вікових інволютивних змін в організмі характеризуються поліморфізмом скарг пацієнтів. Саме в цей період надто важливе лікувальне втручання для поліпшення загального стану і підвищення якості життя.

При цьому, окрему групу складають пацієнтки, що знаходяться в стані хірургічної менопаузи. Після овариєктомії у жінок репродуктивного віку виникають багаточисленні вегето-судинні, психоемоційні та обмінно-ендокринні розлади у 60–80% пацієнток. При цьому, після операції, виконаної у віці 45–50 років, постоварієктомічний синдром (ПОЕС) розвивається у кожній другій жінки, у 25% пацієнток ПОЕС має важкий та довгий, до 2–5 років, перебіг [4, 11, 12].

Виникаючий дефіцит статевих стероїдів, як наслідок, викликає системні порушення різних органів, впливає на функціонування слезних, мейбомієвих залоз, а також келихоподібних клітин кон'юнктиви, що лежить в основі патогенезу ССО у жінок в періменопаузі та призводить до морфологічних та імуноцитохімічних зрушень у структурах, які приймають участь у формуванні складових слезної плівки [20, 21, 22]. При зміні рівня статевих стероїдів у жінок з ССО при гормональній дисфункції важлива специфічна візуалізація в тканинах не тільки різних клітин, а також гормонів та їх рецепторів, що можливо дослідити за допомогою морфологічних та імуноцитохімічних методик.

Отримати достовірну інформацію щодо стану клітин кон'юнктиви і вивчення морфологічних змін очної поверхні дозволяє метод імпресійної цитології. Гістологічне дослідження кон'юнктиви показало присутність запалення у хворих з первинним ССО, яке мало дифузний або вогнищевий характер з переважанням в інфільтраті клітин лімфоплазмодитарного ряду, що свідчить про хронічний стан запалення [7, 23].

Наявність рецепторів естрогенів та прогестерону в клітинах кон'юнктиви ока свідчить про чутливість клітин до дії цих гормонів. Застосування полімеразної ланцюгової реакції (ПЛІР) та Вестерн-блот аналізу встановило присутність рецепторів естрогенів та прогестерону у кон'юнктиві ока у жінок, які знаходяться у періменопаузальному періоді, що дозволяє припустити, що клітини кон'юнктиви ока є мішенями для цих гормонів [24, 25]. Але в теперішній час немає єдиної думки щодо фенотипових особливостей кон'юнктиви і розвитком ССО.

Мета дослідження: вивчення морфологічних та імуноцитохімічних особливостей клітин кон'юнктиви пацієнтів, які страждають на ССО на тлі КС та ПОЕС.

Матеріали та методи дослідження. Було обстежено 27 жінок віком від 38 до 65 років. Пацієнтки були поділені на 3 групи. В першу групу ввійшли 11 хворих на ССО з КС, в другу – 8 пацієнок з ПОЕС, в третю – 8 жінок тієї ж вікової групи, які не відмічають скарг зі сторони очей і пов'язаних зі станом менопаузи. Всім обстежуваним було виконано морфологічне та імуноцитохімічне обстеження з використанням фільтрів корпорації Millipore Millicell-CM 0,4 mm (США).

Морфологічне дослідження проводили за допомогою методу імпресійної цитології кон'юнктиви. Препарати фарбували за методом Май-Грюнвальда-Гімза. Для визначення експресії рецепторів стероїдних гормонів (рецепторів естрогену, прогестеронів та тестостерону) імуноцитохімічним флуоресцентним методом з поверхні кон'юнктиви використовували вторинні антитіла, мічені FITC (Jacksonimmunoresearch, США). Ядра клітин дофарбовували Hoechst 33258 (Sigma, США). Фільтри укладали в середовище Mowiol® 4-88. Аналіз препаратів проводили з застосуванням флуоресцентного мікроскопу Leica DM 1000 (Німеччина).

Результати досліджень. При аналізі результатів імпресійної цитології враховували кількість та щільність розташування келихоподібних клітин в полі зору мікроскопу при середньому збільшенні (x400), форму та цитологічні особливості епітеліальних клітин та їх міжклітинні сполучення.

Цитологічне дослідження відбитків кон'юнктиви 3-ої групи показав, що епітеліоцити розташовані групами у вигляді пластів, щільно контактують один з одним. Їх цитоплазма має мілкодисперсну будову, слабо базофільна. Ядра багатьох клітин мають добре організований хроматин, який має помірну конденсовану форму, і в якому присутні переважно ділянки гетерохроматину, серед яких розташовується менш щільні скупчення дифузного еухроматину. Між поверхневими епітеліальними клітинами знаходяться келихоподібні клітини, які відрізняються більшим розміром та більш базофільною цитоплазмою (рис. 1).

У хворих 1-ої групи було виявлено зменшення розміру епітеліальних клітин. Значні ділянки складаються з окремо розташованих клітин, які не утворюють контакти між собою. Серед пласту епітеліальних клітин ще знаходяться келихоподібні клітини, але кількість їх зменшується (рис. 2).

Дослідження цитологічних властивостей кон'юнктиви хворих 2-ої групи дозволило встановити, що значна кількість клітин має незначні ознаки дистрофії, при цьому контури клітин стають розпливчати, виглядають роздутими, відбувається їх десквамація. Спостерігається клітинний поліморфізм, а також деякі клітини знаходяться у стані некробіозу. Визначена наявність значної кількості епітеліальних клітин, які мають незначні ознаки дистрофії, розташовуються у вигляді окремих клітин, без утворення клітинних пластів. Келихоподібні клітини не спостерігаються (рис. 3).

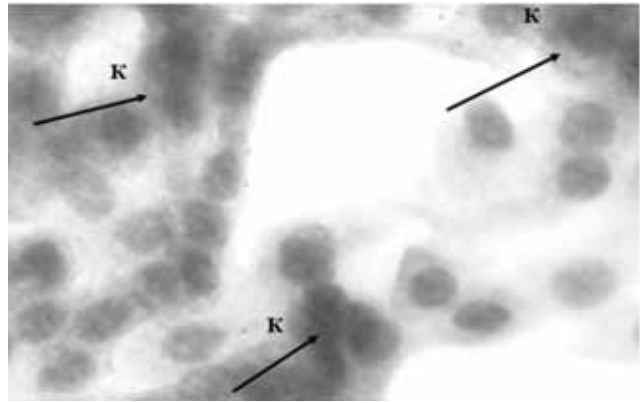


Рис. 1. Цитологічні особливості кон'юнктиви хворих 3-ої групи. Серед епітеліоцитів присутні келихоподібні клітини (К) більшого розміру та базофільною цитоплазмою. Зб. 200.



Рис. 2. Цитологічні особливості кон'юнктиви хворих 1-ої групи. Окремо розташовані епітеліальні клітини кон'юнктиви майже не утворюють міжклітинні контакти. Зб. 400.

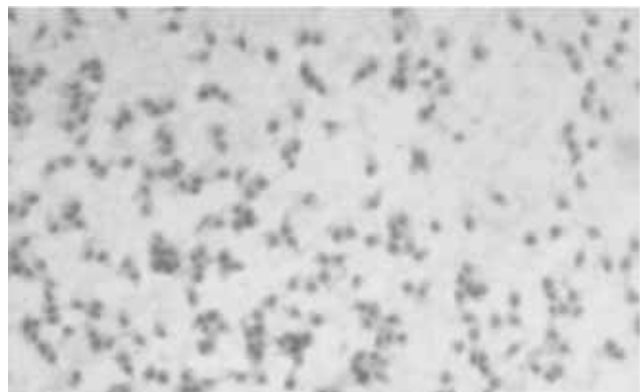


Рис. 3. Цитологічні особливості кон'юнктиви хворих 2-ої групи. Відсутність келихоподібних клітин в місцях вільного розташування епітеліальних клітин. Зб. 200.

Основні зміни в цитологічній будові кон'юнктиви хворих з ССО на тлі гормональної дисфункції стосуються насамперед зменшення розмірів епітеліоцитів, відсутність їх латерального з'єднання, поява клітин з ознаками дистрофічних процесів та зменшення кількості келихоподібних клітин.

Визначення експресії рецепторів естрогенів та прогестерону за допомогою імуноцитохімічного методу дослідження на клітинах кон'юнктиви жінок 3-ої групи дозволило встановити, що більшість клітин в ядрах експресують рецептори цих гормонів, але рівень флуоресценції був в межах середньої інтенсивності.

У хворих 1-ої групи визначена відсутність експресії рецепторів естрогенів. При флуоресцентному дослідженні клітини майже не визначаються, в той час як при дофарбовуванні Hoechst 33258 можна спостерігати значну кількість клітин у полі зору флуоресцентного мікроскопа, які мають блакитне освітлення ядра. При визначенні експресії рецепторів прогестерону лише поодинокі клітини мають слабо зелене світіння ядер, що свідчить про невелику кількість в їх ядрах зазначених рецепторів, в той час як в значній більшості ядер клітин флуоресценція не визначається і таким чином рецептори прогестерону не експресуються.

Імунофенотипове дослідження кон'юнктиви у хворих 2-ої групи виявило відсутність рецепторів естрогенів та прогестерону у даної групи пацієнтів. В препаратах не спостерігається флуоресценція, в той час як при зафарбовуванні Hoechst 33258 спостерігається значна кількість клітин, які містяться у відбитку, і мають блакитне світіння.

За допомогою флуоресцентної імуноцитохімії визначено зникнення з ядер клітин рецепторів стероїдних гормонів, що може призвести до припинення дії відповідних гормонів (естрогенів, прогестерону), навіть якщо вони синтезуються в організмі хворого.

Висновки. Вивчення ССО на тлі КС та ПОЕС потребує комплексного підходу, з урахуванням морфологічного та імуноцитохімічного досліджень, метою якого є більш детальне пізнання механізмів виникнення ССО для пошуку оптимальних шляхів його подолання. Найбільш виразні цитологічні зміни стосуються значно зменшення кількості келихоподібних клітин, що призводить до неможливості збереження постійної вологості ока. Крім того, недостатня кількість келихоподібних клітин відповідає за зменшення гранул *муциногену*, які адсорбують воду та перетворюються на муцин, що є основним компонентом слизу. Отримані дані щодо відсутності рецепторів гормонів на фоні зменшення їх кількості свідчать про виникаючі зміни стану очної поверхні, що є одним з механізмів в патогенезі захворювання на ССО.

Дослідження особливостей морфологічного та фенотипового складу клітин кон'юнктиви хворих на ССО на тлі гормональної дисфункції є доцільним для визначення лікувальної тактики для підвищення якості життя цієї категорії пацієнток.

Рецензент: д.мед.н., професор
Вітовська О.П.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аветисов С. Э. *Офтальмология: Национальное руководство*. / Под редакцией С. Э. Аветисова и др. // – М.: "ГЭОТАР-Медиа" – 2008. – С. 388–399.
2. Астахов Ю. С., Рикс И. А., Ткаченко Н. В. *Методические указания по обследованию глазной поверхности. Методическое пособие*. // М., 2012. С.4-13.
3. Бржеский В. В. *Заболевания слезного аппарата*. / В.В. Бржеский, Ю. С. Астахов, Н. Ю. Кузнецова. // Пособие для практикующих врачей: 2-е изд., испр. и доп. – СПб.: "Изд-во Н-Л". -2009. – 108 с.
4. Вихляева Е. М. *Руководство по эндокринной гинекологии*. / Под ред. Е. М. Вихляевой. // М.: Медицинское информационное агентство. – 1997. – С. 768.
5. Гурова З. Г. *Пути совершенствования медико-социальной помощи женщинам перименопаузального возраста: диссертация кандидата медицинских наук*. / З. Г. Гурова. М. -2006. – Р. 130с : ил.
6. Егоров Е. А. *Рациональная фармакотерапия в офтальмологии*. /под редакцией Е. А. Егорова. // М., Изд-во "Литтерра". – 2004. – С. 270-275.
7. Егорова Г. Б., А. А. Федоров, Т. С. Митичкина *Возможности метода импрессионной цитологии в диагностике и оценке эффективности медикаментозной коррекции синдрома сухого глаза при ношении контактных линз*.// Вестник офтальмологии, № 1, 2012. С. 34-36.
8. Жабосдов Г. Д., Кіресв В. В. *Синдром "сухого ока": современный стан проблеми*. // Офтальмологический журнал, № 5 2005, С. 4-14.
9. Мірович Д. Ю. *Імунологічні аспекти лікування клімактеричного синдрому* / Д. Ю. Мірович, В. П. Кващенко, Ю. П. Богослав // Актуальні проблеми акушерства і гінекології та медичної генетики, збірник наукових праць. – 2002. - вип 7. – С. 250-253.
10. Пасечникова Н. В. *Результаты скринингового эпидемиологического исследования (DE-Screen) распространенности синдрома сухого глаза среди женщин старше 40 лет в Украине*. / Н. В. Пасечникова, Г. И. Дрожжина, В. А. Науменко, [и др.]. // Офтальмологический журнал. – 2009. – №6, -С. 68-76.
11. Татарчук Т. Ф. *Эндокринная гинекология (клинические очерки) Половые стероидные гормоны и иммунная система*. / Т.Ф. Татарчук, В. П. Чернышов, А. О. Исламова. // Киев. – 2003, глава 9.
12. Яроцький М. С. *Профілактика і корекція системних порушень у жінок х хірургічною менопаузою: Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук*. / М. С. Яроцький. К. -2005. -С. 1-22.
13. Jerzy Szaflik Anna M. *Ambroziak Diagnostyka zespolu suchego oka w praktyce okulistycznej*, 2007, S.15-25.
14. Lemp M.A. *Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes*.// CLAO J. -1995.- Oct. – Vol. 21.-№4.-P. 221-232.
15. Schaumberg D.A. *Progress on the Epidemiology of Dry Eye Syndrome*. / D.A. Schaumberg. // The Ocular Surface.-2005. – Jan.-Vol. 3.- Suppl 1.- P. S111.
16. Schirra F. *Dry eye and sex hormones: part 2*. / F. Schirra, N. Knop, E. Knop. // Ophthalmologie. – 2009 -Nov.- Vol.106.-№11.-965.
17. Piera Versura. *Menopause and dry eye. A possible relationship*./ Piera Versura, Emilio C. Campos // Gynecological Endocrinology.- 2005 – May. – Vol.20- №5. –С. 289-298.
18. Matsui S. *Associations of estrogen and testosterone with insulin resistance in pre- and postmenopausal women with and without hormone therapy*./ Matsui, Yasui T, Tani A, [etc.]. // Int J Endocrinol Metab. -2013. – Spring.-Vol.11. – №2.-P.65-70.
19. Schirra F. *Using LIPCOF (lid-parallel conjunctival fold) for assessing the degree of dry eye, it is essential to observe the exact position of that specific fold*. / F. Schirra, H. Huh, C. Kienecker. // Adv Exp Med Biol. – 1998. – Vol. 438. – P. 853-858.
20. Schaumberg DA. *Prevalence of dry eye syndrome among US women*./ DA Schaumberg, DA Sullivan, JE Buring [etc.]. // Am J Ophthalmol.- 2003 – Aug.-Vol.136- №2. –С.318-326.
21. Stern Michael E. *Inflammation in Dry Eye*. / Michael E. Stern, Stephen C. Pflugfelder // The Ocular Surface.- 2004.- April.- Vol. 2.- Issue 2.-P.124-130.
22. Lopin Eli. *Impression Cytology: Recent Advances and Applications in Dry Eye Disease*. / Eli Lopin. Tatiana Deveney, Penny A. Asbell // The Ocular Surface.-2009,- April.- Vol. 7- Issue 2.- P.93-110.

23. Murube J. Biopsy of the conjunctiva in dry eye patients establishes a correlation between squamous metaplasia and dry eye clinical severity. / J. Murube, L. Rivas. // *Eur J Ophthalmol.*-2003. – Vol. 13. -№3. -P.246-256.

24. Fuchsjager-Mayrl G. Identification of estrogen and progesterone receptor mRNA expression in the conjunctiva of

premenopausal women. / Fuchsjager-Mayrl G, J. Nepp, C. Schneeberger, [etc.]. // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004.– Vol. 43.– P. 2841-2844;

25. Spelsberg H. Detection of Oestrogen receptors (ER) β and α in conjunctiva, lacrimal gland, and tarsal plates. / H. Spelsberg, M. Klueppel, T.Reinhard, [etc]. // *Eye.*-2004. – Vol. 18. – P. 729-733.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОК КОНЬЮНКТИВЫ У БОЛЬНЫХ СИНДРОМОМ “СУХОГО ГЛАЗА” В ПЕРИМЕНОПАУЗЕ

Антоненко Е.В.¹, Скрипник Р.Л.¹,
Тихончук Н.А.², Юрченко О.В.³

¹ Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина

² Городская клиническая больница № 9, г. Киев, Украина

³ Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАНУ, г. Киев, Украина

Резюме. Изменения гормонального статуса у женщин в перименопаузе занимают отдельное место среди многочисленных офтальмологических и системных заболеваний, которые приводят к развитию синдрома сухого глаза (ССГ). В Украине распространенность ССГ среди женщин, старше 40 лет составляет 57,3%. Выделяют постоварикотомический (ПОЭС) и климактерический (КС) синдромы. Возникающий дефицит половых стероидов влияет на функционирование слезных, мейбомиевых желез, а также бокаловидных клеток конъюнктивы, что лежит в основе патогенеза ССГ у женщин в перименопаузе и приводит к морфологическим и иммуноцитохимическим нарушениям в структурах, принимающим участие в формировании слезной пленки.

Обследуемым 27 женщинам с КС и ПОЭС выполнено морфологическое иммуноцитохимическое исследование. Выявлено уменьшение размеров эпителиоцитов, отсутствие их латерального соединения, появление клеток с признаками дистрофических процессов и уменьшение количества бокаловидных клеток, исчезновение из ядер клеток рецепторов стероидных гормонов.

Исследование особенностей морфологического и фенотипического состава клеток конъюнктивы больных ССГ на фоне гормональной дисфункции целесообразно для определения лечебной тактики и повышения качества жизни этой категории пациенток.

Ключевые слова: гормональная дисфункция, синдром “сухого глаза”, морфологическое, иммуноцитохимическое исследование, бокаловидные клетки.

MORPHOLOGICAL AND PHENOTYPICAL PECULIARITIES OF THE CONJUNCTIVAL CELLS IN PATIENTS WITH “DRY EYE” SYNDROME IN PERIMENOPAUSE

E. Antonenko¹, R. Skrypnyk¹,
N. Tihonchuk², O. Yurchenko³

¹ Department of Ophthalmology of Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

² Municipal Clinical Hospital № 9, Kyiv, Ukraine

³ Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology named after R.E Kavetsky of NASU, Kyiv, Ukraine

Summary. Changes in women hormonal status in perimenopause hold the special place among different ophthalmologic and system diseases, that are responsible for “dry eye” syndrome (DES) development. Prevalence of DES in Ukraine among women aged 40 and older is 57,3%. There are klimakterical (KS) and postovarial (POS) “dry eye” syndroms. The appearing lack of sexual steroids influences upon the function of lachrymal, meibomian glands and goblet cells of conjunctiva, that is the basis of DES pathogenesis in perimenopause women and leads to the morphological and imunocytochemical disorders in structure, taking part in shaping the lachrymal film.

27 women with KS and POS underwent morphological and imunocytochemical study. The study revealed reduction of the epitheliocytes' sizes, absence of its lateral adhesion, occuring of the cells with signs of dystrofy and goblet cell count reduction, vanishing of steroid hormone receptors from cell nucleus.

The study of morphological and phenotypical peculiarities of conjunctival cells at DES against the background of hormonal dysfunctions is for determination medical tacticians reasonable and increasing quality to lifes to this categories patients.

Key words: hormonal dysfunction, “dry eye” syndrome, morphological, imunocytochemical study, goblet cells.