

ЦИТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Захарова Н.М.¹, Шабалова И.П.², Али-заде Г.Х.³, Рябцева А.А.³, Ветчинникова О.Н.³, Акберова С.И.⁴

МЕТОД ИМПРЕССИОННОЙ ЦИТОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ СИНДРОМА СУХОГО ГЛАЗА

¹ГБУЗ МО «Серпуховская городская больница им. Семашко Н.А.», 142200, Московская обл., Россия;

²ФГБОУ ДПО Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава РФ, 125284, Москва, Россия;

³ГБУЗ МО МОНИКИ им М.Ф. Владимирского, 129110, Москва, Россия;

⁴Медицинский центр ООО «Медквадрат», 115409, Москва, Россия

Цель исследования - анализ клеточного состава отпечатков конъюнктивы глазного яблока и оценка информативности цитоморфологического метода исследования в диагностике синдрома сухого глаза (ССГ).

Цитологическое исследование методом импрессионной цитологии выполнено у 72 пациентов: 60 пациентов с ССГ и 12 – без заболевания глаз (контрольная группа). Основным компонентом цитограмм у пациентов с ССГ являются: (а) чешуйки плоского эпителия (гиперкератоциты); (б) группы и скопления уплощенных эпителиальных клеток; (в) небольшое количество (до пяти в препарате) бокаловидных клеток. Способ импрессионной цитологии повышает точность диагностики ССГ.

Ключевые слова: синдром сухого глаза; импрессионная цитология.

Для цитирования: Захарова Н.М., Шабалова И.П., Али-заде Г.Х., Рябцева А.А., Ветчинникова О.Н., Акберова С.И.

Метод импрессионной цитологии в диагностике синдрома сухого глаза. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (6): 348-350. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-6-348-350>

Zakharova N.M.¹, Shabalova I.P.², Ali-Zade G. H.³, Rjabtseva A.A.³, Vetchinnikova O.N.³, Akberova S.I.⁴

IMPRESSIONABLE CYTOLOGY METHOD IN DIAGNOSTICS OF DRY EYE SYNDROME

¹Serpukhov Town Hospital by N.A. Semashko. 142200, Moscow Region, Russian;

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. 125284, Moscow, Russian;

³M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute, 129110, Moscow, Russian;

⁴Medical Center «Medkvadrat», 115409, Moscow, Russian

Analysis of the cellular composition of the eyeball conjunctival prints and evaluation of the informative of the cytomorphological method of research in the diagnosis of dry eye syndrome (DES). Cytological examination using impression cytology was performed in 72 patients: 60 patients with DES and 12 without eye disease (control group). The main component of cytological sample in patients with DES are (a) squamous epithelium (hyperkeratocytes); (b) groups and clusters of flattened epithelial cells; (c) a small amount (up to five in the preparation) of goblet cells. Impression cytology method improves the accuracy of diagnosis of DES.

Key words: dry eye syndrome, impressionable cytology method.

For citation: Zakharova N.M., Shabalova I.P., Ali-Zade G. H., Rjabtseva A.A., Vetchinnikova O.N., Akberova S.I. *Impressionable cytology method in diagnostics of dry eye syndrome. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (6): 348-350 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-6-348-350>*

For correspondence: Zakharova N.M., Head of Clinical Laboratory; e-mail: nmzaharova@yandex.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 21.04.2019

Accepted 21.05.2019

Синдром сухого глаза (ССГ) является одной из важных проблем офтальмологии. Высокая распространенность этого заболевания, стойкий дискомфорт, снижающий работоспособность и качество жизни, недостаточная эффективность терапии и расходы на медицинскую реабилитацию определяют социальную значимость этой патологии во всех странах мира [1–3].

Диагностика ССГ строится, во-первых, на оценке

жалоб и неспецифических симптомов, встречающихся и при других заболеваниях глаз, во-вторых, на субъективном учёте специфических признаков, что затрудняет выявление данной патологии, проведение адекватной терапии и осуществление объективного контроля её результатов [4–6]. Таким образом, дальнейшее совершенствование лечебно-диагностических мероприятий у больных ССГ является актуальной задачей офтальмологии.

Традиционно в медицинской практике значительное внимание уделяется морфологическим методам диагностики. Дифференциальная морфологическая диагности-

Для корреспонденции: Захарова Наталья Михайловна, канд. мед. наук; e-mail: nmzaharova@yandex.ru

ка учитывает признаки нормы, пограничных состояний и собственно патологические признаки в зависимости от степени их выраженности. Морфологическая диагностика складывается из обобщения конкретных макро- и микроскопических картин, выступающих в качестве признаков патологического процесса, что в итоге способствует пониманию патогенеза болезни в каждом конкретном случае.

Одним из классических морфологических методов является цитологическое исследование. К преимуществам цитологического метода можно отнести простоту приготовления препарата для исследования, малую травматичность для больного, возможность получения диагностически значимого материала из труднодоступных и нежелательных для открытой биопсии мест, возможность срочного интраоперационного (в том числе неоднократно) исследования малого объема материала. Это важно не только на этапе диагностики заболевания, но в ряде случаев и для динамического наблюдения за процессом лечения той или иной патологии. Основные характеристики цитологического метода исследования позволяют применять его в офтальмологии, в том числе в диагностике и мониторинге заболеваний передней поверхности глаза [7].

Цель настоящего исследования: провести анализ клеточного состава отпечатков конъюнктивы глазного яблока и оценить возможности цитоморфологического метода исследования в диагностике ССГ.

Материал и методы. В исследовании включены 60 пациентов, (55 женщин, 5 мужчин) в возрасте от 25 до 80 лет с клиническим диагнозом ССГ. Контрольную группу составили 12 человек без заболеваний глаза. Всем пациентам проведено комплексное обследование: оценка субъективного улучшения состояния по опроснику «Индекс поражения поверхности глаза» (Ocular Surface Disease Index, OSDI), пробы с окрашиванием флюоресцеином и лиссаминовым зеленым, определение времени разрыва слезной пленки (ВРСП) и тест Ширмера для выявления положительной динамики объективных показателей [8].

Материал для цитологического исследования получали малоинвазивным, не требующим предварительной анестезии импрессионным методом. Суть метода заключается в исследовании отпечатков с эпителия, полученных с помощью миллипорового фильтра. Для оценки состояния эпителия бульбарной и тарзальной конъюнктивы глазного яблока, в том числе и бокаловидных клеток, нами был применен модифицированный метод импрессионной цитологии [9].

При этом исследовании между отведенным нижним веком и глазным яблоком помещалась полоска миллипорового фильтра стандартных размеров: 5x5 мм. Затем проводилось соприкосновение нижнего века с поверхностью глазного яблока с небольшим давлением. При следующем отведении нижнего века извлекалась полоска фильтра с «отпечатанными» на обеих ее поверхностях эпителиальными клетками как бульбарной, так и тарзальной конъюнктивы. Затем обе поверхности фильтра отпечатывали на обезжиренном предметном стекле.

Предметные стекла с отпечатками высушивали на воздухе, окрашивали азур-эозином по Паппенгейму и исследовали при световой микроскопии, увеличение x100, x400. В представленной работе анализировали только информативный цитологический материал.

Результаты и обсуждение. Известно, что эпителий конъюнктивы состоит из трех слоев клеток: глубокого

слоя цилиндрических клеток, среднего слоя полигональных клеток, поверхностного слоя плоских или низких кубических клеток и рассеянных по поверхности бокаловидных клеток, секретирующих слизь [10].

Анализ исследованных цитограмм показал, что в материале с конъюнктивы могут быть обнаружены несколько разновидностей клеток:

1 – незрелые эпителиальные клетки (изолированные, в группах до 10, в скоплениях более 10 клеток) (рис. 1, см. обложку);

2 – зрелые (функционально активные) эпителиальные клетки цилиндрической формы, так называемые бокаловидные клетки (разрозненные 0-1-3 в поле зрения, в группах до 10 клеток, в скоплениях более 10 клеток) (рис. 2, см. обложку);

3 – уплощенные эпителиальные клетки (функционально неактивные) (разрозненные 0-1-3 в поле зрения, в группах до 10 клеток, в скоплениях более 10 клеток) (рис. 3, см. обложку);

4 – безъядерные клетки плоского эпителия (чешуйки, гиперкератоциты) (разрозненные 0-1-3 в поле зрения, в группах до 10, в скоплениях более 10 клеток) (рис. 4, см. обложку);

5 – поверхностные клетки и чешуйки плоского эпителия (рис. 5, см. обложку);

6 – лейкоциты (нейтрофилы, гистиоциты, лимфоциты);

7 – бактерии.

При анализе результатов установлено, что отпечатки тарзальной и бульбарной конъюнктивы всех пациентов без клинических признаков синдрома сухого глаза были представлены:

1) группами (до 10 клеток) и скоплениями (более 10 клеток) эпителиальных клеток кубической формы размером 15-20 мкм (см.рис. 1). Клетки плотно прилегают друг к другу, ядра расположены центрально, цитоплазма в виде узкого базофильного ободка;

2) разрозненными и в группах бокаловидными клетками (см. рис. 2);

3) незначительным количеством поверхностных клеток и чешуек плоского эпителия (единичные в препарате) (разрозненные и в группах) (см. рис. 5).

Клеточный состав цитологических препаратов отпечатков с конъюнктивы пациентов с клиническими признаками ССГ можно разделить на два варианта. Основным компонентом первого варианта были чешуйки плоского эпителия (гиперкератоциты) (см. рис. 4). Этот вариант цитограмм установлен у 19 (32%) обследованных пациентов. Для второго варианта (41 (68% пациентов) были характерны группы и скопления уплощенных эпителиальных клеток (см.рис. 3), гиперкератоциты (в группах и скоплениях) и небольшое количество бокаловидных клеток (до пяти в препарате).

Проведенные исследования показали, что при ССГ в эпителии конъюнктивы отсутствуют функционально активные бокаловидные клетки, секретирующие слезу, или значительно уменьшается их количество. Также не выявляются признаки пролиферации незрелых эпителиальных клеток, а, напротив, активизируются процессы клеточной гибели, о чем свидетельствуют гиперкератоциты. Происходит корнификация (кератинизация) эпителия конъюнктивы. Гиперкератоциты - тупик эволюции эпителиальной клетки, один из вариантов клеточной гибели [11].

Метод импрессионной цитологии может быть использован не только для диагностики ССГ, но и для про-

ЦИТОЛОГИЯ

ведения контроля за эффективностью проводимого лечения с возможной его коррекцией вплоть до получения конечного результата лечения. Таким образом, применение в практике способа импрессионной цитологии позволяет: 1) стандартизировать условия взятия клеточного материала с тарзальной и бульбарной конъюнктивы; 2) повысить точность диагностики ССГ; 3) неинвазивно и объективно в динамике проводить оценку муцинпродуцирующей активности эпителиальной выстилки.

Проведенные исследования еще раз показали, что морфология, будучи фундаментальной наукой, остается неотъемлемой частью клинико-экспериментального исследовательского направления в медицине и, в частности, в офтальмологии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бржевский В.В., Егорова Г.Б., Егоров Е.А. Синдром «сухого глаза» и заболевания глазной поверхности. Клиника, диагностика, лечение. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016.
2. Егоров Е.А., Романова Т.Б., Рыбакова Е.Г., Оганезова Ж.Г. Вторичный синдром «сухого глаза»: современный взгляд на проблему. *РМЖ. Клиническая офтальмология*. 2017; 2:106–10.
3. Брежнев А.Ю., Баранов В.И., Петров С.Ю. Псевдоэксфолиативный синдром как фактор риска развития синдрома «сухого глаза». *Клиническая офтальмология*. 2016; 16 (1): 30–4.
4. Бубнова И.А., Егорова Г.Б., Митичкина Т.С., Аверич В.В., Фетцер Е.И. Вторичный синдром «сухого глаза» после кераторефракционных вмешательств и подходы к лечению и профилактике. *Вестник офтальмологии*. 2018; 5 (ч. 2): 294–8.
5. Бржевский В.В., Сомов Е.Е. Роговично-конъюнктивальный ксероз (диагностика, клиника, лечение); издание второе, частично переработанное и дополненное. СПб.: Издательство «Левша»; 2003.
6. Larkin H. Dry-eye tests for diagnostic technologies to watch in the next five years. 12th EURETINA Congress and the XXX Congress of the ESCRS Poster. Milan, Italy 8-12 September; 2012.
7. Krader C.G. Dry eye screening. Non-invasive meibography system performs well compared with slit-lamp-based device. 12th EURETINA Congress and the XXX Congress of the ESCRS Poster. Milan, Italy 8-12 September, 2012.
8. Walt J., Rowe M., Stern K. Evaluating the functional impact of dry eye: the Ocular Surface Disease Index. *Drug Inf J*. 1997; 31: 1436.
9. Егорова Г.Б., Федоров А.А., Митичкина Т.С. Возможности метода импрессионной цитологии в диагностике и оценке эффективности медикаментозной коррекции синдрома сухого глаза при ношении контактных линз. *Вестник офтальмологии*. 2012; 128 (1): 33-5.
10. Хэм А., Кормак Д. Гистология. Пер. с англ. М.: Мир; 1983.
11. Kroemer G., Galluzzi L., Vandenabeele P. et al. Classification of cell death: recommendations of nomenclature committee on cell death. *Cell Death Differ*. 2009; 16: 1–3.

REFERENCES

1. Brzhevsky V.V., Egorova G.B., Egorov E. A. Dry eye syndrome and ocular surface disease. Clinic, diagnosis, treatment. Moscow: GEOTAR-Media; 2016. (in Russian)
2. Egorov E. A., Romanova T. B., Rybakova E. G., Oganезova J.G. Secondary dry eye syndrome: a modern view. *Klinicheskaya oftal'mologiya*. 2017; 2: 106–10. (in Russian)
3. Brezhnev A.Yu., Baranov V.I., Petrov S.Yu. Pseudoexfoliation syndrome as risk factor for «dry eye» syndrome. *Klinicheskaya oftal'mologiya* 2016; 16 (1): 30 – 34. (in Russian)
4. Bubnova I.A., Egorova G.B., Mitichkina T.S., Averich V.V., Fettser E.I. Secondary dry eye syndrome after keratorefractive surgeries and approaches to its treatment and prevention. *Vestnik oftal'mologii*. 2018; 5 (ч. 2): 294 – 8. (in Russian)
5. Brzhevsky V.V., Somov E.E. Corneal-conjunctival xerosis (diagnosis, clinic, treatment); second edition, partially revised and enlarged. St.Petersburg: Publisher «Levsha»; 2003. (in Russian)
6. Larkin H. Dry-eye tests for diagnostic technologies to watch in the next five years. 12th EURETINA Congress and the XXX Congress of the ESCRS Poster. Milan, Italy 8-12 September; 2012.
7. Krader C.G. Dry eye screening. Non-invasive meibography system performs well compared with slit-lamp-based device. 12th EURETINA Congress and the XXX Congress of the ESCRS Poster. Milan, Italy 8-12 September; 2012.
8. Walt J., Rowe M., Stern K. Evaluating the functional impact of dry eye: the Ocular Surface Disease Index. *Drug Inf J*. 1997; 31: 1436.
9. Egorova G.B., Fedorov A.A., Mitichkina T.S. The possibilities of the method of impression cytology in the diagnosis and evaluation of the effectiveness of medical correction of dry eye syndrome when wearing contact lenses. *Vestnik oftal'mologii*. 2012; 128 (1): 33 – 5. (in Russian)
10. Khem A., Kormak D. Histology. Moscow: Mir; 1983. (in Russian)
11. Kroemer G., Galluzzi L., Vandenabeele P. et al. Classification of cell death: recommendations of nomenclature committee on cell death. *Cell Death Differ*. 2009; 16: 1– 3.

Поступила 21.04.19

Принята к печати 21.05.19

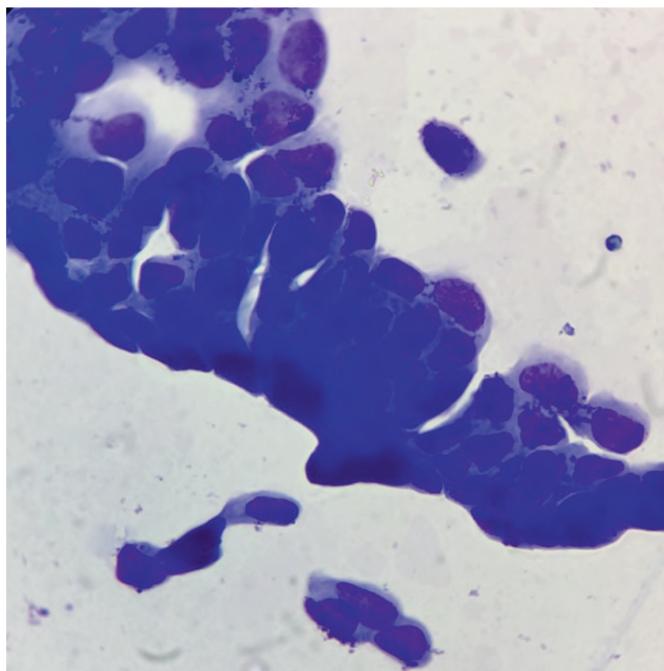


Рис. 1. Отпечаток с конъюнктивы *пациентки Р.*, 43 лет (контрольная группа): незрелые эпителиальные клетки. Окр. азур-эозином, х400.

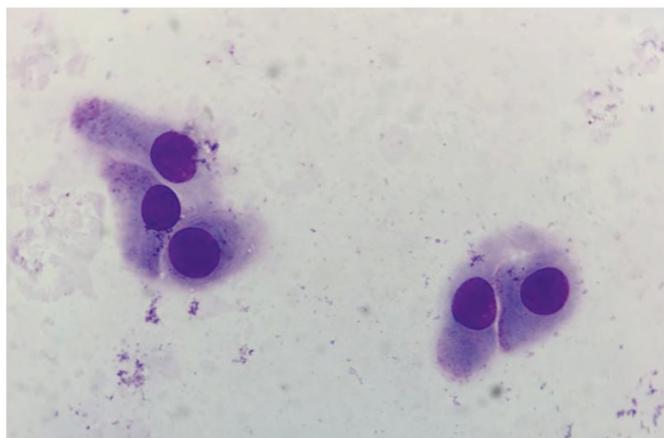


Рис. 2. Отпечаток с конъюнктивы *пациентки С.*, 55 лет (контрольная группа): бокаловидные эпителиальные клетки, ядра расположены эксцентрически, в цитоплазме секрет. Окр. азур-эозином, х400.

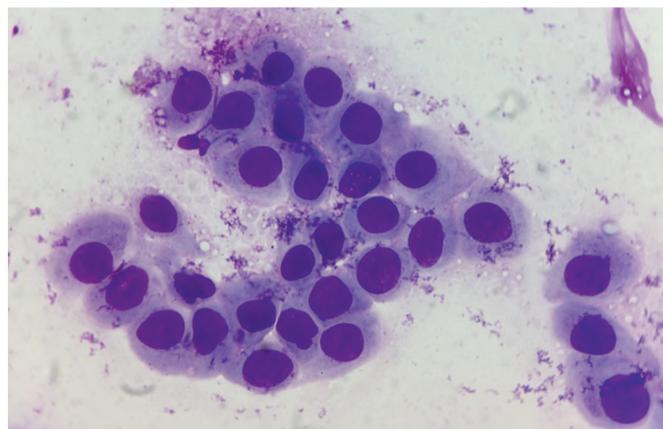


Рис. 3. Отпечаток с конъюнктивы *пациентки А.*, 57 лет с ССГ: скопление уплощенных эпителиальных клеток. Окр. азур-эозином, х400.

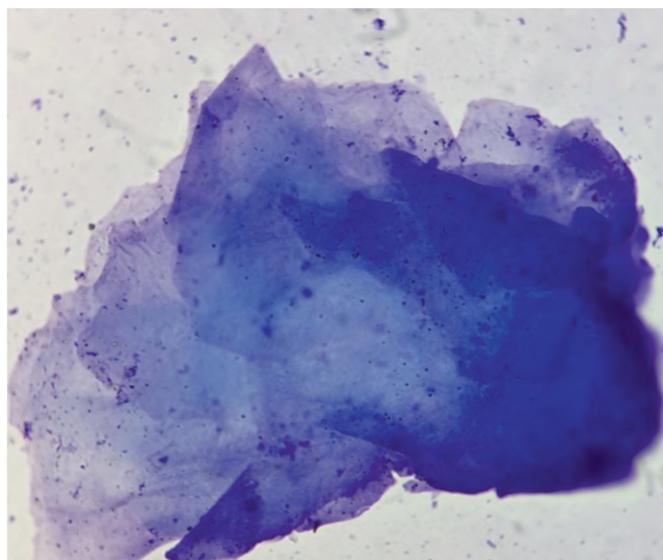


Рис. 4. Отпечаток конъюнктивы *пациента А.*, 64 лет с ССГ: скопление чешуек плоского эпителия. Окр. азур-эозином, х400.

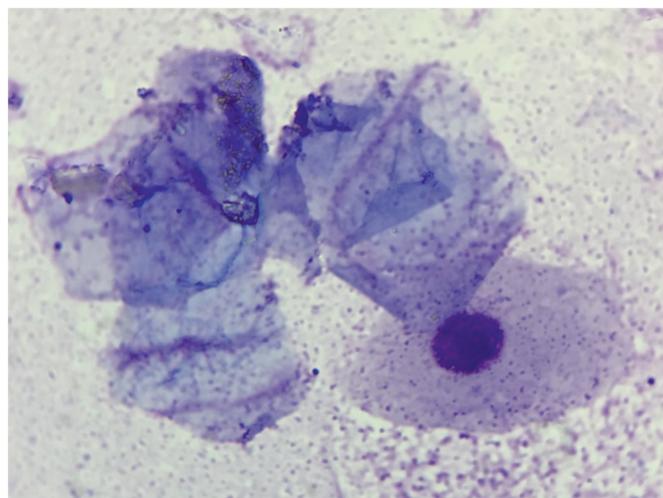


Рис. 5. Отпечаток с конъюнктивы *пациента В.*, 67 лет (контрольная группа): скопление чешуек, поверхностная клетка плоского эпителия. Окр. азур-эозином, х400.