

(87)

# Cytologia impresyjna w zespole suchego oka w przebiegu wybranych chorób reumatologicznych

## *Impression cytology in patients with dry eye syndrome and various rheumatic diseases*

Monika Oziębło-Kupczyk<sup>1</sup>, Dorota Średzińska-Kita<sup>1</sup>, Karol Kita<sup>2</sup>, Małgorzata Mrugacz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika Okulistyki Dziecięcej Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Alina Bakunowicz-Łazarczyk

<sup>2</sup> Klinika Reumatologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Stanisław Sierakowski

**Summary:** Purpose: The aim of this study was to evaluate the cytological changes of bulbar conjunctiva in patients with various rheumatic diseases and dry eye syndrome.  
Material and methods: 60 patients with rheumatoid arthritis (RA), systemic scleroderma (SScI), primary Sjögren syndrome (pSS), systemic lupus erythematosus (SLE) and dry eye syndrome were studied. The ocular examination consisted of Schirmer I, break-up time of tear film (BUT), fluorescein and lissamine green staining and impression cytology of bulbar conjunctiva.  
Results and conclusions: The morphological alternations of bulbar conjunctiva seen in impression cytology specimens correlated with clinical signs of dry eye syndrome.

**Słowa kluczowe:** cytologia impresyjna, zespół suchego oka, choroby reumatologiczne.  
**Key words:** impression cytology, dry eye syndrome, rheumatic diseases.

### Wstęp

Zaburzenia ilości i składu filmu łzowego stanowią istotę zespołu suchego oka i są przyczyną przewlekłych dolegliwości ze strony narządu wzroku (1, 2, 3). Patogeneza suchego oka jest złożona i nie do końca wyjaśniona. Zespół suchego oka może towarzyszyć układowym chorobom tkanki łącznej, takim jak reumatoidalne zapalenie stawów (RA), sklerodermia (SScI), pierwotny zespół Sjögrena (pSS) oraz toczeń rumieniowaty (SLE) (4, 5).

Diagnostyka zespołu suchego oka jest skomplikowana i wymaga bardzo wielu badań (3, 6). Ocenę zmian patologicznych powierzchni oka umożliwiają badania mikroskopowe nabłonków spojówki gałkowej, czyli cytologia impresyjna. Metoda jest nieinwazyjna dla pacjenta i powtarzalna, z kolei wyniki badania są obiektywne i nie zależą od łzawienia odruchowego. Metoda ponadto pozwala określić morfologię komórek, interakcje międzykomórkowe oraz obecność elementów napływowych (1, 7, 8, 9).

W związku z tym, że istnieje niewielka liczba prac dotyczących zestawienia stopnia nasilenia zmian cytologicznych w komórkach nabłonka spojówki gałkowej w zależności od rodzaju schorzenia reumatologicznego, postanowiliśmy zająć się tym problemem.

**Celem** pracy była ocena powiązań między zmianami morfologicznymi w komórkach nabłonka spojówki gałkowej w cytologii impresyjnej a rodzajem współistniejących z zespołem suchego oka chorób tkanki łącznej – RA, SScI, pSS i SLE.

### Materiał i metodyka

Grupę badaną stanowiło 60 pacjentów (45 kobiet i 15 mężczyzn) w wieku od 18. do 70. roku życia, z objawami suchego

oka oraz chorobami tkanki łącznej. Były 4 grupy chorych: z RA, SScI, pSS i SLE, każda po 15 osób. Grupę kontrolną stanowiło 60 osób zdrowych: 35 kobiet i 25 mężczyzn w wieku 18-70 lat. Badania były przeprowadzone po uzyskaniu pisemnej zgody pacjentów oraz zgody Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej w Białymstoku.

Diagnostykę suchego oka oparto o wywiad, pełne badanie okulistyczne oraz testy diagnostyczne: test Schirmera I, test przzerwania filmu łzowego BUT, barwienie fluoresceiną i zielenią lizaminy. Wyniki testów poddano analizie statystycznej za pomocą testu Fishera i testu t-Studenta. Badanie nabłonka spojówki gałkowej przeprowadzono metodą cytologii impresyjnej.

Metoda polegała na przyłożeniu do spojówki gałkowej – w odległości kilku milimetrów od rąbka rogówki na godzinach 12, 6, 3 i 9 – filtru z octanu celulozy w postaci trójkąta o wymiarach 5×5×5 mm, dociśnięciu go i oderwaniu wraz z zewnętrzną warstwą komórek nabłonka. Badanie wykonano po uprzednim podaniu kropli znieczulających do oka. Następnie filtr miliporowy, jako nośnik nabłonka, przyklejono do szkiełka podstawowego. Materiał utrwalano w 95-procentowym alkoholu etylowym, potem wykonano barwienie metodą: hematoksylina + eozyna, PAS oraz metodą Papanhaima (May-Grunwald + Giemsa). Analiza sporządzonych preparatów i dokumentacja fotograficzna zostały wykonane z użyciem mikroskopu świetlnego Olympus BX41, wyposażonego w kamerę DP12. Preparaty oceniano wg skali Nelsona.

### Wyniki

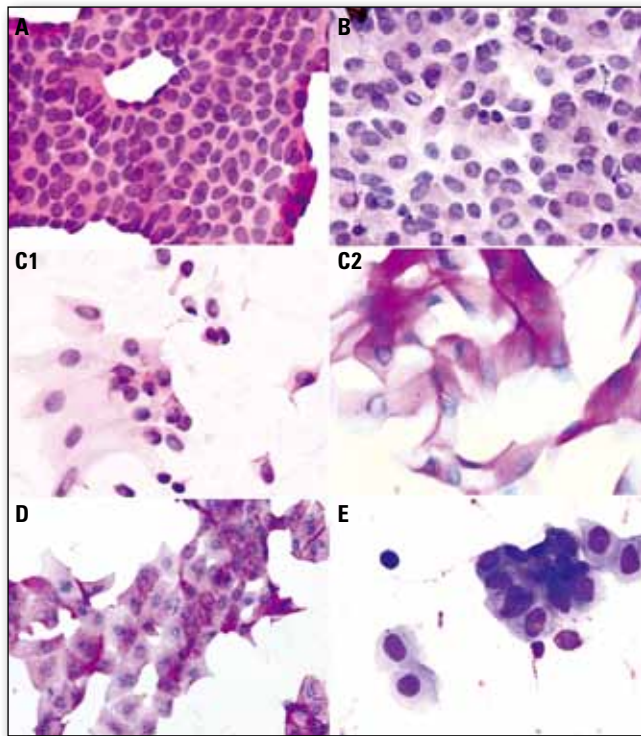
Wszyscy pacjenci z objawami suchego oka i chorobami reumatologicznymi mieli nieprawidłowe testy diagnostyczne. Test

Schirmera I wynosił poniżej 10 mm/min, najgorsze wyniki uzyskano u chorych z pSS poniżej 4,5 mm/min. Średnia wartość testu Schirmera była istotnie statystycznie niższa we wszystkich grupach pacjentów ( $5,34 \pm 2,83$ ) w porównaniu do grupy osób zdrowych ( $25,23 \pm 5,14$ ) ( $p < 0,001$ ).

Test przzerwania filmu łzowego BUT wykazał u chorych wynik nieprawidłowy – poniżej 10 sekund, najgorszy wynik mieli chorzy z pSS i SScl – poniżej 5 sekund. Średnia wartość czasu przzerwania filmu łzowego wynosiła  $4,8 \pm 2,1$  s w porównaniu do wyniku osób zdrowych –  $11,3 \pm 1,7$  s. Stwierdzono różnice znamienne statystycznie ( $p < 0,001$ ).

Test przyżyciowego barwienia fluoresceiną oraz zielenią lizminy również wykazał wynik patologiczny u wszystkich chorych oraz u 3 osób z grupy kontrolnej. Stwierdzono różnice znamienne statystycznie ( $p < 0,001$ ).

Wyniki cytologii impresyjnej wykazały w grupie osób zdrowych dość jednolity, zwarty pokład jednakowej wielkości wielobocznych komórek nabłonka z kulistym jądrem. Jądro było centralnie położone w równomiernie wybarwionej cytoplazmie. Stwierdzono jednakowy, zachowany, prawidłowy stosunek objętości jądra do objętości cytoplazmy 1: 2 we wszystkich komórkach nabłonka. Obserwowano liczne komórki śluzowe, ułożone pojedynczo lub tworzące gniazda komórek śluzowych (ryc. 1A).



**Ryc. 1.** Cytologia impresyjna – obraz nabłonka spojówki gałkowej: A – w oku zdrowym; B – w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RA); C1, C2 – w sklerodermii (SScl); D – w pierwotnym zespole Sjögrena (pSS); E – w toczeniu rumieniowatym (SLE) (metody barwienia HE, PAS, metoda Pappanahaima, powiększenie mikroskopowe 100x).

**Fig. 1.** Impression cytology specimens of bulbar conjunctiva: A – in normal eye; B – in rheumatoid arthritis (RA); C1, C2 – in systemic sclerosis (SScl); D – in primary Sjögren syndrome (pSS); E – systemic lupus erythematosus (SLE) (stained with HE, PAS and modified Pappanahaim, microscopic magnification 100x).

U osób z RA i zespołem suchego oka obraz komórek nabłonka spojówki wykazywał duże zróżnicowanie. Występowały komórki różnokształtne, „łuskowate”, często zwinięte, zrogowaciałe, luźno ułożone i pozbawione jądra. Obserwowano też komórki duże z jasno wybarwioną cytoplazmą i małym, ciemno wybarwionym, piknotycznym jądrem. Jądra części komórek były słabo widoczne, a czasami stwierdzano jedynie ciemno wybarwioną otoczkę jądrową ze skondensowaną pod nią chromatyną i pustą, jasną przestrzenią w centrum jądra. Stosunek jądro-cytoplazmatyczny wynosił od 1: 3 do 1: 8 i mniej. Stwierdzono mniejszą liczbę komórek śluzowych (ryc. 1B).

U pacjentów z SScl zaobserwowano bardzo dużą różnorodność kształtu i rozmiarów komórek nabłonkowych, luźno ułożonych w jeden pokład. Stwierdzono też duże zmiany morfologiczne jąder od dużych, słabo wybarwionych do małych, silnie piknotycznych lub tylko ciemno wybarwionych obszarów na obwodzie z pustą częścią centralną (ryc. 1C1). W związku z tym stosunek objętości jądra do cytoplazmy wynosił od 1: 3 do 1: 8 i mniej. W większości preparatów nie było komórek śluzowych lub występowały one pojedynczo. Stwierdzono dużą liczbę komórek napływowych – granulocytów obojętno-chłonnych (ryc. 1C2).

Pacjenci z pSS w obrazie morfologicznym nabłonka mieli komórki różnych kształtów od wielobocznych, poprzez owalne, wydłużone czy rurkowate, do zwiniętych, „łuskowatych”, zrogowaciałych, pozbawionych jądra. Układ komórek był mniej zwarty niż w innych grupach. W niektórych komórkach jądra były bardzo duże z luźnym układem chromatyny, w innych – małe, ciemno wybarwione, w jeszcze innych można było zaobserwować rozpad tej organelli, a część komórek posiadała po dwa jądra. Zmieniony stosunek jądro-cytoplazmatyczny wynosił od 1: 4 do 1: 8 i mniej. Występowały pojedyncze komórki śluzowe oraz pojedyncze komórki napływowe – monocyty, granulocyty (ryc. 1D).

U osób z SLE stwierdzono zmianę kształtu komórek nabłonka – różnokształtne, wrzecionowate, o układzie mniej zwartym niż w grupie kontrolnej. Ponadto pojawiły się również: zmiana barwliwości komórek nabłonka, zmniejszenie objętości jądra oraz zmieniony stosunek jądro-cytoplazmatyczny od 1:4 do 1: 6. Liczba komórek śluzowych była zmniejszona, dość licznie zaś występowały komórki napływowe: granulocyty, monocyty czy limfocyty. Wyraźne nasilenie zmian morfologicznych obejmowało dużą liczbę komórek nabłonka (rycina 1E).

Preparaty oceniano według skali Nelsona.

### Omówienie

Zespół suchego oka towarzyszy wielu chorobom układowym, w tym układowym chorobom tkanki łącznej o podłożu autoimmunologicznym (4, 5). Coraz częściej podkreśla się, że przyczyną objawów tego zespołu jest udział procesów immunologicznych w regulacji produkcji łoż, głównie cytokin, które oddziałują na ekspresję prekursorów i mediatorów zapalenia (4, 5).

Diagnostyka zespołu suchego oka jest obecnie bardzo zaawansowana, a cytologia impresyjna to jedna z metod pozwalających ocenić zmiany morfologiczne powierzchni gałki ocznej (1, 7, 8, 9). Ocenę morfologiczną nabłonka spojówki gałkowej można przedstawić w skali Nelsona:

- 0° to obraz prawidłowy – komórki nabłonka, ułożone w jedno- lub dwuwarstwowy pokład, przylegają do siebie ściśle;

Rodzaj schorzenia Type of disorder	Skala Nelsona Nelson's scale			
	0°	1°	2°	3°
RA	3	5	4	3
SScI	1	4	5	5
pSS	0	1	7	7
SLE	2	4	6	3
Grupa kontrolna Control group	12	3	–	–

Tab. I. Cytologia impresyjna – ocena preparatów wg skali Nelsona.  
Tab. I. Impression cytology – specimens according to the Nelson's scale.

mają równe wymiary i kształty oraz duże jądra i cytoplazmę wybarwiającą się kwasochłannie; stosunek jądra do cytoplazmy 1: 2, występują liczne komórki śluzowe;

- 1° to zmiany lekko nasilone – komórki powiększone, wieloboczne; jądra zmniejszone; cytoplazma wybarwia się kwasochłannie; stosunek jądra do cytoplazmy 1: 3 – 1: 4; mniejsza liczba komórek śluzowych;
- 2° to zmiany o nasileniu średnim – komórki nabłonka duże, wielokątne; jądra małe, czasem podwójne; cytoplazma wybarwia się kwaso- lub zasadochłannie; stosunek jądra do cytoplazmy 1: 5; nieliczne komórki śluzowe;
- 3° to zmiany o dużym nasileniu – komórki nabłonka znacznie powiększone, wieloboczne; jądra piknotyczne, drobne; cytoplazma wybarwia się zasadochłannie; stosunek jądra do cytoplazmy >1: 6; nieobecne komórki śluzowe (8, 9).

Obserwacje własne wykazały, że we wszystkich preparatach występują zmiany morfologiczne nabłonka spojówki, będące wyrazem metaplastji płaskonabłonkowej. Kształt komórek uległ zmianie, ich układ stał się luźny. Komórki nabłonka posiadały zwiększone rozmiary. Jądra komórkowe zmieniły kształt i objętość, często były małe, aż do zupełnego ich rozpadu, lub występowały komórki dwujądrowe. Zmniejszenie objętości jądra zmniejszyło stosunek jądro-cytoplazmatyczny. Stwierdzono obecność „łuskowatych”, zwijających się komórek nabłonka, co świadczy o postępującej keratynizacji. Obserwowano zmniejszenie liczby komórek śluzowych, aż do ich zaniku, oraz pojawienie się elementów napływowych – monocytów, limfocytów i granulocytów.

Analiza przypadków we wszystkich grupach pacjentów wykazała, że stopień zaawansowania metaplastji płaskonabłonkowej zwiększa się w zależności od stopnia klinicznego nasilenia objawów zespołu suchego oka. Największe zmiany morfologiczne obserwowano w przypadkach największego upośledzenia wydzielania łez.

Stwierdzono, że najbardziej zaawansowane zmiany metaplastmatyczne były w grupie chorych z pSS, czyli 2° i 3° wg skali Nelsona. Podobne obserwacje opisali Pflugfelder i Zhao, którzy stwierdzili, że u chorych z pSS – w porównaniu do grupy pacjentów z innymi chorobami tkanki łącznej – występowały największe patologie dotyczące wyników testów diagnostycznych suchego oka oraz zmiany morfologiczne nabłonka spojówki w cytologii impresyjnej (10, 11). W naszych

obserwacjach duże zmiany obrazu morfologicznego były również u pacjentów z SSsI, większość zmian to 2° i 3° wg skali Nelsona.

Zmniejszenie liczby komórek śluzowych odnotowano we wszystkich preparatach, nawet przy niewielkim zaawansowaniu objawów suchego oka. Haller-Schober też wiąże tego typu zmiany morfologiczne z początkiem zespołu suchego oka (9).

W naszych preparatach stwierdzono dużą liczbę komórek napływowych u pacjentów z SSsI i SLE, zaś w pSS, gdzie zmiany morfologiczne nabłonka były największe, występowały tylko pojedyncze elementy napływowe. Potwierdza to obserwacje Tsenga i Hallera-Schobera, którzy stwierdzili, że zmniejszenie gęstości komórek nabłonka i zmiana stosunku jądro-cytoplazmatycznego wpływają na stopień zaawansowania metaplastji płaskonabłonkowej, nie potwierdzili oni natomiast wpływu liczby komórek zapalnych na zaawansowanie procesu metaplastji (9, 12). Odmienne poglądy reprezentuje Pflugfelder, który wskazuje, że największy stopień zaawansowania metaplastji płaskonabłonkowej występuje przy dużej liczbie komórek zapalnych (10).

Podsumowując, można stwierdzić, że zmiany morfologiczne nabłonka spojówki gałkowej u pacjentów z RA, SSsI, pSS i SLE oraz z zespołem suchego oka wykazują wiele wspólnych cech, stopień zaawansowania metaplastji płaskonabłonkowej jest zaś zależny od nasilenia objawów zespołu suchego oka. Ponieważ obraz morfologiczny nabłonka spojówki gałkowej w cytologii impresyjnej jest podobny we wszystkich chorobach tkanki łącznej występujących z zespołem suchego oka, można przypuszczać, że istnieje wspólny czynnik łączący oba typy schorzeń i wiąże się on z podłożem autoimmunologicznym.

### Wnioski

1. Zmiany morfologiczne nabłonka spojówki gałkowej w cytologii impresyjnej nie zależą od rodzaju układowej choroby tkanki łącznej.
2. Stopień zaawansowania metaplastji płaskonabłonkowej wiąże się z nasileniem objawów suchego oka.
3. Cytologia impresyjna to metoda diagnostyczna pozwalająca monitorować przebieg procesu metaplastji płaskonabłonkowej w zespole suchego oka.

Autorzy pragną złożyć podziękowania dr hab. n. med. Irenie Kasackiej z Zakładu Histologii i Embriologii Akademii Medycznej w Białymstoku za techniczne opracowanie preparatów.

### PIŚMIENNICTWO:

1. Marek J., Podhorska M.: *Ocena zmian w komórkach nabłonka spojówek w zespole suchego oka przy użyciu cytologii impresyjnej*. Klin. Oczna, 1995, 97, 176-181.
2. Rolando M., Zierhut M.: *The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease*. Surv. Ophthalmol., 2001, 45, 203-210.
3. Brewitt H., Sistani F.: *Dry eye disease: the scale of the problem*. Surv. Ophthalmol., 2001, 45, 199-201.
4. Shaw C., Banik S., Islam M.N., Biswas M.C., Biswas G., Biswas S.: *Rheumatoid arthritis and ocular involvement*. J. Indian Med. Assoc., 2003 Sep, 101 (9), 537-538.
5. Versura P., Frigato M., Bernabini B., Mule R., Malavolta N., Campos E.C.: *Ocular surface analysis in patients affected*

- with rheumatic diseases. *Reumatismo*, 2004, Oct-Dec, 56 (4), 262-271.
6. Bron A.J.: *Diagnosis of Dry Eye*. *Sur. Ophthalmol.*, 2001 Mar, 45(2), 221-226.
  7. McKelvie P.: *Ocular surface impression cytology*. *Adv. Anat. Pathol.*, 2003 Nov, 10(6), 328-37.
  8. Nelson J.D.: *Impression cytology*. *Cornea*, 1988, 7, 71-81.
  9. Haller-Schober E.M., Schwantzer G., Berghold A., Fischl M., Thiesl A., Horwath-Winter J.: *Evaluating an impression cytology grading system (IC score) in patients with dry eye syndrome*. *Eye*, 2005 Aug, 12, 1-7.
  10. Pflugfelder S.C., Huang A.J.W., Feuer W., Chuchovski P.T., Pereira I.C., Tseng S.C.G.: *Conjunctival cytologic features of primary Sjögren's syndrome*. *Ophthalmol.*, 1997, 104, 223-235.
  11. Zhao J., Manthorpe R., Wollmer P.: *Surface activity of tear fluid in patients with primary Sjögren's syndrome*. *Clin. Physiol. Funct. Imaging*, 2002 Jan, 22 (1), 24-27.
  12. Tseng C.G.T.: *Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology*. *Ophthalmol.*, 1985, 92, 728-733.
- Praca wpłynęła do Redakcji 21.12.2005 r. (825).  
Zakwalifikowano do druku 24.10.2006 r.

**Adres do korespondencji (Reprint requests to):**  
**lek. med. Monika Oziębło-Kupczyk**  
**Klinika Okulistyki Dziecięcej AM SPDSK**  
**ul. J. Waszyngtona 17**  
**15-274 Białystok**

**XI Zjazd Polskiego Towarzystwa Chirurgii Plastycznej,  
 Rekonstrukcyjnej i Estetycznej odbędzie się  
 w dniach 20-22 września 2007 roku w Bydgoszczy**

**Głównymi tematami obrad będą:**

Leczenie wad wrodzonych  
 Leczenie zniekształceń pourazowych i pochorobowych  
 Mikrochirurgia  
 Chirurgia estetyczna  
 Chirurgia odtwórcza włosów

**Zainteresowanych Zjazdem prosimy o zgłoszenia na adres  
 Komitetu Organizacyjnego:**

Katedra i Klinika Chirurgii Plastycznej Collegium Medicum w Bydgoszczy  
 Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu  
 Ul. Skłodowskiej-Curie 9, 85-094 Bydgoszcz  
 tel./fax: 48 52 585 40 17  
 e-mail: kikchirplast@cm.umk.pl

Prof. zw. dr hab. n. med. Julia Kruk-Jeromin – prezes PTCHPRI  
 Prof. dr hab. n. med. Andrzej Zieliński – przewodniczący Komitetu Organizacyjnego