

Əkbərova S.İ., Ryabtseva A.A.*, Əlizadə G.X.**

ŞƏKƏRLİ DİABET FONUNDA “QURU GÖZ” SİNDROMU İLƏ XƏSTƏLƏRDƏ KONYUNKTİVA SƏTHİNİN SİTOLOJİ DƏYİŞİKLİKLƏRİ

“Medkvadrat” Tibb Mərkəzi, Moskva, Rusiya

*M.F. Vladimirski adına Moskva Vilayət Elmi-Tədqiqat Klinik İnstitutu (MONİKİ), Moskva, Rusiya

**4 nömrəli Poliklinika, Bakı, Azərbaycan

E-mail: seving_@mail.ru

<https://www.doi.org/>

Giriş

“Quru göz” sindromu (QGS) oftalmologiyanın vacib problemlərindən biridir. Bu xəstəliyin geniş yayılması, davamlı diskomfort hissi, iş qabiliyyətinin və həyat keyfiyyətinin aşağı düşməsi, müalicənin kifayət qədər effektiv olmaması və tibbi reabilitasiya xərcləri dünyanın bütün ölkələrində bu patologiyanın sosial əhəmiyyətini müəyyən edir [1]. QGS – iltihab, autoimmun dəyişikliklər və göz səthinin zədələnməsini (hüceyrə degenerasiyası və apoptoz) özündə birləşdirən multifaktorial xəstəlikdir [2]. QGS-nin diaqnostikası şikayətlərin və digər göz xəstəliklərində də rast gəlinən qeyri-spesifik simptomların qiymətləndirilməsinə, eləcə də spesifik əlamətlərin subyektiv nəzərə alınmasına əsaslanır ki, bu da patologiyanın aşkar edilməsini, adekvat müalicənin təyinini və nəticələrin obyektiv monitorinqini çətinləşdirir [3]. Klassik morfoloji metodlardan biri də sitoloji müayinədir. İmpression sitologiya metodunun üstünlüklərinə preparatın müayinə üçün hazırlanmasının sadəliyi və travmatik dərəcəsinin aşağı olması daxildir. Bu, nəinki xəstəliyin diaqnostikası mərhələsində, həm də müalicə prosesinin dinamik müşahidəsi üçün vacibdir. İmpression sitologiya metodunun əsas xüsusiyyətləri onun oftalmologiyada, o cümlədən gözün ön səthi xəstəliklərinin diaqnostikası və monitorinqində tətbiqinə imkan verir [4 – 6].

Məqsəd – göz səthinin QGS patogenezindəki rolunu, xüsusilə konyunktiva epitelinin göz yaşı mayesinin formalaşmasında iştirakını və onun zədələnməsinin QGS-nin inkişafındakı əhəmiyyətini nəzərə alaraq, şəkərli diabet (ŞD) fonunda QGS olan xəstələrdə 0,007%-li para-aminobenzoy turşusu tərkibli göz damcıları ilə müalicədən əvvəl və sonra konyunktiva səthi hüceyrələrinin impression sitologiya ilə morfoloji vəziyyətini tədqiq etmək.

Material və metodlar

Tədqiqata ŞD fonunda QGS klinik diaqnozu qoyulmuş, yaşları 25-80 arası olan 60 xəstə (55 qadın və 5 kişi) daxil edilmişdir. Nəzarət qrupu isə göz xəstəlikləri və ya ŞD olmayan, yaşları 35-75 arası olan 12 nəfərdən (24 göz) ibarət olmuşdur. Tədqiqata daxil etmə meyarları aşağıdakı kimi müəyyən edilmişdir: daha öncə yerli (lokal) müalicə almamış, QGS olan I və II tip ŞD xəstələri.

Tədqiqatın əvvəlində bütün xəstələr hərtərəfli oftalmoloji müayinədən

keçmişdir. Bura anamnezin toplanması, “Göz səthi xəstəlikləri indeksi” sorğu anketi vasitəsilə xəstənin subyektiv vəziyyətinin qiymətləndirilməsi, flüoresein və lissamin yaşılı ilə boyanma testləri, göz yaşı pərdəsinin qırılma vaxtı və obyektiv göstəricilərdəki müsbət dəyişiklikləri aşkar etmək üçün Şirmer I testi daxil edilmişdir.

Bütün xəstələrə 1 ay müddətində gündə 3 dəfə, hər dəfə 1 damcı olmaqla göz damcıları təyin edilmişdir. İmpression sitologiyası müalicədən əvvəl və müalicədən 1 ay sonra həyata keçirilmişdir. Göz damcıları şəklində olan 0,007%-li para-aminobenzoy turşusu məhlulunun konyuktiva səthi hüceyrələrinin morfoloji vəziyyətinə təsiri impression sitologiyası vasitəsilə öyrənilmişdir. Göz almasının və qapaq konyuktiva epitelinin vəziyyətini qiymətləndirmək üçün modifikasiya olunmuş impression sitologiyası metodundan istifadə edilmişdir [7].

Nəticələr

Məlumdur ki, qapaq və göz almasının konyunktiva epiteli üç hüceyrə qatından ibarətdir: silindrik hüceyrələrdən - dərin, poliqonal hüceyrələrdən - orta, yastı və ya alçaq kubşəkilli hüceyrələrdən ibarət səthi qatlar və selik ifraz edən, səthdə pərakəndə yerləşmiş qədəhvəri hüceyrələr [8].

Sağlam könüllülərin (nəzarət qrupu) göz qapağı konyunktivasının sitoqramları analiz edilərkən aşağıdakılar aşkar edilmişdir:

1. Konyunktivanın epitel hüceyrələri kubşəkilli formadadır, ölçüləri 15-20 mikrondur, qruplar (10 hüceyrəyə qədər) və klasterlər (10 hüceyrədən çox) şəklində yerləşirlər (**şəkil 1**). Hüceyrələr bir-birinə sıx bitişikdir, nüvələr mərkəzdə yerləşir, sitoplazma isə dar bazofilik haşiyə şəklindədir;
2. Pərakəndə və qruplaşmış halda olan qədəhvəri hüceyrələr;
3. Az sayda səthi hüceyrələr və yastı epitel pulcuqları (preparatda tək-tək rast gəlinən).

Quru göz sindromu və ŞD olan xəstələrin konyunktiva sitoqramlarının hüceyrə tərkibini iki əsas kateqoriyaya ayırmaq olar. Birinci variantda çoxtəbəqəli epitelin nüvəsiz hüceyrələri (pulcuqlar, hiperkeratositlər) müşahidə olunur ki, bunlar görmə sahəsində 0-1-3 ədəd olmaqla pərakəndə, 10-a qədər hüceyrədən ibarət qruplar və 10-dan çox hüceyrədən ibarət klasterlər şəklində yerləşirlər (**şəkil 2**). Sitoqramın bu variantı 19 (32%) xəstədə aşkar edilmişdir. İkinci variant (41 xəstə, 68%) isə yastılaşmış epitel hüceyrələrinin qrupları və klasterləri (**şəkil 3**), hiperkeratositlər (qruplar və klasterlər şəklində) və az sayda qədəhvəri hüceyrələr (hər preparatda beşə qədər) ilə xarakterizə olunurdu.

Müalicədən sonra sitoqramlarda aşağıdakı dəyişikliklər müşahidə edilmişdir:

1. Pərakəndə və qruplaşmış qədəhvəri hüceyrələr və tək-tək rast gəlinən hiperkeratositlər. Bu sitoqram mənzərəsi xəstələrin 14-də (23%) izlənilmişdir.
2. Proliferasiya əlamətləri (hüceyrələrarası kontaktların ifadə olunması, nüvələrin bazofilliyi) olan poliqonal epitel hüceyrələrinin yığımları və qatları, pərakəndə və qruplaşmış qədəhvəri hüceyrələr, habelə tək-tək hiperkeratositlər (46 xəstə – 77%) (**şəkil 4**).

Müzakirə

Beləliklə, bir qayda olaraq, göz patologiyası və diabeti olmayan könüllülərin konyunktiva impression sitogramları poliqonal epitel hüceyrələrinin qrupları və klasterləri ilə təmsil olunur. Bu hüceyrələr bir-birinə sıx bitişikdir, nüvələri mərkəzdə yerləşir və kənarlarında sitoplazmanın bazofilik haşiyəsi mövcuddur. Sitoqramda həmçinin pərakəndə və qruplaşmış qədəhvəri hüceyrələr də aşkar edilir; az sayda səthi yastı hüceyrələrə və hiperkeratositlərə də rast gəlinə bilər.

Quru göz sindromu və ŞD olan xəstələrdə konyunktiva epitelində yetişməmiş epitel hüceyrələrinin proliferasiya əlamətləri müşahidə olunmur, əksinə, hüceyrə ölümü prosesləri aktivləşir. Bu, konyunktiva epitelinin keratinləşməsinə səbəb olur. Hiperkeratositlər epitel hüceyrəsinin inkişafında son mərhələni təşkil edir və hüceyrə ölümünün variantlarından biridir. Bütün bunlar qədəhvəri hüceyrələrin sayının əhəmiyyətli dərəcədə azalmasına və nəticədə ifrazatın (göz yaşının) miqdarının azalmasına gətirib çıxarır. Göz damcıları şəklində 0,007%-li para-aminobenzoy turşusu məhlulu ilə müalicədən sonra hüceyrə ölümü prosesləri yavaşlayır. Eyni zamanda, preparat konyunktivanın epitel hüceyrələrinin proliferasiya proseslərini aktivləşdirir; bu hüceyrələr bariz hüceyrələrarası kontaktlar və sitoplazmanın bazofililiyi ilə xarakterizə olunur ki, bu da hüceyrələrin funksional aktiv qədəhvəri hüceyrələrə çevrilməsi üçün əlverişli mühit yaradır və epitelin keratinləşməsinə ləngidir.

Göz damcıları şəklində olan 0,007%-li para-aminobenzoy turşusu klinik praktikada interferon induktoru kimi virus mənşəli göz xəstəliklərinin və müxtəlif mənşəli keratopatiyaların müalicəsində istifadə olunur [9]. Bu preparat buynuz qişa xoraların regenerasiyasını sürətləndirir, antioksidant və radioprotektiv təsir göstərir, həmçinin konyunktiva epitel hüceyrələrinin induksiya olunmuş apoptotik ölümünün qarşısını alır və onu ləngidir [10 – 13].

Yekun

İmpression sitologiyasının praktikada tətbiqi aşağıdakılara imkan yaradır: 1) göz alması və qapaq konyunktivadan hüceyrə materialının götürülmə şərtlərinin standartlaşdırılmasına; 2) QGS-nin diaqnostikasının dəqiqliyinin artırılmasına; 3) zaman keçdikcə konyunktiva epitelinin vəziyyətini, o cümlədən epitel qatının selik yaradan aktivliyini qeyri-invaziv və obyektiv şəkildə qiymətləndirilməsinə. Göz damcıları şəklində 0,007%-li para-aminobenzoy turşusu məhlulu ilə aparılan müalicə konyunktiva epitelinin vəziyyətini yaxşılaşdırır (konyuktiva epitel hüceyrələrinin proliferasiyası, konyunktiva epitelinin bütöv qatının bərpası), qədəhvəri hüceyrələrin differensiasiyasını bərpa edir və onların sıxlığını artırır.

***Açar sözlər:** impression sitologiya, “quru göz” sindromu, para-aminobenzoy turşusu, şəkərli diabet*

Akberova S.I., Ryabtseva A.A.*, Ali-Zade G.KH.**

CYTOLOGICAL CHANGES OF THE CONJUNCTIVA SURFACE IN DRY EYE SYNDROME PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS

Medical Centre “Medkvadrat”, Moscow, Russia

**M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute (“MONIKI”), Moscow, Russia*

***Polyclinic No 4, Baku, Azerbaijan*

E-mail: seving_@mail.ru

<https://www.doi.org/>

Introduction

Dry eye syndrome (DES) is one of the important problems of ophthalmology. The high prevalence of this disease, persistent discomfort, reducing the performance and quality of life, insufficient effectiveness of therapy and the costs of medical rehabilitation determine the social significance of this pathology in all countries of the world [1]. DES is a multifactorial disease that includes inflammation, autoimmune changes, and damage to the eye surface (cell degeneration and apoptosis) [2]. The diagnosis of DES is based on the assessment of complaints and nonspecific symptoms that are also present in other eye diseases, as well as the subjective consideration of specific signs, which makes it difficult to identify this pathology, provide adequate therapy, and objectively monitor its results [3]. One of the classical morphological methods is cytological examination. The advantages of the impression cytological method include the simplicity of preparing the specimen for examination and its low level of trauma. This is important not only at the stage of disease diagnosis, but also for dynamic monitoring of the treatment process. The main characteristics of the impression cytology method of research allow its application in ophthalmology, including the diagnosis and monitoring of diseases of the anterior surface of the eye [4 – 6].

Purpose – to investigate the morphological status of the conjunctival surface cells in patients with DES and diabetes mellitus (DM) before and after treatment with 0.007% para-aminobenzoic acid eye drops, using impression cytology, given the role of the ocular surface in DES pathogenesis, particularly the involvement of the conjunctival epithelium in the tear fluid formation and its damage in the development of DES.

Material and Methods

The study included 60 patients (55 women and 5 men) aged 25 to 80 years with a clinical diagnosis of DES with DM. The control group consisted of 12 individuals (24 eyes) aged 35 to 75 years without eye diseases or diabetes. The inclusion criteria were as follows: patients with type I and type II DM with DES who had not previously received local treatment.

At the beginning of the study, all patients underwent a comprehensive ophthalmological examination, which included a medical history collection and an assessment of the patient's subjective condition using the "Eye Surface Disease Index" questionnaire (Ocular Surface Disease Index, OSDI), tests with fluorescein and lissamine green staining, tear film break-up time (TFT), and the Schirmer I test to detect positive changes in objective indicators.

All patients were prescribed eye drops at a dose of 1 drop 3 times a day for 1 month. Impression cytology was performed before treatment and 1 month after treatment. The effect of 0.007% para-aminobenzoic acid solution in the form of eye drops on the morphological state of conjunctival surface cells was studied using impression cytology. To assess the condition of the epithelium of the bulbar and tarsal conjunctiva of the eyeball, we used a modified method of impression cytology [7].

Results

It is known that the epithelium of the tarsal and bulbar conjunctiva consists of three layers of cells: a deep layer of cylindrical cells, an intermediate layer of polygonal cells, a superficial layer of flat or low cubic cells, and scattered surface-located goblet cells that secrete mucus [8].

When analyzing the cytograms of the conjunctiva of the eyelids of healthy volunteers (control group), the following was found: 1) epithelial cells of the conjunctiva are cuboid in shape, measuring 15-20 microns, in groups (up to 10 cells) and clusters (more than 10 cells) (**Figure 1**).

The cells are tightly adjacent to each other, the nuclei are centrally located, and the cytoplasm is in the form of a narrow basophilic rim; 2) scattered and grouped goblet cells; 3) a small number of surface cells and flat epithelial scales (the only ones in the preparation).

The cellular composition of the conjunctival cytograms of patients with DES and DM can be divided into two main categories. In the first variant, there are nucleate cells of the stratified epithelium (scales, hyperkeratocytes), scattered 0-1-3 in the field of vision in groups of up to 10 cells and in clusters of more than 10 cells (**Figure 2**).

This cytogram variant was found in 19 (32%) patients. The second variant (41 patients, 68%) was characterized by groups and clusters of flattened epithelial cells (**Figure 3**), hyperkeratocytes (in groups and clusters), and a small number of goblet cells (up to five per preparation).

After treatment, the following changes were observed in the cytograms:

1. Scattered and grouped goblet cells, and occasional hyperkeratocytes. This cytogram pattern was observed in 14 (23%) of the patients.
2. Accumulations and layers of polygonal (immature) epithelial cells with signs of proliferation (expression of intercellular contacts, basophilia of nuclei), scattered and grouped goblet cells, and single hyperkeratocytes (46 patients - 77%) (**Figure 4**).

Discussion

Thus, as a rule, the cytograms of conjunctival prints from volunteers without eye pathologies and diabetes are represented by groups and clusters of polygonal epithelial cells. These cells are tightly adjacent to each other, with their nuclei located in the center and a basophilic rim of cytoplasm at the edge. The cytogram also contains scattered and clustered goblet cells, and there may be a small number of superficial squamous cells and hyperkeratocytes.

In patients with DES and DM, there are no signs of proliferation of immature epithelial cells in the conjunctival epithelium, and, on the contrary, cell death processes are activated. This leads to the cornification (keratinization) of the conjunctival epithelium. Hyperkeratocytes are a dead end in the evolution of the epithelial cell, one of the variants of cell death. All of this leads to a significant decrease in the number of goblet cells, and, consequently, to a decrease in the amount of secretions (tears). After treatment with a 0.007% solution of para-aminobenzoic acid in the form of eye drops, the processes of cell death are slowed down. At the same time, the drug activates the proliferation processes of epithelial cells of the conjunctiva, which are characterized by pronounced intercellular contacts and basophilia of the cytoplasm, which creates a favorable environment for the maturation of cells into functionally active goblet cells and inhibits the cornification of the epithelium.

Para-aminobenzoic acid (0.007%) in the form of eye drops is used in clinical practice for the treatment of viral eye diseases as an interferon inducer, and for keratopathies of various origins [9]. The drug accelerates the regeneration of corneal wounds, has an antioxidant and radioprotective effect, and prevents and inhibits the induced apoptotic death of conjunctival epithelial cells [10 – 13].

Conclusion

The use of impression cytology in practice allows for: 1) standardizing the conditions for taking cell material from the tarsal and bulbar conjunctiva; 2) improving the accuracy of diagnosing DES; 3) non-invasively and objectively assessing the condition of the conjunctival epithelium, including the mucin-producing activity of the epithelial lining, over time.

Therapy with a 0.007% solution of para-aminobenzoic acid in the form of eye drops improves the condition of the conjunctival epithelium (proliferation of conjunctival epithelial cells, restoration of a continuous layer of conjunctival epithelium), with restoration of goblet cell differentiation and increased goblet cell density.

Keywords: *impression cytology, dry eye syndrome, para-aminobenzoic acid, diabetes mellitus*

Şəkil 1. Pasiyent R-in (43 yaş, nəzarət qrupu) konyunktivasının sitoqramı: yetişməmiş epitel hüceyrələri. Azur-eozin ilə boyanma, x400.

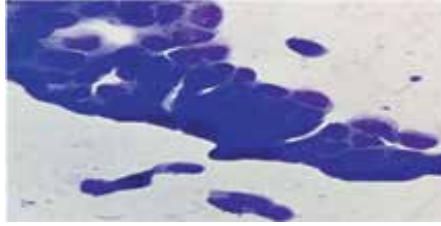


Figure 1. Print from the conjunctiva of R., 43 years old (control group): immature epithelial cells. Azur-eosin stain, x400.

Şəkil 2. QGS-u olan 64 yaşlı xəstə A.-nin müalicədən əvvəl konyunktiva sitoqramı: yastı epitel pulcuqlarının toplanması. Azur-eozin ilə boyanma, x400.

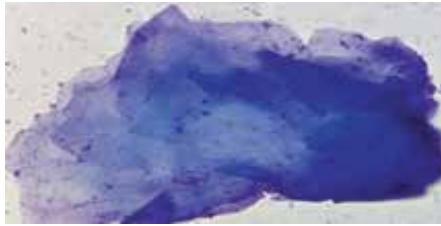


Figure 2. Conjunctival impression of patient A., 64 years old, with DES before treatment: accumulation of flat epithelial scales. Azur-eosin stain, x400.

Şəkil 3. QGS olan 57 yaşlı xəstə A.-nin müalicədən əvvəl konyunktiva sitoqramı: yastılaşmış epitel hüceyrələrinin toplanması. Azur-eozin ilə boyanma, x400.



Figure 3. Print from the conjunctiva of patient A., 57 years old, with DES before treatment: accumulation of flattened epithelial cells. Azur-eosin stain, x400.

Şəkil 4. QGS ilə 64 yaşlı xəstə F.-nin müalicədən sonra konyunktiva sitoqramı: proliferasiya əlamətləri olan poliqonal epitel hüceyrələrinin toplanması. Azur-eozin ilə boyanma, x400.



Figure 4. Patient F., 64 years old, diagnosed with dry eye syndrome. Print from the conjunctiva after treatment. Accumulation of polygonal (immature) epithelial cells with signs of proliferation. Azur-eosin. X400.

ƏDƏBİYYAT | REFERENCES

1. Egorova, E.A. *Secondary dry eye syndrome: a modern perspective on the problem* / E.A.Egorova, T.B.Romanova, E.G.Rybakova [et al.] // *RMJ. Clin. Ophthalmol.*, – 2017. 2, – p. 106-110. <https://doi.org/10.21689/2311-7729-2017-17-2-106-110>
2. Avni, İ. *Treatment of dry eye syndrome with orally administered CF101: data from a phase 2 clinical trial* / İ.Avni, H.J.Garzozi, I.S.Barequet [et al.] // *Ophthalmology*, – 2010. 117(7), – p. 1287-1293. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2009.11.029>
3. Bubnova, I.A. *Secondary dry eye syndrome after keratorefractive interventions and approaches to treatment and prevention* / I.A.Bubnova, G.B.Egorova, T.S.Mitichkina [et al.] // *Vestn. Oftalmol.*, – 2018. 5(pt. 2), – p. 294-298. <https://doi.org/10.17116/oftalma2018134051294>
4. Krader, C.G. *Dry eye screening* // 12th EURETINA Congress and the XXX Congress of the ESCRS Poster, – Milan, – Italy, September; 8-12. – 2012.
5. Bhargava, R. *Omega-3 fatty acids supplements for dry eye – Are they effective or ineffective?* / R.Bhargava, K.Pandey, S.Ranjan [et al.] // *Indian J. Ophthalmol.*, – 2023. 71(4), – p. 1619-1625. https://doi.org/10.4103/IJO.IJO_2789_22
6. Liu, Y. *Imaging assessment of conjunctival goblet cells in dry eye disease* / Y.Liu, Z.Duan, J.Yuan [et al.] // *Clin. Exp. Ophthalmol.*, – 2024. 52(5), – p. 576-588. <https://doi.org/10.1111/ceo.14379>
7. Egorova, G.B. *Changes in the epithelial lining of the conjunctiva in case of contact lens intolerance, according to impression cytology* / G.B.Egorova, A.A.Fedorov, T.S.Mitichkina // *Russian Annals of Ophthalmology*, – 2012. 128(1), – p. 33-35.
8. Safonova, T.N. *The ocular surface system* / T.N.Safonova, L.S.Pateyuk // *Vestn. Oftalmol.*, – 2015. 1, – p. 96-102. <https://doi.org/10.17116/oftalma2015131196-102>
9. Akberova, S.I. *Effect of para-aminobenzoic acid (ACTIPOL®) on interleukin-6 production in patients with herpetic keratitis* / S.I.Akberova, E.B.Tazulakhova, P.I.Musaev Galbinur [et al.] // *Vestn. Oftalmol.*, – 2006. 5, – p. 23-26.
10. Sologub, A.A. *Cellular differentiation and proliferation* / A.A.Sologub, I.G.Panova, O.G.Stroeva // *Ontogenez*, – 1994. 25(6), – p. 54-59.
11. Magomedov, N.M. *Cellular differentiation and proliferation* / N.M.Magomedov, P.I.Musaev Galbinur, S.I.Akberova [et al.] // *Ontogenez*, – 2000. 31(4), – p. 264-265.
12. Stroeva, O.G. *Regulation of mitotic activity in the rat cornea under the protective and therapeutic effect of para-aminobenzoic acid in experiments with X-ray irradiation* / O.G.Stroeva, I.G.Panova // *Izv. Akad. Nauk. Ser. Biol.*, – 1999. 5, – p. 613-616.
13. Markitantova, Yu.V. *The effect of para-aminobenzoic acid on apoptosis processes in the conjunctiva and corneal epithelium of adult rats in vivo, after exposure to hypobaric hypoxia* / Yu.V.Markitantova, S.I.Akberova, A.A.Ryabtseva [et al.] // *Izv. Akad. Nauk. Ser. Biol.*, – 2018. 3, – p. 257-266. <https://doi.org/10.1134/S1062359018020061>