

(71)

# Ocena komórek nabłonka soczewki w mikroskopie świetlnym i elektronowym oraz metodami immunohistochemicznymi w zaćmach różnego typu

**A study of human lens epithelial cells by light and electron microscopy and by immunohistochemistry in different types of cataracts**

**Aleksandra Synder<sup>1</sup>, Aleksandra Omulecka<sup>2</sup>,  
Marzena Ratyńska<sup>3</sup>, Wojciech Omulecki<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Z Katedry i Kliniki Chorób Oczu Akademii Medycznej w Łodzi

Kierownik: dr hab. n. med. Wojciech Omulecki

<sup>2</sup>Z Katedry i Zakładu Patomorfologii Akademii Medycznej w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Wielisław Papier

<sup>3</sup>Z Samodzielnej Pracowni Mikroskopii Elektronowej Katedry Patomorfologii Akademii Medycznej w Łodzi

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Michał Karasek

**Summary:** Purpose: To evaluate the characteristics of cataract changes in lens epithelial cells (LECs), in different types of human cataract.

Material and methods: Anterior capsules for the study were obtained from patients with different types of cataracts during extracapsular cataract extraction, or phacoemulsification using continuous curvilinear capsulorhexis. LECs attached to the anterior capsules were analyzed for morphological changes by light and electron microscopy, and for cellular characteristics by immunohistochemistry. The reactivity to cytokeratins 5,6,8,17 and 19 (arker for epithelial cells) and to vimentin (arker for mesenchymal cells) was determined.

Results: The consecutive degenerative changes were observed in most of the cells: multilayered cells, nuclei of abnormal diameters and shapes, vacuolation of nuclei and cytoplasm. LECs were immunohistochemically positive for cytokeratin and vimentin, or only for vimentin in all types of cataract. Some of LECs showed morphological and immunohistochemical characteristics of mesenchymal cells.

Conclusions: Lens epithelial cells show simmlar degenerative changes in different types of cataract and may have the ability to transdifferentiate into mesenchymal cells.

**Słowa kluczowe:** komórki nabłonka soczewki, zaćma, mikroskopia świetlna, mikroskopia elektronowa, immunohistochemia.

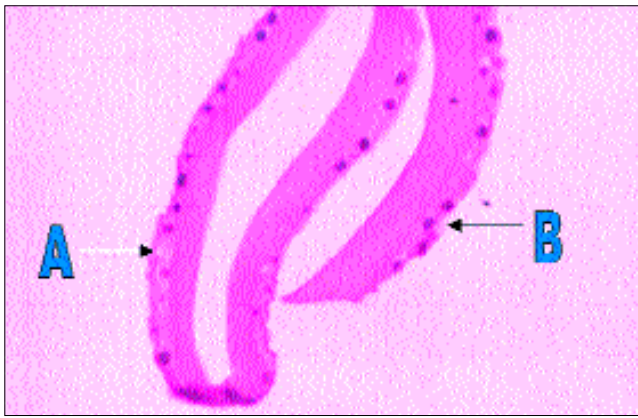
**Key words:** lens epithelial cells, cataract, light microscopy, transmission electron microscopy, immunohistochemistry.

Zaćma jest najczęstszą przyczyną obniżenia ostrości wzroku. Chociaż znanych jest wiele czynników związanych ze zwiększonym ryzykiem jej wystąpienia, takich jak: choroby metaboliczne (cukrzyca, tężyczka), urazy czy przewlekłe stosowanie sterydów, to patogenesa zaćmy starczej nie jest do końca wyjaśniona. Badania biochemiczne soczewki wskazują, że do rozwoju zaćmy starczej dochodzi na skutek zaburzeń metabolicznych, zachodzących w komórkach i włóknach soczewki oraz w wyniku zmian przepuszczalności torebki soczewki (8). Uważa się, że biochemiczne zmiany w komórkach nabłonka soczewki (k. n. s.) odgrywają główną rolę w rozwoju zaćmy oraz w procesie zmętnienia torebki tylnej po jej usunięciu. Postanowiliśmy ocenić zmiany zachodzące w tych komórkach w zaćmach różnego typu.

## **Materiał i metody**

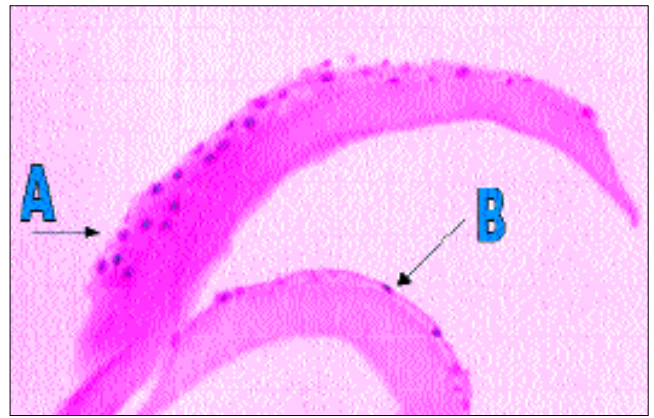
U 98 pacjentów w wieku od 29 do 90 lat z zaćmą jądrową, korową i tylnotorebkową podczas zabiegu operacyjnego usunięcia zaćmy (usunięcie zewnątrztorbkowe lub fakoemulsyfikacja) pobierano do badania, metodą okrężnej kapsuloreksji, torebkę przednią soczewki. Średni wiek 37 pacjentów z zaćmą jądrową wynosił 74,8 roku (od 49 do 90 lat), 35 pacjentów z zaćmą korową – 68,8 roku (od 29 do 78 lat), a 26 pacjentów z zaćmą tylnotorebkową – 62,8 roku (od 36 do 78 lat).

Komórki nabłonka soczewki, przylegające do torebki przedniej, poddano ocenie morfologicznej w mikroskopie świetlnym, mikroskopie elektronowym oraz wykonano badania immunohistochemiczne w celu określenia natury tych komórek.



Ryc. 1. Mikroskopia świetlna. Barwienie hematoksyliną i eozyną: A – wakuolizacja cytoplazmy, B – ciemno barwiące się jądra.

Fig. 1. Light microscopy (LM). Hematoxylin and eosin staining: A – cytoplasmic vacuolisation, B – darkly stained nuclei.



Ryc. 2. Mikroskopia świetlna. Barwienie hematoksyliną i eozyną: A – wielowarstwowość komórek, B – wrzecionowaty kształt komórek.

Fig. 2. LM, Hematoxylin and eosin staining: A – multilayered cells, B – spindle shape cells.

Do badań w mikroskopie świetlnym i metodami immunohistochemicznymi torebki soczewki zostały utrwalone w 10% formalinie. Skrawki parafinowe grubości 5 mm barwiono hematoksyliną i eozyną. Odczyny immunohistochemiczne wykonano z użyciem przeciwciał monoklonalnych przeciwko wimentynie (marker komórek mezenchymalnych) i cytokeratynom 5, 6, 8, 17 i 19 (markery komórek nabłonkowych).

Torebki do badania w mikroskopie elektronowym były utrwalane w 5% roztworze aldehydu glutarowego zaraz po pobraniu, dotrwalone w 1% roztworze czterotlenku osmu i zatopione w Eponie 812. Ultracienkie skrawki wykonano z użyciem ultramikrotomu LKB III. Kontrastowano je octanem uranylu i cytrynianem ołowiu, a następnie badano w mikroskopie elektronowym transmisyjnym JEM 100 B.

## Wyniki

### Mikroskopia świetlna

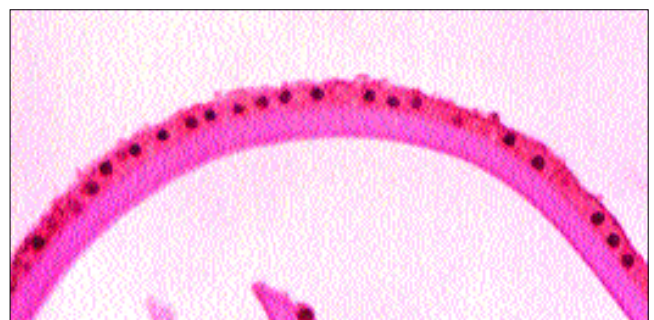
We wszystkich rodzajach zaćm występowały podobne zmiany zwyrodnieniowe komórek nabłonka soczewki (ryc. 1, 2). Stwierdzono, że k. n. s. tworzą układy zarówno jednowarstwowe, jak i wielowarstwowe. Część komórek przybiera kształty wrzecionowate. Jądra komórkowe mają różne kształty, niejednakową średnicę, a niektóre z nich wybarwiają się na bardzo ciemny kolor. W większości komórek obserwowano wakuolizację cytoplazmy. Rozkład zmian w poszczególnych rodzajach zaćm przedstawia tabela I.

### Badania immunohistochemiczne

Cytokeratyna jest antygenem specyficznym dla komórek nabłonkowych (ryc. 3), a wimentyna – dla komórek mezenchymalnych (ryc. 4). We wszystkich rodzajach zaćm k. n. s. wykazywały w 100% dodatni odczyn na wimentynę. Dodatnie odczyny na cytokeratynę wystąpiły w 64,9% przypadków zaćmy jądrowej, w 85,8% przypadków zaćmy korowej oraz w 65,4% przypadków zaćmy tylnotorebkowej (tab. II). Wyniki jednoczesnych dodatnich odczynów na wimentynę i cytokeratynę przedstawia tabela III.

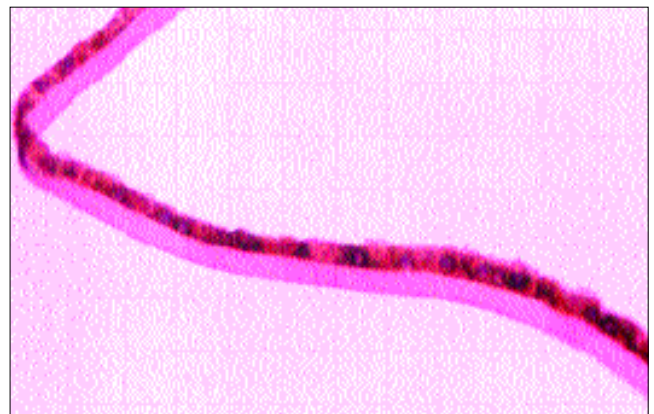
### Mikroskopia elektronowa

Komórki nabłonka soczewki w większości przypadków miały kształt wielokątny. W niektórych przypadkach zaćmy jądrowej widoczne były wydłużone, spłaszczone i wrzecionowate k. n. s. Zarówno w zaćmach jądrowych, jak i tylnotorebkowych k. n. s. często układały się wielowarstwowo. W zaćmach korowych two-



Ryc. 3. Dodatni odczyn na cytokeratynę.

Fig. 3. Positive staining for cytokeratin.



Ryc. 4. Dodatni odczyn na wimentynę.

Fig. 4. Positive staining for vimentin.

rzyły na ogół jedną warstwę. We wszystkich rodzajach zaćmy widoczne były wyraźna wakuolizacja cytoplazmy (ryc. 6) oraz różnice gęstości elektronowej różnych obszarów cytoplazmy, z obecnością cienkich mikrofilamentów w rejonach o niskiej gęstości (ryc. 8). Szorstka siateczka śródplazmatyczna była dość obfita. Uwidaczniały się obrzęknięte mitochondria z poszerzonymi i spłaszczonymi grzebieniami (ryc. 8) oraz złogi lipofuscyny (ryc. 9). W zaćmach korowych i tylnotorebkowych stwierdzono miejscowe, pęcherzykowe odwarstwienia k. n. s. od torebki soczewki (ryc. 5) i poszerzenie przestrzeni międzykomórkowych. W zaćmach korowych komórki z reguły przylegały do torebki, chociaż ogniskowo można było dostrzec puste przestrzenie między nimi a torebką

soczewki. We wszystkich rodzajach zaćm część jąder komórkowych k. n. s. była obkurczona i wykazywała zwiększoną gęstość elektronową oraz pofałdowanie i poszerzenie błony jądrowej (ryc. 7.).

### Omówienie

Prawidłowe komórki nabłonka soczewki mają kształt sześcienny. Stanowią jedną warstwę. Średnia wysokość komórki wynosi około 10  $\mu\text{m}$ , szerokość około 13  $\mu\text{m}$ , a powierzchnia około 280  $\mu\text{m}^2$ . W miarę starzenia się soczewki mogą one ulec nieznacznemu spłaszczeniu. K. n. s. mają duże jądra z dwoma jąderkami i licznymi otworkami (nukleoporami) w błonie jądrowej. W cytoplazmie znajdują się rybosomy, gładka i szorstka siateczka endoplazmatyczna oraz aparat Golgiego. Mitochondria tych komórek są małe, z nieregularnymi grzebieniami. Często też występują lizosomy i ziarenka glikogenu. W składzie elementów tworzących cytoskeleton k. n. s. znajdują się m. in. aktyna, filamety pośrednie (wimentyna), mikrotubule, a także alfa-aktyna i miozyna. Ważną cechą szkieletu komórkowego k. n. s. jest sieć filamentów aktynowych i miozynowych układająca się w wieloboczne struktury (*polygonal arrays*) przyłączone do błon komórkowych w części górno- i dolno-bocznej komórek (1). Wszystkie składniki szkieletu komórkowego wykazują wraz z wiekiem większą gęstość elektronową (5,8).

Zmiany zwyrodnieniowe k. n. s. obserwowane przez nas w mikroskopie świetlnym polegały głównie na występowaniu wakuolizacji cytoplazmy (od 75,7% do 100%), zmianie kształtu

komórek na wrzecionowaty (od 65,7% do 84,6%) oraz zmianie kształtu i średnicy jąder (od 64,9 do 76,9%). Nieco rzadziej stwierdzaliśmy wielowarstwowość komórek (od 8,1% do 11,5%) oraz ciemno wybarwiający się jądra (od 11,5% do 21,6%). Zmiany te były bardzo podobne we wszystkich badanych przez nas rodzajach zaćm.

Vasavada i wsp. (10) opisywali zmiany w k. n. s. w zaćmie jądrowej, czarnej, mieszanej, tylnotorebkowej oraz dojrzałej i przejrzalej. Uważają oni, że zmiany zwyrodnieniowe w k. n. s. różnią się w zależności od rodzaju zaćmy. W zaćmie jądrowej stwierdzali oni głównie występowanie ciemno barwiących się jąder o różnej średnicy z grudkami zbitej chromatyny. W zaćmie czarnej k. n. s. były mniej lub bardziej podobne do prawidłowych komórek, chociaż w niektórych stwierdzono wakuolizację cytoplazmy i ciemno barwiący się jądra. Wielowarstwowe ułożenie k. n. s. oraz wakuolizacja cytoplazmy występowały głównie w zaćmie tylnotorebkowej i mieszanej, zaćma zaś dojrzała i przejrzala charakteryzowała się występowaniem dużych jąder z wodniczkami.

Jongebloed i wsp. (5) w badaniu 40 fragmentów torebki soczewki stwierdzili obecność zmian zwyrodnieniowych k. n. s., a ich nasilenie różniło się w zależności od umiejscowienia. Obok komórek z piknotycznymi jądrami i ciemno barwiącą się cytoplazmą obecne były komórki niewykazujące kontrastu, częściowo zwyrodniałe, z zanikiem granic międzykomórkowych. W komórkach granicznych z błoną podstawną torebki stwierdzili liczne perforacje błony komórkowej. Z innych zmian obserwowano zaawansowaną

Zmiany / typ zaćmy Changes / type of cataract	Jądrowa Nuclear	Korowa Cortical	Tylnotorebkowa Post. subcapsular
Wakuolizacja cytoplazmy / Cytoplasmic vacuolisation	75,7%	100,0%	92,3%
Wrzecionowate komórki / Spindle shape cells	70,3%	65,7%	84,6%
Ciemno barwiący się jądra / Darkly stained nuclei	21,6%	17,1%	11,5%
Różna średnica jąder / Varying diameter of nuclei	70,3%	71,4%	76,0%
Różnokształtność jąder / Varying shape of nuclei	64,9%	74,3%	76,9%
Wielowarstwowość komórek / Multilayered cells	8,1%	8,6%	11,5%

Tab. I. Zmiany w komórkach nabłonka soczewki obserwowane w mikroskopie świetlnym.

Tab. I. Changes observed in lens epithelial cells in light microscopy.

Typ zaćmy / odczyn Type of cataract / staining	Mocny Strong	Słaby Weak	Brak None
Jądrowa / Nuclear	43,3%	21,6%	35,1%
Korowa / Cortical	62,9%	22,9%	14,2%
Tylnotorebkowa / Posterior subcapsular	53,8%	11,5%	34,6%

Tab. II. Dodatni odczyn na cytokeratynę.

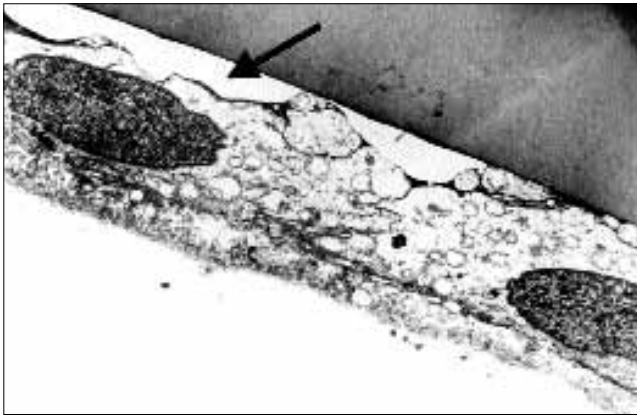
Tab. II. Immunohistochemical staining for cytokeratin.

Typ zaćmy / odczyn Type of cataract / staining	Wimentyna + Cytokeratyna Vimentin + Cytokeratin	Wimentyna mocno, Cytokeratyna słabo lub wcale Vimentin strongly, Cytokeratin weakly or none
Jądrowa / Nuclear	37,9%	62,1%
Korowa / Cortical	57,2%	42,8%
Tylnotorebkowa / Posterior subcapsular	46,2%	53,8%

Tab. III. Dodatni odczyn na cytokeratynę i wimentynę.

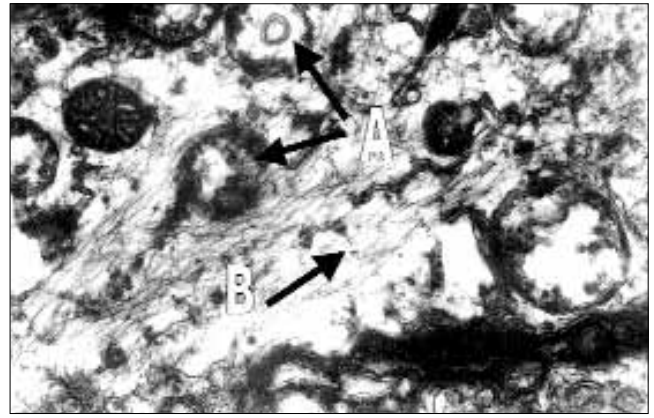
Tab. III. Immunohistochemical staining for cytokeratin and vimentin.





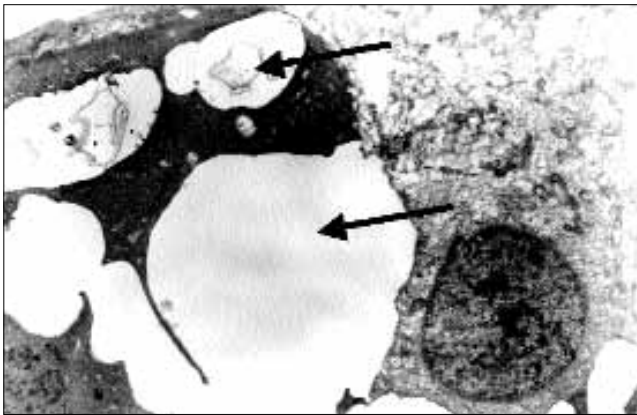
Ryc. 5. Mikroskopia elektronowa. Pęcherzykowane odwarstwienie k. n. s. od torebki soczewki.

Fig. 5. Transmission electron microscopy – TEM. Separation of the LECs from lens capsule.



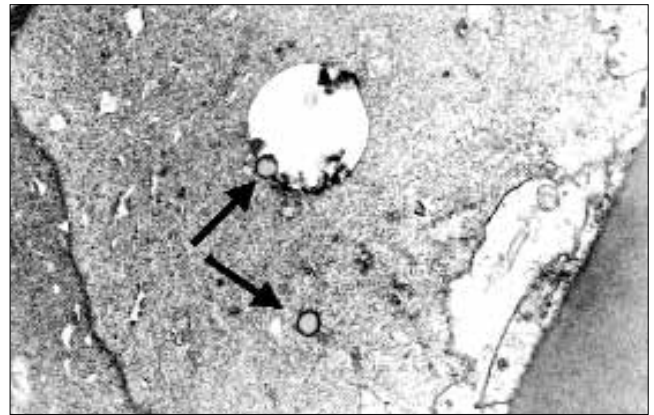
Ryc. 8. Mikroskopia elektronowa: A – obrzęknięte mitochondria, B – mikrowłókienka.

Fig. 8. TEM, A – swollen mitochondria, B – microfilaments.



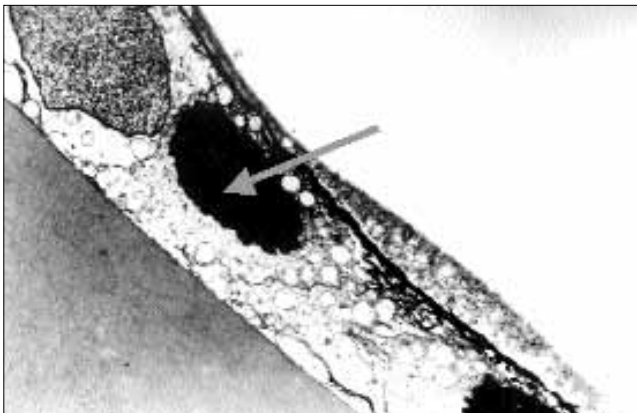
Ryc. 6. Mikroskopia elektronowa. Wakuole wewnątrzcytoplazmatyczne.

Fig. 6. TEM. Vacuolisation of cytoplasm.



Ryc. 9. Mikroskopia elektronowa. Złogi lipofuscyny.

Fig. 9. TEM. Lipofuscin deposits.



Ryc. 7. Mikroskopia elektronowa. Jądro z zagęszczoną chromatyną i pofalowaną błoną jądrową.

Fig. 7. TEM. High electron dense nucleus with folded nuclear membrane.

degenerację cytoplazmy i błon komórkowych oraz słabo barwiące się jądra z wypuklaniem się błony jądrowej i szczątkami jąder.

W badaniach immunohistochemicznych, podobnie jak Joo i wsp. (6), stwierdziliśmy, że w większości k. n. s. występował dodatni odczyn na wimentynę (100%). Na cytokeratynę i wimentynę reagoowało średnio 47,1% komórek, mocny zaś odczyn na wimentynę, a słaby na cytokeratynę wystąpił w 52,9% komórek. Te obserwacje mogą świadczyć, że komórki nabłonka soczewki posiadają zdolność do odróżnicowywania się w kierunku komórek mezenchymalnych.

Dowodem na to może być również zmiana kształtu komórek z sześciennego na wrzecionowaty. Badania prowadzone na zwierzętach przez Cobo i wsp. (2) oraz Ishibashi i wsp. (4) wykazały, że k. n. s. mogą przekształcać się w komórki fibroblastopodobne, produkujące włókienka kolagenowe i substancję międzykomórkową zawierającą mikrowłókienka. Ukazały się również prace donoszące o obecności kolagenu w przestrzeni międzykomórkowej oraz dotyczące syntezy kolagenu przez k. n. s. w zaćmach u ludzi (3, 7, 9).

Obraz k. n. s. w mikroskopii elektronowej wykazywał w naszych badaniach liczne zmiany zwyrodnieniowe. Komórki tworzyły układy wielowarstwowe. W wielu miejscach stwierdzano odwarstwienie k. n. s. od torebki soczewki. Cytoplazma komórek wykazywała wyraźną wakuolizację oraz różną gęstość elektronową. W miejscach o niskiej gęstości występowały liczne mikrofilamenty. Część jąder komórkowych wykazywała zwiększoną gęstość elektronową oraz pofalowanie i poszerzenie błony jądrowej. Stwierdzono również obecność licznych obrzękniętych mitochondriów i złogów lipofuscyny, a także dobrze rozwiniętą szorstką siateczkę śródplazmatyczną. Podobne zmiany były opisane przez innych autorów badających k. n. s. w transmisyjnym mikroskopie elektronowym (5, 6, 10).

Przeprowadzone badania pozwoliły nam stwierdzić, że k. n. s. w zaćmach różnego typu wykazują liczne podobne zmiany zwyrodnieniowe. Komórki te mogą również mieć zdolność przekształcania się w komórki podobne do fibroblastów. Aby stała się możliwa dokładniejsza ocena natury k. n. s., powinny być prowadzone dal-

sze badania, w tym badania immunohistochemiczne w mikroskopie elektronowym.

**PIŚMIENNICTWO:** 1. Albert D. M., Jakobiec F. A.: *Principles and practice of ophthalmology*. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1994, 82-96. 2. Cobo L. M., Ohshawa E., Chandler D., Arguello R., George G.: *Pathogenesis of capsular opacification after extracapsular cataract extraction; an animal model*. *Ophthalmology*, 1984, 91, 857-863. 3. Hatae T., Ishibashi T., Yoshitomi F., Shibata Y.: *Immunocytochemistry of types I-IV collagen in human anterior subcapsular cataracts*. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 1993, 231, 586-590. 4. Ishibashi T., Araki H., Sugai S., Tawara A., Ohnishi Y., Inomata H.: *Anterior capsule opacification in monkey eyes with posterior chamber intraocular lens*. *Arch. Ophthalmol.*, 1993, 111, 1685-1690. 5. Jongebloed W. L., Kalicharan D., Worst J. G. F.: *Human capsule epithelial cell degeneration.*

*A LM, SEM and TEM investigation.*, *Doc. Ophthalmologica*, 1993, 85, 67-75. 6. Joo C., Lee E. H., Kim J., Kim Y., Lee J., Kim J., Chung K., Kim J.: *Degeneration and transdifferentiation of human lens epithelial cells in nuclear and anterior polar cataracts*. *J. Cataract Refract. Surg.*, 1999, 25, 653-658. 7. Nishi O., Nishi K., Fujiwara T., Shirasawa E.: *Types of collagen synthesised by the lens epithelial cells of human cataracts*. *Br. J. Ophthalmol.*, 1995, 79, 939-943. 8. *Okulistyka współczesna*, pod red. W. Orłowskiego, PZWL, Warszawa, 1986, 186-223. 9. Pau H., Novotny G. E., Arnold G.: *Ultrastructural investigation of extracellular structures in subcapsular white corrugated cataract (anterior capsular cataract)*. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 1985, 223, 96-100. 10. Vasavada A. R., Thampi P., Bhatt D.: *Degeneration and transdifferentiation of human lens epithelial cells*. *Letters. J. Cataract Refract. Surg.*, 1999, 25, 1312-1313.

Praca wpłynęła do Redakcji 12.08.2002 r. (140).

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

dr n. med. Aleksandra Synder

ul. Filarecka 3

94-216 Łódź

**W dniach 16 – 17. 05. 2003 roku odbędzie się w Łodzi**

## **II Forum Okulistyki**

- 16 maja** – planowane są dwie sesje polsko-amerykańskie poświęcone jaskrze i zmianom patologicznym rogówki,  
**17 maja** – planowane są trzy sesje poświęcone problemom leczenia zachowawczego w okulistyce, postępom w rozpoznawaniu chorób narządu wzroku oraz rzadkim i trudnym przypadkom klinicznym.

**Prace prezentowane na Forum powinny mieć charakter szkoleniowo-praktyczny.**

**Zamierzamy także – w formie warsztatów, szkoleń i kursów – umożliwić przedstawicielom firm prezentację leków, materiałów i sprzętu w możliwie szerokim zakresie.**

**Blizsze informacje można uzyskać**

**w Klinice Okulistyki i Rehabilitacji Wzrokowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Żeromskiego 113.**

**tel.: 0-prefix 42 63-93-634**

**fax: 0-prefix 42 63-93-636**

**e-mail: okulista@skwam.lodz.pl**

**Biuro organizacyjne Exactus**

**ul. Piotrkowska 109/2, 90-425 Łódź**

**tel. 632-28-66, fax 632-28-59**

**e-mail: info@exactus.pl, www.exactus.pl**