

(15)

Dystrofia plamkowata rogówki z uwzględnieniem zmian histopatologicznych i ultrastrukturalnych

Description of macular corneal dystrophy including histological and ultrastructural changes

**Edward Wylęgała¹, Ewa Marta Wróblewska¹,
Henryk Grzybek², Krzysztof Januszewski³,
Mirosława Przeworowska-Kawala², Wojciech Banyś¹,
Dariusz Dobrowolski¹, Antonina Jurewicz¹**

¹ Z Oddziału Okulistycznego Okręgowego Szpitala Kolejowego w Katowicach
Ordynator: dr n. med. Edward Wylęgała

² Z Zakładu Mikroskopii Elektronowej Śląskiej Akademii Medycznej Katowicach
Kierownik: dr hab. n. med. Henryk Grzybek

³ Z Pracowni Anatomopatologicznej Okręgowego Szpitala Kolejowego w Katowicach
Kierownik: dr n. med. Krzysztof Januszewski

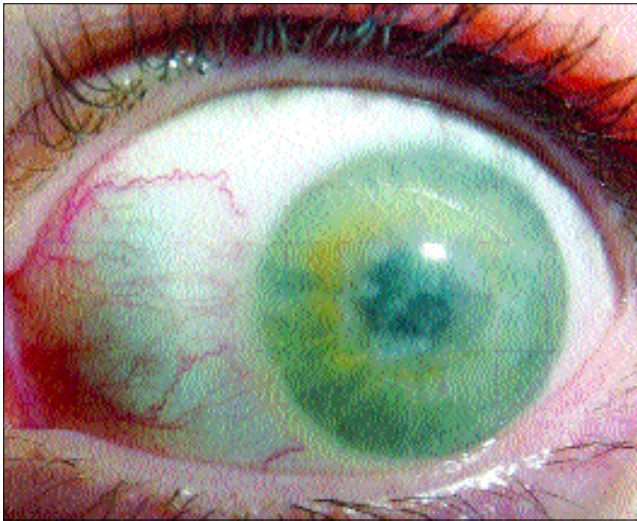
Summary: Purpose: The study reports the results of a histological and ultrastructural examination of the corneal button, obtained during penetrating keratoplasty from patient with clinically recognized macular corneal dystrophy. Material and methods: 34-year-old male patient suffering from macular corneal dystrophy (MCD) has been treated on corneal epithelium defect and photophobia since his early childhood. Visual acuity was decreased on the Snellen test chart to 0,02. Slit-lamp examination, and ultrasonographical measurement of the cornea's thickness were performed. Removed during penetrating keratoplasty corneal button was divided into two pieces. One of them was prepared in standard procedure for histological examination in the light microscopy after having been stained with hemotaxilin and eosin, alcian blue and paS – method. From the other part, slides for ultrastructural examination in the transmission electron microscopy were prepared with the use of standard method. The family history from the patient was also taken, and available relatives have undergone examination in search of typical MCD symptoms. Results: Slit-lamp examination findings revealed diffuse, from limbus to limbus, stromal opacification. In measurement by pachymeter cornea's thickness was reduced. In the light microscopy, in typical stained slides, delaminations within stroma and deficit of endothelial cells were observed. After being stained with alcian blue, dark blue deposits in the places of delamination became visible. By transmission electron microscopic examination, intracellular and extracellular deposits were detected in the stroma, Descemet membrane and endothelium. Distended keratocytes with enormous vacuoles containing abnormal material were found. Pedigree was typical for autosomal recessive inherited disease. Conclusions: Histological and ultrastructural diagnosis is a basis of recognition of macular corneal dystrophy. Analysis of the pedigree as well as ultrasonographical measurement of the cornea's thickness is very helpful to establish the right diagnosis.

Słowa kluczowe: dystrofia plamkowata rogówki, ultrastruktura, histopatologia.

Key words: macular corneal dystrophy, ultrastructure, histopathology.

Dystrofia plamkowata rogówki (DPR) została po raz pierwszy opisana w 1890 roku przez A. Groenouwa (według 3). Polega ona na występowaniu plamkowatych zmętnień na całej powierzchni rogówki, obejmujących całą jej grubość. Objawy kliniczne pojawiają się w pierwszej dekadzie życia i mają postać małych nieregularnych plamek, znajdujących się głównie w centrum i przedniej części istoty właściwej rogówki. Mają one tendencje do powiększania się i zlewania. W późniejszym stadium choroby zmiany obejmują błonę

Descemeta i śródbłonek. Powierzchnia rogówki staje się nierówna w wyniku nagromadzenia zmętnień pod nabłonkiem i dochodzi do nawracających ubytków nabłonka rogówki, czemu towarzyszy światłowstręt oraz dolegliwości bólowe. W zależności od populacji DPR stanowi od 10 do 75% dystrofii rogówki wymagających przeszczepu (5,10). Jako choroba o typie dziedziczenia autosomalnym recesywnym jest częściej spotykana w społecznościach zamkniętych, takich jak Islandia, gdzie jest powodem 1/3 wszystkich wykonywanych



Ryc. 1. Kliniczny obraz DPR prawego oka 34-letniego pacjenta z ostrością wzroku 0,02. Widoczne są liczne, nieregularnego kształtu zmętnienia w obrębie przymglonej rogówki.

Fig. 1. Clinical picture of MCD in the right eye of a 34-year-old male patient with visual acuity 0,02. Numerous irregular shaped opacities within hazy cornea are seen.

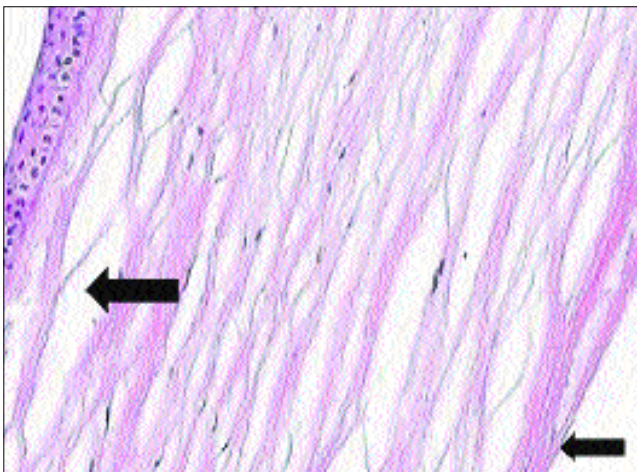
keratoplastyk (6). Defekt genetyczny u chorych na DPR typu pierwszego zlokalizowany jest w długim ramieniu szesnastego chromosomu, w typie drugim zajmuje prawdopodobnie to samo *loci* (16q22), co musiałyby być potwierdzone dodatkowymi badaniami (13). Konsekwencją mutacji jest defekt enzymu, specyficznej sulfotransferazy, odpowiedzialnego za przyłączanie reszt sulfonowych do siarczanu keratanu (4,12). Siarczan keratanu, wchodzący w skład proteoglikanów, jest jednym z głównych związków odpowiedzialnych za wiązanie wody w rogówce i stabilizację prawidłowej struktury włókien kolagenowych. Nieprawidłowości w budowie tego glikozaminoglikanu powodują zaburzenie regularnego utkanka kolagenu, ścięczenie rogówki i zmniejszenie jej przejrzystości (1,9,10). Siarczan kera-

tanu ze zmniejszoną ilością reszt sulfonowych lub ich pozbawiony odkłada się w postaci złogów w istocie właściwej, keratocytach, błonie Descemeta i śródbłonku rogówki (8). Ze względu na występowanie reagującego ze specyficznymi przeciwciałami siarczanu keratanu w surowicy i rogówce wyróżniono trzy typy DPR (tab. I) (7,11,14). W typie pierwszym brak reakcji tychże przeciwciał jest obserwowany także w chrząstce, co przemawia za ogólnoustrojowym charakterem schorzenia (2).

Celem pracy jest przedstawienie wyników badania histologicznego i ultrastrukturalnego rogówki uzyskanej w trakcie keratoplastyki drążącej od pacjenta z klinicznie rozpoznaną DPR.

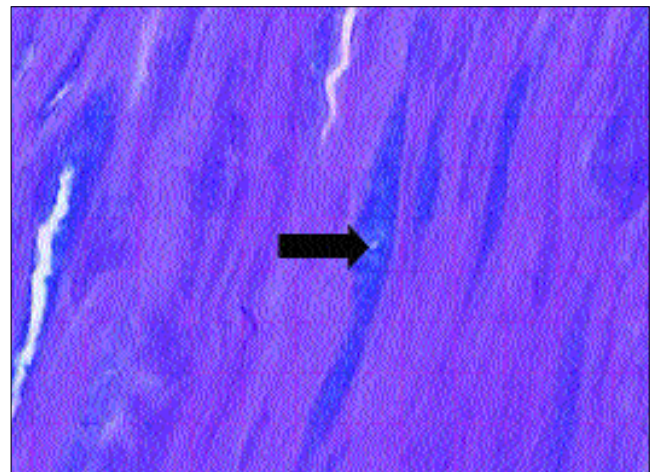
Materiał i metodyka

Pacjent, lat 34, z rozpoznaną na podstawie typowych objawów klinicznych dystrofią plamkową rogówki (ryc. 1) był leczony od dzieciństwa z powodu nawracających ubytków nabłonka i światłowstrętu. Z powodu utraty przez niego ostrości widzenia do 0,02 zdecydowano się na wykonanie przeszczepu drążącego rogówki prawego oka. Przed zabiegiem badano pacjenta w lampie szczelinowej oraz wykonano ultrasonograficzny pomiar grubości rogówki pachymetrem Paxis 2. Płatek rogówkowy uzyskany podczas wykonanej keratoplastyki drążącej podzielono na dwie części. Część przeznaczoną do badań w mikroskopie świetlnym po utrwaleniu w 10% roztworze formaldehydu przeprowadzono rutynową techniką do skrawków parafinowych. Preparaty grubości 5 mikrometrów barwiono hemotaksyliną i eozyną, metodą pa5 oraz błękitem alcianu. Drugą połowę płata utrwalono w 2,5% roztworze glukoraldehydu na buforze kakodylowym. Przygotowane w sposób typowy próbki tkankowe zatopiono w żywicy epoksydowej. Bloczki krojono ultramikrokratemem na skrawki ultracienkie o grubości 0,05 mikrometra. Preparaty kontrastowane roztworami octanu uranylu i cytrynianu ołowiu obserwowano w transmisyjnym mikroskopie elektronowym JEM 100CX. Dodatkowo zebrano wywiad rodzinny od pacjenta i przebadano dostępnych członków rodziny pod względem występowania objawów klinicznych typowych dla DPR.



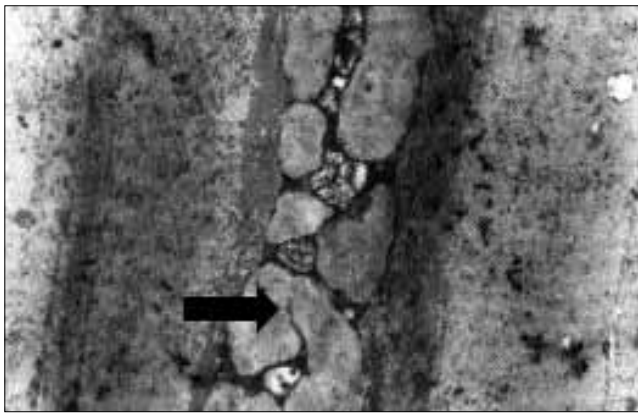
Ryc. 2. Przekrój histologiczny przez rogówkę uzyskaną od pacjenta z DPR podczas wykonywania keratoplastyki drążącej. Widoczne są rozwarstwienia w obrębie macierzy (duża strzałka) i deficyt komórek śródbłonka (mała strzałka). Barwienie hemotaksyliną i eozyną x 150.

Fig. 2. Histological section of corneal tissue removed during of the penetrating keratoplasty from patient with MCD shows delaminations within stroma (big arrow) and deficit of endothelial cells (small arrow). Staining with hematoxylin and eosin x 150.



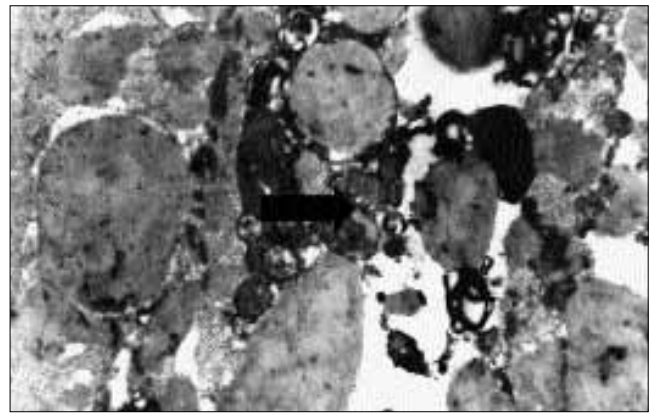
Ryc. 3. Przekrój histologiczny przez rogówkę uzyskaną od pacjenta z DPR podczas wykonywania keratoplastyki drążącej. Widoczne wybarwione na ciemnoniebiesko złogi w miejscu rozwarstwień macierzy (strzałka). Barwienie błękitem alcianu x 200.

Fig. 3. Histological section of corneal tissue removed from patient with MCD during of the penetrating keratoplasty shows stained dark blue deposits in the places of delaminations within stroma (arrow). Staining with alcian blue x 200.



Ryc. 4. Zdjęcie preparatu w transmisyjnym mikroskopie elektronowym – płatek rogówki uzyskany podczas wykonywania keratoplastyki drążącej. Widoczny rozdęty keratocyt zawierający olbrzymie wodniczki (strzałka), wypełnione patologicznym materiałem (5,5 x 10000).

Fig. 4. Transmission electron micrograph of corneal button removed during of the penetrating keratoplasty from patient with MCD. Distended keratocyte with enormous vacuoles (arrow) containing pathological material shown on the picture (5,5 x 10000).



Ryc. 5. Zdjęcie preparatu w transmisyjnym mikroskopie elektronowym – płatek rogówki uzyskany od pacjenta z DPR podczas wykonywania keratoplastyki drążącej. Widoczne pękające wodniczki keratocytów z wysypującym się do przestrzeni komórkowej patologicznym materiałem (6,6 x 10000).

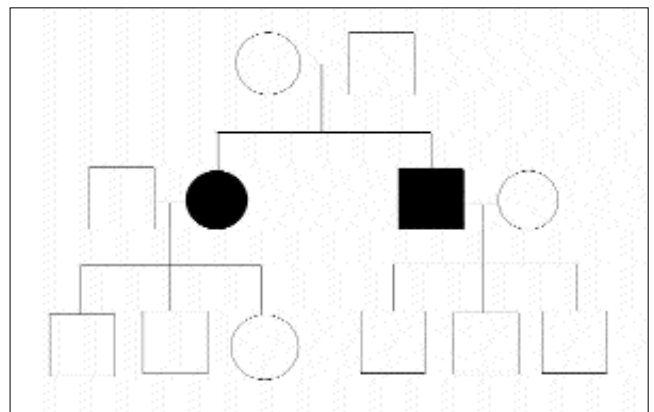
Fig. 5. Transmission electron micrograph of corneal button removed at the time of penetrating keratoplasty from patient with MCD. Ruptured vacuoles with abnormal material pouring out the stroma shown on the picture (6,6 x 10000).

Wyniki

Biomikroskopowo zaobserwowano obecność plamkowatych zmętnień obejmujących całą powierzchnię i grubość rogówki. Pachymetryczny pomiar wykazał redukcję grubości rogówki zarówno w centrum, jak i na obwodzie do średniej wartości 400 mikrometrów. W mikroskopie świetlnym w preparatach barwionych rutynowo uwidoczniono niezmienny nabłonek rogówki i istotę właściwą z rozwarstwieniami po wypłukanej zawartości. W obrazie wewnętrznej powierzchni błony Descemeta zauważono zmniejszoną liczbę komórek. Na całym badanym odcinku znaleziono tylko kilka komórek, mogących odpowiadać rozplaszczonym komórkom śródbłonna (ryc. 2). W barwieniu wybiórczym, w miejscach rozwarstwień, widoczne były ciemnoniebieskie złoże. Patologiczny materiał, podobnie jak rozwarstwienia, układał się linijnie, równoległe do powierzchni rogówki, z największą kumulacją tuż pod nabłonkiem (ryc. 3). Stwierdzono także ścieńczenie wszystkich warstw rogówki. W badaniu w mikroskopie elektronowym wykryto wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe złoże w obrębie istoty właściwej, błony Descemeta i nabłonka. Keratocyty zawierały olbrzymie mitochondria oraz liczne, olbrzymie, deformujące obrysy komórek wakuole (ryc. 4). Niektóre wodniczki były pęknięte, a nagromadzony w nich patologiczny materiał – wysypany do przestrzeni międzykomórkowej (ryc. 5). Z zebranego od pacjenta wywiadu rodzinnego wynikało, że jego rodzice nie skarżyli się na dolegliwości ze strony narządu wzroku i poza doбором korekcji okularowej nie wymagali leczenia okulistycznego. U siostry pacjenta rozpoznano kilka lat temu DPR, obecnie jej ostrość wzroku wynosi 0,1. W badaniu w lampie szczelinowej widoczne były zmiany charakterystyczne dla tego schorzenia. Podczas badania dzieci pacjenta i dzieci jego siostry nie stwierdzono obecności objawów DPR (ryc. 6).

Omówienie wyników

W badaniu w mikroskopie świetlnym i elektronowym uwidoczniono zmiany opisywane jako typowe dla DPR. Podczas barwienia dla badań histologicznych nie stosowano odczynników specyficznych dla innych dystrofii śródmiażdżowych rogówki (tab. II), ponieważ uży-



Ryc. 6. Drzewo genealogiczne opisywanego pacjenta. Widoczna dwójka rodzeństwa z DPR oraz zdrowi rodzice i potomstwo.

Fig. 6. Pedigree of described patient illustrating siblings with MCD and unaffected parents and offspring.

skano pozytywną reakcję złożeń z błękitem alczjanu, którego użycie sugerował obraz kliniczny.

Ścieńczenie wszystkich warstw rogówki, zaobserwowane w preparatach histologicznych, potwierdziło słuszność wykonania pomiaru grubości rogówki jako badania podstawowego w diagnostyce. Uzyskane wyniki badań stanowią potwierdzenie słuszności zastosowania keratoplastyki drążącej jako postępowania terapeutycznego w przypadku tego schorzenia. Przeszczep warstwowy i laserowa fotoablacja nie miałyby zastosowania ze względu na umiejscowienie zmian również w śródbłonnku. Wynik badania rodziny opisywanego pacjenta był typowy dla choroby dziedzicznej autosomalnie recesywnie. Również on potwierdził diagnozę, która jest istotna także dla określenia ryzyka wystąpienia schorzenia u dzieci chorego. Poza przypadkami, w których rodzice są spokrewnieni, jest ono niewielkie, w odróżnieniu od ryzyka występującego w dystrofii ziarnistej i siateczkowej, dziedzicznych autosomalnie dominująco, wynoszącego 50%. Prawdopodobnie postawione rozpoznanie choroby wyjaśnia przyczynę występowania nawracających ubytków nabłonka, charakterystycz-

Immunofenotyp	I	I A	II
poziom siarczanu keratanu w surowicy	nieoznaczalny	nieoznaczalny	obniżony lub prawidłowy
wynik reakcji specyficznych przeciwciał z siarczanem keratanu zawierającym reszty sulfonowe	brak reakcji	reakcja pozytywna w pojedynczych keratocytach	reakcja pozytywna w istocie właściwej, błonie Descemeta, keratocytach i endotelium

Tab. I. Immunofenotypy dystrofii plamkowej rogówki.

Tab. I. Immunophenotypes of the macular corneal dystrophy.

Typ dystrofii	Specyficzny odczynnik
dystrofia plamkowata	błękit alcianu
dystrofia ziarnista	trichrom Massona
dystrofia kraciasta	czerwień Kongo
dystrofia Avellino	błękit alcianu, czerwień Kongo

Tab. II. Specyficzne barwienie w różnych typach dystrofii zrębu rogówki.

Tab. II. Specific staining in various types of stromal corneal dystrophy.

nych dla tego schorzenia. Wszystkie typy DPR dają taki sam obraz kliniczny i wymagają identycznego leczenia. Jednakże ich określenie mogłoby mieć znaczenie prognostyczne ze względu na opisywanie częstszego występowania nawrotów w obrębie przeszczepu w przypadkach z drugim typem dystrofii. Badania pozwalające zrozumieć patomechanizm powstawania choroby być może w przyszłości umożliwią leczenie substytucyjne lub zastosowanie terapii genowej.

Wnioski

Diagnostyka histologiczna i ultrastrukturalna stanowi potwierdzenie rozpoznania dystrofii plamkowej rogówki.

Badaniami pomocnymi w postawieniu prawidłowego rozpoznania są analiza drzewa genealogicznego oraz ultradźwiękowy pomiar grubości rogówki.

PIŚMIENICTWO: 1. Donnenfeld E. D., Cohen E. J., Ingraham H. J., Poleski S. A., Goldsmith E., Laisbon P. R.: *Corneal thinning in macular corneal dystrophy*. American Journal of Ophthalmology, 1997, vol. 101, no 1, 112-113. 2. Edward D. P., Thonar E. J., Strinivasan M., Yue B. J., Tso M. O.: *Macular dystrophy of cornea. A systemic disorder of keratan sulfate metabolism*. Ophthalmology, 1990 Sep, 97 (9), 1194-200. 3. Green W. R., Robin A. L., Thomas P., Lapsa T. P., Hoover R. E., Kelley J. S.: *Recurrence of macular corneal dystrophy after lamellar keratoplasty*. American Journal of Ophthalmology, 1977 Oct, vol. 84, no 4, 457-462. 4. Hageswa N., Torii T., Nagaoka I., Nakayasu K., Miyajima H., Habichi O.: *Measurement of activities of human serum sulfo-*

transferases with transfer sulfate to the galactose residues of keratan sulfate and to the nonreducing end N-acetylglucosamine residues of N-acetylglucosamine trisaccharide: comparison between normal controls and patients with macular corneal dystrophy. Journal of Biochemistry, 1999 Feb, 125, 920, 245-252. 5. Johansson F., Johansson J. H., Garner A., Rice N. S.: *Macular corneal dystrophy in Iceland*. Eye, 1989 Mar, 446-454. 6. Johansson F., Oshima E., Thonar E. J. M. A., Smith C. F., Johansson J. H., Klinworth G. K.: *Macular corneal dystrophy in Iceland: a clinical, genealogic, and immunohistochemical study of 28 patients*. Ophthalmology, 1996, 103, 1111-1117. 7. Klinworth G. K., Oshima E. R. I., Al-Rajhi A., Al-Saif A., Eugene J. M., Thonar A., Karcioğlu Z. A.: *Macular corneal dystrophy in Saudi Arabia: a study of 56 cases and recognition of a new immunophenotype*. American Journal of Ophthalmology, 1997, 124, 9-18. 8. Lewis D., Davues Y., Nieduszyci I. A., Lawrance F., Quantock A. J., Bonschek R., Fullwood N. J.: *Ultrastructural localization of sulfated and unsulfated keratan sulfate in normal and macular corneal dystrophy type I*. Glycobiology, 2000 Mar, 10 (3), 305-312. 9. Plaas A. H., West L. A., Thonar E. J. A., Karcioğlu Z. A., Smith C. J., Klinworth G. K., Hascall V. C.: *Altered fine structures of corneal and skeletal keratan sulfate and chondroitin/dermatan sulfate in macular corneal dystrophy*. Journal of Biology and Chemistry, 2001 Oct, vol. 276, Issue 43, 39788-39796. 10. Santo R. M., Yamaguchi T., Kanai A., Okisaka S., Nakijima A.: *Clinical and histopathologic features of corneal dystrophies in Japan*. Ophthalmology, 1995, 102, 557-567. 11. Scott J. E.: *Proteoglycan: collagen interactions and corneal ultrastructure*. Biochem. Soc. Trans., 1991, 19, 877-881. 12. Thonar E. J., Meyer R. F., Dennis R. F.: *Absence of normal keratan sulfate in blood of patients with macular corneal dystrophy*. American Journal of Ophthalmology, 1986, 102, 561-569. 13. Vance J. M., Jonasson F., Lennon F., Sarrica J., Damij K. F., Stauffer J., Percak-Vance M. A.: *Linkage of gene for macular corneal dystrophy to chromosome 16*. American Journal of Human Genetic, 1996, 58, 757-762. 14. Yang C. J., SundaRaj N., Thonar E. J., Klinworth G. K.: *Immunohistochemical evidence of heterogeneity in macular corneal dystrophy*. American Journal of Ophthalmology, 1988, 106, 65-71.

Praca wpłynęła do Redakcji 21.11.2002 r. (165).

Adres korespondencyjny (Reprint requests to):
dr n. med. Edward Wylęgała
Okręgowy Szpital Kolejowy
ul. Panewnicka 65
40-765 Katowice