

(59)

Przyżyciowa ocena pęcherzyka filtracyjnego na poziomie komórkowym za pomocą HRT II Cornea Module

Evaluation on the cellular level the filtering bleb following trabeculectomy, using the HRT II Cornea Module

Joanna Jurowska-Liput, Patrycja Krzyżanowska, Łukasz Szelepin, Maria Hanna Nizankowska

Z Centrum Jaskry Ośrodka Okulistyki Klinicznej NZOZ SPEKTRUM we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Maria Hanna Nizankowska

Kierownik: dr n. med. Bożena Gołębiowska

Summary:

Purpose: Evaluation on the cellular level the filtering bleb following trabeculectomy, using the HRT II Cornea Module.

Material and methods: Confocal microscopy was performed in 47 eyes following trabeculectomy to state typical images for functioning blebs with no MMC application, with MMC application and non-functioning blebs. In gathered images we assessed appearance, size and number of intraepithelial microcysts, encapsulation, density of subepithelial tissue and blood vessels.

Results: A large number of microcysts filled with fluid and loosely arranged subepithelial tissue were observed in functioning blebs with no MMC application (20 eyes). Smaller amount of microcysts but their larger size and inflammatory cells were typical for functioning blebs with MMC application (18 eyes). We found encapsulated microcysts and dense connective tissue in non-functioning blebs (9 eyes).

Conclusions: Visualization of filtering bleb structure in vivo is an objective and helpful method of evaluation of functioning status following trabeculectomy.

Słowa kluczowe:

pęcherzyk filtracyjny, trabekulektomia, mikroskopia konfokalna, HRT II Cornea Module.

Key words:

filtering bleb, trabeculectomy, confocal microscopy, HRT II Cornea Module.

Dobry efekt funkcjonalny zabiegu filtracyjnego wykonywanego metodą trabekulektomii jest uzależniony od kilku czynników, takich jak: typ jaskry, wiek chorego, przebyte wcześniej zabiegi operacyjne, długotrwałość i intensywność wcześniejszej miejscowej terapii farmakologicznej, elementy techniki operacyjnej, a także osobniczo determinowany proces gojenia rany, na który może mieć wpływ postępowanie pooperacyjne. Klinicznie przetoka filtrująca jest poddawana makroskopowej ocenie morfologicznej w biomikroskopie pod kątem obecności mikrotorbieli, korkociągowatych naczyń krwionośnych oraz cech jej otorbienia. Jednakże biomikroskopowa ocena przetoki w szczególności istotnej z punktu widzenia klinicznego wczesnej fazy pooperacyjnej może nie wystarczać do podjęcia decyzji co do dalszego postępowania (1,2). Dlatego przyżyciowe badanie na poziomie komórkowym pęcherzyka filtracyjnego jest bardzo przydatnym narzędziem, umożliwiającym właściwe prowadzenie leczenia pooperacyjnego.

Celem niniejszej pracy było przeanalizowanie *in vivo* struktury histopatologicznej ściany pęcherzyka filtracyjnego po trabekulektomii wykonanej w różnie odległym czasie, bez zastosowania antymetabolitu – mitomycyny C (MMC) – i z jego zastosowaniem.

Material i metoda

W 47 oczach, operowanych metodą trabekulektomii z podstawą płatka spojówki w załamku, przeprowadzono badanie pęcherzyka filtracyjnego za pomocą mikroskopii konfokalnej aparatem HRT II Cornea Module, Heidelberg Retina Tomograph II (Heidelberg Engineering, Inc., Heidelberg, Germany). Czas od zabiegu operacyjnego poszczególnych oczu do czasu badania wynosił od 29 dni do 8 lat.

Analiza obrazu uzyskanego metodą mikroskopii konfokalnej została przeprowadzona w 3 grupach oczu: 1) z przetokami funkcjonującymi w oczach operowanych bez zastosowania MMC (20 oczu), 2) z przetokami funkcjonującymi w oczach, w których intraoperacyjnie była stosowana MMC (18 oczu), oraz 3) z przetokami niedrożnymi (9 oczu).

Metodyka badania obejmowała wstępną ocenę pęcherzyka filtracyjnego w biomikroskopie i pomiar ciśnienia wewnątrzgałkowego (c.w.) za pomocą tonometru aplanacyjnego Goldmanna. W grupach 1. i 2. wartości c.w. bez stosowania leków hipotonicznych plasowały się na poziomie 21 mmHg lub poniżej.

Badanie metodą mikroskopii konfokalnej za pomocą przystawki HRT II Cornea Module wykonywano po znieczuleniu powierzchni oka kroplą preparatu Novesin 1% i podaniu do worka

spojówkowego żelowego preparatu sztucznych łez (Comfort gel, Bausch & Lomb). Po uniesieniu górnej powieki przez badającego pacjent był proszony o skierowanie oka w dół, a do uwidocznionej w ten sposób przetoki filtracyjnej zbliżano powoli końcówkę mikroskopu pod kontrolą kamery zainstalowanej z boku twarzy pacjenta. Kamera rejestrowała obraz, który był przekazywany na ekran komputera. Rozpoczynano od obrazowania nabłonka spojówki i rogówki, a następnie rejestrowano kolejno głębsze warstwy ściany przetoki filtrującej.

Fotografowanie histopatologicznej struktury ściany przetoki rozpoczynano od rejestracji powierzchniowych i średnio głębokich warstw jej ściany w okolicy rąbka rogówki, a następnie kierowano końcówkę mikroskopu ku górze, rejestrując w tym obszarze obraz nabłonka spojówki i mikrotorbiele. Następnie, również od okolicy rąbka rogówki, była fotografowana tkanka podnabłonkowa. Ogółem w czasie każdej sesji, której czas nie przekraczał 5 min, wykonywano około 30 fotografii. Cała procedura nie była obciążająca dla pacjenta.

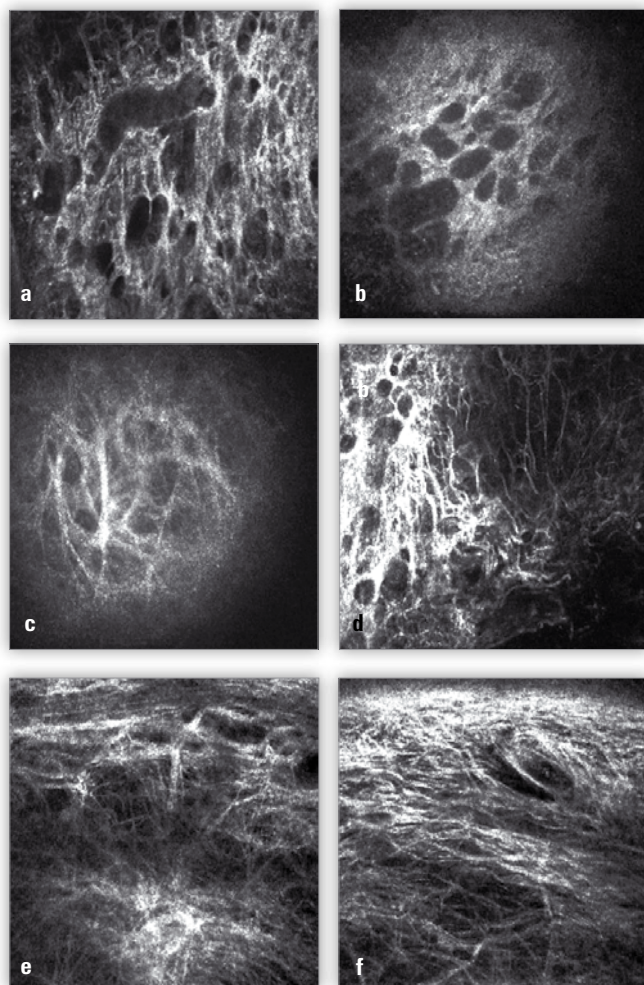
Obrazy mikroskopii *in vivo* zostały przeanalizowane pod względem liczby, rozległości i kształtu mikrotorbieli we-

wnątrznabłonkowych, cech otorbienia przetoki, gęstości tkanki łącznej podnabłonkowej oraz obecności naczyń krwionośnych. Na tej podstawie starano się usystematyzować cechy charakterystyczne dla poszczególnych typów pęcherzyków filtracyjnych.

Wyniki

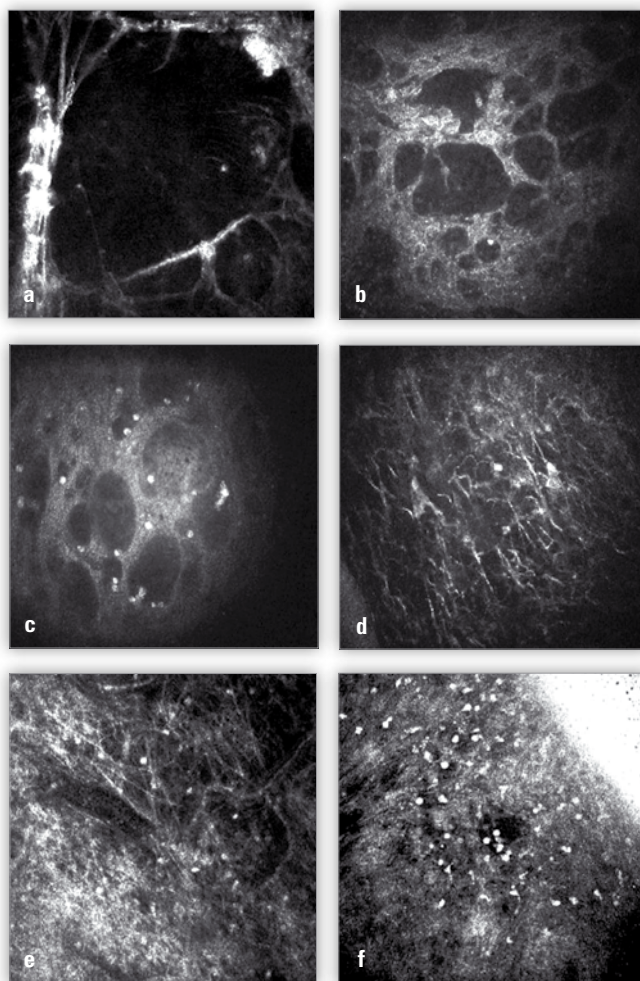
W grupie 1. – przetok działających po trabekulektomii bez stosowania MMC – w obrębie analizowanej powierzchni o wymiarach 400 μm x 400 μm obserwowano prawidłowy nabłonek spojówki i rogówki z dużą liczbą optycznie pustych, wypełnionych płynem mikrotorbieli wewnątrzabłonkowych o średnicy od 15 μm do 150 μm. Tkanka łączna podnabłonkowa cechowała się luźnym utkaniem (ryc. 1a-f).

W grupie 2. – przetok działających po trabekulektomii z zastosowaniem MMC – obserwowano również prawidłowy nabłonek spojówki i rogówki, ale cechowała je obecność wielu znacznie większych, wypełnionych płynem mikrotorbieli we-



Ryc. 1. Obraz funkcjonującej przetoki filtracyjnej po trabekulektomii bez użycia MMC; a,b,c – dobrze uwidocznione liczne wypełnione płynem mikrotorbiele; d,e,f – luźno utkana tkanka łączna podnabłonkowej.

Fig. 1. Images of functioning blebs without application of MMC; a,b,c – clearly exposed the large number of microcysts filled with fluid; d,e,f – loosely arranged subepithelial connective tissue.



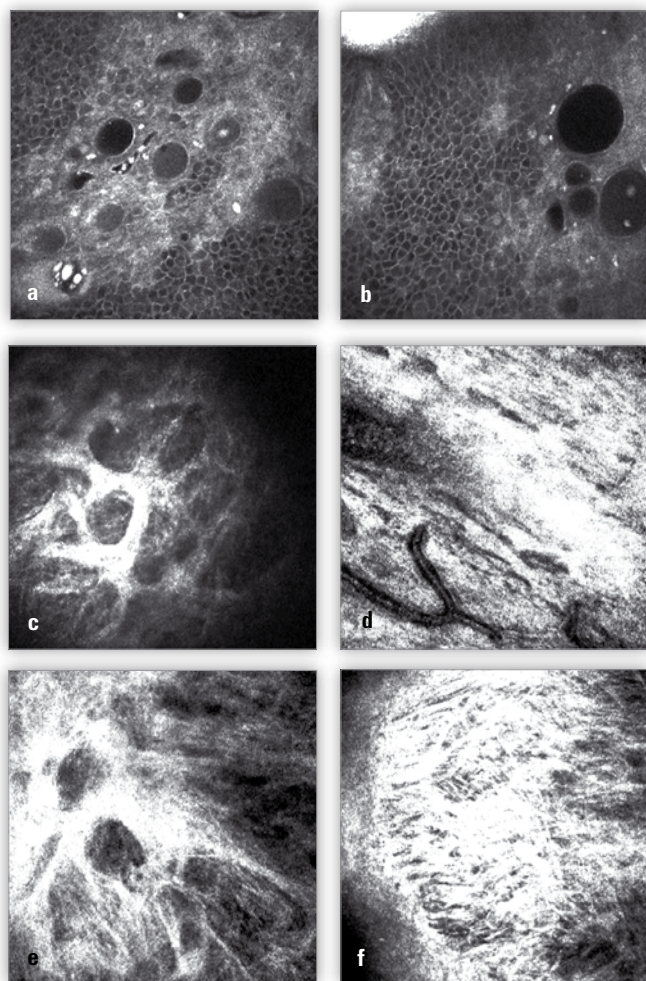
Ryc. 2. Obraz funkcjonującej przetoki filtracyjnej po trabekulektomii z użyciem MMC; a,b,c – widoczne mikrotorbiele o większych rozmiarach z elementami zapalnymi; d,e,f – luźno utkana tkanka łączna podnabłonkowa oraz liczne hiperefleksyjne elementy zapalne.

Fig. 2. Images of functioning blebs with application of MMC during surgery; a,b,c – large number of bigger microcysts with inflammatory elements; d,e,f – loosely arranged subepithelial connective tissue and large amount of hiperreflective inflammatory elements.

wnątrznabłonkowych o średnicy do 300 μm . Przestrzenie mikrotorbieli charakteryzowały się najczęściej obecnością hiperrefleksyjnych elementów, które jednak w niektórych przypadkach – szczególnie jeśli trabekulektomia była wykonana przed kilku laty – nie występowały. Utkanie tkanki podnabłonkowej było luźne, bez cech otorbienia przetoki (ryc. 2a-f).

Istnieją różne hipotezy dotyczące pochodzenia elementów hiperrefleksyjnych. Wcześniejsza interpretowała je jako jądra martwicze powstałe po użyciu antymetabolitu (3). W 2006 r. Messmer i wsp. sformułowali tezę, że są one wyrazem naturalnego po zabiegu operacyjnym odczynu zapalnego, który po użyciu MMC utrzymuje się dłużej.

W naszym materiale badania były przeprowadzane nie wcześniej niż 4 tygodnie po zabiegu. Jednakże w grupie oczu po trabekulektomii z zastosowaniem MMC, podobnie jak w przetokach po rewizji trabekulektomii, a także po needlingu z podaniem 5FU były obserwowane wyraźne komórki zapalne.



Ryc. 3. Obraz niefunkcjonujących przetok filtracyjnych z cechami odpowiadającymi procesowi otorbienia przetoki.; a,b,c – widoczne nieliczne, drobne mikrotorbiele; d – zbita tkanka łączna podnabłonkowa i naczynia krwionośne; e,f – zbita tkanka łączna podnabłonkowa.

Fig. 3. Images of nonfunctioning blebs with characteristics typical for encapsulated blebs; a,b,c – small number of microcysts; d – dense subepithelial connective tissue and blood vessels; e,f – dense subepithelial connective tissue.

W grupie 3. – przetok niedziałających – przyżyciowa mikroskopia konfokalna ukazywała prawidłowy nabłonek spojówki i rogówki z niewielką liczbą optycznie pustych, wypełnionych płynem mikrotorbieli o bardzo regularnym kształcie i o średnicy od 10 μm do 70 μm , otoczonych zbitą strukturą tkanki łącznej z naczyniami krwionośnymi, a ponadto zbitą strukturę tkanki łącznej podnabłonkowej sugerującą otorbienie przetoki (ryc. 3a-f).

Omówienie

Mikroskopia konfokalna została po raz pierwszy opisana w 1957 r. (3). Jest ona powszechnie wykorzystywanym narzędziem do diagnostyki chorób rogówki, a ostatnio również do oceny spojówki (4,5). W ciągu ostatnich dwóch lat pojawiły się pojedyncze doniesienia na temat zastosowania tej techniki do przyżyciowej histopatologicznej oceny struktury pęcherzyka filtracyjnego w różnym okresie pooperacyjnym (3,6,7). Wyniki badań wszystkich autorów, które dotyczyły działających i niedziałających przetok filtracyjnych, były zgodne co do tego, że duża liczba mikrotorbieli jest cechą charakterystyczną prawidłowej funkcji przetoki (1,3,6,7,8,9).

W biomikroskopowym badaniu klinicznym mikrotorbiele są widoczne tylko w warstwie powierzchniowej, natomiast mikroskopia konfokalna pozwala analizować je *in vivo* na poziomie komórkowym, umożliwiając dokładną analizę całego przekroju ściany przetoki. Ma to duże znaczenie praktycznie, gdyż dla oceny procesu bliznowacenia i rokowania o funkcji przetoki istotny jest sposób utkania tkanki łącznej podnabłonkowej. Jej zbita struktura, jak również obecność naczyń krwionośnych są bowiem typowe dla przetok zasklepiających się i niespełniających funkcji filtracyjnej. Z kolei luźne utkanie podnabłonkowej tkanki łącznej i duża liczba mikrotorbieli są związane z dobrą funkcją pęcherzyka filtracyjnego (1,3,6,7,8,9).

Konkludując, należy stwierdzić, że dzięki możliwości nieinwazyjnego monitorowania metodą przyżyciowej mikroskopii konfokalnej histopatologicznych cech ściany przetoki filtracyjnej w okresie pooperacyjnym za pomocą HRT II Cornea Module są możliwe przewidywanie jej efektu funkcjonalnego i odpowiednio wczesne podjęcie interwencji terapeutycznej.

Piśmiennictwo:

1. Picht G, Grehn F: *Classification of filtering blebs in trabeculectomy: biomicroscopy and functionality*. Curr Opin Ophthalmol 1998, 9, 2-8.
2. Picht G, Grehn F: *Classification of filtering blebs: a correlation to outcome 3 months after trabeculectomy [ARVO abstract]*. Invest Ophthalmol Vis Sci 1997, 38, 1060.
3. Labbe A, Dupas B, Hamard P, Boudouin C: *In vivo confocal microscopy study of blebs after filtering surgery*. Ophthalmology 2005, 112, 1979-1986.
4. Jalbert I, Stapleton F, Papas E: *In vivo confocal microscopy of the human cornea*. Br J Ophthalmol 2003, 87, 225-236.
5. Mustonen R.K., McDonald M.B., Sriovannaboon S.: *Normal human corneal cell populations evaluated by in vivo scanning slit confocal microscopy*. Cornea 1998, 17, 485-492.
6. Guthoff R, Klink T, Schlunck G, Grehn F: *In vivo confocal microscopy of failing and functioning filtering blebs: results and clinical correlations*. J Glaucoma 2006, Dec, 15(6), 552-558.

7. Messmer EM, Zapp DM, Mackert MJ, Thiel M, Kampik A: *In vivo confocal microscopy of filtering blebs after trabeculectomy*. Arch Ophthalmol 2006, Aug, 124(8), 1095-1103.
8. Vesti E: *Filtering blebs: follow up of trabeculectomy*. Ophthalmic Surg 1993, 24, 249-255.
9. Sacu S, Rainer G, Findl O: *Correlation between the early morphological appearance of filtering blebs and outcome of trabeculectomy with mitomycin C*. J Glaucoma 2003, 12, 430-435.

Praca wpłynęła do Redakcji 25.04.2007 r. (964).
Zakwalifikowano do druku 20.10.2008 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
lek. med. Joanna Jurowska-Liput
Ośrodek Okulistyki Klinicznej SPEKTRUM
ul. Olszewskiego 58
51-646 Wrocław
e-mail: jjliput@op.pl

16-18.04.2009 Gdańsk

Przewodnicząca Komitetu Naukowego i Organizacyjnego:
Dr hab. med. prof. ndz. Krystyna Raczynska
Klinika Chorób Oczu AM w Gdańsku
ul. Dębinki 7, Gdańsk, tel./fax +48 (58) 349 23 70
e-mail: retina@amg.gda.pl

Tematy główne

Nowe spojrzenie na leczenie zachowawcze
i operacyjne chorób siatkówki
Tematy wolne związane
z siatkówką i ciałem szklistym

Za udział w konferencji
przeznaczono punkty edukacyjne

Termin nadsyłania streszczeń
30 listopada 2008 r.

W sprawach organizacyjnych prosimy o kontakt
SECRET
ul. Żurawia 15-15/31, 60-800 Poznań
tel/fax +48 (61) 842 74 66, tel. +48 (61) 842 70 94
e-mail: biuro@gazeta-konferencja.pl



XXIX Sympozjon Retinologiczny

www.retina2009.pl