

A Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemészeti Klinikájának
(igazgató: Berta András egyetemi tanár) közleménye

A cornealis endothelium diabetes mellitusban

MÓDIS LÁSZLÓ, KETTESY BEÁTA, KEMÉNY BEKE ÁDÁM, BERTA ANDRÁS

Bevezető: Az ellentmondásos irodalmi adatok miatt *in vivo* tanulmányoztuk diabetes mellitusban szenvedő betegek cornealis endotheliumának szerkezetét.

Anyag és módszer: Tizenegy I-es típusú diabetes mellitusban szenvedő beteg húsz, és tizenöt II-es típusú diabetes mellitusban szenvedő beteg huszonöt szaruhártyáját vizsgáltuk kontakt spekulár mikroszkóppal. Meghatároztuk az endothelium sejtsűrűségét, átlagos sejterületét és variációs koefficiensét, a cornea vastagságát, a betegek szemnyomását, és rögzítettük a fundus állapotát is. Kontrollként hét egészséges egyén tíz szeme szolgált. Statisztikai feldolgozás során a Pearson-féle korrelációs függvényt (r) és a Student-féle kétmintás t -próbát (p) használtuk.

Eredmények: Az átlagos sejtsűrűség kisebb, a variációs koefficiens és a sejterület nagyobb volt a cukorbeteg endotheliumban, mint az egészséges kontrollokban. A II-es típusú cukorbetegségben a sejtsűrűség az életkorral ($r=-0,39$, $p=0,05$), a variációs koefficiens a szemfenék állapotával ($r=0,43$, $p=0,03$) mutatott szignifikáns összefüggést. A szaruhártya-vastagság és a szemnyomásértékek átlaga diabetesben normális volt.

Következtetések: A diabetes mellitus mindkét típusában a szaruhártya endotheliumát kóros szerkezetűnek találtuk. Ez valószínűleg olyan ozmotikus, metabolikus stressz eredménye, mely miatt ez a szövet fokozott sérülékenységgel van kitéve, elsősorban műtét behatásainak hatására.

Kulcsszavak: cornealis endothelium, spekulár mikroszkópia, diabetes mellitus

THE CORNEAL ENDOTHELIUM IN DIABETES MELLITUS

Introduction: Due to the conflicting data in literature we studied the structure of the corneal endothelium *in vivo* in diabetic patients.

Materials and methods: Twenty corneas of eleven type I diabetes mellitus patients and twenty-five corneas of fifteen type II diabetes mellitus patients were evaluated by specular microscopy. Endothelial density, mean cell area, coefficient of variation of cell area, corneal thickness, intraocular pressure, and the fundus status were determined. Ten corneas of seven healthy volunteers served as a control. The Pearson correlation coefficient (r) and the two-sample Student's t test (p) were used for statistical analysis.

Results: The average endothelial cell density was decreased, the mean cell area and the coefficient of variation of cell area were increased in diabetic patients as compared to the normal ones. Cell density was significantly correlated with the age ($r=-0,39$, $p=0,05$) and the coefficient of variation of cell area significantly correlated with the fundus findings ($r=0,43$, $p=0,03$) in type II diabetes mellitus. The mean corneal thickness and intraocular pressure were normal in diabetic patients.

Discussion: In both types of diabetes mellitus the structure of the corneal endothelium was found to be abnormal. This can be the result of osmotic, metabolic stress, consequently this tissue is exposed to increased vulnerability especially during surgical interventions.

Keywords: corneal endothelium, specular microscopy, diabetes mellitus

A diabetes mellitus számos szemészeti, ezen belül cornealis komplikációja ismert. A szaruhártyát érintő elváltozások közül ismert a cornea csökkent érzékenysége,¹⁵ a neurotrofikus fekélyek,⁴ a perzisztáló epithelialis defektusok, valamint az epithelialis és stromalis oedema kialakulása.¹² Többek között ezen tényezők miatt is diabeteses betegekben gyakori a műtét utáni elhúzódó sebgyógyulás és tartós szaruhártya-duzzanat fennállása.¹² Ezekért a folyamatokért egyrészt az epithelium, nagyobb részben azonban az endothelium felelős.⁹

Az irodalmi adatok ellentmondóak az endothelium morfológiai, strukturális és ezzel összefüggésben funkcionális szerepét illetően.^{3,6,8,13,14} Korábbi közlések megállapították, hogy diabetes mellitusban a cornealis endothelium kóros

szerkezetű. Többen leírtak azonban kontrollcsoporttal összehasonlítva normális sejtsűrűséget, átlagosan vastagabb corneával;¹⁶ polimorfizmussal;^{3,16} a variációs koefficiens és a szemnyomás növekedésével, de normális vastagsággal és sejterülettel;⁶ polimorfizmussal, polimegitizmussal és vastagabb corneával.⁸ Egy újabb tanulmány pedig az egészséges szemekhez viszonyítva a diabetes mindkét típusában szignifikáns különbséget észlelt a sejtsűrűség, a szaruhártya-vastagság, a variációs koefficiens és a sejterület tekintetében.¹³

Ezért tanulmányunkban célul tűztük ki, hogy saját beteganyagunkban az irodalmi ellentmondásokat feloldására a diabetes mellitusban szenvedő betegek cornealis endotheliumának szerkezetét *in vivo* tanulmányozzuk. Továbbá összefüggést kerestünk az endothelium morfológiája és az

azt befolyásoló tényezők között is, mint a betegek életkora, vércukorszintje és a betegség fennállási ideje.

Anyag és módszer

A diabetes mellitusban szenvedő betegeket véletlenszerűen választottuk ki. Kizárási szempont volt a más szemészeti betegség és a korábbi intraocularis beavatkozás. A betegség jellegéből adódóan a vizsgált egyéneket I-es és II-es típusba soroltuk. Az első csoportba soroltunk minden inzulinterápián lévő cukorbeteg, függetlenül attól, hogy korábban részesült-e más antidiabetikus kezelésben. A II-es csoportba a nem inzulinterápiában részesülő betegek kerültek.

Rögzítettük a betegek életkorát, a betegség kezdetét és az aktuális (3 napon belüli) vércukor szintjét. Akiknél ez az adat nem állt rendelkezésre, nem kerültek be az adatbázisba. Applanációs tonometria és szembogártágítás után meghatároztuk a szemfenék állapotát. A számítógépes feldolgozást megkönnyítendő, 1-gyel jelöltük az eltérés nélküli fundust, 2-vel a korai non-proliferatív, 3-mal az előrehaladott non-proliferatív és 4-gyel a proliferatív retinopathiát.

Ezt követően helyi érzéstelenítés után kontakt spekulár mikroszkóppal (Tomey) digitalizált fényképfelvételeket készítettünk a centrális cornealis endotheliáról, minden szem esetében legalább hárommal. Összesen 45 szaruhártyát vizsgáltunk a következő megoszlásban: 11 I-es típusú cukorbeteg 20, és 15 II-es típusú cukorbeteg 25 szaruhártyáját elemeztük. A legélesebb digitalizált fényképfelvételeket az endothelsejtek tanulmányozására kifejlesztett számítógépes programmal (EM 1100, Tomey) vizsgáltuk tovább, minden cornea esetében minimum 100 sejt felhasználásával. Egyszerűsítve, a program alapja az automatizált alakfelismerés. Felismerve a sejtek közötti határokat, a szoftver az endothelsejteket különböző színnel jeleníti meg. Az így kapott színekódolt képeket az eredeti fotókkal összevetettük, és eltérés esetén manuális korrekciót végeztünk. Meghatároztuk a mm²-re eső endothelialis sejtsűrűséget, az átlagos sejterületet és a variációs koefficiens (átlagos sejterület standard deviációja/átlagos sejterület).

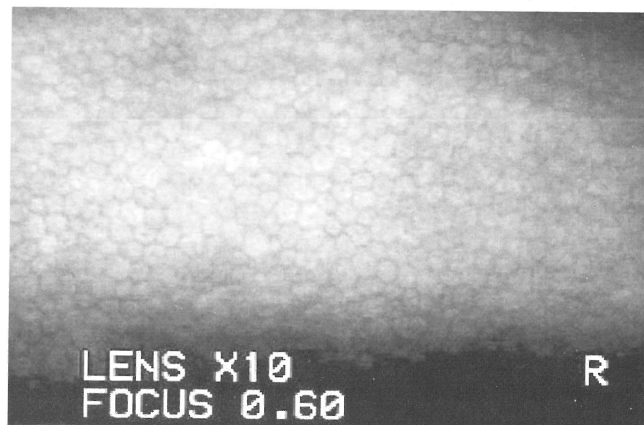
Mivel a spekulár mikroszkóp alkalmas a szaruhártya vastagságának mérésére is, ezért a pachymetriai adatokat is rögzítettük.

Kontrollként 7 beteg (átlagéletkor 52,4±14,1 év) 10 szeméről nyertünk hasonló adatokat.

Az adatokat statisztikai feldolgozásnak vetettük alá, a hasonló paramétereket Student-féle kétmintás t-próbával (p) hasonlítottuk össze. A Pearson-féle korrelációs koefficiens (r) meghatározásával pedig lineáris összefüggést kerestünk az endothelium állapotát jól jellemző sejtsűrűség és variációs koefficiens és a többi független változó, mint az életkor, a betegség fennállási ideje, a vércukorszint, a szemfenék állapota és a cornea vastagsága között. Ezek szignifikanciaszintjét szintén kétmintás t-próbával számoltuk ki. Konvencionálisan a 0,05-nél kisebb eltérést tekintettünk szignifikánsnak.

Eredmények

A leíró statisztikai jellemzőket táblázatban foglaltuk össze, feltüntetve a kontrollszemekhez tartozó adatokat is (1. táblázat). Az I-es típusú diabetes mellitusban a betegek átlagéletkora 59,0, a II-es típusban 66,2 év volt. A betegség fennállási ideje közel egyezett, átlagosan 12 év körüli volt. A cukorbeteg átlagos vércukorszintje mindkét csoportban a normális érték felett volt, a közöttük lévő eltérés szignifikánsnak bizonyult (p=0,02) és az inzulinnal kezelt

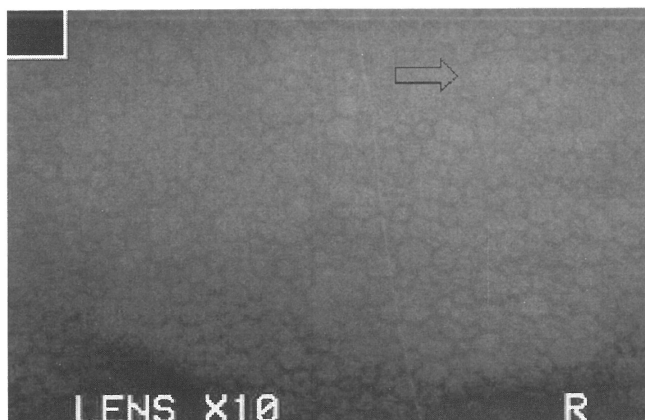


1. ábra. A normális cornealis endothelium spekulár mikroszkópos képe

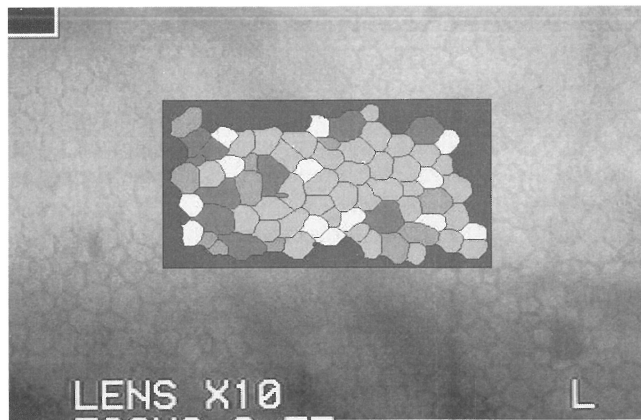
1. táblázat. Leíró statisztikai jellemzők diabetes mellitusban, összehasonlítva az egészséges szemekkel

	Kontroll (n=10)	DM I-es típus (n=20)	p ₁	DM II-es típus (n=25)	p ₂	P _{DM}
Életkor (év)	52,4±14,1	59,0±9,7	0,4	66,2±6,3	0,1	0,14
Betegség fennállási ideje (év)		11,5±7,5		11,9±7,3		0,91
Vércukorszint (mmol/l)		11,84±3,88		7,55±1,91		0,02
Szemnyomás (Hgm)		16,45±2,25		16,44±2,09		0,99
Szemfenéki eltérés*		2,2±0,68		2,3±0,99		0,69
Szaruhártya-vastagság (mm)	0,56±0,02	0,54±0,03	0,19	0,56±0,03	0,64	0,08
Sejtsűrűség (mm ²)	2485±75	2230±325	0,053	2366±194	0,03	0,3
Variációs koefficiens	0,342±0,038	0,371±0,05	0,22	0,396±0,07	0,04	0,31
Átlagos sejterület (μm ²)	402,6±12,88	437,4±35,80	0,01	425,6±37,37	0,02	0,43

±=SD (standard deviáció); *a magyarázatot lásd az Anyag és módszer fejezetben; p₁=I-es típusú diabetes mellitus és kontroll; p₂=II-es típusú diabetes mellitus és kontrollcsoport vizsgált jellemzői közötti szignifikanciaszint (Student-féle kétmintás t-próba); P_{DM}=I-es és II-es típusú diabetes mellitus vizsgált jellemzői közötti szignifikanciaszint (Student-féle kétmintás t-próba)



2. ábra. Cornealis endothelium I-es típusú diabetes mellitusban (spekulár mikroszkópos felvétel). Szabálytalan alakú és nagyságú sejtek váltakoznak. A vastag nyíl egy kórosan megnyúlt sejtet mutat



3. ábra. Cornealis endothelium ugyancsak I-es típusú diabetes mellitusban (spekulár mikroszkópos felvétel). A sejszerkezetet – amely hasonló a 2. ábrán bemutatotthoz – a könnyebb differenciálás miatt itt képanalízissel jelenítettük meg

betegség esetében meghaladta a 10 mmol/l-t. Az átlagos szemnyomásértékek mindkét típusban a normális tartományban voltak. A diabetes mindkét típusában a leggyakoribb funduseltérés a korai non-proliferatív retinopathia volt. A szaruhártyák vastagságának átlaga mind a kontroll, mind a diabetes corneáknál normális értéket mutatott.

A mm²-re eső átlagos sejsűrűség viszont kisebb volt a cukorbeteg szaruhártyájában, mint az egészségesek szemében (1. 2. 3. ábra), ez az eltérés II-es típusú diabetesben szignifikáns volt ($p=0,03$) és I-es típusban is közelített ehhez ($p=0,053$). A sejsűrűség azonban nem mutatott szignifikáns különbséget, amikor a két diabetes típust hasonlí-

tottuk össze. A cornealis endothelium állapotát ugyancsak érzékenyen jelző variációs koefficiens értéke a diabeteses corneákban nagyobb volt, mint a kontrollokéban, II-es típusú diabetes mellitusban az eltérés szignifikánsnak is bizonyult ($p=0,04$). Az átlagos endothelialis sejterület cukorbetegknél ennek megfelelően ugyancsak nagyobb volt, mint a normális szemekében, az eltérés a diabetes mindkét típusban szignifikáns volt ($p=0,01$ és $p=0,02$). Az I-es és II-es típusú diabeteset összehasonlítva sem a variációs koefficiens, sem az átlagos sejterület nem különbözött szignifikánsan.

Az adatokat tovább elemezve összefüggést kerestünk a sejsűrűség, valamint a variációs koefficiens és az életkor, a

2. táblázat. Összefüggés a sejsűrűség és a különböző vizsgált változó paraméterek között diabetes mellitusban és egészséges szemekben

	DM I-es típus		DM II-es típus		Kontroll	
	r	p	r	p	r	p
Életkor (év)	-0,23	0,29	-0,39	0,05	0,16	0,35
Betegség fennállási ideje (év)	0,09	0,68	-0,28	0,16		
Vércukorszint (mmol/l)	-0,34	0,12	0,06	0,74		
Szemfenéki eltérés*	-0,15	0,48	-0,08	0,68		
Szaruhártya-vastagság (mm)	0,29	0,18	-0,15	0,44	0,18	0,61

r=Pearson korrelációs koefficiens, p=szignifikanciaszint (Student-féle kétmintás t-próba); *a magyarázatot lásd az Anyag és módszer fejezetben

3. táblázat. Összefüggés a variációs koefficiens és a különböző vizsgált változó paraméterek között diabetes mellitusban és egészséges szemekben

	DM I-es típus		DM II-es típus		Kontroll	
	r	p	r	p	r	p
Életkor (év)	0,06	0,77	0,10	0,62	0,29	0,40
Betegség fennállási ideje (év)	0,34	0,11	-0,02	0,91		
Vércukorszint (mmol/l)	-0,33	0,12	-0,02	0,91		
Szemfenéki eltérés*	-0,08	0,72	0,43	0,03		
Szaruhártya-vastagság (mm)	0,048	0,83	-0,11	0,58	-0,004	0,01

r=Pearson-féle korrelációs koefficiens; p=szignifikanciaszint (Student-féle kétmintás t-próba); *a magyarázatot lásd az Anyag és módszer fejezetben

betegség fennállási ideje, a vércukorszint, a szemfenék állapota és a szaruhártya vastagsága között (2., 3. táblázat). A sejtsűrűség egyedül az életkorral mutatott szignifikáns összefüggést NIDDM-ben ($r=-0,39$, $p=0,05$). Nem mutatott további összefüggést a betegség fennállási idejével, a vércukorszinttel, a szemfenék állapotával és a szaruhártya vastagságával sem (2. táblázat).

A variációs koefficiens érdekes módon egyedül II-es típusú diabetes mellitusban a szemfenék állapotával mutatott szignifikáns összefüggést ($r=0,43$, $p=0,03$), de az életkorral, a betegség fennállási idejével, a vércukorszinttel és a szaruhártya vastagságával nem (3. táblázat).

Következtetések

Tanulmányunkban inzulinnal és nem inzulinnal kezelt diabetes betegek cornealis endotheliumának állapotát és más, a cukorbetegséget jellemző adatait vetettük össze egymással és egészséges szemekkel. Legfontosabb megállapításunk az volt, hogy a cornealis endothelium sejtsűrűsége (sejt/mm²) kisebb volt a cukorbeteg szaruhártyájában, mint az egészségesek szemében; ez az eltérés II-es típusú diabetes mellitus esetében szignifikáns volt és az I-es típusnál is közelített hozzá. Az átlagos sejterület (μm^2) viszont szignifikánsan nagyobb volt a cukorbeteg corneájában a kontrollokéval összevetve. A fenti morfológiai jellemzők mellett a variációs koefficiens (átlagos sejterület standard deviációja/átlagos sejterület) meghatározásával következtethetünk a cornea funkcionális állapotára is. Az endotheliumot érő inzultusra – mint ismert – a sejtek osztódással nem, csak területük növelésével képesek válaszolni. Ilyenkor a sejterület növekedésével nő a variációs koefficiens is, jelezve a szaruhártya aktuális állapotát.² A diabeteses corneákban ezt a paramétert nagyobbra találtuk, mint a kontrollokéban, és ez az eltérés a cukorbetegség II-es típusában szignifikánsnak bizonyult. A sejterület növekedése alapján tehát mind az I-es, mind a II-es típusú diabetesben polimegitizmust mutattunk ki.

A cornea endotheliumát jellemző morfológiai és funkcionális adataink tehát azokhoz a megfigyelésekhez kapcsolódnak, amelyekben az endothelium patológiás szerkezetét mutatták ki diabetes mellitusban.^{6,13} Egyes közlések szerint ezek a változások kifejezettebbek az inzulindependens cukorbetegéknél,¹³ amit mi nem észleltünk. A kóros endothelialis szerkezet kialakulásának mechanizmusa diabetes mellitusban nem ismert pontosan. Több állatkísérletes és humán megfigyelés alapján valószínűleg az aldózreduktáz hibás működése felelős ezekért a folyamatokért,^{10,11} amelyet az endotheliumban is kimutattak immunhisztokémiai módszerrel.¹ A megváltozott enzimfunkció következtében intercellulárisan poliol, sorbitol halmozódik fel, ozmotikus és toxikus hatásokat okozva az endotheliumban.^{9,16} Valószínűleg hasonló folyamat játszódik le, mint a cataracta diabetica képződése esetén. A hyperglykaemia gátolja az endothelialis ATP-függő Na/K pumpát is, a sejtek fokozatosan megduzzadnak,^{9,16} majd létrejönnek az általunk is észlelt morfológiai változások. A betegeinknél a magas vércukorszint mellett mért normális corneavastagság és szemnyomásértékek valószínűleg azt jelzik, hogy ez a pumpafunkció még nem merült ki teljesen. A poliolok

ugyancsak megváltoztatják az endothelialis cytoskeleton struktúráját is.⁷ A duzzadó sejtmembránok szétrepedését valószínűleg a cytoskeletális F-aktinmolekulák átrendeződése akadályozza meg.⁷ Az F-aktin ilyen irányú redisztribúcióját a különböző növekedési faktorok és a gyakorlatban is fontos indomethacin-származékok elősegítik.⁵

A variációs koefficiens II-es típusú diabetes mellitusban a szemfenék állapotával mutatott szignifikáns összefüggést ($r=0,43$, $p=0,03$), amit más szerzők is leírtak már.^{14,16} Az endothelium morfológiájának változása, rosszabbodása tehát párhuzamos a fundus állapotának romlásával, amiért valószínűleg a fent vázolt celluláris folyamatok felelősek.

A sejtsűrűség az életkorral mutatott szignifikáns összefüggést II-es típusú cukorbetegségben ($r=-0,39$, $p=0,05$). Az ebbe a diabetescsoportba tartozó betegek átlagos életkora mintegy 14 évvel volt több, mint a kontrolloké. Valószínű azonban, hogy ezeket a változásokat az előrehaladott életkor (66,2 év) okozta és maszkírozta, ahogyan azt mások is megfigyelték.⁸

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a diabetes mellitus mindkét típusában a cornealis endothelium patológiás szerkezetű. A morfológiai paraméterek kóros átlagos sejtsűrűséget, variációs koefficiens és sejterületet jeleztek. Ezek a szerkezeti eltérések nem inzulindependens diabetes mellitusban összefüggtek a szemfenék állapotával. A tanulmány azokat a megfigyeléseket erősíti meg, amelyek a diabeteses betegek esetében az endothelium fokozott sérülékenységre hívják fel a figyelmet, belső és külső (elsősorban mechanikai, műtéti) traumák kapcsán.

Köszönetnyilvánítás

A közlemény az Egészségügyi Tudományos Tanács támogatásával készült.

Irodalom

1. Akaki Y., Yajima Y., Kador P.F., Kuwabara T., Kinoshita J.H.: Localization of aldose reductase in the human eye. *Diabetes* 33, 562–566 (1984).
2. Berta A., Békési L., Módos L., Takács L., Vámosi P.: Endothelsejtkárosodás phacoemulsificatio és műlencse-beültetés során. *Szemészet* 135(Suppl.), 51–58 (1998).
3. Frueh B.E., Körner U., Böhnke M.: Konfokale Mikroskopie der Hornhaut bei Patienten mit Diabetes Mellitus. *Klin Monatsbl Augenheilk* 206, 317–319 (1995).
4. Hyndiuk R.A., Kazarian E.L., Schultz R.O., Seideman S.: Neurotrophic corneal ulcers in diabetes mellitus. *Arch Ophthalmol* 95, 2193–2196 (1977).
5. Jumblatt M.N., Matkin E.D., Neufeld A.H.: Pharmacological regulation of morphology and mitosis in cultured rabbit corneal endothelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29, 586–593 (1988).
6. Keoleian G.M., Pach J.M., Hodge D.O., Trocme S.D., Bourne W.M.: Structural and functional studies of the corneal endothelium in diabetes mellitus. *Am J Ophthalmol* 113, 64–70 (1992).
7. Kim E.K., Geroski D.H., Holley G.P., Urken S.I., Edelhauser H.F.: Corneal endothelial cytoskeletal changes in F-actin with aging, diabetes, and after cytochalasin exposure. *Am J Ophthalmol* 114, 329–335 (1992).
8. Larsson L.I., Bourne W.M., Pach J.M., Brubaker R.F.: Structure and function of the corneal endothelium in diabetes mellitus type I. and II. *Arch Ophthalmol* 114, 9–14 (1996).

9. McNamara N.A., Brand R.J., Polse K.A., Bourne W.M.: Corneal function during normal and high serum glucose levels in diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39, 3–17 (1998).
10. Meyer L.A., Ubels J.L., Edelhauser H.F.: Corneal endothelial morphology in the rat: effects of aging, diabetes, and topical aldose reductase inhibitor treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29, 940–948 (1988).
11. Ohguro N., Matsuda M., Ohashi Y., Fukuda M.: Topical aldose reductase inhibitor for correcting corneal endothelial changes in diabetic patients. *Br J Ophthalmol* 79, 1074–1077 (1995).
12. Perry H.D., Foulks G.N., Thoft R.A., Tolentino F.L.: Corneal complications after closed vitrectomy through the pars plana. *Arch Ophthalmol* 96, 1401–1403 (1978).
13. Roszkowska A.M., Tringali C.G., Colosi P., Squeri C.A., Ferreri G.: Corneal endothelium evaluation in type I. and type II. diabetes mellitus. *Ophthalmologica* 213, 258–261 (1999).
14. Saini J.S., Mittal S.: In vivo assessment of corneal endothelial function in diabetes mellitus. *Arch Ophthalmol* 114, 649–653 (1996).
15. Schwartz D.E.: Corneal sensitivity in diabetics. *Arch Ophthalmol* 91, 174–178 (1974).
16. Weston B.C., Bourne W.M., Polse K.A., Hodge D.O.: Corneal hydration control in diabetes mellitus. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 36, 586–595 (1995).

A szerző levelezési címe: Dr. Módis László
 Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Szemészeti Klinika
 4012 Debrecen, Nagyterdei körút 98.
 Tel.: (52)-430-322, fax: (52)-415-816
 E-mail: lmodis@dragon.klte.hu



VISION EXPRESS

VISION EXPRESS

Budapesti és vidéki üzleteibe

SZEMORVOSOKAT, OPTOMETRISTÁKAT

keres szemvizsgálati feladatok elvégzésére. Teljes és részmunkaidős álláslehetőség, alkalmazotti, megbízási, illetve számlás konstrukcióban.

Kultúrált munkakörülményeket, stabil munkahelyet, versenyképes jövedelmet kínálunk.

Várjuk jelentkezését: Hámori Katalinnál 06-30-9-488-706