

СИСТЕМА ОБЪЕКТИВНОЙ ОЦЕНКИ ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ РОГОВИЦЫ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Цель исследования – изучить и разработать количественные критерии для анализа гистоморфологических изменений в роговице после проведения различных видов воздействия на роговицу по данным конфокальной микроскопии.

Проанализированы результаты конфокальной микроскопии у 274 пациентов (487 глаз) после проведения различных видов воздействия на роговицу – операций ЛАЗИК, ФРК, кросслинкинга роговичного коллагена, а также после проведения контактной коррекции ортокератологическими линзами. Были изучены морфологические изменения роговицы, характерные для данных видов воздействий.

В результате исследования разработана единая 4-х балльная система оценки общих морфологических изменений роговицы, позволяющая объективизировать оценку состояния всех структур роговицы и эффективности проведенного лечения, а также изучать особенности репаративно-восстановительных процессов в роговице.

При ортокератологической коррекции наблюдалось утолщение стромальных нервных волокон и формирование так называемой «ацеллюлярной зоны» в сроке наблюдения 1 месяц.

После проведения операции Лазик отмечалось наличие микрострий роговичного лоскута, металлических включений в интерфейсе, «обрывки» нервных волокон в зоне абляции. Изменение иннервации с уменьшением количества нервных волокон отмечалось нами также после проведения ФРК и КРК в сроки наблюдения до 1 месяца. Начало реиннервации после операций происходило в срок около 1 месяца. После кросслинкинга роговичного коллагена в сроке наблюдения 1 месяц и более во всех случаях наблюдалось появление линейного помутнения в средних и задних слоях стромы.

Ключевые слова. Конфокальная микроскопия, эпителиопатия, клеточная активация, балльная оценка.

Конфокальная микроскопия (КМ) на сегодняшний день является одним из основных методов исследования, позволяющим прижизненно исследовать различные гистоморфологические изменения роговицы, и получать оптические срезы роговицы с шагом 5 мкм в четырех измерениях с визуализацией и измерением толщины слоев роговицы, оценкой метаболической активности кератоцитов, стромальных нервов, репаративно – восстановительных процессов после операции [1], [2].

Проведение конфокальной микроскопии в динамике при различных хирургических операциях на роговице, а также при использовании различных вариантов контактной коррекции, в том числе и ортокератологической, выявляет возможные общие и специфические ультраструктурные изменения роговицы [3], [4].

К общим ультраструктурным изменениям относятся эпителиопатия, асептический реактивный отек стромы и эпителия в раннем послеоперационном периоде, повышение метаболической активности кератоцитов.

К специфическим изменениям после операций ЛАЗИК, например, относится выявление инородных включений в интерфейсе, микро-

стрии роговичного лоскута [5]–[7], после проведения кросслинкинга роговичного коллагена – фибропластические явления, изменения иннервации [8]–[11]. К тому же КМ позволяет не только констатировать послеоперационные изменения роговицы, но и диагностировать осложнения после проведенных манипуляций и операций. Однако отсутствует система объективной количественной оценки, возникающих общих изменений в роговице, сопутствующих различным вариантам воздействия на роговицу [12].

Цель работы

Изучить и разработать количественные критерии для анализа гистоморфологических изменений в роговице после проведения различных видов воздействия на роговицу по данным конфокальной микроскопии.

Материал и методы

Проведен анализ результатов лечения у 61 пациента (61 глаз), оперированных в Клинике Волгоградского филиала ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» по поводу кератоконуса I – II степени методом

кросслинкинга роговичного коллагена, операций ЛАЗИК у 105 пациентов (210 глаз) по поводу миопии слабой, средней и высокой степени, операций ФРК у 50 пациентов (100 глаз) по поводу миопии слабой и средней степени, а также результатов контактной ортокератологической коррекции у 58 пациентов с миопией слабой и средней степени (116 глаз), которым для коррекции зрения были назначены ОКЛ "Emerald". До и после операций на сроках 1, 3, 6 и 12 месяцев всем пациентам проводилось расширенное офтальмологическое обследование, включающее конфокальную микроскопию с подсчетом плотности эндотелиальных клеток (Confoscan4, Nidek, Япония).

Результаты и их обсуждение

При проведении конфокальной микроскопии во всех случаях отмечалось разной степени выраженности снижение прозрачности экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) эпителия и стромы роговицы, а также явления эпителиопатии разной степени выраженности: полиморфизм клеток базального эпителия, явления псевдокератинизации крыловидных клеток, повышение метаболической активности кератоцитов и эпителиоцитов с появлением клеток с яркими гиперрефлектирующими ядрами. Поскольку перечисленные изменения встречались нами во всех наблюдаемых группах, их можно расценить как общий, реактивный ответ роговицы на проведенное вмешательство.

В группе после проведения кросслинкинга роговичного коллагена помимо перечисленных изменений при конфокальной микроскопии в сроке наблюдения 1 месяц и более во всех случаях наблюдалось появление линейного помутнения в средних и задних слоях стромы – так называемого «заднего стромального хейза» [13]–[15]: визуализировались гиперрефлектирующие структуры веретенообразной и звездчатой формы, что расценивалось нами как скопления коллагена, чрезмерно производимого активированными кератоцитами. Фибропластические изменения разной степени выраженности наблюдались нами и у пациентов после проведения ФРК, начиная с ранних сроков наблюдения.

После проведения операции Лазик, помимо общих, реактивных изменений роговицы

во всех сроках наблюдения отмечалось наличие микрострий роговичного лоскута, металлических включений в интерфейсе, «обрывки» нервных волокон в зоне абляции. Изменение иннервации с уменьшением количества нервных волокон отмечалось нами также после проведения ФРК и КРК в сроки наблюдения до 1 месяца. Начало реиннервации после указанных операций происходило в срок около 1 месяца, а завершена она считалась в срок 1 год.

В группе пациентов, которым была назначена ортокератологическая коррекция, наблюдались изменения, характерные для общего роговичного ответа, но в том числе и выраженная «активация», т. е. гиперрефлектирование, утолщение стромальных нервных волокон, а также формирование так называемой «ацеллюлярной зоны» в сроке наблюдения 1 месяц – зоны снижения плотности кератоцитов в передней строме, что также наблюдалось нами в группах после проведения ЛАЗИК и ФРК. Для обобщения и систематизации описанных изменений составлена таблица, где перечислены описанные изменения по данным конфокальной микроскопии в группах (табл. 1).

Проанализировав полученные результаты, мы разработали 4-х балльную шкалу оценки изменений, характерных для всех видов вмешательств. Такой подход обеспечивает универсальность предложенной системы, и позволяет количественно охарактеризовать роговичный ответ на различного рода вмешательства.

Таким образом, по балльной шкале оценивался реактивный роговичный отек, клеточная активация и выраженность повреждения эпителиального слоя.

Состояние эпителиального слоя оценивалось нами по степени выраженности эпителиопатии как в базальном, так и в поверхностном слое крыловидных клеток:

0 баллов – отсутствие изменений как при биомикроскопии, так и при проведении конфокальной микроскопии,

1 балл – при офтальмобиомикроскопии определяется единичная точечная эпителиопатия в оптической зоне, при проведении конфокальной микроскопии слабо выраженные явления псевдокератинизации крыловидных клеток (не более 10 кл/мм² псевдокератинизированных эпителиоцитов в поле зрения (0,2x0,15 мм)),

Таблица 1. Гистоморфологические изменения роговицы по данным конфокальной микроскопии

Вид воздействия, признак	КРК	ЛАЗИК	ФРК	ОКЛ
Эпителиально-стромальный отек	+	+	+	+
Эпителиопатия	+	+	+	+
Активация кератоцитов	+	+	+	+
Деиннервация	+	+	+	-
Активация стромальных нервов	-	-	-	+
Стрии флэпа	-	+	-	-
Включения в интерфейсе	-	+	-	-
Фиброплазия	+	+	+	-
Ацеллюлярность	-	+	+	+

2 балла – при офтальмобиомикроскопии наблюдается «сливная» эпителиопатия в оптической зоне, при проведении конфокальной микроскопии – выраженные явления псевдокератинизации крыловидных клеток (от 10 до 30 кл/мм² в поле зрения), в базальном эпителиальном слое визуализируются эпителиоциты с измененными гиперрефлектирующими ядрами (до 30 кл/мм² в поле зрения),

3 балла – при офтальмобиомикроскопии изменения эпителия роговицы те же, в поле

зрения более 30 псевдокератинизированных эпителиоцитов в слое крыловидных клеток, более 30 эпителиоцитов базального слоя с гиперрефлектирующими ядрами по данным конфокальной микроскопии.

Изменения клеточной структуры стромы оценивались с помощью конфокальной микроскопии по количеству активных кератоцитов с яркими, гиперрефлектирующими ядрами: 0 баллов – отсутствие активных кератоцитов, 1 балл – активные кератоциты в поле зрения (не более

Таблица 2. Оценка гистоморфологических изменений роговицы в баллах в сроки наблюдения в исследуемых группах

Мониторинг, признак	1 мес.				3 мес.				6 мес.				12 мес			
	КРК	ЛАЗИК	ФРК	ОКЛ	КРК	ЛАЗИК	ФРК	ОКЛ	КРК	ЛАЗИК	ФРК	ОКЛ	КРК	ЛАЗИК	ФРК	ОКЛ
Эпителиально-стромальный отек	2,8±0,11	1,9±0,05	2,1±0,06	1,7±0,07	1,15±0,11	0,19±0,04	0,19±0,04	1,9±0,09	0,16±0,11	0,1±0,04	0,19±0,06	1,75±0,08	0,16±0,13	0,1±0,04	0,08±0,04	1,59±0,09
Эпителиопатия	2,8±0,11	1,5±0,05	2,05±0,05	1,58±0,07	2,15±0,11	1,0±0,04	1,1±0,04	1,44±0,07	1,15±0,13	0,2±0,04	0,2±0,06	1,2±0,06	0,16±0,13	0,07±0,04	0,05±0,04	0,7±0,06
Клеточная активация	2,9±0,11	1,7±0,05	2,9±0,05	1,38±0,1	1,75±0,07	1,6±0,04	1,8±0,04	1,92±0,09	0,33±0,16	0,5±0,04	1,33±0,07	1,78±0,09	0,16±0,13	0,17±0,04	0,16±0,04	1,59±0,09

10 кл/мм²), 2 балла – количество наблюдаемых кератоцитов более 10 кл/мм², но менее 30 кл/мм² в поле зрения, 3 балла – множество активных кератоцитов в поле зрения (более 30 кл/мм²).

Данные, представленные в таблице 2, демонстрируют, что описанные гистоморфологические изменения были более выражены во всех исследуемых группах в сроке наблюдения 1 месяц.

В более поздние сроки наблюдения наметилась тенденция к значительному снижению балльных критериев всех исследуемых признаков в группах после хирургического лечения (КРК, ЛАЗИК, ФРК), что является следствием репаративно-восстановительных процессов в роговице, тогда как при применении ОКЛ эта

тенденция менее выражена, вследствие продолжения адаптационного периода спустя 1 месяц после начала пользования ОКЛ.

Заключение

Таким образом, разработанная система анализа гистоморфологических изменений, возникающих в роговице после проведения различных видов хирургического лечения или контактной коррекции, позволяет объективизировать оценку состояния всех структур роговицы и эффективности проведенного лечения, а также изучать особенности репаративно-восстановительных процессов после различных воздействий на роговицу.

10.09.2015

Список литературы:

1. Тарутта Е. П., Вержанская Т.Ю., Толорая Р.Р., Манукян И.В. Влияние ортокератологических контактных линз на состояние роговицы по данным конфокальной микроскопии // Росс. офтальмол. журн. – 2010. – № 3. – С. 37–42.
2. Zhivov A, Stave J, Vollmar B, Guthoff R. In vivo confocal microscopic evaluation of langergans cell density and distribution in the corneal epithelium of healthy volunteers and contact lens wearers // Cornea – 2007. – Vol. 26. – No.1. – P. 47–54.
3. Заявка №2015107192/14 на изобретение «Способ диагностики состояния роговицы после проведенных на ней операций» от 03.03.15 г., Солодкова Е.Г., Мелихова И.А., Балалин С.В.
4. Кузнецова О.С., Солодкова Е.Г., Мелихова И.А. Исследование гистоморфологии роговицы после ЛАЗИК у пациентов с разной длительностью предварительной отмены МКЛ перед операцией // Инновационная офтальмология, «BSOS-XII, Sochi-2014». – 2014. – С. 45-46.
5. Балашевич Л.И., Никулин С.А., Качанов А.Б., Ефимов О.А., Чураков Т. К., Завьялов А.И. Морфофункциональные изменения роговицы в отдаленные сроки после LASIK // Поле зрения. – 2012. – № 6. – С. 38 –39.
6. Першин К.Б., Азербайев Т.Э., Мийович О.П., Овечкин И.Г. Соотношение объективных и субъективных показателей отдаленных результатов ФРК и ЛАЗИК. Новые технологии в эксимерлазерной хирургии и факоэмульсификации, тезисы. Москва, 2003. С.28.
7. Patel S.V. [et al.]. Confocal microscopy changes in epithelial and stromal thickness up to 7 years after LASIK and photorefractive keratectomy for myopia // J. Refract. Surg. – 2007. – No. 4. – P. 385 – 392.
8. Солодкова Е.Г., Борискина Л.Н., Ремесников И.А. «Сравнительный анализ способов лечения кератоконуса». VI Всероссийская научная конференция молодых ученых в рамках научно-практической конференции «Федоровские чтения -2011». Сборник тезисов, М., 2011. – С. 229-231.
9. Spoerl E., Schreiber J., Hellmund K., Seiler T., Knusckpe P. Crosslinking Effects in the cornea of Rabbits //Ophthalmology. – 2000.-V. 97.-P. 203-206.
10. Колотов М.Г. К вопросу об ответе роговицы при коррекции миопии методом ЛАЗИК // Офтальмохирургия. – 2009. – № 3. – С. 9-11.
11. Wollensak G., Seiler T., Spoerl E. Riboflavin/Ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus // Am. J. Ophthalmol. 2003.-V.135.-№5.-P.620-627.
12. Егорова Г. Б., Федорова А. А., Бобровских Н. В. Влияние многолетнего ношения контактных линз на состояние роговицы по данным конфокальной микроскопии // Вест. офтальмол. – 2008. – № 6. – С. 25–29.
13. Greenstein S. A., Fry K. L. et al. Natural history of corneal haze after collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: Scheimpflug and biomicroscopic analysis// J. Cataract Refract. Surg. – 2010.V. 36.-P.2105-2114.
14. Raiskup F., Hoyer A., Spoerl E. Permanent corneal haze after riboflavin-UVA-induced cross-linking in keratokonus// J. Refract. Surg. – 2009. – V.25.-№9. – P.824-828.
15. Seiler T., Hafezi F. Corneal cross-linking-induced stromal demarcation line //Cornea. – 2006.-V. 25.-P.1057 – 1059.

Сведения об авторах

Ежова Евгения Анатольевна, врач-офтальмолог отделения коррекции аномалий рефракции Волгоградского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, e-mail: ewgenia.con@mail.ru
Солодкова Елена Геннадиевна, заведующий отделением коррекции аномалий рефракции Волгоградского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, e-mail: solo23el@mail.ru
Мелихова Ирина Александровна, врач-офтальмолог офтальмологического диагностического отделения Волгоградского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова, e-mail: ewgenia.con@mail.ru

400138, г. Волгоград, ул. им. Землячки, 80