

11. Savini G., Barboni P., Zanini M., Tseng S. C. G. Ocular surface changes in laser in situ keratomileusis – induced neurotrophic epitheliopathy // J. of refract. surg. – 2004. – Vol. 20. № 6. – P. 803–809.

12. Shoja M. R., Besharati M. R. Dry eye after LASIK for myopia: Incidence and risk factors // Eur. j. ophthalmol. – 2007. – Jan.-Feb. № 17 (1). – P. 1–6.

13. Toda I., Asano-Kato N., Hori-Komai Y., Tsubota K. Laser – assisted in situ keratomileusis for patient with dry eye // Arch. ophthalmol. – 2002. – Vol. 120. № 8. – P. 1024–1028.

14. Yu E. Y., Leung A., Rao S., Lam D. S. Effect of laser in situ keratomileusis on tear stability // Ophthalmology. – 2000 Dec., № 107 (12). – P. 2131–2135.

Поступила 23.09.2010

*Т. З. ПАТЕЕВА, Н. П. ПАШТАЕВ, О. В. ШЛЕНСКАЯ*

## **АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ РОГОВИЦЫ ПОСЛЕ КЕРАТОРЕФРАКЦИОННЫХ ОПЕРАЦИЙ ПРИ ПОМОЩИ КОНФОКАЛЬНОЙ МИКРОСКОПИИ**

*Чебоксарский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза»  
им. академика С. Н. Федорова Росмедтехнологии»,  
Россия, 428028, Чувашская Республика, г. Чебоксары, пр. Тракторостроителей, 10,  
тел. (8352) 30-50-81. E-mail: naukachf@pochta.ru*

В статье приводится сравнительный анализ методов конфокальной микроскопии и оптической когерентной томографии ближайших и отдалённых послеоперационных изменений структуры роговицы у пациентов с миопией после формирования роговичного лоскута с помощью механического (LASIK) и лазерного (IntraLASIK) микрокератома. Метод конфокальной микроскопии позволяет оценить морфологические изменения поверхностных слоёв роговицы (роговичного лоскута, интерфейса) в послеоперационном периоде. Оценка степени адаптации роговичного лоскута в послеоперационном периоде позволяет провести динамический контроль и определить сроки наблюдения (1 год после LASIK и 6 месяцев после IntraLASIK) и проведения повторных вмешательств в случае необходимости – через 6 месяцев после LASIK и 3 месяца после IntraLASIK. Восстановление суббазального нервного сплетения наступает после IntraLASIK к 3–6-му месяцу, после LASIK – к 6–12-му месяцу после операции. Однако в обеих группах восстановленные нервные волокна более тонкие, чем до операции, и имеют аномальное ветвление.

*Ключевые слова:* конфокальный микроскоп, фемтосекундный лазер, механический микрокератом.

**T. Z. PATEEVA, N. P. PASHTAEV, O. V. SHLENSKAYA**

### **ANALYSIS OF STRUCTURAL CHANGES OF CORNEA AFTER KERATOREFRACTIVE SURGERIES WITH CONFOCAL MICROSCOPY USE**

*S. N. Fyodorov Eye surgery complex in Cheboksary,  
Russia, 428028, Cheboksary, pr. Traktorostroiteley, 10, tel. (8352) 30-50-81. E-mail: naukachf@pochta.ru*

Comparative analysis of recent and remote postoperative changes of corneal structure by methods of confocal microscopy and optic coherent tomography in patients with myopia after forming corneal flap with mechanic (LASIK) and laser (IntraLASIK) microkeratome is given in the article. The method of confocal microscopy allows dynamic control of changes of thickness of superficial layers of cornea in case of its hyperplasia or edema in corneal flap zone and in interface zone in postoperative period. Assessment of adaptation degree of corneal flap in postoperative period allows to determine the period of control (1 year after LASIK and 6 months after IntraLASIK) and secondary interferences if necessary – in 6 months after LASIK and 3 months after IntraLASIK. Bundles of subbasal nerve plexus are rehabilitated up to 3–6 months after IntraLASIK and up to 6–12 months after LASIK. However the rehabilitated nerve fibres are thinner than before the surgery and have anomalous branching in both the groups.

*Key words:* confocal microscope, femtosecond laser, mechanic microkeratome.

Безопасность, предсказуемость рефракционного эффекта, короткий реабилитационный период привели к быстрому росту популярности лазерного in situ кератомилёза (LASIK) для коррекции близорукости. Вместе с тем повышаются требования к функциональным результатам операции. Возникает необходимость более эффективного прогнозирования изменений структуры роговицы в раннем и отдалённом послеоперационных периодах. Несмотря на совершенствование технологии LASIK, до сих пор не решена в полной мере проблема формирова-

ния прогнозируемо-точного роговичного лоскута. Погрешности при его формировании определяются не только характеристиками кератома, лезвия и уровнем вакуума во время операции, но и исходными параметрами роговицы [3]. При формировании роговичного лоскута при помощи механического микрокератома лезвие срезает менисковидный лоскут, что приводит к более глубокому рассечению коллагеновых волокон по периферии, расслаблению их по направлению к лимбу, приводящему к утолщению периферийной части роговицы.

Появление новой технологии формирования роговичного лоскута при помощи фемтосекундного лазера, способного фокусироваться в толще роговицы на заданной глубине, создавать гладкий срез и однородный по толщине лоскут, явилось очередным шагом к усовершенствованию лазерного кератомилеза. При формировании роговичного лоскута с помощью фемтосекундного лазера разделение ткани происходит на молекулярном уровне без выделения тепла и механического воздействия на окружающие структуры посредством процесса фоторазрыва, в результате которого происходит «раздвигание» волокон роговицы. При этом нарушение архитектуры стромы роговицы минимально, максимальна сохранность её передних и периферических коллагеновых волокон за счет точности центровки и формирования лоскута с размерами, максимально соответствующими расчетным.

В настоящее время одним из методов диагностики, успешно применяющимся для прижизненного динамического послеоперационного наблюдения состояния роговицы, является сканирующая конфокальная микроскопия роговицы. Метод заключается в исследовании гистологической структуры роговицы с помощью микроскопического наблюдения фронтального светового среза [2].

Цель работы – провести сравнительный анализ ближайших и отдалённых послеоперационных изменений структуры роговицы методом конфокальной микроскопии и оптической когерентной томографии у пациентов с миопией после формирования роговичного лоскута с помощью механического (LASIK) и лазерного (IntraLASIK) микрокератома.

### Материалы и методы

Исследуемую группу составили 44 человека (76 глаз). Все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от вида выполненного вмешательства. Первая группа – пациенты, перенесшие операцию IntraLASIK, вторая – пациенты после LASIK. Первую группу составили 25 человек (46 глаз), из них 15 женщин и 10 мужчин в возрасте от 20 до 46 лет (средний возраст 30 лет). Вторую группу составили 19 человек (30 глаз), из них 11 женщин и 8 мужчин в возрасте от 23 до 40 лет (средний возраст 28 лет). Средний срок наблюдения – 1 год (от 1 мес. до 3 лет).

Кроме стандартных методов исследования (визометрия, бесконтактная и тонометрия по Маклакову, пахиметрия, кератотопография, биомикроскопическое и офтальмоскопическое исследование) пациентам делали кератопахиметрическую карту с помощью оптического когерентного томографа «Visante OCT» («Carl Zeiss», Германия), оценивали послеоперационные структурно-гистологические изменения роговицы методом сканирующей конфокальной микроскопии («Confoscan 4», «Nidek», Япония). При проведении исследования использовали линзу – 40х, NA 0,75, WD 1,98 мм, «Zeiss». Исследуемая зона роговицы составляла 460 x 345 мкм. Получаемое изображение – 768 x 576 pixel, толщина слоя сканирования – 5 мкм, скорость сканирования – 25 снимков в секунду.

Пациенты до операции в обеих группах имели миопию различной степени. Средний сферический эквивалент рефракции (СЭ) составлял в первой группе  $-8,21 \pm 2,65$  дптр, во второй группе –  $-8,18 \pm 2,55$  дптр.

IntraLASIK выполняли в два этапа. Первый этап – формирование роговичного лоскута с помощью фемтосекундного лазера 60 кГц (IntraLase FS, США) со следующими параметрами: толщина лоскута – 110 мкм, диаметр – 9 мм, угол верхней петли – 45 градусов, угол бокового разреза – 70 градусов. Второй этап – эксимерлазерная абляция на установке «Микроскан-2000» (Троицк, Россия) с частотой следования импульсов 300 Гц и лазерным пятном 0,9 мм с диаметром оптической зоны 6,4–6,5 мм и общей зоной воздействия 8,4–8,5 мм.

LASIK выполняли по стандартной методике на установке «Микроскан-2000» с частотой следования импульсов 300 Гц и лазерным пятном 0,9 мм с формированием роговичного лоскута при помощи автоматического микрокератома «LSK Evolution M2» («Moria», Франция) со стандартной головкой 110 мкм и планируемым диаметром роговичного лоскута 8,5–8,7 мм. Формирование роговичного лоскута выполнялось с ориентацией его ножки на 12 часах, срез осуществлялся со стороны виска для правого глаза и со стороны носа для левого глаза. Планировались параметры центральной оптической зоны 6,2–6,4 мм и общей зоны воздействия  $-8,0$ – $-8,4$  мм.

Параметры оптической зоны в обеих группах зависели от исходной толщины роговицы и степени корригируемой миопии, а общая зона воздействия в группе

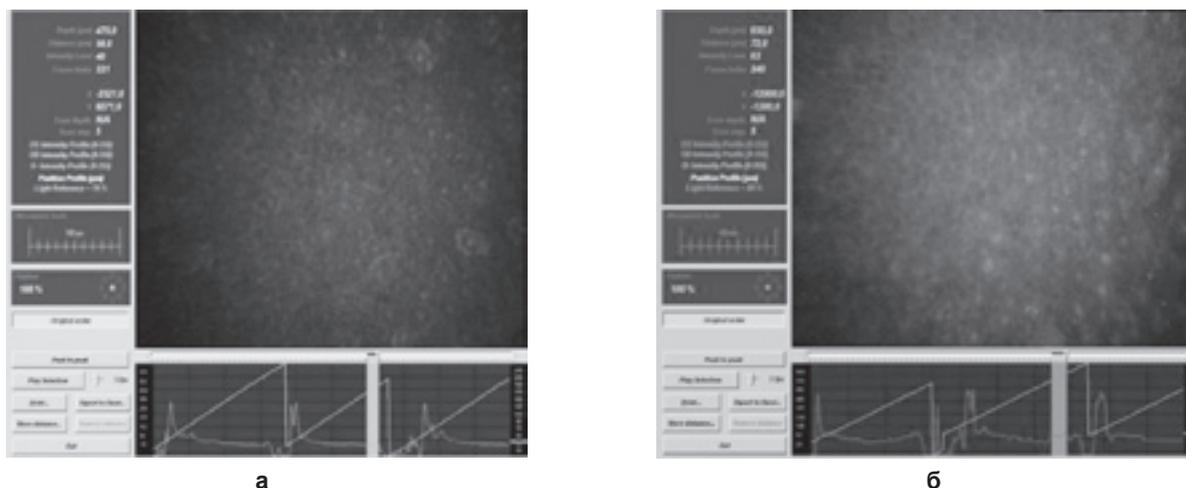
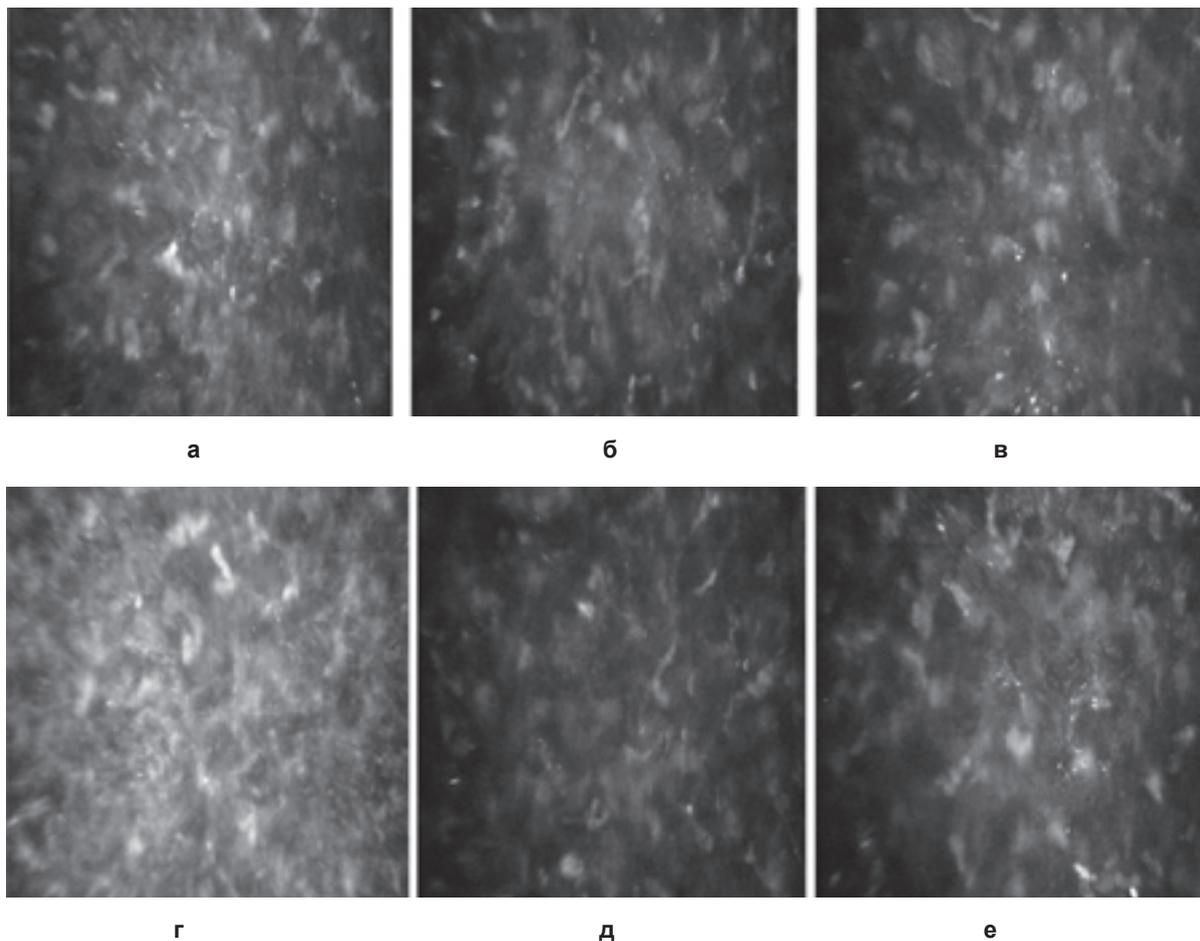


Рис. 1 (а-б). Эпителиальный слой роговицы после операции. Измерение в Z-ring режиме, толщина эпителия обозначена стрелкой:  
а – 3-й день после LASIK (толщина эпителия 58 мкм); б – 3-й день после IntraLASIK (72 мкм)



**Рис. 2 (а-е). Зона абляции в различные сроки после операции:**  
**а – 3-й день после LASIK; б – 3 месяца после LASIK; в – 6 месяцев после LASIK;**  
**г – 3-й день после IntraLASIK; д – 3 месяца после IntraLASIK; е – 6 месяцев после IntraLASIK**

LASIK – от диаметра сформированного роговичного лоскута. Всем пациентам в ходе операции измеряли вертикальный и горизонтальный диаметры роговичного лоскута, ширину ножки. Интра- и послеоперационных осложнений в обеих группах не было, обследования проводились до операции, на 3-й день, через 1, 3, 6 месяцев, через 1 год после операции.

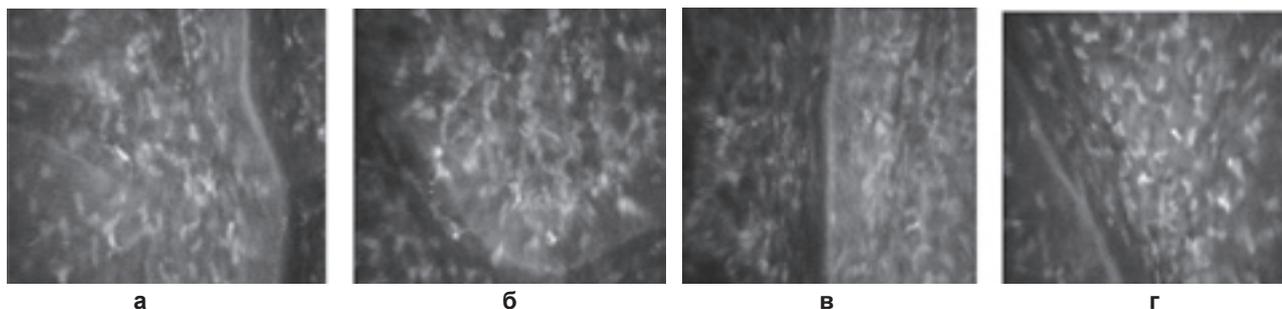
Исследование на оптическом когерентном томографе (ОКТ) «Visante OCT» до операции включало в себя измерение общей толщины роговицы в центре и на периферии в зонах: 0–2 мм, 2–5 мм, 5–7 мм, 7–10 мм. После операции на третий день толщина роговицы и поверхностного лоскута определялась только с помощью бесконтактной кератопахиметрии на ОКТ из-за риска смещения лоскута во время контакта датчика УЗ-кератопахиметра с поверхностью роговицы. Известно, что прямое измерение толщины поверхностного лоскута роговицы с помощью УЗ-пахиметра невозможно [3].

При исследовании методом конфокальной микроскопии нами оценивались: состояние эпителиального слоя, сроки и степень восстановления суббазальных нервных волокон, морфология передней, средней и задней стромы, а также полиморфизм и полимегатизм заднего эпителия роговицы.

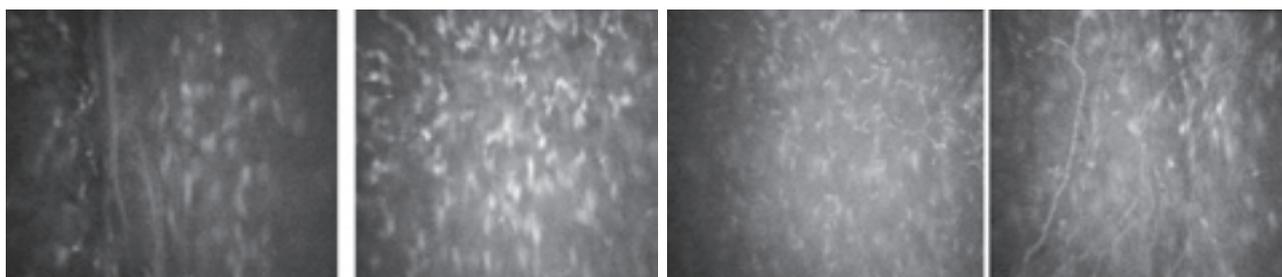
### **Результаты и обсуждение**

При исследовании группы пациентов, перенесших LASIK, в раннем послеоперационном периоде отмечалось нарушение цитоархитектоники переднего эпителия

роговицы с минимальным количеством или с отсутствием поверхностных эпителиоцитов. Толщина эпителиального слоя по данным пахиметрии, проведённой при помощи конфокального микроскопа в Z-Ring режиме, в центре оптической зоны через 3 дня после коррекции увеличилась с  $52 \pm 0,08$  мкм до  $64,3 \pm 0,05$  мкм (рис. 1а). Через 1 и 6 месяцев после операции толщина эпителия составляла  $60,9 \pm 0,09$  мкм и  $62,1 \pm 0,11$  мкм соответственно. Через год после операции толщина эпителиального слоя вновь увеличилась и составила  $68,9 \pm 0,07$  мкм. Рост толщины эпителия в первые дни после операции, на наш взгляд, связан с послеоперационным отёком лоскута, а через год после операции – с усилением миграции эпителиоцитов в центральное «углубление» роговицы, сформированное особым профилем миопической лазерной абляции [2]. В толще лоскута наблюдался отёк экстрацеллюлярного матрикса, отмечались миграция клеток воспаления и большое количество «активных клеток» и в строме лоскута, и в передней ретроабляционной зоне [6]. В большинстве случаев (97%) конфокальная микроскопия выявила наличие складок в толще роговичного лоскута различной степени выраженности. Многообразные частицы разного размера и с различной отражающей способностью наблюдались в интерфейсах всех глаз, причём гиперрефлексирующих (металлических) частиц было меньше на глазу, где лезвие использовалось второй раз. Границы интерфейса исчезли через 1 год. При этом полностью исчезли участки бесклеточной структуры, что, на наш взгляд, является



**Рис. 3 (а-г). Интерфейс роговицы в разные сроки после операции:**  
**а – 3 месяца после LASIK; б – 6 месяцев после LASIK; в – 3 месяца после Intra LASIK;**  
**г – 6 месяцев после IntraLASIK**



**Рис. 4 (а-г). Суббазальное нервное сплетение после операции в различные сроки:**  
**а – 3 месяца после LASIK; б – 6 месяцев после LASIK;**  
**в – 3 месяца после Intra LASIK; г – 6 месяцев после IntraLASIK**

главным морфологическим критерием для определения сроков послеоперационного наблюдения и возможности проведения повторного LASIK (рис. 2а-в, 3а-б). Волокна суббазального нервного сплетения были выявлены в единичных случаях на 3-й день после операции, через 1 месяц – полностью отсутствовали, через 6 месяцев новообразованные суббазальные нервные волокна определялись у 40% пациентов, а через 1 год после операции – присутствовали у 90% пациентов после LASIK, однако нервные волокна были тонкими, с аномальным ветвлением и в меньшем количестве, чем до операции (рис. 4а-б). Исследования количества и качества клеток роговичного эндотелия не выявили достоверных изменений данных параметров ни в раннем, ни в отдалённом послеоперационных периодах.

При исследовании группы пациентов, перенесших IntraLASIK, в раннем послеоперационном периоде также отмечалось нарушение citoархитектоники эпителия роговицы. Толщина эпителиального пласта по данным пахиметрии, проведённой при помощи конфокального микроскопа в Z-Ring режиме, в центре оптической зоны через 3 дня после коррекции увеличилась с  $61,3 \pm 0,1$  мкм до  $72,3 \pm 0,09$  мкм, что связано с более выраженным отёком лоскута в раннем послеоперационном периоде (рис. 1б).

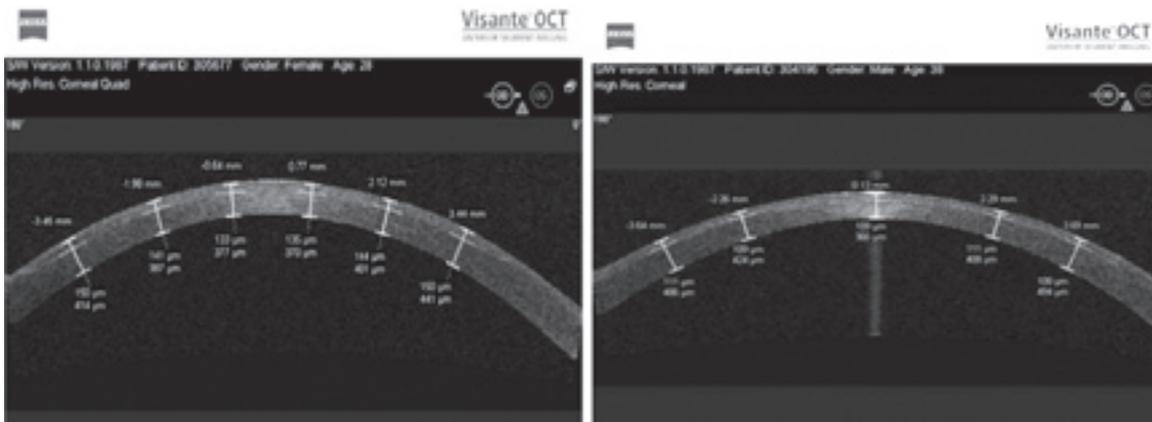
Через 1 и 6 месяцев после операции толщина эпителия составляла  $62,7 \pm 0,09$  и  $64,1 \pm 0,1$  мкм соответственно. Через год после операции толщина эпителиального слоя вновь увеличилась и составила  $65,9 \pm 0,07$  мкм. В толще лоскута и в зоне абляции наблюдался более выраженный отёк экстрацеллюлярного матрикса с нарушением его прозрачности, чем при формировании роговичного лоскута механическим микрокератомом, что, по-видимому, связано с энергетическим воздействием на ткань роговицы. Отмечались миграция клеток воспаления и большее количество «активных клеток» и в строме лоскута, и в передней ретроабляционной зоне,

чем после LASIK. Снижение их активности совпадает по времени с восстановлением суббазального нервного сплетения (через 6 мес. после LASIK и через 3 мес. после IntraLASIK). Конфокальная микроскопия выявила наличие складок в толще роговичного лоскута различной степени выраженности, однако количество складок и их выраженность меньше, чем в группе пациентов после LASIK. Многообразные частицы разного размера и с различной отражающей способностью (продукты клеточного распада, эритроциты) наблюдались сразу после операции в интерфейсах всех глаз. Границы интерфейса не определялись через 6 месяцев (рис. 2 г-е, 3 в-г).

Волокна суббазального нервного сплетения на 3-й день после операции выявлялись в единичных случаях, через 3 месяца суббазальные нервные волокна определялись у 50% пациентов, а через 1 год после операции – присутствовали у 95% пациентов после IntraLASIK (рис. 4 в-г).

Исследования количества и качества клеток роговичного эндотелия не выявили изменений ни в раннем, ни в отдалённом послеоперационных периодах.

По данным ОКТ было выявлено, что на 3-й день после операции LASIK границы роговичного лоскута чётко визуализируются, толщина поверхностного лоскута при расчётной 110 мкм в его центральной части составила  $116,2 \pm 18,5$  мкм, в проекции начала выкраивания лоскута –  $150,1 \pm 22,9$  мкм (3,0 мм к виску – для правого глаза и 3,0 мм к носу – для левого глаза), а в проекции окончания выкраивания лоскута она составила  $136,2 \pm 24,7$  мкм (3,0 мм к носу – для правого глаза и 3,0 мм к виску – для левого глаза) (рис. 5а). Толщина поверхностного лоскута роговицы, выкраиваемого с помощью механического микрокератома, оказалась неравномерной не только в начале и в конце среза, но и в центральной зоне, лоскут имел менискообразную конфигурацию. Параметры размеров роговичного лоскута в среднем составили: диаметр –  $8,45 \pm 0,15$  мм, ширина ножки – 4,2 мм.



а

б

**Рис. 5 (а-б). ОСТ роговицы пациента на 3-й день после операции (сканирование с высоким разрешением 10х3 мм). Метками обозначена толщина роговичного лоскута в точках измерения: а) после LASIK; б) после IntraLASIK**

Обследования на ОКТ на 3-й день после операции IntraLASIK показали, что границы роговичного лоскута также чётко визуализируются, что толщина крышки, полученной с помощью фемтосекундного лазера, отличается от запланированной в пределах  $\pm 8$  мкм, среднее отклонение диаметра в пределах  $-0,1 \pm 0,08$  мм. Параметры роговичного лоскута в среднем составили: диаметр –  $9,15 \pm 0,1$  мм, ширина ножки –  $2,8$  мм (рис. 5б).

Нами были отмечены чёткость края роговичного лоскута, сформированного при помощи фемтосекундного лазера, отсутствие смещений, более выраженная по сравнению с LASIK реакция по краю лоскута на следующий день после операции, более выраженное рубцевание по краю лоскута через 1, 3, 6 месяцев после операции, что способствует биомеханической стабильности роговицы и значительно уменьшает риск смещения крышки в послеоперационном периоде.

К 3-му месяцу границы интерфейса после LASIK по данным ОКТ определялись с трудом в зоне 2–5 мм от центра, к 6-му месяцу – практически не определялись. При конфокальной микроскопии через 3 месяца после LASIK границы интерфейса чётко определялись за счёт визуализации складок роговичного лоскута, начиная с 6-го месяца после операции количество складок визуально уменьшалось и практически не определялось к сроку 1 год после операции.

После IntraLASIK границы интерфейса по данным ОКТ с трудом визуализировались через 1 месяц и не определялись через 3 месяца после операции. При конфокальной микроскопии через 3 месяца после операции границы с трудом определялись по складкам роговичного лоскута, а через 6 месяцев после IntraLASIK складки не визуализировались.

### Заключение

Метод конфокальной микроскопии позволяет проводить динамический контроль изменений толщины поверхностных слоёв роговицы при её гиперплазии или отёке в зоне роговичного лоскута и в зоне интерфейса в послеоперационном периоде.

Оценка степени адаптации роговичного лоскута в послеоперационном периоде позволяет обозначить сроки наблюдения (1 год после LASIK и 6 месяцев после IntraLASIK) и проведения повторных вмешательств,

в случае необходимости – через 6 месяцев после LASIK и 3 месяца после IntraLASIK.

Восстановление суббазального нервного сплетения наступает раньше после операции IntraLASIK, однако в обеих группах восстановленные нервные волокна более тонкие, чем до операции, и имеют аномальное ветвление.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисов С. Э., Егорова Г. Б., Фёдоров А. А., Бобровских Н. В. Конфокальная микроскопия роговицы // Вестник офтальмологии. – 2008. – № 3. – С. 3–10.
2. Азнабаев Б. М., Алимбекова З. Ф., Габбасов А. Р., Мухаммадиев Т. Р. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия. Принцип работы и морфологические критерии диагностики состояния роговицы после ЛАСИК // Рефракционная хирургия и офтальмология. – 2006. – № 2. – С. 10–14.
3. Балашевич Л. И. Рефракционная хирургия. – СПб: МАПО, 2002. – С. 111–133.
4. Дога А. В., Кишкин Ю. И., Майчук Н. В., Кондакова О. И. Сравнительный анализ гистоморфологии роговиц in vivo после формирования поверхностного клапана с помощью механического микрокератома и фемтосекундного лазера // Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии-2009: Сб. науч. статей ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза». – М., 2009. – С. 255–260.
5. Куренков В. В. Руководство по эксимерлазерной хирургии роговицы. – М.: ПАМН, 2002. – С. 202–208.
6. Нероев В. В., Ханджян А. Т., Манукян И. В. Применение конфокального микроскопа «Confoscan 4» для оценки структурных изменений в роговице после эксимерлазерных кераторефракционных вмешательств // Материалы V Евро-Азиатской конференции по офтальмохирургии: Сб. науч. ст. – Екатеринбург, 2009. – С. 90–92.
7. Алио Х. Л., Хавалой Х., Неэри Э. П. и др. Качество роговичного лоскута после ЛАСИК. Исследования с помощью конфокального микроскопа // Офтальмология. – 2004. – № 3. – С. 12–18.
8. Javaloy J., Vidal M. T., Abdeirahman A. M. et al. Confokal microscopy comparison of intralase femtosecond laser and moria M2 microkeratome in LASIK // Journal of refractive surgery. – 2007. – Vol. 23. – P. 178–186.
9. Patel S. V., Maguire L. J., McLaren J. V. et al. Femtosecond laser versus mechanical microkeratome for LASIK; a randomized controlled study // Ophthalmology. – 2007. – Vol. 114. № 8. – P. 1482–1490

Поступила 27.09.2010