

На правах рукописи

БОДРОВА СВЕТЛАНА ГЕННАДЬЕВНА

**Морфо – функциональные изменения роговицы после длительного ношения
мягких контактных линз, влияющих на результаты кераторефракционных
операций**

03.00.25 - гистология, цитология, клеточная биология

14.00.08 - офтальмология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Саранск 2009

Работа выполнена в Чебоксарском филиале Федерального государственного учреждения «Межотраслевой научно – технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н.Федорова Росмедтехнологии»

Научные руководители: доктор медицинских наук, профессор
Паштаев Николай Петрович
доктор биологических наук, профессор
Любовцева Любовь Алексеевна.

Официальные оппоненты: 1. доктор биологических наук, профессор
Валиуллин Виктор Владимирович
2. доктор медицинских наук, профессор
Егорова Элеонора Валентиновна

Ведущая организация: ФГОУ ВПО Оренбургская государственная
медицинская академия

А 212.117.01

Защита диссертации состоится 4 декабря 2009 года в 10 часов на заседании диссертационного совета ~~Д—212.117.05~~ при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева» по адресу: 430005, Республика Мордовия, г. Саранск, ул. Большевикская, 68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева».

Автореферат диссертации опубликован на официальном сайте Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева» www.mrsu.ru; E-mail: dsouet@mrsu.ru

Автореферат диссертации разослан «*3*» *нояб* 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор

В.П. Балашов

Список сокращений:

БО – базальная оболочка

ГНГКЛ - гидрогелевые низкогидрофильные контактные линзы

ГВГКЛ – гидрогелевые гидрофильные контактные линзы

ВРСП - время разрыва слезной пленки

КРО - кераторефракционная операция

КМ - конфокальная микроскопия

ЛАЗИК - лазерный кератомилез in situ

МКЛ – мягкие контактные линзы

НЭ - нейротрофическая эпителиопатия

ПЭК – плотность эндотелиальных клеток

СГКЛ – силикон – гидрогелевые контактные линзы

СЖ - слезная жидкость

ССГ - синдром «сухого глаза»

СП - слезная пленка

СЭФ – субэпителиальная фиброплазия

ТМКЛ – терапевтические мягкие контактные линзы

ТШ – тест Ширмера

ФРК - фоторефрактивная кератэктомия

ХГРНС – хроническая гипоксия роговицы начальной стадии

ХГРРС - хроническая гипоксия роговицы развитой стадии

ХГРДС - хроническая гипоксия роговицы далеко зашедшей стадии

ХГР с ССГ - хроническая гипоксия роговицы с синдромом «сухого глаза»

ORA – анализатор биомеханических свойств

SAI – индекс асимметрии поверхности (Surface Asymmetry Index)

SRI - индекс регулярности поверхности (Surface Regularity Index)

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Проблема посттравматической регенерации различных структур глаза остается актуальной и недостаточно исследованной в морфологии и практической офтальмологии. Актуальность изучения последствий различных воздействий на орган зрения обусловлена еще и тем, что в последние годы появились относительно новые методы коррекции с использованием полимерных материалов (контактные линзы, интраокулярные хрусталики). Так, для последних двадцати лет характерен бурный рост контактной коррекции зрения. Если в 1970 г. в мире насчитывалось 1-2 млн. пользователей контактными линзами, то в 1986 г. их было уже 25 млн., а в последние годы количество таких пациентов возросло до 80 млн. Известно, что контактные линзы оказывают на роговицу механическое воздействие, а также в зависимости от кислородной проницаемости линз, свойств материала, режима ношения у пациентов, много лет пользующихся мягкими контактными линзами (МКЛ), могут возникать эпителиальные микроцисты, отёк стромы, полимегализм и полиморфизм эндотелия (Киваев А.А. с соавт. 2006, Efron, N. 1996, Kaufman S.C. et al, 1996). Изменения роговицы связаны с тем, что при ношении мягких контактных линз уменьшается доступ кислорода к роговице, приводя тем самым к хронической гипоксии и ацидозу, которые, в свою очередь, могут обуславливать структурные нарушения и гибель клеток (Bohnke M, et al 1999). В то же время, влияние длительного воздействия контактных линз на различные ткани глаза остается до конца не исследованным (Киваев А.А. 1998, Розенбрандт Р.М. с соавт. 2001). Недостаточная изученность влияния длительного использования МКЛ на роговицу обусловлена, в том числе и малой информативностью классических гистологических подходов для изучения роговицы в этих условиях. Одним из перспективных и достаточно новых методов решения проблемы изучения различных воздействий на роговицу является конфокальная микроскопия, позволяющая получить максимально объективную информацию о ее морфологии и, что особенно ценно, в ситуации *in vivo*. Все вышесказанное свидетельствует о том, что для офтальмологии и морфологии несомненный теоретический и практический интерес представляют вопросы, связанные с длительным применением контактных линз в медицинской практике и их возможное влияние на морфологические и функциональные характеристики наиболее травмируемой при этом роговицы (Киваев А.А. 1998, Efron, N. 1996, Willcox, M.D. P 2006).

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось изучение морфологических, функциональных изменений свойств роговицы, связанных с длительным ношением мягких контактных линз, и их влияние на результаты кераторефракционных операций.

Достижение указанной цели основывалось на решении следующих задач:

1. Выявить *in vivo* структурные изменения роговицы глаза (эпителия, боуеновой и десцеметовой мембран, стромы и эндотелия) на разных сроках ношения мягких контактных линз.

2. На основании изучения морфологических и функциональных характеристик роговицы в зависимости от сроков ношения мягких контактных линз определить группы пациентов с различной степенью хронической гипоксии роговицы.

3. По клинко-морфологическим признакам изменения свойств роговицы *in vivo* определить оптимальные сроки отмены использования мягких контактных линз до проведения кераторефракционных операций.

4. Разработать меры профилактики осложнений роговицы глаза после проведения кераторефракционных операций у пациентов, ранее пользовавшихся мягкими контактными линзами.

Научная новизна:

Впервые *in vivo* с помощью конфокальной микроскопии показаны структурные изменения роговицы в зависимости от длительности ношения мягких контактных линз, заключающиеся в изменении формы и размеров эпителиальных и эндотелиальных клеток, разрушении межклеточных контактов, нарушении структуры экстрацеллюлярного матрикса. Выявлены клинко – морфологические признаки дезадаптивного типа регенерации роговицы в послеоперационном периоде.

Новым следует признать данные об изменении вязко-эластических свойств роговицы, позволяющие выявить степень хронической гипоксии.

Впервые сформировано обоснование необходимости и степени готовности роговицы к кераторефракционным операциям.

Практическая значимость:

На основании данных диссертационного исследования спрогнозированы сроки проведения кераторефракционных операций у пациентов после ношения мягких контактных линз, что необходимо для запросов практической офтальмологии.

Результаты исследования позволили разработать диагностический алгоритм, включающий применение конфокальной микроскопии *in vivo*, анализатора биомеханических свойств роговицы, изучение слезопродукции, позволяющий выявить группу риска пациентов, пользовавшихся мягкими контактными линзами. На основании результатов исследования появляется возможность уточнить показания и противопоказания для проведения кераторефракционных операций, а это, в свою очередь дает возможность уменьшить число послеоперационных осложнений.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В зависимости от длительности применения мягких контактных линз структурные изменения роговицы имеют стадийный характер:

до 4 лет ношения мягких контактных линз происходит метаплазия эпителия;

до 8 лет - наблюдается десквамация клеток эпителия, нарушение прозрачности мембран, появление, кератоцитов с измененной формой в строме, увеличение содержания макрофагов.

свыше 8 лет ношения мягких контактных линз происходит дальнейшее нарастание патологических процессов в эпителии и строме, поражение эндотелия роговицы.

2. Предложена классификационная оценка клинико– морфологических изменений роговицы после ношения мягких контактных линз:

хроническая гипоксии роговицы начальной стадии;

хроническая гипоксии роговицы развитой стадии;

хроническая гипоксии роговицы далеко зашедшей стадии;

хроническая гипоксии роговицы с признаками синдрома «сухого глаза».

3. После отмены использования мягких контактных линз и проведения корригирующей терапии, операции возможно проводить у пациентов с хронической гипоксией роговицы:

начальной стадии через 14-15 дней,

развитой стадии - через 2 месяца,

далеко зашедшей стадией - через 5-6 месяцев,

с признаками синдрома «сухого глаза» через 1-6 месяцев по степени выраженности этого признака.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научно – практических конференциях: I и II научных конференциях «Актуальные вопросы контактной коррекции зрения». Поволжская конференция по контактной коррекции (Чебоксары, 2002, 2003); 43-й и 44-й научно – практической межрегиональной конференции «Год семьи. Механизмы реализации приоритетного национального проекта и демографической политики в системе здравоохранения». (Ульяновск, 2008, 2009); международной научно – практической конференции «Новые технологии в офтальмологии». (Казань, 2008); всероссийской научно – практической конференции, посвященной 170-летию со дня рождения Е.В. Адамюка «Новые технологии в офтальмологии». (Казань, 2009); юбилейной научно – практической конференции, посвященной 70-летию акад. М.Т. Азнабаева. (Уфа, 2009); V Евро-Азиатской конференции по офтальмохирургии. (Екатеринбург, 2009); научно – практической конференции «Актуальные вопросы контактной коррекции зрения» (Москва, 2003); всероссийской научно – практической конференции с международным участием «Федоровские чтения». (Москва, 2009); клинической конференции ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росздрава совместно с кафедрой глазных болезней МГМСУ (Москва, 2009г.); всероссийской

научно – практической конференции РАМН «Лазеры в офтальмологии: вчера, сегодня, завтра» (Москва, 2009); всероссийском общенациональном офтальмологическом форуме (Москва, 2009); научно – практической конференции офтальмологов с международным участием «Филатовские чтения» (Одесса, 2009).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 25 печатных работы, из них 2 работы в отечественных научных журналах, рецензируемых ВАК РФ. Получен 1 патент РФ на изобретение (№ 2357708 от 10.06.2009), заявка на патент РФ (№ 2009131182 от 18.08.09).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 40 рисунками, 13 таблицами. Список литературы содержит 181 источник: 97 отечественных и 84 иностранных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Клиническая часть работы, включающая отбор, обследование, проведение кераторефракционных операций и послеоперационный период проводились в ФГУ ЧФ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова Росмедтехнологии».

Материалом исследования являлась роговица пациентов. Все больные в возрасте от 18 до 33 лет были клинически обследованы в соответствии с нозологией с использованием основных и дополнительных офтальмологических методов исследования, используемых в ФГУ МНТК. На каждого пациента оформлялась индивидуальная карта, где подробно освещался анамнез, указывались предыдущие данные обследования глазного яблока. Все обследования проведены с письменного согласия пациентов.

Конфокальная микроскопия роговицы *in vitro* проводилась для исследования степени поражения при различных видах гипоксической кератопатии после ношения МКЛ у пациентов основных групп. С помощью конфокального микроскопа «Confoscan - 4» (Nidek, Japan), исследовали роговицу по всей ее толщине. Использовали функцию подсчета плотности эндотелиальных клеток с оценкой их плеоморфизма (формы клеток) и полимегатизма (размера клеток), а также функцию оптической пахиметрии с помощью Z-ring (Б.М. Азнабаев, 2006). Конфокальную микроскопию проводили у пациентов всех исследованных нами групп до и после операции. Максимальный срок наблюдения составил 2 года.

Эндотелиальная микроскопия - исследование плотности и качественного состояния эндотелиальных клеток роговицы с помощью бесконтактного эндотелиального микроскопа GEM-4 фирмы "Product Research Organization" (США).

Результаты анализа содержат следующие данные: анализируемая площадь (мкм²); плотность (кл/мм²), коэффициенты варибельности (полимегатизм) и элонгации (полиморфизм), которые отражают разброс клеток по величине и форме. В среднем общая площадь одной эндотелиальной клетки составляет 330 – 360 мкм², пик распределения клеток по площади приходится на интервал от 300 – 400 мкм² (Т.И.Ронкина, 1994).

Методом лазерной тиндалеметрии (LFCM) на аппарате KOWA FC-2000 (Япония) определяли степень тяжести повреждения роговицы. Устройство измерения использует значения количества фотонов в миллисекунду (ф/мс) и выдает значения в виде гистограммы. По данным Sawa M. у здоровых лиц поток белка составляет $3,05 \pm 1,0$ ф/мс, количество клеток $1,48 \pm 0,78$ в 1 мм³ (Н.П.Паштаев, 2007).

Для отбора пациентов, которым планировалось проведение КРО (ЛАЗИК) проводили исследование **биомеханических свойств роговицы**, включающие определение фактора резистентности роговицы (ФРР) (мм рт. ст.), корнеального гистерезиса (КГ) (мм рт. ст.) и центральной толщины роговицы (ЦТР) (мкм) (В.В.Нероев, А.Т.Ханджян, 2008).

С помощью **оптического когерентного томографа «OCT Visante»** (Германия) проводили исследования по определению толщины роговичного клапана и резидуальной стромы. Этот оптический метод исследования позволяет отображать структуру биологических тканей организма в поперечном срезе с высоким уровнем разрешения, обеспечивая получение прижизненной морфологической информации на микроскопическом уровне («Офтальмология: национальное руководство» С.Э.Аветисов с соавтор., 2008).

Проводили стандартные офтальмологические методы обследования пациентов: **биомикроскопическое исследование** структур переднего отрезка глазного яблока, **визометрию**, **рефрактометрию**, **офтальмометрию**, **кератопахиметрию**, **периметрию**, **тонографию**, **электрофизиологические исследования** сетчатой оболочки и зрительного нерва, **компьютерную кератотопографию** («Офтальмология: национальное руководство» С.Э.Аветисов с соавтор. 2008).

Оценка состояния эпителия роговицы проводилась для выявления нарушений целостности эпителия роговицы с помощью красителя лиссаминового зеленого и бенгальского розового (В.В. Брежский, Е.Е. Сомов, 2003).

Скрининговая система исследования слезопродукции включала методы:

- **тест Ширмера**, который основан на смачиваемости стандартных стерильных полосок фильтровальной бумаги за определенный промежуток времени. При интерпретации данных пользовались следующими критериями: более 25 мм за 5 мин. - гиперсекреция; 15- 25 мм за 5 мин. — нормосекреция; 10-15 мм за 5 мин. - пограничное состояние; менее 10 мм за 5 мин. - гипосекреция СЖ (В.В, Брежский, Е.Е. Сомов,2003);

- **оценка высоты слезного мениска** которая позволяет измерить объем жидкости, находящейся в момент исследования в конъюнктивальной полости. Использовалась классификация степеней слезного мениска (Mainstone J.C., Golding T.R.;1962): 1-ая степень – 0,5-1,0 мм, 2-ая степень – 1,1 - 2,5 мм, 3-ая степень – 2,5 мм и больше.

С целью выявления нестабильности слезной пленки использовали метод **время разрыва слезной пленки (ВРСП)** или (проба Норна). При интерпретации результатов использовали следующие нормативы: норма - от 15 до 45 сек, 10-15 сек - пограничные значения, ВРСП менее 10 сек указывает на нестабильность СП (В.В, Брежский, Е.Е. Сомов,2003).

Предоперационная подготовка включала инстиляции противовоспалительного препарата (Наклоф или Диклоф) 3 раза в день за 1 день до операции.

Операция ФРК (Фоторефракционная кератэктомия) проводилась с использованием ArF - эксимерного лазера «Микроскан – 2000». У пациентов применена трансэпителиальная технология абляции по стандартной технологии, принятой в ФГУ МНТК «Микрохирургия глаза».

Операция ЛАЗИК (Лазерный in situ кератомилез) проводилась по стандартной технологии на эксимерном лазере «Микроскан – 2000». Формирование роговичного клапана производилась микрокератомом «Mofia» с головкой 110 и заявленной толщиной клапана 110 ± 15 мкм.

На базе ФГУ ЧФ МНТК «Микрохирургия глаза» было обследовано 448 пациентов. Для определения референтных значений исследуемых показателей было сформировано 2 группы:

Первую контрольную группу составили 115 пациентов с миопией средней и высокой степени, пользовавшихся очковой коррекцией. Вторую (основную) группу составили 333 пациента с хронической гипоксией роговицы разной степени выраженности после ношения различных типов с разными сроками и режимами ношения МКЛ.

Вторую группу мы подразделили на 4 подгруппы по степени поражения роговицы: в подгруппе **2.1** было 104 пациента, пользующихся контактной коррекцией от 1-4 лет, с хронической гипоксией начальной стадией без признаков синдрома «сухого глаза». В подгруппу **2.2** вошли 86 пациентов, пользующиеся контактной коррекцией с хронической гипоксией развитой стадией без признаков синдрома «сухого глаза» в течение 4 - 8 лет. Подгруппу **2.3** составили 75 пациентов, пользующиеся контактной коррекцией от 8 лет и более, с хронической гипоксией далеко зашедшей стадией без признаков синдрома «сухого глаза». Подгруппу **2.4** составили

68 пациентов, пользующиеся контактными линзами с признаками синдрома «сухого глаза». В этой подгруппе мы выявили пациентов с легкой (а), средней (б) и тяжелой (в) степенью нарушения слезопродукции.

Третью группу составили пациенты из первой и второй групп после кераторефракционных операций. Исходя из вида хирургической коррекции, 3 группу разделили на 6 подгрупп. 3.1 подгруппу составили 45 пациентов с миопией, исходно неизменной роговицей и с неосложненным послеоперационным периодом, которым проводили ФРК. В подгруппе 3.2 было 50 пациентов после ФРК с миопией, признаками хронической гипоксии роговицы и с неосложненным послеоперационным периодом. 3.3 подгруппу составили 15 пациентов с миопией, признаками хронической гипоксии роговицы и осложненным послеоперационным периодом после ФРК. В подгруппу 3.4 вошли 70 пациентов после проведения операции ЛАЗИК с миопией, исходно неизменной роговицей и с неосложненным послеоперационным периодом. В 3.5 находились 243 пациента с миопией, признаками хронической гипоксии роговицы и с неосложненным послеоперационным периодом после проведения операции ЛАЗИК. В 3.6 вошли 25 пациентов с миопией, признаками хронической гипоксии роговицы и с осложненным послеоперационным периодом после проведения операции ЛАЗИК.

Математический анализ проводился с помощью программ STATISTICA 5.0 (StatSoft Inc.USA); модуль - основные статистики (Basic statistics/Tables).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы при выборе способа оптической коррекции аномалий рефракции предпочтение пациентов все более склоняется к рефракционной хирургии (Карлсон Б.М.,1986; Корниловский, И.М., 1995). В настоящее время необходимым условием для получения оптимальных результатов после эксимерлазерной коррекции аномалий рефракции является повышение требований к качеству отбора пациентов, прогнозирование и своевременное выявление исходных изменений в роговице, которые могут повлиять на структурно-функциональные результаты кераторефракционных операций (Колотов М.Г.,2009; Куренков В.В.с соавт.,2002; Румянцева, О.А., 2003). Проблема регенерации роговицы после КРО у пациентов, ранее длительно пользовавшихся МКЛ, постоянно привлекает внимание рефракционных хирургов (Майчук, Н.В.,2008).

При исследовании роговицы глаз во 2 группе пациентов с признаками хронической гипоксии роговицы, ранее длительно пользовавшихся МКЛ, определяется много общего. Во всех подгруппах этой группы не выявляются изменения остроты зрения, одинаковы результаты электрофизиологических исследований функции сетчатки и зрительного нерва, сходны результаты пневмотонометрии и тонографии. Гидродинамические показатели не

выходили за рамки нормальных значений, границы поля зрения у всех пациентов находились в пределах контрольной группы. У пациентов 2.1,2.2,2.3,2.4 подгрупп значения потока белка и клеток во влаге передней камеры находились в пределах нормы. Однако, при биомикроскопии роговицы определялись эпителиальные микроцисты и неоваскуляризация. При осмотре с помощью конфокальной микроскопии наблюдалась десквамация клеток эпителия и полиморфизм базального слоя переднего эпителия; нарушение прозрачности экстрацеллюлярного матрикса, увеличения числа гиперрефлективных кератоцитов. Наши данные совпадают с данными литературы (Аветисов С.Э. с соавт., 2008; Егорова Г.Б. с соавт. 2008). Нами впервые выявлено, что поток белка и воспалительных клеток от подгруппы 2.1 к подгруппе 2.4 возрастают (табл.1).

Таблица 1

Зависимость клеточной реакции во влаге передней камеры у пациентов контрольной и дооперационной 2 подгруппы ($M \pm m$) ($p \leq 0,05$)

Группы	Поток белка в ПК, ф/мс	Число клеток в ПК, в 1 мм^3
Контрольная группа	3,05±0,94	1,01 ±0,7
2.1 подгруппа	3,56±1,0	1,38±0,8
2.2 подгруппа	3,85±1,4	2,04±1,3
2.3 подгруппа	4,05±1,1	2,05±1,25
2.4 подгруппа	4,73±1,1	2,6±1,0

Примечание: ± амплитуда колебания цифровых данных.

Но каждая подгруппа пациентов с хронической гипоксией имеет характерные изменения роговицы, присущие данному осложнению. Так, в подгруппе пациентов 2.1 с хронической гипоксией начальной стадией при КМ определяется число светлых (гибнущих) эпителиальных клеток до 7,8 % по сравнению с контрольными данными.

Происходит увеличение сферического эквивалента рефракции на $-0,25 \pm 0,05$ дптр, и центральной толщины роговицы на 10 мкм, что, возможно, связано с возникающим отеком экстрацеллюлярного матрикса стромы. При биомикроскопии в этой группе наблюдаются единичные помутнения и вращение сосудов в роговицу. Изменения выявлялись в эпителии роговицы. Такие нарушения связаны с тем, что пациенты носят МКЛ от 1-4 лет, что запускает развитие хронической гипоксии начальной стадии.

При ношении МКЛ в течение от 1-4 лет структурные нарушения роговицы, очевидно, связаны с хроническим гипоксическим стрессом, который возникает от механического воздействия МКЛ на роговицу, ее толщиной, кислородопроницаемостью, что согласуется с данными литературы (Даниличев В.Ф. с соавт. 2007; Егорова Г.Б. с соавт., 2008; Киваев, А.А.,1983).

В подгруппе 2.2 с хронической гипоксией роговицы пациенты носили МКЛ в течение 4-8 лет. Применение КМ с целью изучения роговицы выявляло увеличение числа светлых клеток эпителия до 26,3% по сравнению

с контролем. При этом увеличивался полиморфизм клеток базального слоя по размеру и форме, нарушение прозрачности и структурности боуеновой мембраны (рис.1.а). Увеличивалось число депозитов, визуализировались клетки Лангерганса (рис.1.б). Происходило изменение рефлексивности субэпителиальных и стромальных нервов, в боуеновой мембране отмечалась незначительная складчатость. В заднем эпителии роговицы этой подгруппы выявлялось незначительное нарушение структуры пласта, уменьшение плеоморфизма и увеличение полимегатизма клеток в пределах от 8 до 15% по сравнению с контрольной группой.

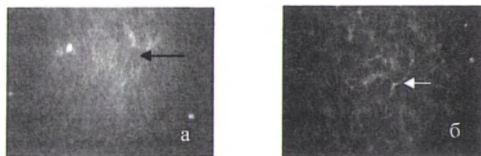


Рис.1.а.б. Роговица у пациентов с хронической гипоксией развитой стадией (2.2 подгрупп): а - наблюдается полиморфизм клеток базального слоя и нарушение прозрачности боуеновой мембраны; б-появление клеток Лангерганса. Конфокальная микроскопия in vivo. КМ – 4.ув.500.

У этих пациентов обнаруживалось вращание сосудов в верхне-наружном квадранте роговицы. Сферический эквивалент рефракции увеличивался на $-0,50 \pm 0,1$ дптр. Такая патология может быть связана с отеком стромы роговицы, который, в свою очередь, возможно связан с последствием нарушения сроков ношения МКЛ, некорректностью подбора и длительностью их применения. Полученные данные совпадают с данными литературы (Егорова, Г.Б., 2008; Киваев, А.А.,2000; Эфрон, Н., 2000). У пациентов 2.2. подгруппы кроме структурных нарушений мы выявили биомеханические изменения, проявляющиеся в снижении КГ и ФРР из-за отека стромы. Все эти данные дополняют ранее выявленные изменения роговицы при ношении МКЛ пациентами от 4-8 лет (табл. 2).

Таблица 2

Показатели ORA	Показатели биомеханических свойств (ФРР и КГ) и толщины (ЦТР) роговицы (M±m)			
	Группа			
	Контрольная	2.1	2.2	2.3
ФРР мм рт. ст.	12,36±1,3	11,0±0,013*	9,0±0,078*	8,0±0,8*
КГ, мм рт. ст.	12,34±1,2	11,7±0,028*	110,5±0,013*	8,3± 0,98*
ЦТР, мкм	536,4±10,23	546,66 ±10,48*	556,77 ± 13,4	532,7 ± 9,02*

* статистическая достоверность $p \leq 0,05$

В подгруппе 2.3 пациенты с хронической гипоксией далеко зашедшей стадией пользовались МКЛ от 8 лет и более. При осмотре КМ число эпителиальных светлых клеток увеличивалось до 36.8% (рис.2.а), но самое главное, изменились размер и форма кератоцитов по сравнению с

контрольной группой. Увеличивалось количество клеток Лангерганса, число стромальных депозитов, которые представляют собой тканевой детрит, образующийся в результате несвоевременной утилизации погибших клеток. Увеличение числа макрофагов у этих пациентов говорит о нарастании иммунной реакции в роговице (Berlau J., et all 2002; Bohnke M, et all 1999; Chiou A.G.-Y, 1999), при этом происходили изменения хода субэпителиальных нервных волокон. Одновременно с этим появлялась складчатость боуеновой и десцеметовой мембран, а также выявлялся отек экстрацеллюлярного матрикса (рис.2.б). В эндотелии наблюдалось умеренное или выраженное снижение числа гексагональных клеток и появление гигантских эндотелиоцитов в среднем до 20% (рис.2.в).



Рис.2.а.б.в. Роговица у пациентов 2.3 подгруппы с хронической гипоксией далеко зашедшей стадией: а – десквамация эпителия; б- отек экстрацеллюлярного матрикса; в – увеличение числа гигантских эндотелиоцитов. Конфокальная микроскопия in vivo. КМ – 4 ув.500.

Кроме этого, у пациентов этой группы обнаруживалось нарастание гиперемии лимба, отмечалось вращание сосудов в роговицу до 5 мм. Появлялись множественные точечные помутнения. Сферический эквивалент рефракции увеличивался на $-0,75 \pm 0,15$ дптр. Применение МКЛ, независимо от их кислородопроницаемости и сроков ношения, снижает корнеальный гистерезис и фактор резистентности, вероятно, за счет дезорганизации различных роговичных слоев (главным образом, эпителия и стромы), происходящих при хронической гипоксии или из-за повышенного модуля упругости самой линзы. При длительно существующем отеке роговицы, наблюдаются необратимые изменения гистерезиса и фактора резистентности роговицы (Паштаев Н.П.2009). В этом случае мы можем сказать, что ношение МКЛ в течение длительного времени способствует изменению метаболизма роговицы, следствием чего является структурная и функциональная перестройка тканей, которая постепенно приводит к дегенеративным изменениям (например, возникновению стромальных депозитов) (Даниличев В.Ф., Егорова Г.Б. с соавт., 2008). Пациенты группы 2,3 прошли точку, когда медикаментозным лечением еще можно было восстановить физиологические нормы роговицы.

В подгруппу 2.4 были включены пациенты из 2.1, 2.2, 2.3 подгруппы, у которых были нарушение слезопродукции и клинические проявления синдрома сухого глаза. У большинства пациентов биомикроскопия выявила локальный отек и складчатость бульбарной конъюнктивы.

При конфокальной микроскопии роговицы у пациентов этой подгруппы определялась десквамация многослойного плоского эпителия во

всех слоях (рис.3а). Наблюдалось увеличение числа кератоцитов, изменение их размера, формы. Происходило утолщение стромальных нервов (рис.3.б), визуализировалось появление макрофагов (рис. 3.в) и увеличение числа клеток Лангерганса во всех слоях роговицы.

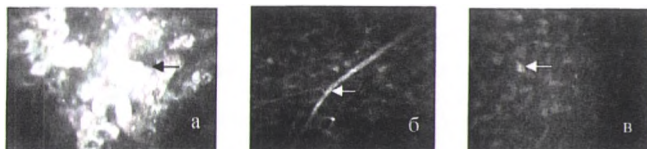


Рис.3.а.б.в. Роговица у пациентов 2.4 подгруппы с признаками синдрома «сухого глаза»: а- наблюдалась повышенная десквамация эпителия, б - утолщение стромального нерва, в-макрофаги. Конфокальная микроскопия *in vivo*. КМ – 4. ув.500.

По тестам слезопродукции происходило их снижение значений, выявлялись изменения высоты слезного мениска, изменялись данные кератотопограммы. Увеличивались значения индексов асимметрии и регулярности поверхности роговицы, что нередко связано с нарушением преекореальной слезной пленки. Отмечалось прокрашивание эпителия (Даниличев В.Ф. с соавт. 2007). Лазерная тиндалеметрия показала, что площадь прокрашивания роговицы коррелирует с потоком белка и увеличением числа воспалительных клеток во влаге передней камеры (Паштаев Н.П., 2009) (табл.3). Эти значения являются одним из показателей повреждения эпителия у пациентов с прокрашиванием роговицы.

Таблица 3

Зависимость клеточной реакции во влаге передней камеры от степени прокрашивания эпителия у пациентов 2.4 подгруппы ($M \pm m$) ($p < 0,05$)

Степень прокрашивания роговицы	эпителия	Поток белка в ПК, ф/мс	Количество клеток в ПК, в 1 мм^3
Отсутствие прокрашивания (контрольная группа)		$3,05 \pm 0,94$	$1,01 \pm 0,7$
Единичное прокрашивание		$3,56 \pm 1,0$	$1,38 \pm 0,08$
Локальное прокрашивание до 1/3 площади зоны		$4,05 \pm 1,4$	$2,04 \pm 1,3$
Прокрашивание от 1/3 до 1/2 площади зоны		$5,35 \pm 1,05$	$2,45 \pm 1,38$
Прокрашивание более 1/2 площади зоны		$6,03 \pm 1,17$	$3,01 \pm 1,19$

При анализе тестов Ширмера и Норна было определено (табл.4), что нарушение слезообразования различной степени выявлено у 15,1% пациентов.

Таблица 4

Результаты исследования слезопродукции у пациентов первой и второй группы при первичном обследовании ($M \pm \sigma$) ($p < 0,05$)

Тесты слезопродукции	1 группа	2 группа			
	(1) n-11	2.1 n- 104	2.2 n-86	2.3 n-75	2.4 n-68
Ширмера-1, мм	20,1±1,5	19,2±1,7	18,2±1,2	17,2±1,9	7,11±1,85
Проба Норна, сек	20,34±1,57	19,22±1,07	19,39±1,84	18,34±1,53	6,84±1,88

Несмотря на несомненные преимущества технологий ФРК и ЛАЗИК, при их выполнении все же не исключается риск развития регенераторных нарушений, негативно воздействующих на рефракционные и оптические результаты операций, поскольку на фоне ношения мягких контактных линз могут происходить изменения структуры и биомеханических свойств роговицы (Аветисов С.Э. с соавт, Bohnke M, et all.1999; Efron, N 1996). Работы ряда авторов (Корниловский, И.М.,1995; Майчук, Н.В., 2008; Румянцева, О.А. 2003) доказывают, что дооперационная гипоксическая кератопатия, индуцированная МКЛ - один из наиболее значимых факторов риска развития дисрегенераторных послеоперационных осложнений после КРО, таких как вторичный «сухой глаз», нейроэпителиопатия, асептический отек роговичного клапана, субэпителиальная фиброплазия после фоторефракционной кератэктомии (Battat L.,et all.,2001; Kauffmann T., et all.,1997). Стандартная дооперационная терапия включает противовоспалительные и слезозамещающие препараты, что в некоторых случаях является недостаточным для профилактики и коррекции осложнений после ношения МКЛ, поэтому были сформированы 3.3 и 3.6 подгруппы, которые имели осложнения в послеоперационном периоде.

Именно у них в послеоперационном периоде наблюдали более длительный период восстановления слезопродукции и, как следствие, послеоперационные осложнения в виде нейротрофической эпителиопатии, вторичного синдрома «сухого глаза» или их сочетание, дезадаптация роговичного лоскута, развитие субэпителиальной фиброплазии. По нашему мнению, снижение регенерации структур роговицы привела к регрессу рефракционного эффекта у пациентов 3.3 подгруппы и образованию субэпителиальной фиброплазии и развитию синдрома «сухого глаза».

У пациентов 3.6 подгруппы было отмечено, что эпителиопатия, наличие новообразованных сосудов способствовали формированию послеоперационных осложнений, таких как кровотечение из новообразованных сосудов и, как следствие, развитие асептического отека роговичного лоскута, кератита. Дезадаптация сформированного роговичного клапана у пациентов 3.6 подгруппы, по-видимому, связана с тем, что имелось более слабое сцепление базального слоя переднего эпителия с поверхностью стромы роговицы из-за отека передней стромы.

Таблица 5

Количественные характеристики осложнений у пациентов с дезадаптивным типом регенерации хронической гипоксией роговицы различной стадией при ношении мягких контактных линз

Подгруппы пациентов	ГРНС	ХГРРС	ХГРДС	ХГР ССГ
Осложнения				
Кератит			1	
Нейроэпителиопатия без ССГ	1	2		
Нейроэпителиопатия с ССГ		1	3	2
Отек роговичного клапана		1	1	1
Дезадаптация роговичного лоскута			1	1
Синдром сухого глаза	1	3	5	6
СЭФ		1	3	4
Регресс рефракции				2
Всего	2	8	14	16

При анализе данных, представленных в таблице 5 можно сделать вывод, что из 333 обследованных пациентов с хронической гипоксией роговицы начальной стадии было 104 пациента. Послеоперационные осложнения наблюдались у 2 (0,6%) пациентов. 86 пациентов из 333 были с хронической гипоксией роговицы развитой стадии, число осложнений у них составило 8 случаев, что соответствовало 2,4%. У 75 пациентов с хронической гипоксией роговицы далеко зашедшей стадии отметили осложнения у 14, что составило 4,2%, а из 68 пациентов с признаками синдрома «сухого глаза» осложнения выявили у 16, что составило 4,8%. Таким образом, наибольший процент послеоперационных осложнений наблюдали у пациентов с хронической гипоксией роговицы далеко зашедшей стадией и признаками синдрома «сухого глаза».

Таблица 6

Сроки восстановления структурных и стабилизации функциональных характеристик органа зрения у пациентов с адаптивным типом регенерации ($p < 0,05$)

Структурно-функциональные характеристики	Фоторефракционная кератэктомия	Лазерный кератомилез in situ
Эпителизация роговицы	От 2 до 4 суток	От 6 до 8 часов
Восстановление времени разрыва слезной пленки	От 28 до 43 суток	От 2 до 3 недель
Некорригированная острота зрения:		
через месяц	0,7±0,05	0,85±0,05
через год	0,85±0,05	0,95±0,05

Анализ полученных результатов табл. 6 и 7 показал, что дезадаптивный тип регенерации при обоих методиках выполнения КРО характеризовался

замедлением сроков эпителизации роговицы и удлинением времени восстановления ВРСР более чем в 3-4 раза по сравнению с пациентами, которые имели адаптивный тип регенерации.

Анализ остроты зрения после операций у лиц с дезадаптивным типом регенерации показал, что некорригированная острота зрения через 1-1,5 года повысилась и достигла уровня, достоверно не отличающихся от данных, полученных у пациентов с адаптивным типом регенерации (табл.7).

Таблица 7

Сроки восстановления и стабилизации моофо - функциональных характеристик органа зрения у пациентов с дезадаптивным типом регенерации роговицы ($p < 0,05$)

Структурно-функциональные характеристики	Фоторефракционная кератэктомия	Лазерный кератомилез in situ
Эпителизация роговицы	От 10 до 12 суток	От 1,5 до 2 суток
Восстановление времени разрыва слезной пленки	От 6 до 9 месяцев	От 3 до 6 месяцев
Некорригированная острота зрения:		
через месяц	$0,6 \pm 0,05$	$0,7 \pm 0,05$
через год	$0,65 \pm 0,05$	$0,8 \pm 0,05$
через 1,5 года	$0,8 \pm 0,05$	$0,9 \pm 0,05$

В динамике анализ проведенных комплексных исследований у пациентов с адаптивным типом регенерации КРО и сопоставление их с данными пациентов с дезадаптивным типом регенерации выявил, что биомикроскопия, функциональное и количественное исследование продукции слезной жидкости, конфокальная микроскопия роговицы, анализатор биомеханических свойств роговицы in vivo, позволяют определить сроки безопасного проведения КРО после отмены МКЛ у пациентов с признаками хронической гипоксии и, тем самым, спрогнозировать развитие осложнений. Своевременное выявление клинических признаков хронической гипоксии роговицы у пациентов, ранее носивших МКЛ, позволит назначить адекватную медицинскую коррекцию.

На основании результатов нашего исследования предложена классификационная оценка хронической гипоксии роговицы при разных сроках ношении МКЛ. В отличие от принятой ранее классификации хронической гипоксии роговицы, предложенной Н.Эфроном в 1999 году, которая учитывает стадию развития каждого из симптомов гипоксии (лимбальная гиперемия, микроцисты, отек роговицы, неоваскуляризация, эндотелиальный полимегатизм) по отдельности, мы предлагаем свою оценку хронической гипоксии роговицы, основанную на объективных методах оценки состояния роговицы: совокупности тестов слезопродукции, биомикроскопических, морфологических признаков (состояние каждого из слоев роговицы):

1. **Хроническая гипоксия роговицы начальной стадии без признаков синдрома «сухого глаза».** Показатели слезопродукции: тест Ширмера (ТШ-1) от 15 до 25 мм за 5 мин, проба Норна (ВРСР) от 15 до 40 сек. При биомикроскопии: в поверхностных слоях эпителия роговицы обнаруживались мелкие однородные сероватые помутнения, вращание сосудов на 1 мм в роговицу. При КМ *in vivo*: изменения в виде метаплазии эпителия, повышение рефлективности кератоцитов в передних слоях стромы, незначительное нарушение прозрачности экстрацеллюлярного матрикса (слабый отек). Эндотелий морфологически сохранен

2. При **хронической гипоксии роговицы развитой стадии без признаков синдрома «сухого глаза».** Показатели слезопродукции: тест Ширмера (ТШ-1) от 15 до 25 мм за 5 мин, проба Норна (ВРСР) от 15 до 40 сек. При биомикроскопии: в эпителии роговицы выявлялись множественные точечные поверхностные помутнения, неравномерный световой рефлекс, гиперемия в зоне лимба, вращание сосудов на 3-4 мм в верхнем и ниже-наружном квадранте. При КМ: метаплазия и повышенная десквамация эпителия, нарушение прозрачности боуеновой и десцеметовой мембран, умеренный отек экстрацеллюлярного матрикса и нарушение цитоархитектоники стромы, изменение стромальных нервов, увеличение числа гиперрефлективных кератоцитов, линии разрежения корнеальных пластин, наличие клеток Лангерганса, единичных стромальных депозитов. В эндотелии: уменьшение плеоморфизма и увеличение полимегатизма клеток в пределах от 8 до 15% от возрастной нормы.

3. При **далеко зашедшей стадии хронической гипоксии без признаков синдрома «сухого глаза».** Показатели слезопродукции: тест Ширмера (ТШ-1) от 15 до 25 мм за 5 мин, проба Норна (ВРСР) от 15 до 40 сек. При биомикроскопии обнаруживалась выраженная гиперемия лимба, вращание новообразованных сосудов в верхнем и ниже - наружном квадранте на 5 мм в роговицу, в эпителии - множественные мелкие поверхностные помутнения. При КМ: деформированные и вытянутые в косом направлении клетки эпителия, появление большого число гибнущих клеток. В базальном слое эпителия - полиморфизм клеток, изменение формы и размеров их. Нарушение структуры и прозрачности мембран. Появление ярких хорошо очерченных стромальных депозитов со средним диаметром 0,2-0,5 мкм, измененных кератоцитов, клеток Лангерганса. Увеличение числа гигантских эндотелиоцитов.

4. **Хроническая гипоксия роговицы с признаками синдрома «сухого глаза».** Тесты слезопродукции: ТШ-1- менее 10 мм за 5 мин, ВРСР – менее 10 сек. При биомикроскопии: выявлялась поверхностная перилимбальная неоваскуляризация роговицы, гиперемия лимба, локальный отек и складки бульбарной конъюнктивы, эпителиальные микродефекты. При исследовании конфокальной микроскопии: визуализировалось снижение плотности эпителиальных клеток, их отек, расширение межклеточных границ. Деформация и вытянутость в косом направлении поверхностных

клеток эпителия, большое число гибнущих клеток. В базальном слое эпителия - резко выраженный полиморфизм клеток, нечеткость или расширенность их границ. Стромальные нервы утолщены. Единичные депозиты и клетки Лангерганса в передних слоях стромы. Нарушение прозрачности боуменовой и десцеметовой мембран.

ВЫВОДЫ

1. Ношение мягких контактных линз более 8 лет оказывает выраженное влияние на структуру и биомеханические свойства роговицы, проявляющееся метаплазией переднего эпителия роговицы, нарушением его цитоархитектоники, изменением состояния нервных волокон, появлением клеток Лангерганса, изменением формы и размера клеток эндотелия, а так же, снижением фактора резистентности, гистерезиса роговицы и изменением кератопахиметрических показателей.

2. На основании предложенной нами классификационной оценки хронической гипоксии роговицы у пациентов с начальной стадией, морфологические изменения появляются на уровне переднего эпителия, дальнейшие структурные нарушения проявляются на уровне стромы, а при далеко зашедшей стадии морфологические изменения затрагивают все слои роговицы.

3. У пациентов с начальной стадией хронической гипоксии после отмены мягких контактных линз и проведенного медикаментозного лечения, восстановление структуры роговицы до физиологических значений происходит в течение 14-15 дней. У пациентов с развитой стадией хронической гипоксии роговицы структурная регенерация идет в течение 1,5 - 2 месяцев, а у пациентов с далеко зашедшей стадией хронической гипоксии восстановительный процесс в роговице происходит в течение 5-6 месяцев. У пациентов с признаками синдрома «сухого глаза», в зависимости от степени его выраженности, этот процесс длится от 1 до 6 месяцев.

4. Разработаны методы профилактики осложнений, которые заключаются в соблюдении сроков проведения кераторефракционных операций в зависимости от исходного состояния роговицы после ношения МКЛ. Пациентам, которые пользуются мягкими контактными линзами рекомендуется мониторинг состояния роговицы при помощи конфокальной микроскопии, анализатора вязко-эластических свойств роговицы, биомикроскопии, тестов слезопродукции, что необходимо проводить ежегодно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с исходно измененной роговицей из-за ношения МКЛ перед проведением КРО рекомендуется проводить оценку степени изменения роговицы с помощью конфокальной микроскопии, кератотопографа и анализатора биомеханических свойств роговицы, биомикроскопии, тестов слезопродукции.

Кобзова // Филатовские чтения. Научно-практическая конференция офтальмологов с международным участием.- Украина, Одесса: Институт глазных болезней и тканевой терапии им.В.П.Филатова.- 2009.- С.9-10.

20. Зависимость сроков выполнения рефракционно-лазерных операций от изменений роговицы, связанных с ношением контактных линз / С.Г. Бодрова // Здравоохранение Чувашии.- 2009.- №2.- С.40-43.

21. Особенности регенерации роговицы после кераторефракционных операций (КРО) у пациентов, ранее длительно пользовавшихся мягкими контактными линзами / С.Г. Бодрова, Н.В. Бородина // VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Федоровские чтения – 2009»: Сб.тез.- М.: Изд-во «Офтальмология».- 2009.- С.137-138.

22. Особенности регенерации роговицы после лазерных кераторефракционных операций / Н.П. Паштаев, С.Г. Бодрова, Н.В. Бородина // Лазеры в офтальмологии: вчера, сегодня, завтра: Сб. науч.статей / Учреждение Российской академии медицинских наук научно-исследовательский институт глазных болезней РАМН. – М., 2009. – С.414-418.

23. Функциональные и морфологические изменения роговицы у пользователей мягких контактных линз, влияющие на результаты кераторефракционных операций / Н.П. Паштаев, С.Г. Бодрова, Н.В. Бородина // Российский общенациональный офтальмологический форум: сборник трудов научно-практ. конф. с международным участием.- М.: ФГУ МНИИ ГБ им.Гельмгольца, 2009. – В 2 т. Т.1, С.417-421.

24. Изучение влияния мягких контактных линз на структуру и биомеханические свойства роговицы / Н.П. Паштаев, С.Г. Бодрова, Н.В. Бородина, М.М. Зарайская // Офтальмохирургия.- 2009.- №4. – С.10-13.

25. Изучение синдрома «сухого глаза» до и после проведения кераторефракционных операций у пациентов, ранее длительно пользовавшихся мягкими контактными линзами / Н.П. Паштаев, С.Г. Бодрова, Н.В. Бородина // Фундаментальные исследования.- 2009.- №7.- 30-36.

СПИСОК ИЗОБРЕТЕНИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Способ лечения дефектов эпителия роговицы с помощью терапевтических мягких контактных линз. Патент РФ на изобретение №2357708, приоритет от 19.03.2008, опубликовано: 10.06.2009 Бюл. №16 (Автор – Бодрова С.Г.)

2. Способ определения дифференциальных показаний к срокам проведения кераторефракционных операций после отмены мягких контактных линз у пациентов с хронической гипоксией, по данным конфокальной микроскопии. Заявка на патент РФ №2009131182 от 18.08.2009