

DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2021-1-21-25>

## Конфокальная микроскопия при кератоконусе после одномоментной имплантации колец MyoRing и кросслинкинга роговицы

М.М. Бикбов, В.К. Суркова, Г.М. Казакбаева

ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ»

### РЕФЕРАТ

**Цель.** Изучение методом конфокальной микроскопии морфологических изменений в роговице пациентов с кератоконусом после одномоментной имплантации интрастромального кольца MyoRing и кросслинкинга.

**Материал и методы.** В клиническое исследование включены 15 пациентов (16 глаз) с прогрессирующим кератоконусом II-III стадии. Всем пациентам было проведено комбинированное лечение: имплантация интрастромальных роговичных колец MyoRing (DiopTex GmbH, Linz, Austria) в сочетании с кросслинкингом роговицы. Оценивали количество клеток и качественные показатели в каждом слое роговицы в динамике наблюдения (36 месяцев).

**Результаты.** При качественном анализе роговицы наблюдались транзиторные нарушения субэпителиального нервного сплетения,

увеличение отражательной способности стромальных кератоцитов и умеренной фиброплазии в средних отделах стромы в области интрастромального кармана. В сроки наблюдения 12 месяцев и более после операции существенных изменений ультраструктуры роговицы не выявлено. Не было выявлено достоверного снижения плотности эндотелиальных клеток в послеоперационном периоде.

**Заключение.** Анализ морфологических изменений методом конфокальной микроскопии подтверждает безопасность одномоментной имплантации интрастромального кольца MyoRing и кросслинкинга роговицы при кератоконусе II-III стадии и позволяет проводить динамическое наблюдение изменений структуры роговицы в процессе интрастромальной хирургии.

**Ключевые слова:** кератоконус, конфокальная микроскопия, интрастромальные роговичные кольца, MyoRing, кросслинлинг роговицы. ■

Точка зрения. Восток – Запад. 2021;1:21–25.

### ABSTRACT

#### Confocal biomicroscopic changes of the corneal layers following MyoRing implantation with corneal collagen crosslinking in keratoconus

M.M. Bikbov, V.K. Surkova, G.M. Kazakbaeva

Ufa Eye Research Institute

**Purpose.** To study morphological changes in the cornea by confocal microscopy of simultaneous MyoRing implantation with corneal crosslinking in patients with keratoconus.

**Material and methods.** The clinical study included 15 patients (16 eyes) with progressive keratoconus. All patients underwent a combination treatment: implantation of MyoRing intrastromal corneal rings (DiopTex GmbH, Linz, Austria) in combination with corneal crosslinking. The number of cells and quality indicators in each layer of the cornea were compared before and during 36 months after surgery.

**Results.** Qualitative analysis of the cornea showed transient disturbances of the subepithelial nerve plexus, an increase in the reflectivity of stromal keratocytes, and moderate fibroplasia in the

middle parts of the stroma in the area of the intrastromal pocket. During the follow-up period of 12 months or more after surgery, no significant changes in the corneal ultrastructure were detected in the dynamics. There was no significant decrease in endothelial cell density in the postoperative period.

**Conclusion.** Analysis of morphological changes confirms the safety of a combination of simultaneous implantation of the MyoRing intrastromal ring and corneal crosslinking in stage II-III keratoconus by confocal microscopy and allows dynamic observation of changes in the corneal structure during intrastromal surgery.

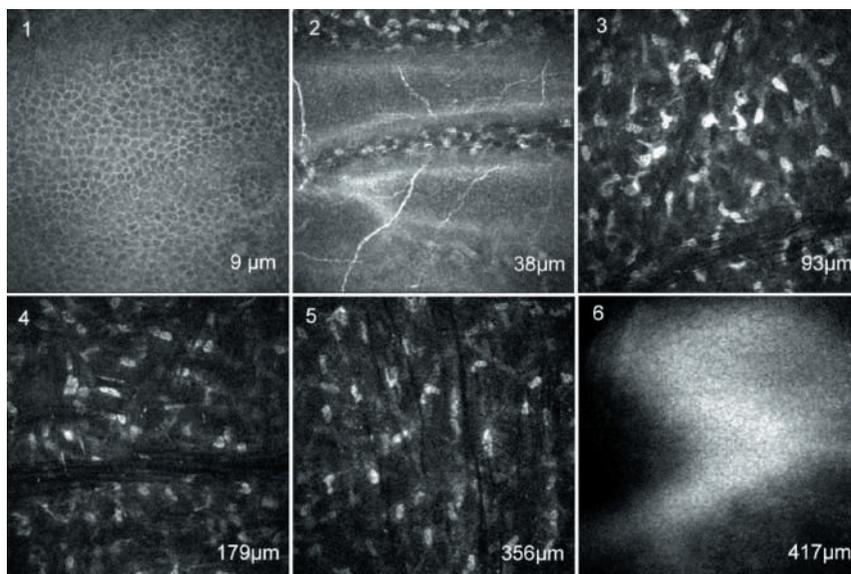
**Key words:** keratoconus, confocal microscopy, intrastromal corneal rings, MyoRing, corneal crosslinking. ■

Point of View. East – West. 2021;1:21–25.

У пациентов с кератоконусом II и III стадии изменена структура слоев роговицы, нарушена морфология клеток и архитектони-

ка коллагеновых фибрилл. Наибольшую выраженность эти изменения имеют в переднем эпителии, стро-ме и эндотелии в зонах истончения

роговицы [1-3]. Морфологические изменения лежат в основе оптической неоднородности ткани роговицы, изменения ее толщины, иска-



**Рис. 1.** Конфокальная микроскопия роговицы пациента С. Кератоконус II ст. до операции (Ув. x 300): 1 – неравномерный рефлекс эпителиального слоя с повышенной отражательной способностью клеток, полиморфизм эпителиальных клеток; 2 – субэпителиальные нервные волокна, ориентированные продольно с высокой отражающей способностью; 3 – в передней строме наблюдаются активированные кератоциты, высокорефлективные ядра активированных кератоцитов, низкокозогенные микроскладки стромы; 4, 5 – плотность кератоцитов снижена, наблюдаются складки задней стромы, ориентированные продольно и поперечно; 6 – полигональные клетки эндотелия без выраженных изменений

жений преломляющей способности [4]. Активация кератоцитов при кератоконусе направлена на поддержание внутреннего гемостаза роговицы [5-7]. Методика конфокальной микроскопии, применяемая для диагностики и мониторинга кератоконуса, позволяет оценить состояние тканей роговицы, структурных элементов клеток и межклеточного матрикса.

Одним из эффективных методов лечения КК является кросслинкинг роговицы (CXL), который усиливает жесткость и механическую прочность стромы роговицы, приостанавливает прогрессирование эктазии. Сочетание CXL с имплантацией интрастромальных колец (ИСК) MyoRing оказывает не только лечебный эффект, но и корректирующий рефракционный, позволяя изменять конфигурацию роговицы и выровнять ее поверхность [9-13].

Ряд исследований показал положительный эффект комбинированной одномоментной имплантации интрастромального кольца и CXL роговицы [13-15]. Отличительной особенностью этого способа CXL является насыщение роговицы раствором фотосенсибилизатора, введенным в стромальный карман, с сохранением целостности эпителия. Актуальным является морфологическое исследование структуры роговицы в различные сроки после одномоментной имплантации ИСК и CXL.

## ЦЕЛЬ

Изучение морфологических изменений в роговице пациентов с кератоконусом методом конфокальной микроскопии после одномоментной имплантации интрастромального кольца MyoRing и кросслинкинга.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В клиническое исследование включены 15 пациентов (16 глаз) с прогрессирующим кератоконусом II и III стадии (по классификации Amsler-Krumeich) и непереносимостью жестких контактных линз. Всем пациентам было проведено одномоментное комбинированное лечение: имплантация интрастромальных роговичных колец MyoRing («Dioptex GmbH», Австрия) в сочетании с кросслинкингом роговицы.

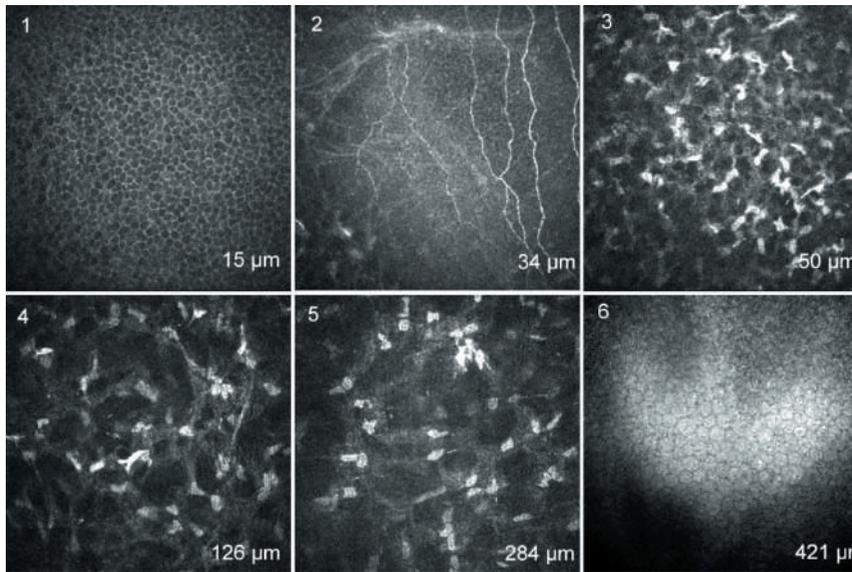
Изображения морфологии роговицы были получены с помощью конфокального лазерного офтальмоскопа Heidelberg Retina Tomograph III / Rostok Corneal Module («Heidelberg Engineering GmbH», Германия). Состояние структур роговицы, включая эндотелиальные клетки, оценивали с использованием программного обеспечения до операции и в течение 3 лет после хирургического лечения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

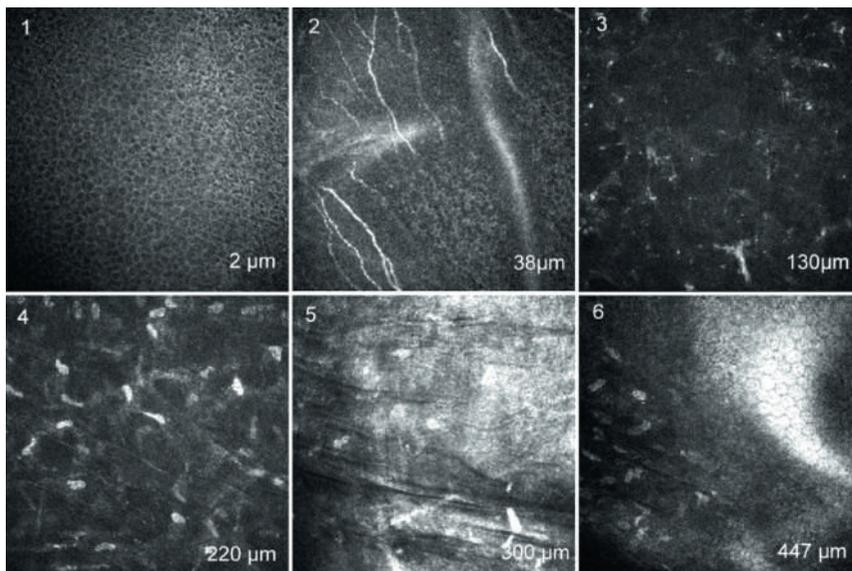
До операции у пациентов наблюдалась повышенная десквамация эпителия, изменения структуры и прозрачности боуменовой мембраны. Наблюдались разрывы десцеметовой мембраны. В строме роговицы определялись микрострии во внеклеточных структурах, их толщина варьировала от 10 до 70 мкм. Ориентация и направление микрострий были переменными. Нервные волокна в передних и средних слоях стромы визуализировались в виде извитых, увеличенных в диаметре структур, нередко с Y-образными бифуркациями. Отмечали изменения формы и ориентации кератоцитов, повышение их отражательной способности в передних и средних отделах стромы. Эндотелий был не изменен и визуализировался в виде ярких светлых полигональных клеток с четкими границами (рис. 1) [16, 17].

Послеоперационный период протекал адекватно без выраженных воспалительных изменений.

Морфологически в течение первого месяца после операции наблюдали явления эпителиопатии, отек в строме, прерывистость стромальных нервов. Визуализировали гиперрефлексирующие ядра кератоцитов бобовидной формы в передних и веретенообразной – в за-



**Рис. 2.** Конфокальная микроскопия роговицы пациента А. Кератоконус II ст. через 1 месяц после имплантации ИСК + СХЛ (Ув. х 300): 1 – слабо выраженный полиморфизм эпителиального слоя; 2 – повышенный отражающий рефлекс боуеновой мембраны, субэпителиальные нервные волокна определяются в виде ярко рефлектирующих линий, ориентированных продольно; 3 – дезориентация кератоцитов, высокорефлективные ядра кератоцитов; 4, 5 – повышенная эхогенность стромы, единичные активированные кератоциты; 6 – умеренный полиморфизм клеток эндотелия



**Рис. 3.** Конфокальная микроскопия роговицы пациента Р. Кератоконус III ст. через 6 месяцев после имплантации ИСК + СХЛ (Ув. х 300): 1 – умеренный полиморфизм эпителиоцитов; неравномерная повышенная эхогенность эпителиального слоя; 2 – субэпителиальные нервные волокна, ориентированные продольно в виде яркореклефтивных линий; 3 – слабо выраженная ячеистая структура, ядра кератоцитов не определяются; 4 – слабо выраженная ячеистая структура, активированные кератоциты неправильной формы; 5 – высокоэхогенная структура, место формирования стромального кармана, определяющееся в виде высокоэхогенной структуры с включениями, отмечается умеренная складчатость в виде тонких эхогенных линий; 6 – полигональные клетки эндотелия с четкими границами

дних слоях стромы. В прилегающей к кольцу строме отмечали увеличение количества активных кератоцитов. Границы роговичного кармана определяли по участкам бесклеточной структуры и дебрису, обладающим различной рефлексивностью и размерами. Изменения в роговице, как правило, регрессировали постепенно.

Через месяц после операции наблюдалась гиперрефлексивность эпителиального слоя, в передней строме – увеличение числа активированных кератоцитов (рис. 2).

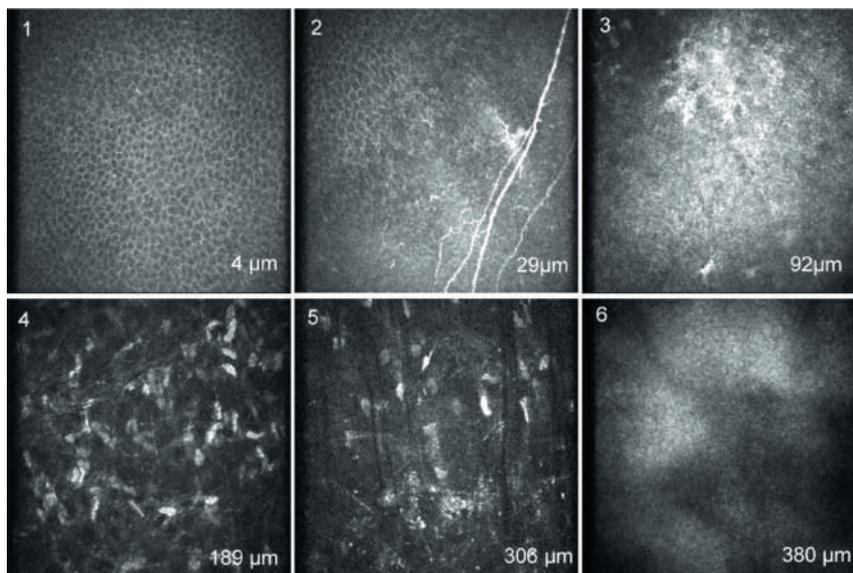
Через 3 месяца после операции сохранялась умеренная гиперэхогенность эпителия, наблюдалась прерывистость субэпителиальных нервов, снижение общей плотности кератоцитов с образованием фиброцеллюлярной сети с наличием бесклеточных зон в виде ячеек, имеющих характерный вид «сот», что свидетельствовало об апоптозе кератоцитов. В ранние сроки после операции отмечали развитие фибробластической реакции вокруг кольца [18, 19].

Через 6 месяцев сохранялись явления эпителиопатии. Нервы ча-

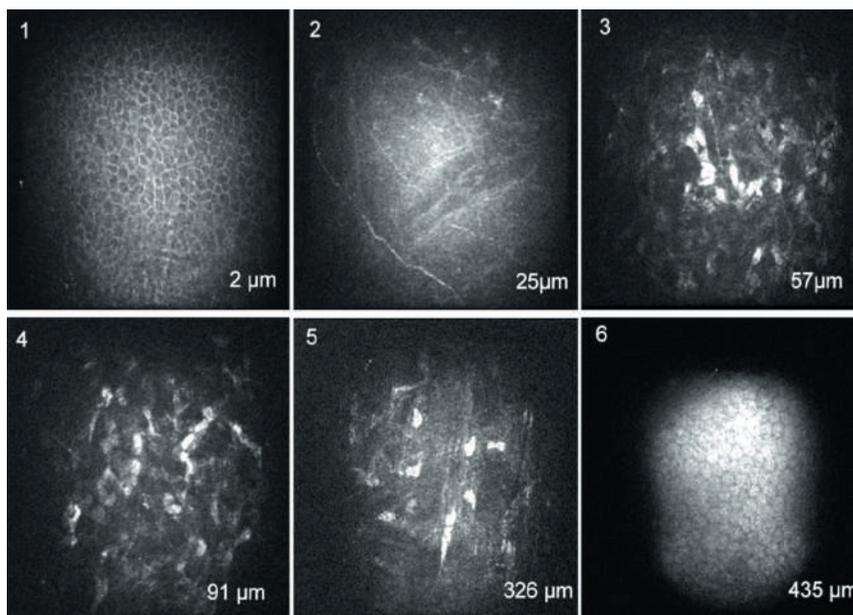
стично восстановились, но не достигли предоперационной толщины, что согласуется с исследованиями G.D. Kymionis et al. [20].

Были отмечены уменьшение стромального отека, наличие единичных высокоотражающих кератоцитов (рис. 3). На глубине формирования кармана 300 мкм отмечали нежную фиброзную ткань в виде микрозон с высокой отражательной способностью, а также скопление кератоцитов.

Хейз проявлялся как гиперплотность внеклеточной ткани, которая



**Рис. 4.** Конфокальная микроскопия роговицы пациента А. Кератоконус III ст. через 12 месяцев после имплантации ИСК + СХЛ (Ув. х 300): 1 – умеренный полиморфизм эпителиоцитов; 2 – субэпителиальные нервные волокна, ориентированные продольно в виде ярко рефлексивных линий; 3 – высокоэзогенной структуры разной выраженности, кератоциты не определяются, что свидетельствует о возможном фиброзе; 4 – кератоциты неправильной формы; 5 – в месте формирования стромального кармана включения, складчатость стромы в виде продольно и поперечно направленных линий; 6 – полигональные клетки эндотелия с четкими границами



**Рис. 5.** Конфокальная микроскопия роговицы пациента А. Кератоконус III ст. через 36 месяцев после ИСК + СХЛ (Ув. х 300): 1 – умеренный полиморфизм эпителиоцитов; 2 – повышенный отражательный рефлекс с боуеновой мембраны, субэпителиальные нервные волокна, ориентированные продольно, неравномерный рефлекс с субэпителиальных нервных волокон; 3 – в передней строме умеренная ячеистая структура, хаотичное расположение кератоцитов; 4 – дезориентация кератоцитов, неравномерный рефлекс; 5 – складчатость стромы в виде продольно и поперечно направленных линий; 6 – эндотелий без особенностей.

разрешалась в течение 6–12 месяцев. Не представлялось возможным оценить место расположения демаркационной линии, являющейся маркером эффективности процедуры СХЛ (поскольку стромальный карман был сформирован на глубине 300 мкм). Глубина апоптоза составляла в среднем 237–302 мкм.

Через 12–36 месяцев определяли признаки гомогенизации стромы в виде нарушения архитектоники волокнистых фибриллярных структур, образование микрострий, уменьше-

ние количества кератоцитов, изменение формы, нечеткость и свечение единичных ядер последних. Эти участки постепенно замещались бесструктурной нежной рубцовой тканью, что отмечено нами в 2 случаях. Гомогенизированные изменения роговицы являются одним из патогенетических признаков кератоконуса, на что указывает Г.Б. Егорова и соавт. [5].

Через 1 год после операции отмечено в основном завершение репаративного процесса в роговице

за счет адгезии лоскутов кармана с собственной тканью, восстановления процесса нейротрофики и всех анатомических составляющих оптической оболочки.

В отдаленные сроки на границе сформированного кармана наблюдали высокоотражающие точки и линии, различные по яркости (рис. 4, 5).

Среднее (SD) исходное количество эндотелиальных клеток составило  $2791,2 \pm 58$  клеток/мм<sup>2</sup>, через 36 месяцев –  $2718 \pm 78$  клеток/мм<sup>2</sup>. Раз-

ница между количеством эндотелиальных клеток до операции и на момент последнего исследования была несущественной ( $p=0,987$ ).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ морфологических изменений в роговице, определяемых методом конфокальной микроскопии, подтверждает безопасность комбинации одномоментной имплантации интрастромального кольца MyoRing и кросслинкинга роговицы при кератоконусе II-III стадии и позволяет проводить динамическое наблюдение изменений структуры роговицы в процессе интрастромальной хирургии.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисов С.Э., Егорова Г.Б., Федоров А.А. Конфокальная микроскопия роговицы. Сообщение 2. Морфологические изменения при кератоконусе. Вестник офтальмологии. 2008; 124.(3): 6-9.
2. Бикбов М.М., Бикбова Г.М. Эктазии роговицы (патогенез, патоморфология, клиника, диагностика, лечение). М.: Изд-во «Офтальмология». 2011. 168 с.
3. Wollensak G. Histological changes in human cornea after cross-linking with riboflavin and ultraviolet A. Acta Ophthalmol. 2010; 88: 17.
4. Медведев И.Б., Евграфов В.Ю., Дергачёва Н.Н. Кросслиндинг: методические подходы и применение в офтальмологии. Офтальмология. 2016; 13(2): 56-61.
5. Егорова Г.Б., Федоров А.А., Новиков И.А. Морфологические изменения при кератоконусе: интерпретация результатов конфокальной микроскопии роговицы. Современные технологии в медицине. 2018; 10(3): 130-138.
6. Hollingsworth J.G., Efron N, Tullo A.B. In vivo corneal confocal microscopy in keratoconus. Ophthalmic Physiol. Opt. 2005; 25(3): 254-260.
7. Erie J.C. McLaren J.W., Patel S.V. Confocal microscopy in ophthalmology. Am. J. Ophthalmol. 2009; 148(5): 639-646.
8. Daxer A., Mahmoud H.A., Venkateswaran R.S. Corneal crosslinking and visual rehabilitation in keratoconus in one session without epithelial debridement: new technique. Cornea. 2010; 29(10): 1176-1179.
9. Bikbova G., Kazakbaeva G., Bikbov M., Usubov E. Complete corneal ring (MyoRing) implantation versus MyoRing implantation combined with corneal collagen crosslinking for keratoconus: 3-year follow-up. International ophthalmology. 2017; 37(3): 1285-1293.
10. Казакбаева Г.М. Сравнительные результаты имплантации роговичного кольца Myoring и сочетанного применения имплантации Myoring с кросслинкингом роговицы у пациентов с кератоконусом. Офтальмология. 2019; 16(S1): 85-90.
11. Бикбов М.М., Усубов Э.Л., Казакбаева Г.М., Оганисян Г.М. Коррекция остаточной аметропии имплантацией роговичных колец после интрастромальных сегментов у пациентов с кератоконусом. Клинические случаи. Точка зрения. Восток - Запад. 2015; 1: 35-37.
12. Hashemi H., Heydarian S., Hooshmand E. et al. The Prevalence and Risk Factors for Keratoconus: A Systematic Review and Meta Analysis. Cornea. 2020; 39: 263-270.
13. Nobari S., Villena C., Jadidi K. MyoRing implantation alone versus corneal collagen crosslinking following. MyoRing implantation for management of keratoconus: 1-year follow-up. Acta Med. Mediterr. 2016; 32: 1077.
14. Benoist d'Azy C. B. Pereira, F. Chiambaretta, F. Dutheil Efficacy of Different Procedures of Intra-Corneal Ring Segment Implantation in Keratoconus: a Systematic Review and Meta-Analysis. Transl. Vis. Sci. Technol. 2019; 11; 8(3): 38.
15. Mohammadpour M., Masoumi A., Dehghan M.J. et al. MyoRing Implantation with and without Corneal Collagen Crosslinking for the Management of Keratoconus. Ophthalmic Vis. Res. 2020; 154(4): 486-492.
16. Sykakis E., Carley F., Irion L. An in depth analysis of histopathological characteristics found in keratoconus. Pathology. 2012; 44(3): 234-239.
17. Hollingsworth J.G., Efron N., Tullo A.B. In vivo corneal confocal microscopy in keratoconus. Ophthalmic Physiol. Opt. 2005; 25(3): 254-260.
18. Jordan C., Patel D.V., Abeyssekera N., McGhee C.N. In vivo confocal microscopy analyses of corneal microstructural changes in a prospective study of collagen crosslinking in keratoconus. Ophthalmology. 2014; 121(2): 469-474.
19. Siatiri H., Jabbarvand M., Mohammadpour M. Confocal biomicroscopic changes of the corneal layers following femtosecond laser-assisted MyoRing implantation in keratoconus. J. Curr. Ophthalmol. 2016; 29(3): 182-188.
20. Kymionis G.D., Grentzelos M.A., Plaka A.D. Correlation of the Corneal Collagen Cross-Linking Demarcation Line Using Confocal Microscopy and Anterior Segment Optical Coherence Tomography in Keratoconic Patients. American journal of ophthalmology. 2014; 157(1): 110-115.