

DOI: <https://doi.org/10.25276/2410-1257-2020-3-73-76>
УДК 617.713

Конфокальная микроскопия в диагностике буллезной кератопатии

Л.Р. Марванова

ГБУ «Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ», Уфа

РЕФЕРАТ

Цель. Предложить метод диагностики I-III стадии буллезной кератопатии (БК) на основе конфокальной микроскопии (КМ).

Материал и методы. Выполнен анализ результатов конфокальной микроскопии на аппарате Heidelberg Retinal Tomograph с роговичным модулем Rostock (HRT-III, Германия) у 75 пациентов (81 глаз) с БК I-III стадии в возрасте 41-86 лет. Группу контроля составили 15 человек (15 глаз) с интактными здоровыми глазами. Пациенты разделены на 3 группы в зависимости от стадии БК.

Результаты. У пациентов 1-й группы (20 человек, 22 глаза) с I стадией БК визуализировался отек стромы, единичные гиперрефлективные кератоциты в 15 (68,2%) глазах, уменьшение плотности эндотелиальных клеток (ПЭК) на 5-10%, в среднем - 2321 ± 189 клеток/мм² ($p < 0,05$). Во 2-й группе (30 человек, 32 глаза) при II стадии заболевания ПЭК снижена на 10-15% от нормы (1995 ± 315 клеток/мм²), от-

мечались выраженный полимегацитизм (53%) и плеоморфизм клеток (42%) ($p < 0,05$). В 3-й группе (25 человек, 27 глаз) у пациентов с III стадией БК наблюдались выраженные изменения во всех слоях роговицы в 100% случаев, а ПЭК снижена на более чем 15% в сравнении с нормой. По результатам исследования предложен новый способ диагностики стадий БК (патент РФ № 2552295).

Заключение. Предложен метод диагностики I-III стадии буллезной кератопатии на основе КМ, который позволяет определить стадию заболевания в зависимости от качественных изменений структурных элементов роговицы (эпителия, нервных волокон, экстрацеллюлярного матрикса) и уменьшения плотности эндотелиальных клеток: I стадия - снижение не более 5-10%, II стадия - 10-15%, III стадия - более 15% от нормы.

Ключевые слова: буллезная кератопатия, конфокальная микроскопия, роговица. ■

Точка зрения. Восток – Запад. 2020;3:73–76.

ABSTRACT

Confocal Microscopy In Diagnosis Of Bullous Keratopathy

L.R. Marvanova

Ufa Eye Research Institute, Ufa

Purpose. To propose the method of diagnosing BK of I-III stages using confocal microscopy.

Material and methods. There were analysed the results of confocal microscopy on Heidelberg Retina Tomograph with corneal module Rostock (HRT-III, Germany) in 75 patients (81 eyes) with BK of I-III stages at the age of 41-86. The control group consisted of 15 people (15 eyes) with intact healthy eyes. The patients were divided into 3 subgroups depending on BK stage.

Results. The method for diagnosing BK I-III stages using confocal microscopy is proposed. It allows to determine the stage of the disease depending of qualitative changes in the structural elements of the cornea (epithelium, nerve fibers, extracellular matrix) and reducing the density of endothelial cells: Stage I-a decrease of no more than 5-10%, stage II-10-15%, stage III-more than 15% declination.

Key words: bullous keratopathy, confocal microscopy, cornea. ■

Point of View. East – West. 2020;3:73–76.

Буллезная кератопатия (БК) – хроническое заболевание, дебют которого связан с дефицитом эндотелиальных клеток роговицы. В группу риска по развитию БК входят пациенты, имеющие в анамнезе травмы глаза, воспалительные заболевания переднего отрезка глазного яблока, перенесшие хирургические вмешательства, в частности, экстракцию катаракты. Все перечисленные выше факторы приводят к уменьшению количества эндотелиальных клеток и способствуют развитию данного патологического процесса в роговице [1-7].

Известно несколько классификаций БК, в частности, В.В. Волкова, М.М. Дронова (1976), Т.У. Горгиладзе (1992), которые представляют клинико-анатомическое состояние слоев роговицы, оцененное при помощи биомикроскопии. Современный неинвазивный метод исследования роговицы – конфокальная микроскопия (КМ) позволяет существенно дополнить классификацию БК и объективно оценить состояние роговицы при БК I-III стадии.

ЦЕЛЬ

Предложить метод диагностики I-III стадии буллезной кератопатии на основе конфокальной микроскопии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В группу исследования вошли 75 пациентов (81 глаз) с БК I-III стадии (классификация Волкова В.В., Дронова М.М., 1976) в возрасте 41-86 лет, которым выполнена КМ ро-

говицы. Вследствие грубых изменений структуры роговицы при IV и V стадиях БК, они были исключены из группы исследования. За норму принята картина КМ интактных здоровых глаз (15 человек аналогичной возрастной группы).

Пациенты разделены на 3 группы в зависимости от стадии БК: 1-я группа – 20 человек (22 глаза) с I стадией, 2 группа – 30 человек (32 глаза) со II стадией, 3 группа – 25 человек (27 глаз) с III стадией.

Конфокальная микроскопия роговицы проведена на аппарате Heidelberg Retina Tomograph с роговичным модулем Rostock (HRT-III, Германия). Размер поля обзора при КМ составил 400×400 мкм. Исследование пациентов проводили в положении сидя, при фиксации головы подносили объектив к исследуемому глазу на расстояние 2 мм от роговицы. Между роговицей и объективом располагалась иммерсионная жидкость «Видисик». Использовали автоматический и ручной режимы сканирования роговицы, функцию подсчета ПЭК с оценкой их плеоморфизма и полимегатизма. Исследовали роговицу в центральной зоне и парацентральных ее участках.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У пациентов 1-й группы с I стадией БК в поле зрения визуализировались в эпителии роговицы мелкие гиперрефлективные округлые включения в 10 (45,5%) глазах, разрастание стромальных нервных волокон, которые имели вид «четок», в 12 (54,5%) глазах. Появление легкого отека в $\frac{2}{3}$ задней стромы роговицы обусловило нарушение прозрачности экстрацеллюлярного матрикса, его уплотнение и появление единичных гиперрефлективных кератоцитов в 15 (68,2%) глазах. Повышение полимегатизма (увеличение объема клеток) и снижение плеоморфизма (уменьшение клеток гексагональной формы) клеток эндотелиального слоя по сравнению с возрастной нормой отмечалось в 16 (72,7%) глазах. Определялись единичные гипорефлективные дефекты эндотелия, плотность эндотелиальных клеток (ПЭК) была снижена на 5-10% и со-

ставляла в среднем 2321 ± 189 клеток/ мм^2 ($p < 0,05$).

Во 2-й группе у пациентов со II стадией БК в эпителии роговицы в 17 (53%) глазах наблюдали псевдокератинизацию, дополнительные гиперрефлективные отложения, усиление десквамации. В 21 (65,6%) глазу в поле зрения определялось до 5 гиперрефлективных клеток неправильной формы. В 20 (62,5%) глазах имело место появление клеток матового цвета, без дифференцировки ядра, в базальном слое их эпителии имелся умеренный полиморфизм, наблюдалась ступенчатость границ и неравномерная рефлективность.

Нарушение прозрачности и структуры боуеновой мембраны (в норме не видна), проявляющееся неравномерностью рефлекса и появлением нежных белесоватых полос разнообразной величины и формы, складок, уплотнений и очагов отсутствия клеток отмечалось в 24 (75,0%) глазах, а разрастание стромального и суббазального нервного сплетения – в 26 (81,3%) глазах.

В строме роговицы, на $\frac{2}{3}$ ее толщины, отмечали умеренный отек, гиперрефлективные «активированные» кератоциты с визуализированными отростками – в 20 (62,5%) глазах, неравномерность рефлективности экстрацеллюлярного матрикса, свидетельствующее о нарушении архитектоники, разрежении корнеальных пластин – в 24 (75,0%) глазах. В большинстве случаев хорошо определялись очерченные единичные стромальные депозиты в виде ярких телец диаметром 2-5 мкм, клетки Лангерганса.

Нарушение равномерности рефлекса, незначительная складчатость десцеметовой мембраны имелись в 26 (81,3%) глазах. В эндотелиальном слое гипорефлективные дефекты сливались в волнообразные изменения его конфигурации, отмечалось расширение межклеточных пространств, появление минимально выраженной локальной гиперрефлективности со ступенчатостью границ эндотелиальных клеток (КМ эквивалент «запотелости» эндотелия) – в 28 (87,5%) глазах. Плотность эндотелиальных клеток была снижена на 10-15% от нормы, составив в среднем 1995 ± 315 клеток/ мм^2 .

В 53% случаев зафиксирован выраженный полимегатизм и в 42% – плеоморфизм клеток.

В 3-й группе с III стадией БК в 23 (85,2%) глазах определялись ступенчатость границ клеток, гиперрефлективные отложения на поверхности эпителии в виде светлых зигзагообразных линий, очаги дезэпителизации. Эпителиальные буллы на КМ выглядели округлыми зонами с четкими границами. Мелкие округлые гиперрефлективные включения (диаметром 3-6 мкм) наблюдали во всех слоях эпителии роговицы, в некоторых случаях выявлялись гомогенные погибшие отслоенные клетки, которые становились непрозрачными вследствие увеличения продукции белка, отсутствия дифференцировки ядра. В базальном слое явления фиброза в 22 (81,5%) глазах были представлены гиперрефлективной рубцовой тканью. В ряде случаев визуализировалась складчатая и уплотненная боуенова мембрана, но в 21 (77,7%) глазу отмечали ее очаговое отсутствие.

При исследовании суббазальных и субэпителиальных нервных сплетений в 24 (88,8%) глазах обнаружили снижение их плотности (3 и менее нервных волокон в поле зрения при норме 5 и более) и повышение извитости и рефлективности. В 25 (92,5%) глазах наблюдали разрастание, увеличение разветвлений и перекрещивание нервных волокон и их неравномерное утолщение (четкообразование).

Во всех 27 (100%) глазах наблюдали выраженный диффузный меж- и интраволоконный отек всех слоев стромы роговицы и экстрацеллюлярного матрикса, обусловленный синтезом активированными кератоцитами факторов роста нервной ткани, вызывающих метаболическую активность нервных сплетений в ответ на хроническое воспаление.

Строма роговицы в передних слоях ($\frac{1}{3}$ от ее толщины) сохраняла уплотненную и ячеистую структуру, в задних слоях – разреженную. Отмечалось выраженное нарушение прозрачности стромы, появление «склеенных» кератоцитов в сочетании с отсутствием их дифференцировки. Коллагеновые фибриллы в строме имели нарушенную ори-

ентацию, определялась их разнонаправленность, в основном под углом 30 градусов (нормальное расположение – под углом 90 градусов). Во всех 27 (100%) глазах десцеметова мембрана имела складчатую фор-

му. На эндотелии имелись фибриноподобные отложения, наблюдались расширение межклеточного пространства, диффузные, облачко-видные помутнения, отмечалась гиперрефлексивность ядер клеток, то-

чечные клеточные включения. Подсчет клеток измененного эндотелия затруднителен.

Результаты проведенного исследования обобщены и представлены в *таблице*.

Таблица

Структурные изменения роговицы при буллезной кератопатии I-III стадии по данным конфокальной микроскопии

Признак Стадия	Изменения в роговице		I стадия	II стадия	III стадия
1	2		3	4	5
Эпителий	Отек		-	-/+	+
	Псевдокератинизация		-	-/+	+
	Гиперрефлексивные отложения		-	-/+	+
	Десквамация		-	-/+	+
	Мелкие округлые гиперрефлексивные включения		-/+	+	+
	«Матовые» клетки		-	-/+	+
Боуменова мембрана	Нарушение прозрачности, структуры		-	+	+
	Появление полос		-	-/+	+
	Складки		-	-/+	+
	Уплотнение		-	-/+	+
	Очаговое отсутствие		-	-/+	+
Нервные волокна	Неравномерный рефлекс	Субэпителиальное сплетения	-	-/+	+
		Суббазальное сплетение	-	+	+
		Стромальные нервы	-/+	+	+
	Разрастание, разветвления, перекрещивание		-/+	+	+
	Четкообразование		-/+	-/+	+
Строма	Уплотнение экстрацеллюлярного матрикса	передний	-	-	-/+
		средний	-/+	+	+
		задний	+	+	+
	Отек	легкий	+	-	-
		умеренный	-	+	-
		выраженный	-	-	+
	Гиперрефлексивность всех слоев		-	-/+	+
	Активированные кератоциты (слои)	передние	-	-/+	+
		средние	-/+	+	+
		задние	+	+	+
	Склеенные кератоциты		-	-	+
	Мелкие включения		-	-/+	+
	Разреженность стромы		-	-/+	+
	Нарушение структуры волокон		-	-/+	+
Складки стромы		-	-/+	+	
Десцеметова мембрана	Неравномерный рефлекс		-/+	+	+
	Складки		-	+	+

Признак Стадия	Изменения в роговице	I стадия	II стадия	III стадия
1	2	3	4	5
Эндотелий	Плотность клеток	Норма*/ниже на 5-10%	Ниже нормы на 10-15%	подсчет затруднителен
	Гипорефлективные дефекты	+	+	
	Стушеванность границ	-	+	
	Гиперрефлективные фибриноподобные отложения	-	-/+	+
	Мелкие гиперрефлективные включения	-/+	+	+
	Волнообразное изменение конфигурации	-	+	-/+
	Детально не визуализируются	-	-	+

По результатам исследования нами был предложен новый способ диагностики стадий БК (патент РФ № 2552295), основанный на данных конфокальной микроскопии и включающий исследование структуры роговицы (эпителия, нервных волокон, экстрацеллюлярного матрикса) с определением процентного уменьшения (по сравнению с нормой) плотности эндотелиальных клеток.

Таким образом, результаты исследования подтверждают принципиальную целесообразность использования КМ при БК. Разработанный метод диагностики БК дополняет ранее предложенные классификации, выявляя характерные стадийные изменения роговицы, изученные методом КМ. Данные конфокальной микроскопии могут использоваться в качестве критерия диагностики, для мониторинга и прогноза развития заболевания. Это будет способствовать обоснованному выбору оптимальной тактики лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен метод диагностики I–III стадий буллезной кератопатии

на основе конфокальной микроскопии, который позволяет определить стадию заболевания в зависимости от качественных изменений структурных элементов роговицы (эпителия, нервных волокон, экстрацеллюлярного матрикса) и уменьшения плотности эндотелиальных клеток. Для I стадии БК характерен отек стромы, единичные гиперрефлективные кератоциты (в 68,2% случаев) и уменьшение ПЭК на 5-10% (в среднем 2321 ± 189 клеток/мм²); при II стадии заболевания ПЭК снижена на 10-15% от нормы и для нее характерен выраженный полимегатизм и плеоморфизм клеток. Для III стадии БК в 100% случаев характерны выраженные изменения во всех слоях роговицы, а подсчет клеток измененного эндотелия затруднителен.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бикбов М.М., Яфаева Л.Р. Комбинированное лечение буллезной кератопатии. Вестник Оренбургского государственного университета. 2014; 2: 61-64.
2. Бикбов М.М., Бикбова Г.М. Эктазии роговицы (патогенез, патоморфология, клиника, диагностика, лечение). Офтальмология; 2011. 162 с.

3. Бикбов М.М., Марванова Л.Р. Новый метод формирования трансплантатов для эндотелиальной кератопластики. Медицинский вестник Башкортостана. 2018; 6(78):41-46.

4. Бикбов М.М., Марванова З.Р., Марванова Л.Р. Способ диагностики буллезной кератопатии. Патент РФ на изобретение № 2552295, 2014 г.

5. Малюгин Б.Э., Шилова Н.Ф., Анисимова Н.С. и др. Трансплантация эндотелия и десцеметовой мембраны. Вестник офтальмологии. 2019; 1:98-103.

6. Марванова Л.Р. Новый способ формирования трансплантата для задней автоматизированной в лечении пациентов с эпителиально-эндотелиальной дистрофией роговицы. Медицинский вестник Башкортостана. 2018; 5(77):27-33.

7. Марванова Л.Р. Эффективность комбинированного лечения эпителиально-эндотелиальной дистрофии роговицы методом кроссликинга роговицы и задней автоматизированной послойной кератопластики. Офтальмология. 2019; 16(1):102-107.

8. Труфанов С.В., Кобзова М.В. Оценка состояния роговицы у больных буллезной кератопатией до и после эндотелиальной кератопластики. Вестник офтальмологии. 2015; 1:12-17.