

УДК 671.713-004.1-085.849.19

МОРФОЛОГИЯ РОГОВОЙ ОБОЛОЧКИ ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА ГЛАЗ ЛАЗЕРОВ БЛИЖНЕГО И СРЕДНЕГО ИК-ДИАПАЗОНОВ

Э. В. Мальцев, проф., В. Я. Усов, канд. мед. наук

ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова АМН Украины»

В експерименті на кроликах вивчалися зміни рогівки після впливу лазерів ближнього та середнього інфрачервоного діапазонів. Використовували лазерний коагулятор ближнього ІК-діапазону (неодимовий лазер з довжиною хвилі 1,06 мкм) і середнього діапазону (гольмієвий лазер з довжиною хвилі 2,08 мкм). Ці технічні прилади є дослідними зразками і їх вплив на рогівку ще не відомий.

Проведені дослідження встановили наявність різниці в гістоморфологічній картині в залежності від виду лазерного опромінення.

Зміни рогівки після впливу ближнього ІК-діапазону характеризуються лише інфільтруванням її ендотелію меланіном, тоді як середній діапазон викликає зміни всієї товщини оболонки, що мають дозозалежний характер, однак впродовж трьох місяців закінчуються відновленням деформованих шарів рогівки.

Ключевые слова: роговица, морфологические изменения, ИК-лазер ближнего и среднего диапазонов.

Ключові слова: рогівки, морфологічні зміни, ІК-лазер ближнього та середнього діапазонів.

Возможность изменения кривизны роговицы с помощью теплового воздействия (термокератокоагуляция) с рефракционной целью известна давно [1, 2]. Очередной виток развития кераторефракционной хирургии связан с внедрением лазерных технологий, возможностью их дозированного воздействия на переднюю поверхность роговицы [5]. И хотя морфологические исследования в прошлом проводились неоднократно, появление новых устройств для такой хирургии требует гистологического изучения последствий их применения [3, 4, 6].

Цель работы — изучить гистоморфологические изменения роговой оболочки под воздействием лазеров ближнего и среднего ИК-диапазонов в эксперименте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Объектом для экспериментального изучения служили глаза кроликов породы шиншилла массой 2,2-2,8 кг. Все животные не имели нарушений прозрачности преломляющих сред глаза. Всего для эксперимента было использовано 26 кроликов (52 глаза).

Аппаратура. Для проведения исследований, наряду с традиционно применяемой аппаратурой, были использованы две лазерные установки, излучающие в ближнем и среднем ИК-диапазонах.

В лаборатории лазерных методов лечения ГУ ИГБ и ТТ им. В. П. Филатова совместно с инженерами лаборатории сканирующих устройств (г. Нежин) создан для клинических целей лазерный коагулятор ближнего ИК-диапазона (в качестве источника излучения применен неодимовый лазер с длиной волны 1,06 мкм) и разработан опытный образец гольмиевого лазера ($\lambda = 2,08$ мкм). Лазерная энергия

неодимового лазера доставлялась контактным способом на роговую оболочку глаз экспериментальных животных однократно длительностью импульса излучения 10^{-3} с и лазерной энергией до 250 мДж. В качестве лазера среднего ИК-диапазона использовалась специально разработанная отечественная установка гольмиевого лазера (Но: YAG лазер) с длиной волны $\lambda = 2,08$ мкм, лазерной энергией до 250 мДж и длительностью импульса излучения 200 мкс. Но: YAG лазер является импульсным твердотельным лазером. Оптическая накачка активного элемента Но: YAG лазера осуществлялась излучением, возбужденным импульсной лампой. Контроль мощности энергии во всех случаях проводился стандартным измерителем ИМО-2Н.

Офтальмологические обследования выполнялись перед операций, непосредственно после лазерного воздействия, через 1 месяц, 6 месяцев и 1 год. Очаги повреждения роговой оболочки лазерным излучением окрашивали путем закапывания в конъюнктивальный мешок исследуемого глаза 1% раствора флюоресцеина натрия. Для клинической оценки местных изменений применяли биомикроскопию и фотографирование на фотощелевой лампе.

Наблюдение за динамикой клинической картины подопытных животных осуществлялось с помощью биомикроскопии. Для этого использовали щелевую лампу ШЦЛ-56 и фотощелевую лампу Карл-Цейс-Йена.

Техника операции. Под местной анестезией раствором дикаина 1% на глаз (роговицу) кролика наносилось по 16 лазерных воздействий в виде точек с равным отстоянием друг от друга по концентрическим кругам диаметром 6,5 и 7 мм в два ряда по восьми меридианам. Операция заканчивалась

© Э. В. Мальцев, В. Я. Усов, 2009.

инстилляцией в конъюнктивальную полость капле гентамицина 0,4% и альбумида 30%.

Морфологические исследования. Морфологические исследования проводились на глазах кроликов после выведения их из эксперимента воздушной эмболией под тиопенталовым наркозом. Энуклеированные глазные яблоки животных фиксировали в 10% растворе формалина в течение двух дней. Разрез глаз производили через центр роговицы. После последующего обезвоживания в спиртах нарастающей крепости полученный материал заливали в целлоидин. Срезы толщиной 10 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и просматривали под световым микроскопом («Labov-4» (Karl Zeiss, Iena).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ. *Воздействие лазера ближнего ИК-диапазона.* Гистологическое строение роговицы животных, подвергшихся лазерному воздействию ближнего ИК-диапазона с энергией излучения до 250 мДж, за исключением ее эндотелиального слоя практически не отличается от нормального. Ее передний эпителий представлен обычным количеством (4-6 рядов) клеток, дифференцированных по слоям (рис. 1).

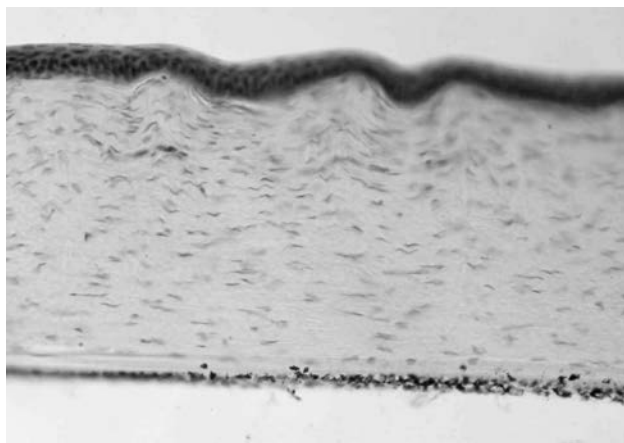


Рис. 1. Поперечный срез роговицы кролика после лазерного воздействия (неодим $\lambda = 1,06$ мкм). Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 60х.

В строме роговицы четко различаются кератоциты и отсутствует инфильтрация круглоклеточными элементами (лимфоциты, моноциты), так же, как и признаки васкуляризации и деструкции.

Десцеметова мембрана сохранена неизменной. Что же касается расположенного на ней слоя эндотелия, то клетки последнего в большей или меньшей степени заполнены гранулами меланина, что отчетливо заметно на том же рисунке даже на поперечных срезах роговицы. Еще более отчетливо инфильтрация эндотелиальных клеток меланином выражена на косом срезе роговицы (рис. 2).

Наконец, наиболее отчетливо это явление фагоцитирования эндотелиальными клетками роговицы пигментных гранул заметно на эндотелии, сфотографированном в плоскостном изображении (рис. 3). Обращает на себя внимание и неодинако-

вое количество гранул меланина в различных эндотелиальных клетках, вплоть до полного их отсутствия.



Рис. 2. Роговица кролика, срезанная косо, после лазерного воздействия (неодим $\lambda = 1,06$ мкм). Эндотелий (стрелка) содержит гранулы меланина. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 60х.



Рис. 3. Эндотелий роговицы в плоскостном изображении (цитоплазма клеток заполнена меланином). После лазерного воздействия (неодим $\lambda = 1,06$ мкм). Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 140х.

Источником происхождения гранул меланина в эндотелии роговицы, по-видимому, является передний пограничный слой радужки, а точнее его меланоциты. Под воздействием лазерного излучения из указанных клеток, часть из которых могла некротизироваться, гранулы меланина попали во влагу передней камеры, откуда и были захвачены эндотелиоцитами роговицы. В связи с этим интересно проанализировать и состояние радужки.

Структура радужной оболочки животных была обычной, включая отходящие от ее задней поверхности в прикорневой зоне цилиарные отростки (что является видовой особенностью кролика). В области переднего пограничного слоя стромы наряду с фибробластами определяется большое количество меланоцитов. Но, несмотря на это, степень его пигментации заметно уступает пигментации задней поверхности радужки, покрытой пигментным эпителием (рис. 4). Как обычно, радужка интенсивно васкуляризирована, особенно в собственно строме.

Каких-либо признаков усиленной инфильтрации радужки лимфоцитарными и макрофагальными клетками не отмечается, как и выраженных дефектов на ее передней поверхности.

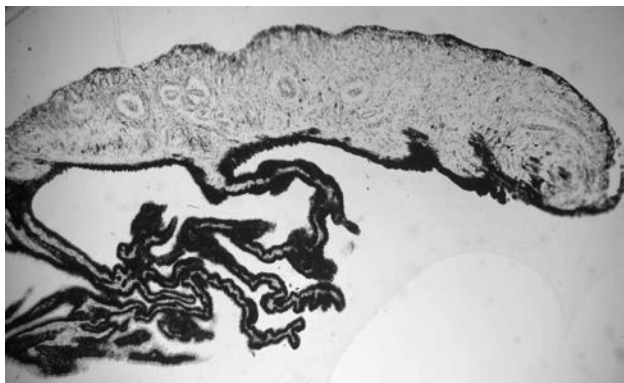


Рис. 4. Радужная оболочка глаза кролика с гистологически сохраненной структурой после лазерного воздействия (неодим $\lambda = 1,06$ мкм). Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 40х.

Воздействие лазера среднего ИК-диапазона.
Совершенно другая гистологическая картина открывается после воздействия на глаз гольмиевым лазером. После однократного воздействия на глаза кроликов лазерного излучения от 12 мДж до 250 мДж четко прослеживается эффект «доза — результат». Если при воздействии лазера с энергией излучения 12 мДж роговица структурно еще не изменена, то уже при режиме энергии излучения 24 мДж появляются очаги гомогенизации собственного вещества с уменьшением в них количества кератоцитов (рис. 5).



Рис. 5. Роговица кролика после воздействия на нее лазерным излучением: $\lambda = 2,08$ мкм, $\tau = 0,2$ с, $E = 24$ мДж, 1 импульс (зона лазерного воздействия отмечена стрелкой). Увеличение 60х. Гематоксилин-эозин.

Однако передний эпителий имеет обычное строение. Эта же картина присуща срезам роговицы, полученным от объектов, подвергшихся воздействию лазера с энергией излучения 55 мДж и 84 мДж.

После энергии лазерного воздействия 120 мДж участки гомогенизации собственного вещества, в которых отсутствуют кератоциты или имеются их обломки, располагаются под малоизмененным слоем переднего эпителия. После воздействия лазера с энергией излучения 250 мДж этот эпителий был уже более деформирован именно над клиновидным участком гомогенизированного собственного вещества.

Для изучения возможности достижения еще более выраженного воздействия на роговицу был апробирован режим работы гольмиевого лазера 250 мДж, 10 импульсов.

В этом случае дефект роговицы оказался действительно максимальным. При этом периферия очага поражения по сравнению с его центром изменена на меньшую глубину собственного вещества, хотя клетки переднего эпителия здесь также деформированы. Однако, по мере приближения к центру очага деструкции ткани — увеличивается его глубина, так что вершина конуса деструкции почти достигает десцеметовой мембраны; на определенном пространстве ткань вообще отсутствует (испарилась), а края прилежащей ткани оплавлены и некротизированы. Пласт переднего эпителия неравномерно утолщен, причем эта картина характерна для периферии очага поражения, а в центре его эпителий отсутствует так же, как и собственное вещество, что указывает на их одновременное испарение (рис. 6).



Рис. 6. Роговица кролика после воздействия на нее лазерным излучением: $\lambda = 2,08$ мкм, $\tau = 0,2$ с $E = 250$ мДж, 10 импульсов (зона лазерного воздействия отмечена стрелкой). Увеличение 60х. Гематоксилин-эозин.

При гистологическом исследовании роговицы кроликов через один месяц после воздействия лазера с энергией излучения 125 и 250 мДж прослеживается эпителизация дефекта с заполнением выемки в собственном веществе, что является следствием посттравматической регенерации в исследуемом объекте. Спустя три месяца после лазерного воздействия на роговицу энергией 250 мДж, среди имеющей обычное гистологическое строение стромы выявляется участок с плотным

расположением кератоцитов, покрытый деформированным и утолщенным эпителием. Очевидно, что к этому времени регенераторные явления в поврежденной роговице уже практически завершаются.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные результаты гистологического исследования глаз кроликов, подвергшихся облучению лазерами ближнего и среднего ИК-диапазонов, свидетельствуют о наличии глубоких различий в последствиях от такого воздействия. Если изменения в роговице животных, инициированные ближним ИК-диапазоном, сводятся только к инфильтрации ее эндотелия меланином, то средний диапазон вызывает куда более глубокие структурные изменения. Последние касаются не только практически всей толщи роговицы, но и носят выраженный дозозависимый эффект (чем выше доза, тем сильнее изменения), однако завершаются в течение трех месяцев восстановлением деформированных слоев роговицы оболочки.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Ивашина А. И., Плыгунова Н. Л., Михальченко Н. Н., Тингаев В. В.** Коррекция гиперметропии методом инфракрасной термокератоластики у пациентов старше 40 лет // Офтальмохирургия. — 1995. — № 1. — С. 10-14.
2. **Пахомова Т. Л., Акопян В. С., Шоттер Л. Л., Тамкиви Р. П.** Эксимерные лазеры в офтальмологии // Вестник офтальмол. — 1990. — № 2. — С. 69-72.
3. **Федоров С. Н., Ивашина А. И., Антонова Е. Г. и др.** Тканевые повреждения при термокератокоагуляции // Офтальмохирургия. — 1992. — № 3. — С. 3-8.
4. **Чечин П. П.** Воздействие излучения инфракрасного лазера на структуры глаза и перспективы его использования // Офтальмол. журн. — 1997. — № 1. — С. 66-70.
5. **Brikmann R., Koop N., Geerlins G. et al.** Diode laser thermokeratoplasty: application strategy and dosimetry // J. Refract. Surg. — 1998. — Vol. 24, № 9. — P. 1195-1207.
6. **Wirbelauer C., Koop N., Tuengler A. et al.** Corneal endothelial cell damage after experimental diode laser thermal keratoplasty // J. Refract. Surg. — 2000. — Vol. 16, № 3. — P. 323-329.

Поступила 1.06. 2009.

Рецензент канд. мед. наук А. В. Артемов

CORNEA MORPHOLOGY AFTER EXPERIMENTAL INFLUENCE OF IR-LASER RADIATION

Maltsev E. V., Usov V. Ya.

Odessa, Ukraine

The phenomenon of melanin infiltration cornea endothelia cells is set. Under act of neodymium $\lambda = 1,06 \mu\text{m}$ laser radiation from the melanocytes front boundary layer of iris of melanin granule get in moisture of anterior chamber, from where and is taken by the endotheliocytes of cornea. Holmium laser radiation $\lambda = 2,08 \mu\text{m}$, intensively absorbed by the cornea, induces coagulation depending on the energy exposure without injuring other deeper structures of the eye.

