



การเปลี่ยนแปลง ของการถ่ายภาพผิวดวงตา (revolution in ocular surface imaging)

วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล

บทนำ

ผิวดวงตา (ocular surface) ประกอบด้วย เยื่อตา (conjunctiva) กระจกตา (cornea) เปลือกตา (eyelid) ต่อมน้ำตา (lacrimal glands) และองค์ประกอบอื่น ๆ เช่น ต่อมไขมันที่เปลือกตา (meibomian glands) ความผิดปกติของผิวดวงตานอกจากจะทำให้ผู้ป่วยมีการมองเห็นภาพที่ไม่ดีแล้วยังทำให้เกิดอาการระคายเคืองตา เจ็บตาและแพ้แสงได้ โรคของผิวดวงตาที่พบได้บ่อย อาทิ โรคตาแห้ง (dry eye disease) โรคต่อมไขมันที่เปลือกตาอุดตัน (meibomian gland dysfunction) โรคกระจกตาอักเสบติดเชื้อ (infectious keratitis) เป็นต้น

การถ่ายภาพของผิวดวงตาในปัจจุบันมีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็วและมีส่วนช่วยทำให้ทราบถึงพยาธิสภาพของโรค ช่วยในการวินิจฉัย วางแผนการรักษา ตลอดจนการตรวจติดตามภายหลังการรักษาโรคได้เป็นอย่างมาก ในบทนี้จะกล่าวถึงการพัฒนาและการนำไปใช้ของเครื่องมือที่สำคัญ 2 เครื่อง คือ anterior segment-optical coherence tomogram และ in vivo confocal microscopy

Anterior segment-optical coherence tomogram (AS-OCT)

เครื่อง optical coherence tomogram หรือ oct ใช้ถ่ายภาพตัดขวางของลูกตาโดยไม่มีสัมผัสกับดวงตา สำหรับเครื่อง anterior segment-optical coherence tomogram (AS-OCT)

เป็นเครื่องที่ใช้ในการถ่ายภาพตัดขวางของลูกตาส่วนหน้า ซึ่งมีการพัฒนาตามหลังจากที่มีเครื่อง OCT ในการถ่ายภาพจอประสาทตา โดยมีการปรับคลื่นแสงให้มีความยาวคลื่นมากขึ้น ทำให้มีคุณสมบัติในการทะลุทะลวงของแสง (penetration) ดีขึ้น สามารถใช้ในการถ่ายภาพตัดขวางของ กระจกตา ตาขาว (sclera) มุมม่านตา (anterior chamber angle) ม่านตา (iris) และแก้วตา (lens) ได้

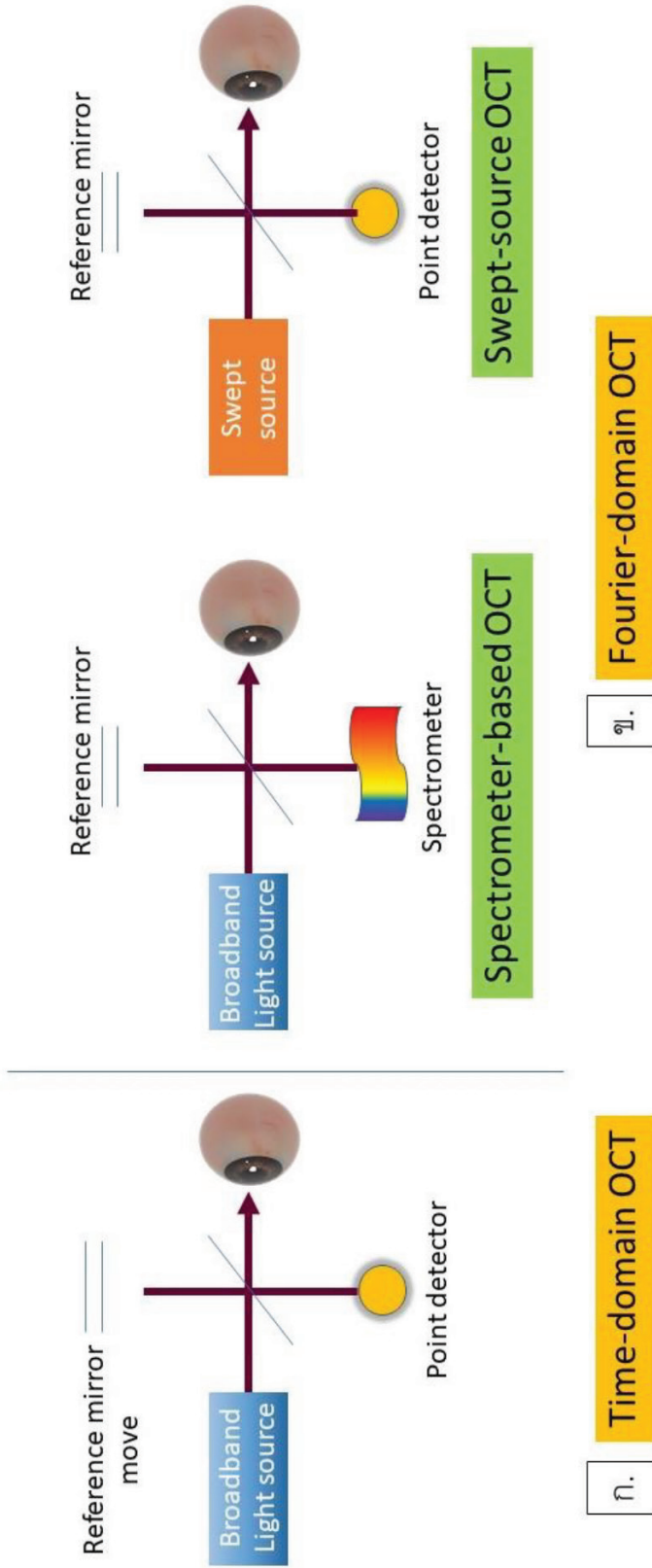
ประวัติความเป็นมาและชนิดของเครื่อง AS-OCT

เครื่อง OCT ถ่ายภาพลูกตาได้โดยอาศัยหลักการสะท้อนกลับของคลื่นแสงจากเนื้อเยื่อที่ต้องการตรวจ โดยเครื่องทำการปล่อยคลื่นแสงชนิด low coherence ผ่านอุปกรณ์แยกทิศทางของคลื่นแสง (beam splitter) ซึ่งทำการแบ่งคลื่นแสงเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนอ้างอิง (reference arm) ส่งผ่านไปไปยังกระจกอ้างอิง (reference mirror) ซึ่งเป็นตัวรับและสะท้อนคลื่นแสงและส่วนทดสอบ (sample arm) ซึ่งไปตกกระทบและสะท้อนจากเนื้อเยื่อของดวงตาส่วนต่าง ๆ โดยอาศัยหลักการสะท้อนกลับของแสงจะมีมุม ความเข้มแสงและทิศทางการสะท้อนต่างกันไปในเนื้อเยื่อซึ่งมี ดรรชนีหักเห (refractive index) ต่างกัน แสงที่สะท้อนจากส่วนอ้างอิงและส่วนทดสอบจะรวมกัน อีกครั้งที่อุปกรณ์แยกทิศทางของคลื่นแสงซึ่งจะเกิดการสอดแทรกของคลื่นแสง (interferences) ที่ อยู่ในระยะ coherence length ของแหล่งกำเนิดแสง⁽¹⁾

เครื่อง AS-OCT เริ่มมีการนำมาใช้ในการถ่ายภาพดวงตาครั้งแรกในปี พ.ศ. 2537⁽¹⁾ หลังจากนั้นการพัฒนาเครื่อง OCT ในการถ่ายภาพลูกตาส่วนใหญ่มักจะเป็นการพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในการถ่ายภาพจอประสาทตา ในขณะที่การพัฒนาเครื่อง OCT เพื่อใช้ในการถ่ายภาพลูกตาส่วนหน้าเป็นไปอย่างช้า ๆ จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2544 จึงเริ่มมีเครื่อง AS-OCT ออกวางจำหน่ายเป็นครั้งแรก และต่อมาเครื่อง AS-OCT ได้รับอนุญาตให้ใช้ในประเทศสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration) ในปี พ.ศ. 2548 เครื่อง AS-OCT ในช่วงต่อมามีการพัฒนาเพื่อให้ภาพถ่ายที่ได้มีความคมชัดและความกว้างของภาพมากขึ้น โดยมีทั้งชนิดที่เป็นอุปกรณ์เสริมเพื่อนำมาประกอบกับเครื่อง OCT สำหรับถ่ายภาพจอประสาทตา และเครื่องที่ผลิตมาเพื่อใช้ถ่ายภาพลูกตาส่วนหน้าโดยเฉพาะ

ในปัจจุบันเครื่อง AS-OCT สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดหลักตามการทำงานของกระจกอ้างอิง คือ time-domain AS-OCT และ Fourier-domain AS-OCT (รูปที่ 1) โดยเครื่องทั้ง 2 ชนิด มีหลักการในการสะท้อนของแสงส่วนอ้างอิงต่างกัน กล่าวคือ time-domain OCT ใช้กระจกซึ่งเคลื่อนที่สะท้อนคลื่นแสงส่วนอ้างอิง ในขณะที่ Fourier-domain OCT กระจกสะท้อนคลื่นแสงอ้างอิงไม่มีการเคลื่อนที่ แหล่งกำเนิดแสงของเครื่อง time-domain OCT ใช้คลื่นแสงชนิด broadband และใช้ตัวรับแสงแบบ point detector เครื่อง Fourier-domain OCT ยังสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ spectral-domain OCT และ swept-source OCT เครื่อง 2 ชนิดนี้ใช้

แหล่งกำเนิดแสงและตัวรับแสงแตกต่างกัน โดย spectral-domain OCT ใช้แหล่งกำเนิดแสงชนิด broadband และตัวรับแสงแบบ spectrometer ซึ่งรับแสงในทุกความยาวคลื่นพร้อมกัน ในขณะที่ swept-source OCT ใช้แหล่งกำเนิดแสงแบบ swept source และใช้ตัวรับแสงแบบ point detector เครื่อง AS-OCT ที่มีวางจำหน่ายในปัจจุบันแสดงในตารางที่ 1



รูปที่ 1. เครื่อง anterior segment-optical coherence tomogram (AS-OCT) ก. Time-domain OCT ข. Fourier-domain OCT (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาคิตพิสุกุล)

ตารางที่ 1. เครื่องและคุณสมบัติของเครื่อง anterior segment optical coherence tomography ในปัจจุบัน

ชื่อการค้า	แหล่งกำเนิดแสง	ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)	ความละเอียดตามแนวตั้ง (axial resolution, ไมโครเมตร)	ความละเอียดตามแนวขวาง (transverse resolution, ไมโครเมตร)	ความเร็วในการถ่ายภาพ (ภาพต่อวินาที)	ความลึกของภาพ (มิลลิเมตร)	ความกว้างของภาพ (มิลลิเมตร)
Visante	Superluminescent diodes	1310	18	60	2,000	6	16
Cirrus		840	5	15	27,000	2	6
Spectralis		820	7	20	40,000	2	6
Optovue		840	5	15	26,000	2.3	13
Nidek RS3000		880	7	15	53,000	2	8
CASIA SS-1000	Swept-source laser	1310	10	30	30,000	6	16
CASIA SS-2000			10	30	50,000	13	16
Anterior		1300	<10	<45	50,000	14±0.5	16.5

การนำไปใช้ทางคลินิก

เครื่อง AS-OCT สามารถถ่ายภาพตัดขวางของกระจกตาได้อย่างละเอียด มีความคล้ายคลึงกับภาพซึ่งได้จากการส่องตรวจทางพยาธิวิทยาโดยไม่ต้องทำการตัดเนื้อเยื่อของกระจกตา มาส่องตรวจ การแปลผลของภาพถ่ายกระจกตาจากเครื่อง AS-OCT ได้อย่างถูกต้องจำเป็นที่จะต้องเข้าใจถึงลักษณะของกระจกตาปกติในชั้นต่าง ๆ

กระจกตาปกติในแนวตัดขวาง ประกอบด้วย

ก. ชั้นผิวกระจกตา (corneal epithelium) เซลล์ชั้นผิวกระจกตาเรียงตัวอยู่หลังต่อชั้นน้ำตา มีความหนาประมาณ 50 ไมครอน การถ่ายภาพ AS-OCT ในกระจกตาปกติ ชั้นผิวกระจกตาแสดงภาพซึ่งมีการสะท้อนของแสงน้อยเห็นเป็นชั้นสีดำ (hyporeflexive) บาง ๆ อยู่หน้าต่อชั้นโครงของกระจกตา (corneal stroma) ในขณะที่ชั้นผิวบริเวณขอบกระจกตา (limbus) และเยื่อตาตรวจพบมีแสงสะท้อนเล็กน้อย (mild hyperreflexive)

ข. ชั้นบาวแมน (Bowman's layer) ชั้นบาวแมนอยู่ถัดจากชั้นผิวกระจกตาเข้ามาด้านในลูกตา โดยมีความหนาประมาณ 12 ไมครอน ไม่มีเซลล์เป็นส่วนประกอบ ชั้นบาวแมนแยกได้ยากจากชั้นโครงของกระจกตา จากการถ่ายด้วยเครื่อง AS-OCT เนื่องจากชั้นบาวแมนประกอบด้วยคอลลาเจนชนิดที่ 1 และ 3 (collagens type I and III) และสารโปรทีโอไกลแคน (proteoglycans) คล้ายกับเนื้อเยื่อของชั้นโครงของกระจกตา การตรวจด้วยเครื่อง AS-OCT พบว่าชั้นบาวแมนมีลักษณะการสะท้อนของแสงเล็กน้อย (mild hyperreflexive) โดยบริเวณรอยต่อระหว่างชั้นบาวแมน และชั้นผิวกระจกตามีลักษณะเรียบ ไม่มีก้อนหรือการสะท้อนแสงที่ผิดปกติ

ค. ชั้นโครงของกระจกตา (corneal stroma) ประกอบด้วย เส้นใย (corneal lamellar) ซึ่งเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ เซลล์กระจกตา (keratocytes) และสารโปรทีโอไกลแคน ชั้นโครงของกระจกตาเป็นชั้นที่มีความหนามากที่สุด คือ ประมาณ 500 ไมครอนบริเวณกระจกตาส่อกกลาง และประมาณ 800-1,000 ไมครอนบริเวณส่วนริมของกระจกตา ภาพถ่ายจาก AS-OCT จะเห็นลักษณะของชั้นโครงของกระจกตามีการสะท้อนกลับของแสงเล็กน้อยและสม่ำเสมอ

ง. ชั้นเดสซิเมท (Descemet's membrane) เป็นเยื่อฐาน (basement membrane) ของเซลล์กระจกตาชั้นใน (corneal endothelium) มีความหนาประมาณ 3 ไมครอนเมื่อแรกเกิด และประมาณ 8-10 ไมครอนในวัยผู้ใหญ่ ภาพถ่ายจากเครื่อง AS-OCT เห็นชั้นเดสซิเมทเป็นชั้นบาง ๆ แนบกับชั้นโครงของกระจกตาทางด้านหลัง มีลักษณะการสะท้อนของแสง (hyperreflexive) มากกว่าชั้นโครงของกระจกตา

จ. ชั้นเยื่อบุโพรง (corneal endothelial layer) ประกอบด้วยเซลล์กระจกตาชั้นในซึ่งมีความหนาประมาณ 5 ไมครอน อยู่ด้านหลังต่อชั้นเดสซิเมท ภาพถ่ายจากเครื่อง AS-OCT ในกระจกตาปกติไม่สามารถแยกชั้นของเยื่อบุโพรงออกจากชั้นของเดสซิเมทได้

ในปัจจุบันเครื่อง AS-OCT สามารถนำมาใช้ในการวินิจฉัย และวางแผนการรักษาโรคของกระจกตาและผิวดวงตาได้อย่างหลากหลาย ดังนี้

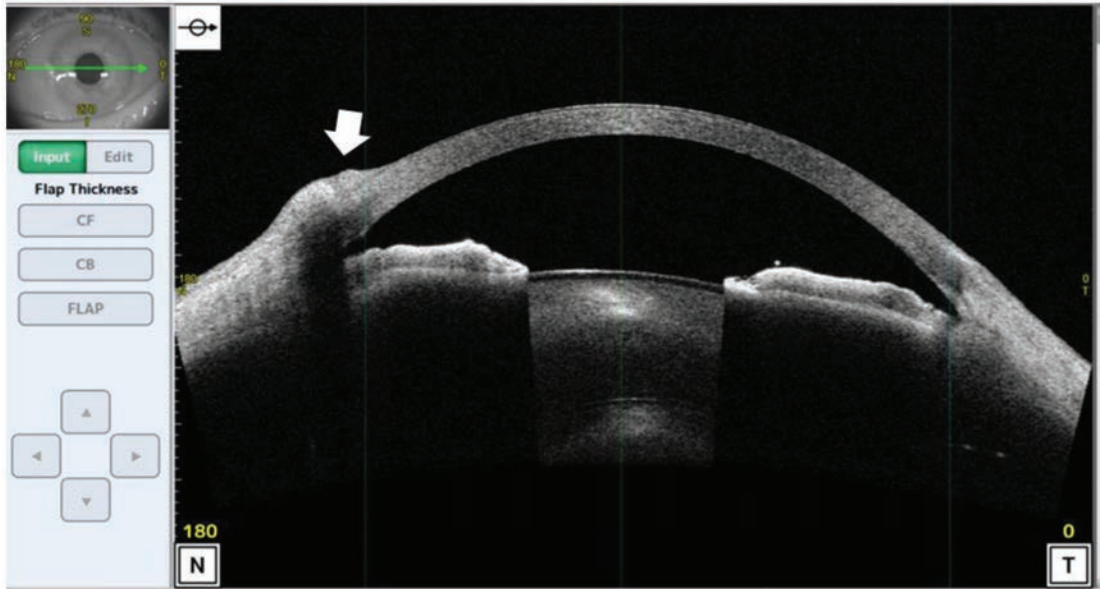
1. การวินิจฉัยโรคของกระจกตาและผิวดวงตา

เครื่อง AS-OCT สามารถใช้ในการวินิจฉัยโรคของกระจกตา และผิวดวงตาได้หลากหลายชนิด ด้วยคุณสมบัติของเครื่องซึ่งสามารถถ่ายภาพตัดขวางของเนื้อเยื่อได้อย่างละเอียดและแม่นยำสูง ทำให้การตรวจด้วยเครื่อง AS-OCT ให้ข้อมูลที่คล้ายคลึงกับการส่องตรวจทางพยาธิวิทยา และสามารถวัดความหนาบางของกระจกตา ชั้นน้ำตา ขนาดของก้อนเนื้องอก และใช้ประเมินขอบเขตของก้อนเนื้องอกได้อย่างแม่นยำ โรคของกระจกตา และผิวดวงตาที่สามารถตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่อง AS-OCT ประกอบด้วย

1.1 ก้อนหรือเนื้อเยื่อผิดปกติของผิวดวงตา (ocular surface neoplasm)

ก้อนเนื้อที่ผิวดวงตาพบได้หลากหลายชนิด การตรวจทางคลินิกเพื่อบอกชนิดของก้อนมีความสำคัญในการวางแผนการรักษา การผ่าตัด ตลอดจนการตรวจติดตามผู้ป่วย ในปัจจุบันการตรวจด้วยเครื่อง AS-OCT เข้ามามีส่วนช่วยในการบอกกลุ่มของรอยโรคเบื้องต้นได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการใช้วางแผนการรักษาและการตรวจติดตามผู้ป่วยต่อไป กลุ่มโรคต่าง ๆ ที่มีการนำ AS-OCT มาช่วยในการวินิจฉัยและวางแผนการรักษา มีดังนี้

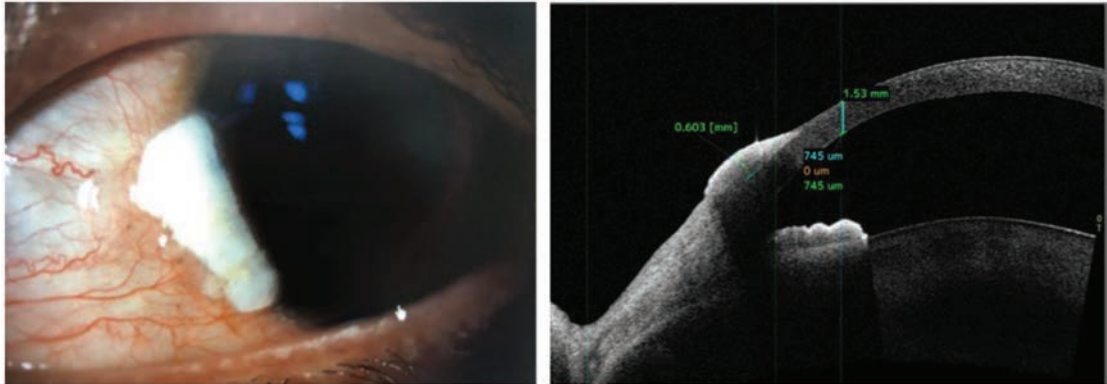
ต้อเนื้อ (pterygium) การถ่ายภาพด้วยเครื่อง AS-OCT สามารถใช้แยกต้อเนื้อออกจากต้อเนื้อเทียม (pseudopterygium) ได้ โดยเมื่อถ่ายภาพด้วยเครื่อง AS-OCT ในต้อเนื้อจะพบเนื้อเยื่อใต้เซลล์ชั้นผิว (subepithelial tissue) ซึ่งมีการสะท้อนของคลื่นแสงมาก (hyperreflective) โดยไม่มีการยึดติดกับชั้นบาวแมนหรือชั้นโครงของกระจกตา ในขณะที่ต้อเนื้อเทียมจะมีการยึดติดดังกล่าว⁽²⁾ ชั้นผิวของต้อเนื้อตรวจพบมีการสะท้อนแสงเพิ่มมากขึ้นเล็กน้อยได้ (mild hyperreflective)⁽²⁾ (รูปที่ 2)



รูปที่ 2. รูป anterior segment-optical coherence tomography ของต้อเนื้อ
(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

เนื้องอกผิดปกติของเซลล์ชั้นผิวดวงตา (ocular surface squamous neoplasia) สามารถจำแนกได้เป็น conjunctival หรือ corneal intraepithelial neoplasia และ squamous cell carcinoma มักพบบริเวณขอบกระจกตา (limbus) เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่มีการแบ่งตัวของเซลล์ชั้นผิวมาก ลักษณะของก้อนที่ผิวดวงตาพบได้ 3 รูปแบบ คือ papillary, gelatinous และ leukoplakic อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยบางรายอาจมาด้วยอาการทางคลินิกที่แตกต่างกันออกไป ทำให้การแยกโรคจากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงแคบเพียงอย่างเดียวทำได้ยาก เนื่องจากมีการดำเนินโรคและอาการแสดงคล้ายคลึงกับเนื้องอกในกลุ่ม ocular surface squamous neoplasia มาก เช่น pseudoepitheliomatous hyperplasia⁽³⁾ การตรวจด้วย AS-OCT สามารถช่วยในการวินิจฉัย และวางแผนการรักษาได้อย่างถูกต้อง โดยในผู้ป่วย ocular surface squamous neoplasia สามารถตรวจพบลักษณะของการสะท้อนแสงและการหนาตัวของเนื้อเยื่อบริเวณที่เป็นโรค (hyperreflective and thickened epithelium) ซึ่งพบมีการเปลี่ยนแปลงจากเนื้อเยื่อข้างเคียงได้ในทันที (abrupt transition)^(2,4-6) (รูปที่ 3) ในขณะที่ก้อนเนื้อที่ผิวดวงตาในกลุ่มอื่นจะมีลักษณะต่างออกไปขึ้นกับตำแหน่งที่เกิดความผิดปกติ กล่าวคือรอยโรคที่เกิดจากความผิดปกติได้ต่อเซลล์ชั้นผิวกระจกตา (subepithelial lesion) เช่น ต้อเนื้อ ไฟ (conjunctival nevus) มะเร็งเม็ดสีของเยื่อตา (conjunctival melanoma) การตรวจด้วย AS-OCT จะเห็นลักษณะของเซลล์ชั้นผิวปกติ และพบความผิดปกติได้ต่อชั้นผิวลงไป สำหรับรอยโรคที่เกิดจากความผิดปกติของเซลล์ชั้นผิว แต่ไม่ใช่โรคในกลุ่ม ocular surface squamous neoplasia การตรวจด้วย AS-OCT จะพบลักษณะของเซลล์ชั้นผิวมีการหนา

ตัว และมีการสะท้อนของแสงเพิ่มขึ้นได้ อย่างไรก็ตามจะไม่พบมีการเปลี่ยนแปลงแบบทันที (no abrupt transition) เมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อข้างเคียงเหมือนเช่นที่พบในกลุ่มโรค ocular surface squamous neoplasia⁽³⁾



รูปที่ 3. Ocular surface squamous neoplasia รูปซ้ายแสดงลักษณะก้อนบริเวณ limbus รูปขวาแสดงลักษณะก้อนมีการสะท้อนแสง และการหนาตัวของชั้นผิวกระจกตาพร้อมกับมีการเปลี่ยนแปลงแบบทันทีจากภาพถ่าย anterior segment-optical coherence tomogram (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิฐกุล)

มะเร็งต่อมน้ำเหลืองของเยื่อตา (conjunctival lymphoma) มักตรวจพบเป็นก้อนสีส้ม อยู่ใต้ต่อเยื่อตา (salmon patch lesion) การตรวจด้วย AS-OCT พบก้อนซึ่งมีลักษณะการสะท้อนของแสงน้อย (hyporeflective) บริเวณใต้ต่อเยื่อตา โดยก้อนใต้เยื่อตามีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous) ล้อมรอบด้วยเนื้อเยื่อที่มีการสะท้อนของแสงมาก และมีเงาบังเนื้อเยื่อบริเวณใต้ต่อรอยโรค (shadowing) ในขณะที่ชั้นผิวของเยื่อตามีลักษณะปกติ⁽²⁾

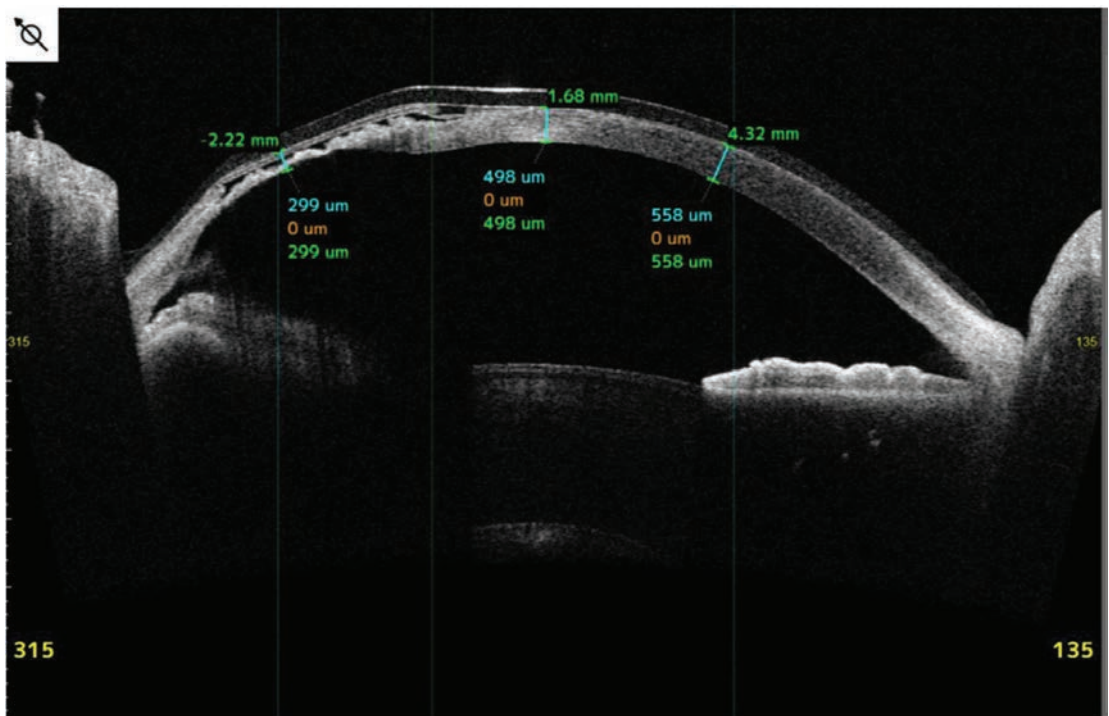
Salzmann's nodular degeneration ตรวจด้วย AS-OCT พบชั้นผิวของกระจกตาบางลงกว่าปกติ แต่มีการสะท้อนของแสงน้อยเหมือนในกระจกตาปกติ ใต้ต่อชั้นผิวของกระจกตาตรวจพบลักษณะก้อนที่มีการสะท้อนของแสงมาก (dense subepithelial hyperreflective lesion) อยู่เหนือต่อชั้นบาวแมน⁽²⁾

ก้อนของเม็ดสีที่เยื่อตา (pigmented conjunctival lesion) การถ่ายภาพด้วย AS-OCT นำมาใช้แยกความผิดปกติของก้อนเม็ดสีที่เยื่อตาว่าเป็นกลุ่มเนื้อปกติหรือมะเร็งได้ไม่ผิดนัก โดยใน primary acquired melanosis และไฟจะตรวจพบลักษณะการสะท้อนของแสงมากที่ชั้น basal epithelium โดยมีความหนาของชั้นผิวของเยื่อตาปกติ ไม่พบความผิดปกติใต้ต่อชั้นผิวของเยื่อตาใน primary acquired melanosis ในขณะที่ไฟอาจพบก้อนใต้ต่อเยื่อตา และมีเงาบังเนื้อเยื่อข้างใต้ได้เล็กน้อย และพบร่วมกับถุงน้ำ (cyst) ได้ สำหรับมะเร็งเม็ดสีของเยื่อตา (conjunctival

melanoma) ตรวจพบลักษณะการสะท้อนของแสงมากที่ชั้น basal epithelium โดยมีความหนาของชั้นผิวของเยื่อตาปกติหรือหนาขึ้นได้ ร่วมกับการพบก้อนที่มีการสะท้อนของแสงมากบริเวณใต้ต่อชั้นผิวของเยื่อตา โดยก้อนมีเงาบบังเนื้อเยื่อข้างใต้มาก⁽²⁾

1.2 โรคกระจกตาโค้ง (keratoconus) และโรคซึ่งมีกระจกตาบางอื่น ๆ (the other corneal thinning)

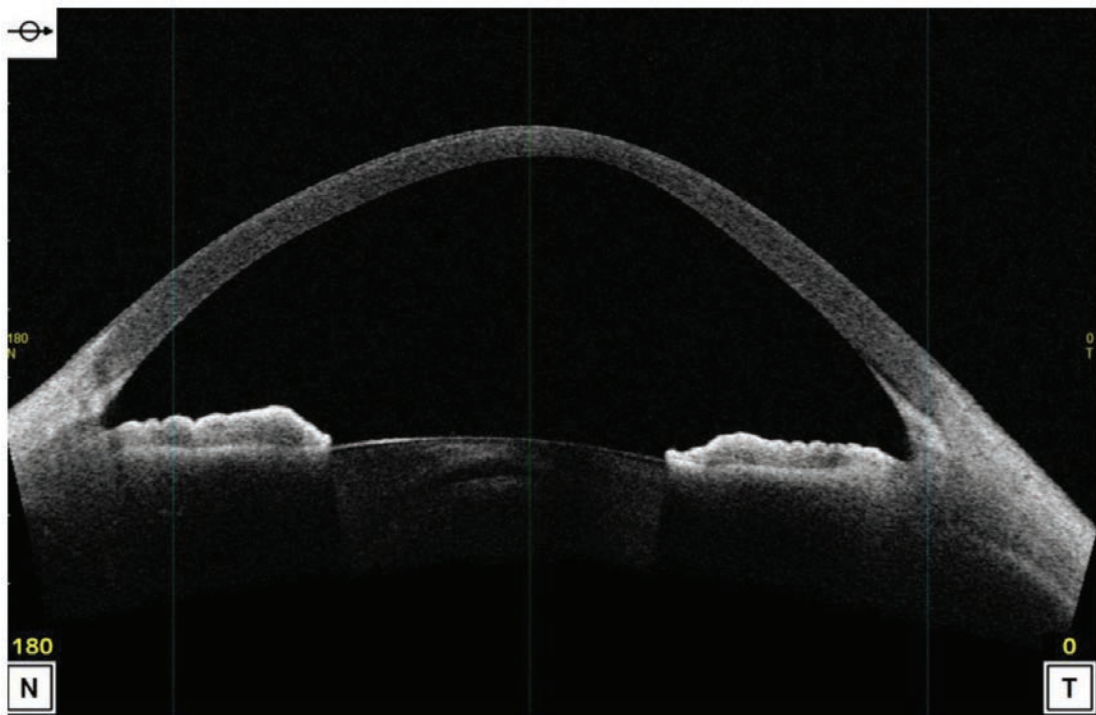
การประเมินความหนาของกระจกตานำมาใช้ในการประกอบการตรวจติดตามโรค เช่น โรคกระจกตาโค้ง โรคแผลบริเวณกระจกตาส่วนริม (peripheral ulcerative keratitis) (รูปที่ 4) โรค Terrien marginal degeneration ซึ่งในผู้ป่วยบางรายการตรวจติดตามด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงแคบ (slit lamp biomicroscopy) ทำได้ยาก เนื่องจากกระจกตาขุ่น หรือมีการเปลี่ยนแปลงของความหนากระจกตาเพียงเล็กน้อย การตรวจประเมินความหนาของกระจกตาด้วยเครื่อง AS-OCT มีความแม่นยำสูง และยังสามารถถ่ายภาพผ่านเนื้อเยื่อที่มีความขุ่นได้⁽⁷⁾ จึงสามารถนำมาใช้ในการตรวจติดตามผู้ป่วยได้เป็นอย่างดี



รูปที่ 4. รูป anterior segment-optical coherence tomogram แสดงกระจกตาส่วนริมมีลักษณะผิวกระจกตาไม่เรียบร่วมกับมีการบางตัวลง มีความหนา 299 ไมครอนในผู้ป่วย peripheral ulcerative keratitis

(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

การตรวจโรคกระจกตาโค้งด้วยเครื่อง AS-OCT นอกจากจะพบลักษณะรูปร่างของกระจกตาซึ่งโค้ง และบางตัวลง โดยมีตำแหน่งที่มีการโค้งมากที่สุดในตำแหน่งเดียวกับตำแหน่งที่มีกระจกตาบางที่สุดจากภาพตัดขวางของกระจกตา ยังสามารถตรวจพบลักษณะอื่น ๆ เช่น การหนาตัวขึ้นของชั้นผิวกระจกตา (epithelial thickness) การสะท้อนแสงมากผิดปกติของชั้นบาวแมน (hyperreflection of Bowman's layer) (รูปที่ 5)

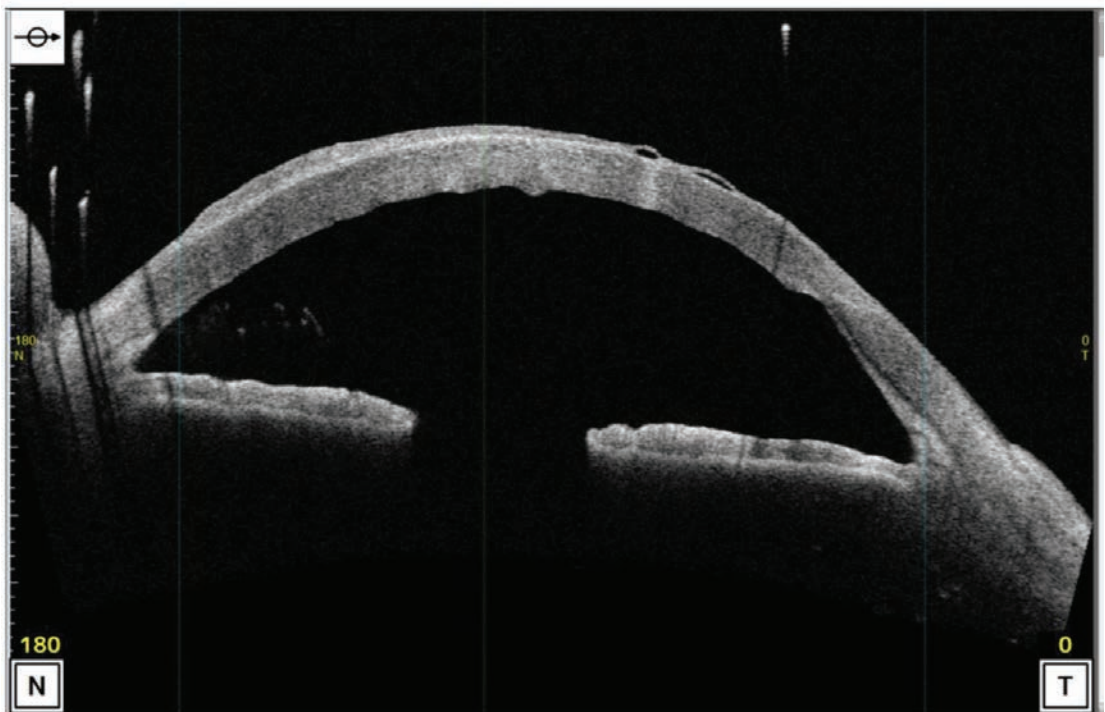


รูปที่ 5. รูป anterior segment-optical coherence tomogram ในผู้ป่วยโรคกระจกตาโค้ง (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

นอกจากนี้ AS-OCT สามารถทำการตรวจประเมินความหนาของชั้นผิวกระจกตา และแสดงภาพออกมาเป็น epithelial thickness map มีการศึกษาถึงประโยชน์ของ epithelial thickness map ในหลายโรค อาทิ โรคตาแห้ง โรคภาวะพร่องเซลล์ต้นกำเนิดของกระจกตาและโรคกระจกตาโค้ง สำหรับโรคกระจกตาโค้งพบว่าผู้ป่วยโรคกระจกตาโค้งพบมีการบางตัวของชั้นผิวกระจกตาในบริเวณที่กระจกตามีความโค้งมากที่สุด โดยเมื่อใช้ค่าความหนาของชั้นผิวกระจกตาที่ 52 ไมครอน ในตำแหน่งที่มีกระจกตาบางที่สุดในการวินิจฉัยโรคกระจกตาโค้ง พบว่ามีความไวเท่ากับร้อยละ 88.9 และมีความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 59.5^(8,9)

1.3 โรคกระจกตาเสื่อมแบบฟุก (Fuch's corneal endothelial dystrophy)

โรคกระจกตาเสื่อมแบบฟุกเป็นโรคซึ่งมีการเสื่อมของเซลล์กระจกตาชั้นในซึ่งมีสาเหตุมาจากความผิดปกติของสารพันธุกรรม โดยอาจพบมีประวัติของโรคในครอบครัวหรือไม่ก็ได้ การตรวจทางคลินิกพบลักษณะของ corneal guttata ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีการหายของเซลล์กระจกตาชั้นในร่วมกับมี excrescent ของชั้นเดสซิเมตมาในตำแหน่งที่เซลล์กระจกตาชั้นในหายไป ส่งผลให้กระจกตาบวมขึ้นและมีการมองเห็นที่ลดลงตามมา การตรวจด้วย AS-OCT ในผู้ป่วยโรคกระจกตาเสื่อมแบบฟุกสามารถนำมาใช้ในการตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงโรค และพยากรณ์แนวโน้มความจำเป็นในการผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาให้แก่ผู้ป่วยได้ โดยเครื่อง AS-OCT สามารถใช้ในการตรวจติดตามความหนาของกระจกตาได้ทั้งบริเวณกลางกระจกตาและกระจกตาสวนริม อัตราส่วนระหว่างความหนาของกระจกตาบริเวณกลางกระจกตากับบริเวณ 4 มิลลิเมตรจากกลางกระจกตา (corneal central-to-peripheral thickness ratio) มีค่าแตกต่างกันระหว่างกระจกตাপกติ กระจกตาเสื่อมแบบฟุกในระยะต้นและกระจกตาเสื่อมแบบฟุกในระยะหลัง⁽¹⁰⁾ จึงสามารถนำมาใช้ในการตรวจติดตามการดำเนินโรคได้ การประเมินความขุ่นของกระจกตาจากภาพ AS-OCT (corneal optical density) พบว่าสามารถใช้ในการติดตามความรุนแรงของโรคได้เช่นกัน⁽¹¹⁾ (รูปที่ 6)



รูปที่ 6. รูป anterior segment-optical coherence tomogram ในผู้ป่วยโรคกระจกตาเสื่อมแบบฟุก พบลักษณะกระจกตาบวมร่วมกับมีการหนาตัวของชั้นผิวกระจกตาและ epithelial bullae (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิสุกุล)

1.4 โรคตาแห้ง (dry eye disease)

โรคตาแห้งเป็นโรคของผิวหนังตาที่พบได้บ่อยที่สุดและเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย ผู้ป่วยโรคตาแห้งนอกจากจะมีอาการทางตาแล้วยังส่งผลต่อคุณภาพชีวิตทั้งในแง่การทำงาน สังคม จิตใจและการใช้ชีวิตประจำวันของผู้ป่วย โรคตาแห้งสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มหลัก คือ โรคตาแห้งชนิดที่มีการระเหยของน้ำตาเร็ว (evaporative dry eye) และโรคตาแห้งชนิดที่มีการสร้างน้ำตาน้อย (aqueous tear deficiency dry eye) โรคต้อลมที่เปลือกตาอุดตันเป็นสาเหตุหลักของโรคตาแห้งชนิดที่มีการระเหยของน้ำตาเร็ว ในปัจจุบันเครื่อง AS-OCT ซึ่งมีความละเอียดของภาพสูงสามารถถ่ายภาพชั้นน้ำตา ต่อมไขมันที่เปลือกตาและใช้ในการประเมินความผิดปกติของผิวหนังตาได้จึงมีการนำมาใช้ศึกษาในผู้ป่วยโรคตาแห้งอย่างกว้างขวางการถ่ายภาพชั้นน้ำตาหน้าต่อกระจกตา (pre-corneal tear film) สามารถทำได้ด้วยเครื่อง AS-OCT ที่มีความละเอียดของภาพสูง อย่างไรก็ตามเนื่องจากชั้นน้ำตามีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว โดยมีการเปลี่ยนแปลงความหนาของชั้นน้ำตาในแต่ละช่วงเวลาตั้งแต่การลืมตาจนถึงการกระพริบตาในครั้งต่อไป สภาพอากาศและความชื้นในขณะทำการวัดความหนาของชั้นน้ำตาล้วนมีผลต่อความหนาของชั้นน้ำตาที่วัดได้ ทำให้ในปัจจุบันการวัดความหนาของชั้นน้ำตายังไม่สามารถนำไปใช้ในทางคลินิกได้มากนัก

การศึกษาด้วยการถ่ายภาพ AS-OCT อย่างต่อเนื่องสามารถแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของชั้นน้ำตาของผู้ป่วยได้ (dynamic of tear film)⁽¹²⁾ อย่างไรก็ตามการตรวจด้วยวิธีนี้จำเป็นต้องอาศัยเครื่อง AS-OCT ซึ่งมีความละเอียดสูงประมาณ 1 ไมครอน⁽¹³⁾ การตรวจความหนาของชั้นน้ำตาหน้าต่อกระจกตาด้วยเครื่อง AS-OCT ที่มีความละเอียดสูงในประชากรซึ่งไม่มีโรคตาแห้งพบว่ามีความหนาอยู่ระหว่าง 4-5 ไมครอน^(14,15) ซึ่งค่าที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับการวัดความหนาของชั้นน้ำตาด้วยวิธี interferometric^(16,17) สำหรับการวัดความหนาของชั้นน้ำตาหน้าต่อกระจกตาในผู้ป่วยโรคตาแห้งพบว่ามีความสัมพันธ์กับอาการและอาการแสดงของโรคตาแห้งได้ดี โดยพบว่าความหนาของชั้นน้ำตาที่ลดลงสัมพันธ์กับอาการที่มีความรุนแรงมากขึ้น การแตกตัวของชั้นน้ำตา (tear break-up time) เร็วขึ้น และความเข้มข้นของน้ำตา (tear osmolality) ที่เพิ่มมากขึ้น⁽¹⁸⁾ การวัดความหนาของชั้นน้ำตาอาจนำมาใช้ในการตรวจติดตามผู้ป่วยโรคตาแห้งได้ ทั้งนี้จะมีประโยชน์ในแง่ของการลดความแตกต่างในการประเมินความรุนแรงของโรคตาแห้งจากผู้ตรวจแต่ละคนซึ่งพบได้สูงในการตรวจติดตามโรคตาแห้งที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ในปัจจุบันการวัดความหนาของชั้นน้ำตาด้วยเครื่อง AS-OCT ยังถูกนำมาใช้ในการประเมินและเปรียบเทียบการใช้น้ำตาเทียมและยารักษาโรคตาแห้งชนิดต่าง ๆ ว่ามีประสิทธิภาพในการเพิ่มความหนาของชั้นน้ำตาได้นานเพียงใด (retention time)^(19, 20)

Tear meniscus หรือน้ำตาที่อยู่ระหว่างเปลือกตาล่างและผิวดวงตามีปริมาตรประมาณร้อยละ 75-90 ของปริมาณน้ำตาทั้งหมด⁽²¹⁾ การถ่ายภาพชั้นน้ำตาบริเวณขอบเปลือกตาล่างจึงช่วยบอกถึงปริมาณน้ำตาของผู้ป่วยได้ การถ่ายภาพ tear meniscus height หรือ tear meniscus area ทำได้ด้วยเครื่อง AS-OCT ซึ่งมีความละเอียดประมาณ 10 ไมครอนหรือดีกว่า^(22,23) โดยพบว่าทั้ง tear meniscus height และ tear meniscus area สัมพันธ์กับโรคตาแห้งชนิดที่มีการสร้างน้ำตาน้อย⁽²¹⁾ จากการศึกษายังพบว่า tear meniscus height ลดลงตามอายุ^(24,25) ปริมาณน้ำตาที่น้อยลงมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของความผิดปกติของเซลล์ชั้นผิวงกระจกตา (severity of corneal epithelial damage) ในผู้ป่วยตาแห้งชนิดสร้างน้ำตาน้อย ในขณะที่ในผู้ป่วยที่มีการระเหยของน้ำตามากพบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตามีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของความผิดปกติของผิวดวงตา⁽²⁶⁾ อย่างไรก็ตามค่าปกติของ tear meniscus height และ tear meniscus area มีความแตกต่างกันในเครื่อง AS-OCT แต่ละรุ่น มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ในการวินิจฉัยโรคตาแห้งแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 2⁽²⁷⁾

ตารางที่ 2. ค่าปกติ ความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยโรคตาแห้งด้วย tear meniscus height และ tear meniscus area⁽²⁷⁾

วิธีการวัด และเครื่อง AS-OCT	ค่าปกติ	การวินิจฉัยโรคตาแห้ง	
		ความไว (ร้อยละ)	ความจำเพาะ (ร้อยละ)
Tear meniscus height			
TD-OCT	230-332 μm	67.0	81.0
SD-OCT	319-354 μm	80.5	89.3
SS-OCT	183-339 μm	67.0	88.0
Tear meniscus area			
TD-OCT	3,414-35,283 μm^2	86.1	85.3
SD-OCT	25,383-62,100 μm^2	62.0	92.0
SS-OCT	12,459-27,900 μm^2	-	-

ในปัจจุบันมีการนำ tear meniscus height และ tear meniscus area มาใช้ในการวินิจฉัยและการตรวจติดตามผู้ป่วยภายหลังรักษาโรคตาแห้ง อย่างไรก็ตามมีข้อจำกัดของการใช้ tear meniscus height และ tear meniscus area ในการวินิจฉัยโรคตาแห้งประกอบด้วย

การวัดอาจเกิดการผิดพลาดในผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับการระบายน้ำตา เช่น เปลือกตาม้วนออก เยื่อตาหย่อน ระยะเวลาในการถ่ายภาพภายหลังการกระพริบตาและความชื้นของอากาศในบริเวณ ที่ทำการตรวจสอบผลต่อค่า tear meniscus height และ tear meniscus area ที่ได้⁽²⁷⁾

Lid parallel conjunctival folds (LIPCOFs) หมายถึง รอยพับในแนวนานกับขอบ เปลือกตาของเยื่อตาที่บริเวณใกล้ขอบเปลือกตาล่างทางด้านหางตาและหัวตา LIPCOFs สามารถ แบ่งเป็น 4 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0 ไม่มีรอยพับของเยื่อตา

ระดับ 1 รอยพับถาวรที่เห็นเด่นชัด 1 รอย

ระดับ 2 รอยพับถาวรที่เห็นเด่นชัด 2 รอย มักมีความสูงน้อยกว่า 0.2 มม.

ระดับ 3 รอยพับถาวรที่เห็นเด่นชัดมากกว่า 2 รอย มักมีความสูงมากกว่า 0.2 มม.

ระดับความรุนแรงของ LIPCOFs พบว่ามีความสัมพันธ์กับโรคตาแห้งอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามเนื่องจากตำแหน่งที่ทำการตรวจมีขนาดเล็ก และมักเห็นแสงสะท้อนจาก tear meniscus ในบริเวณดังกล่าวทำให้การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงแคบเพื่อประเมินระดับ ของ LIPCOFs ทำได้ยาก เครื่อง AS-OCT ซึ่งสามารถถ่ายภาพบริเวณรอยพับโดยมีกำลังขยาย สูงพบว่าสามารถใช้ในการตรวจประเมินระดับของ LIPCOFs ได้ดี⁽²⁸⁾

ต่อมไขมันที่เปลือกตาอยู่ใน tarsal plate ทั้งบริเวณเปลือกตาบนและเปลือกตาล่าง ทำหน้าที่สร้างชั้นไขมันของน้ำตาเพื่อช่วยให้น้ำตามีความคงตัว ลดการระเหยของน้ำตา ความผิดปกติของต่อมไขมันที่เปลือกตาจะทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการระคายเคืองตาและโรคตาแห้งชนิดที่ มีการระเหยของน้ำตามากตามมา การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงแคบปกติสามารถ ตรวจได้เฉพาะบริเวณรูเปิดของต่อมไขมัน (meibomian orifices) โดยไม่สามารถประเมินรูปร่าง หรือการขาดหายไปของต่อมไขมันที่เปลือกตาได้ ในปัจจุบันการถ่ายภาพต่อมไขมันเปลือกตา (meibography) อาจทำได้หลายวิธี เช่น การใช้แสงที่มีความสว่างมากส่องแบบ transillumination การใช้กล้อง infrared เพื่อถ่ายภาพของต่อมไขมัน สำหรับเครื่อง AS-OCT มีการนำมาใช้ในการ ถ่ายภาพต่อมไขมันเช่นกัน⁽²⁹⁻³¹⁾ พบว่าสามารถแสดงให้เห็นได้ทั้งรูเปิดของต่อมไขมัน ความยาว และความกว้างของต่อมไขมัน ซึ่งสัมพันธ์กับโรคต่อมไขมันที่เปลือกตาอุดตัน⁽³²⁾ การถ่ายภาพต่อม ไขมันที่เปลือกตาด้วยเครื่อง AS-OCT ชนิด polarization sensitive OCT ยังสามารถประเมิน ปริมาตรของต่อมไขมันได้ (volumetric OCT) อีกด้วย⁽³³⁾

Epithelial thickness map พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงในโรคตาแห้ง และในภาวะ พร่องเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ชั้นผิวกระจกตา โดยพบว่า epithelial thickness map มีการบางลง บริเวณกลางกระจกตา และบริเวณที่ติดกับขอบของกระจกตา (limbus) เมื่อเทียบกับคนปกติ^(34,35)

โดยความหนาของชั้นผิวกระจกตาส่วนบน (upper-mid peripheral) พบว่ามีความสัมพันธ์กับโรคตาแห้งมากที่สุด โดยเมื่อใช้ค่าความหนาของชั้นผิวกระจกตาที่น้อยกว่า 50 ไมครอนเป็นเกณฑ์ในการวินิจฉัยโรคตาแห้ง พบมีความไวเท่ากับร้อยละ 81 และความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 79⁽³⁶⁾

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันการนำเครื่อง AS-OCT มาใช้ในการตรวจติดตามหรือวินิจฉัยโรคตาแห้งยังไม่เป็นมาตรฐานในการปฏิบัติ เนื่องจากต้องอาศัยเครื่องมือที่มีความละเอียดของภาพสูง เครื่องมีราคาสูงและการตรวจประเมินชั้นน้ำตายังทำได้เฉพาะบริเวณส่วนกลางของกระจกตา

1.5 ภาวะพร่องเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ชั้นผิวกระจกตา (limbal stem cell deficiency)

ภาวะพร่องเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ชั้นผิวกระจกตาทำให้เกิดความผิดปกติของผิวกระจกตา เนื่องจากการลุกล้ำของเซลล์ชั้นผิวของเยื่อตาเข้ามาบริเวณกระจกตา ทำให้ผิวกระจกตาไม่เรียบ เกิดแผลถลอกได้ง่าย และอาจพบการลุกล้ำของเส้นเลือดเข้าสู่บริเวณผิวกระจกตาร่วมด้วย การวินิจฉัยภาวะพร่องเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ชั้นผิวกระจกตาทำได้โดยการตรวจ impression cytology เพื่อหาลักษณะของเซลล์เยื่อตาที่ลุกล้ำเข้าสู่บริเวณกระจกตา อย่างไรก็ตามการตรวจดังกล่าวต้องมีการสัมผัสกับดวงตาของผู้ป่วยซึ่งอาจส่งผลให้เกิดอาการระคายเคืองเกิดการติดเชื้อหรือเกิดแผลที่บริเวณกระจกตาได้ การตรวจที่เข้ามามีส่วนช่วยในการวินิจฉัยในปัจจุบัน ประกอบด้วยการตรวจด้วยเครื่อง in vivo confocal microscopy (IVCM) ซึ่งจะกล่าวในรายละเอียดต่อไป และการตรวจด้วย AS-OCT ซึ่งสามารถบอกถึงความหนาของชั้นผิวกระจกตาได้ โดยพบว่าในภาวะพร่องเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ชั้นผิวกระจกตาจะตรวจพบชั้นผิวกระจกตาบางตัวลงเมื่อเทียบกับกระจกตาปกติ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างความแตกต่างของตำแหน่งที่ชั้นผิวกระจกตาบางที่สุดและหนาที่สุดพบว่าในผู้ป่วยภาวะพร่องเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ชั้นผิวกระจกตาจะมีค่าความแตกต่างมากกว่ากระจกตาปกติ การตรวจวัดความหนาของชั้นผิวกระจกตาจึงอาจมีส่วนช่วยในการวินิจฉัยภาวะพร่องเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ชั้นผิวกระจกตาในกรณีที่มีความสงสัยจากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงแคบ⁽³⁷⁾

2. การรักษาโรคกระจกตาและผิวดวงตา

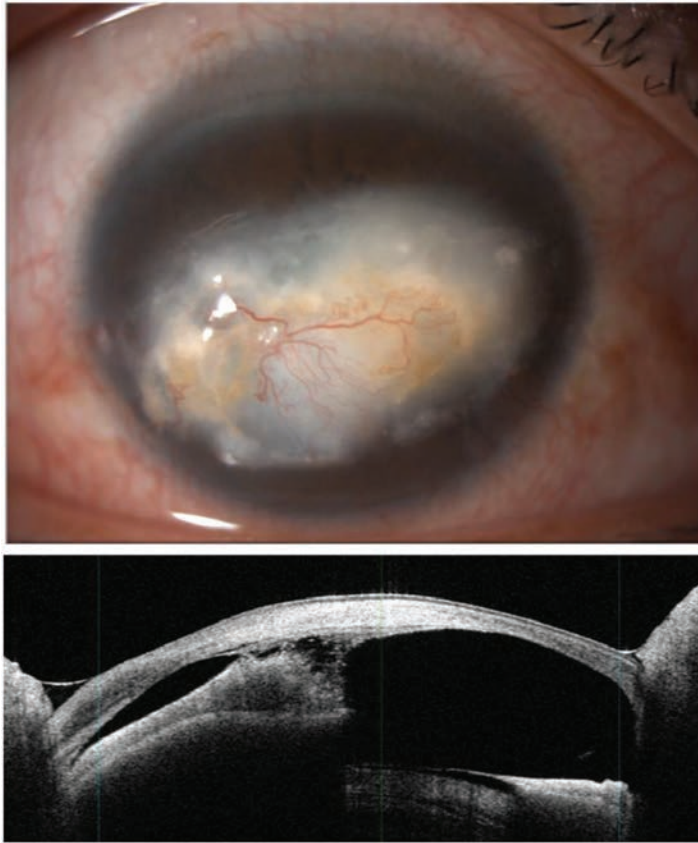
การถ่ายภาพตัดขวางของกระจกตาและผิวดวงตาส່วนหน้ามีส่วนช่วยให้ผ่าตัดโรคของกระจกตา และผิวดวงตาเป็นไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ ตั้งแต่ขั้นตอนการวางแผนและเตรียมผู้ป่วยก่อนการผ่าตัด ระหว่างการผ่าตัดและการตรวจติดตามภายหลังการผ่าตัดได้ในหลายกลุ่มโรค

2.1 การผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาแบบทุกชั้น (penetrating keratoplasty)

การผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาแบบทุกชั้น สามารถใช้ AS-OCT ช่วยในการประเมินความผิดปกติของช่องหน้าม่านตาก่อนการผ่าตัด เพื่อใช้ในการวางแผนการผ่าตัดในผู้ป่วยที่มีกระจกตาขุ่นมากไม่สามารถประเมินลักษณะ หรือความผิดปกติของช่องหน้าม่านตาได้จากกล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงแคบ (รูปที่ 7) ในระหว่างและหลังการผ่าตัด AS-OCT ช่วยในการประเมินตำแหน่งของเนื้อเยื่อกระจกตาที่ได้รับบริจาคและเนื้อเยื่อกระจกตาของผู้ป่วยว่าอยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมหรือไม่ (graft-host apposition) ภายหลังการเย็บแผล⁽³⁸⁾ (รูปที่ 8)

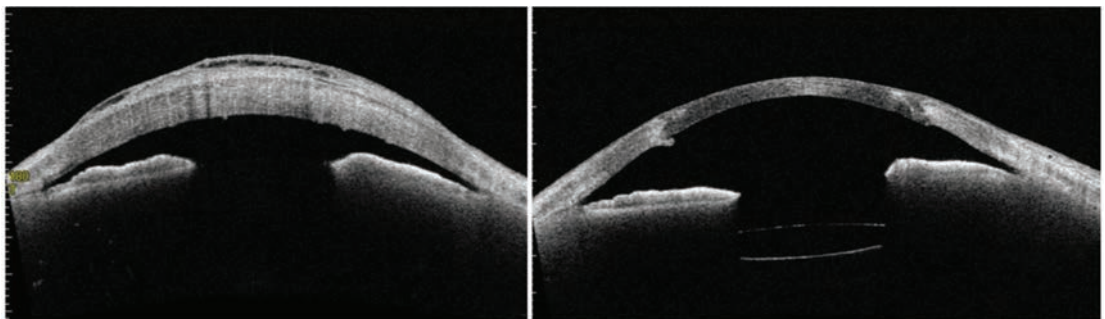
2.2 การผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาส່วนหน้า (anterior lamellar keratoplasty)

การผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาส່วนหน้า การผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาส່วนหน้าทำได้โดยการตัดเนื้อเยื่อชั้นโครงของกระจกตาซึ่งมีความผิดปกติออก และทำการปลูกถ่ายเนื้อเยื่อชั้นโครงของผู้บริจาคทดแทน การผ่าตัดด้วยเทคนิค deep anterior lamellar keratoplasty (DALK) เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุด โดยทำการเลาะเนื้อเยื่อกระจกตาชั้นโครงของผู้ป่วยออกจากชั้นเดสซิเมตด้วยการฉีดอากาศ (big bubble technique) หรือสารหนืด viscoelastic เข้าไปแยกระหว่างเนื้อเยื่อทั้งสองชั้นออกจากกัน AS-OCT มีส่วนช่วยในการผ่าตัด DALK ตั้งแต่ในระยะการประเมินก่อนการผ่าตัด เช่น การประเมินความลึกของรอยโรคที่กระจกตา (depth of corneal lesion)



รูปที่ 7. รูปบนแสดงกระจกตาซึ่งมีแผลเป็นทำให้ไม่สามารถประเมินช่องหน้าม่านตาได้ รูปล่าง anterior segment-optical coherence tomogram แสดงให้เห็นม่านตายุบติดกับหลังกระจกตา (anterior synechia)

(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)



รูปที่ 8. รูป anterior segment-optical coherence tomogram ภาพซ้ายแสดงกระจกตาเสื่อมก่อนการผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตา รูปขวาแสดงกระจกตาทายหลังการผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาทุกชั้น

(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

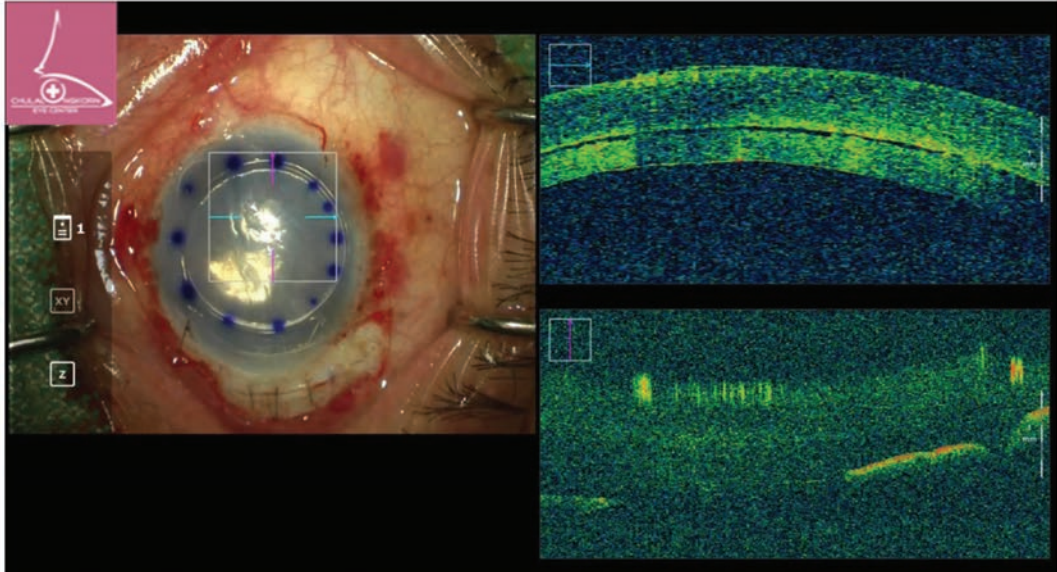
การประเมินความหนาของกระจกตาในตำแหน่งที่จะลงแผลผ่าตัด (trephination) เพื่อวางแผนว่าควรตัดกระจกตาลงไปลึกเพียงใดถึงเหมาะสม โดยต้องการตัดกระจกตาให้ลึกเพียงพอในการเลาะเนื้อเยื่อชั้นโครงออกได้ง่าย ในขณะที่ยังไม่มีวิธีการศึกษาของชั้นเดสซิเมท ในระหว่างการผ่าตัด AS-OCT สามารถใช้ช่วยในการประเมินตำแหน่งของเข็มที่จะใช้ฉีดอากาศ หรือสารหนีตัวอยู่ในตำแหน่งที่เหมาะสมหรือไม่ รวมทั้งสามารถใช้ในการประเมินผลของการฉีดว่ามี การแยกระหว่างชั้นโครงและชั้นเดสซิเมทหรือไม่ ในกรณีที่ไม่สามารถใช้เทคนิคการฉีดอากาศ หรือสารหนีตัวเข้าไปแยกชั้นของกระจกตาได้สำเร็จ แพทย์จะทำการเลาะเนื้อเยื่อชั้นโครงของกระจกตาออก (manual dissection) ในขั้นตอนนี้สามารถใช้ AS-OCT เข้ามาช่วยในการประเมินเนื้อเยื่อ กระจกตาชั้นโครงที่เหลืออยู่ เพื่อให้มีเนื้อเยื่อกระจกตาชั้นโครงเหลือน้อยที่สุดและไม่มีการ ฉีดขาดของชั้นเดสซิเมท⁽³⁹⁾

2.3 การผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาชั้นใน (endothelial keratoplasty)

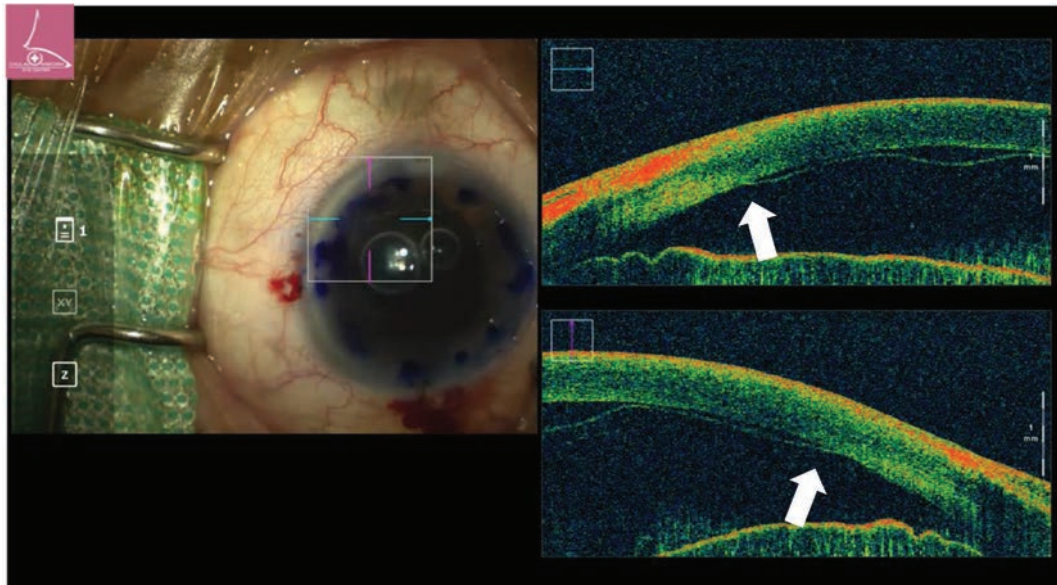
การผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาชั้นใน ทำในผู้ป่วยที่มีปัญหากระจกตาบวม หรือเสื่อม จากการลดจำนวน หรือการทำงานผิดปกติของเซลล์กระจกตาชั้นใน เทคนิคการผ่าตัดปลูกถ่าย กระจกตาชั้นในที่ได้รับการนิยมนิยมนในปัจจุบันประกอบด้วย 2 เทคนิค คือ Descemet stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK) และ Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) การประเมินด้วย AS-OCT ก่อนการผ่าตัด endothelial keratoplasty ช่วย ให้สามารถตรวจหา และวางแผนแก้ไขความผิดปกติของช่องหน้าม่านตาได้ในกรณีที่กระจกตาชั้น ในระหว่างการผ่าตัด DSAEK ภาพจาก AS-OCT ช่วยให้การผ่าตัดง่ายขึ้นในผู้ป่วยที่มีกระจกตา ชุ่น สามารถใช้ช่วยในการประเมินหาชั้นเดสซิเมทที่เหลือภายหลังการทำ descemetorhexis นอกจากนี้ยังช่วยในการประเมินตำแหน่งของเนื้อเยื่อกระจกตาที่ปลูกถ่ายให้แก่ผู้ป่วยว่ามี ตำแหน่งที่เหมาะสมหรือไม่ มีน้ำแทรกอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อที่ปลูกถ่ายและกระจกตาของผู้ป่วยหรือไม่ (graft interface fluid) (รูปที่ 9) ทั้งนี้การนำน้ำซึ่งแทรกอยู่ระหว่างเนื้อเยื่อที่ปลูกถ่าย และ กระจกตาของผู้ป่วยออกจะช่วยให้ผลการผ่าตัดดีขึ้น กล่าวคือ มีโอกาสที่เนื้อเยื่อกระจกตาที่ปลูก ถ่ายจะติดกับเนื้อเยื่อกระจกตาของผู้ป่วยมากขึ้น⁽⁴⁰⁾

สำหรับการผ่าตัด DMEK เครื่อง AS-OCT มีส่วนช่วยอย่างยิ่งในระหว่างการผ่าตัด โดยใช้ในการประเมินเนื้อเยื่อกระจกตาที่ปลูกถ่ายเข้าสู่ช่องหน้าม่านตาว่ามีตำแหน่งถูกต้องหรือไม่ ทั้งนี้เนื้อเยื่อของกระจกตาที่ปลูกถ่ายเข้าไปจะมีลักษณะม้วนโดยมีชั้นของเซลล์กระจกตาชั้น ในอยู่ด้านนอกเสมอ ดังนั้นเมื่อทำการกางเนื้อเยื่อของกระจกตาที่ปลูกถ่ายเข้าไปแล้วในตำแหน่ง ที่ถูกต้องจะเห็นมีการม้วนของเนื้อเยื่อที่ปลูกถ่ายเข้าหาชั้นโครงของกระจกตา การตรวจสอบ ลักษณะการม้วนของเนื้อเยื่อด้วย AS-OCT จะช่วยให้ทราบว่าเนื้อเยื่ออยู่ในลักษณะที่เหมาะสม

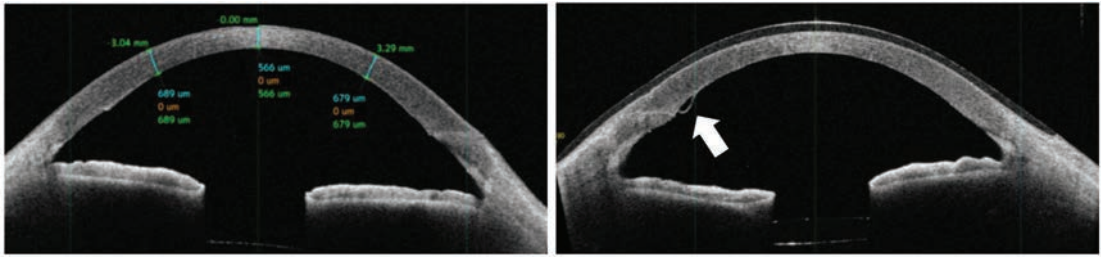
หรือไม่ (รูปที่ 10) ก่อนการจัดตำแหน่งของเนื้อเยื่อและฉีดอากาศเพื่อให้เกิดการยึดติดระหว่างเนื้อเยื่อที่ปลูกถ่ายและเนื้อเยื่อชั้นโครงของผู้ป่วย ภายหลังการผ่าตัด DMEK เครื่อง AS-OCT ยังสามารถใช้ในการประเมินการยึดติดของเนื้อเยื่อกระจกตาได้อย่างละเอียด (รูปที่ 11)



รูปที่ 9. รูป intraoperative anterior segment-optical coherence tomogram ในระหว่างการผ่าตัด Descemet stripping automated endothelial keratoplasty แสดงให้เห็นน้ำระหว่างกระจกตาที่ปลูกถ่ายและกระจกตาของผู้ป่วย (interface fluid) (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาธิตพิสุกุล)

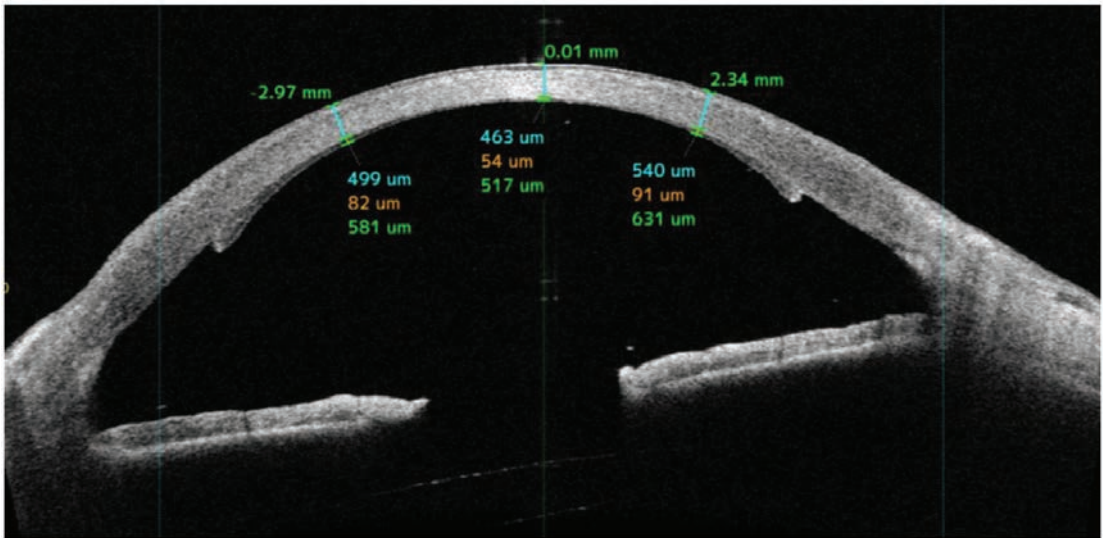


รูปที่ 10. รูป intraoperative anterior segment-optical coherence tomogram ในระหว่างการผ่าตัด Descemet membrane endothelial keratoplasty แสดงให้เห็นลักษณะของเนื้อกระจกตาที่ปลูกถ่ายม้วนเข้าหากระจกตาของผู้ป่วย (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาธิตพิสุกุล)



รูปที่ 11. รูป anterior segment-optical coherence tomogram ภายหลังการปลูกถ่ายกระจกตาด้วยวิธี Descemet membrane endothelial keratoplasty ภาพซ้ายแสดงลักษณะกระจกตาที่ปลูกถ่ายติดกับเนื้อเยื่อกระจกตาชั้นโครงของผู้ป่วยและสามารถวัดความหนากระจกตาในตำแหน่งที่สนใจได้ ภาพขวาแสดงเนื้อเยื่อกระจกตาที่ปลูกถ่ายหลุดในตำแหน่งใกล้แผลผ่าตัด โดยมีทิศทางการม้วนเข้าหากระจกตาชั้นโครง บ่งบอกว่าการวางตำแหน่งของเนื้อเยื่อกระจกตาระหว่างผ่าตัดทำได้ถูกต้อง (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิสุกุล)

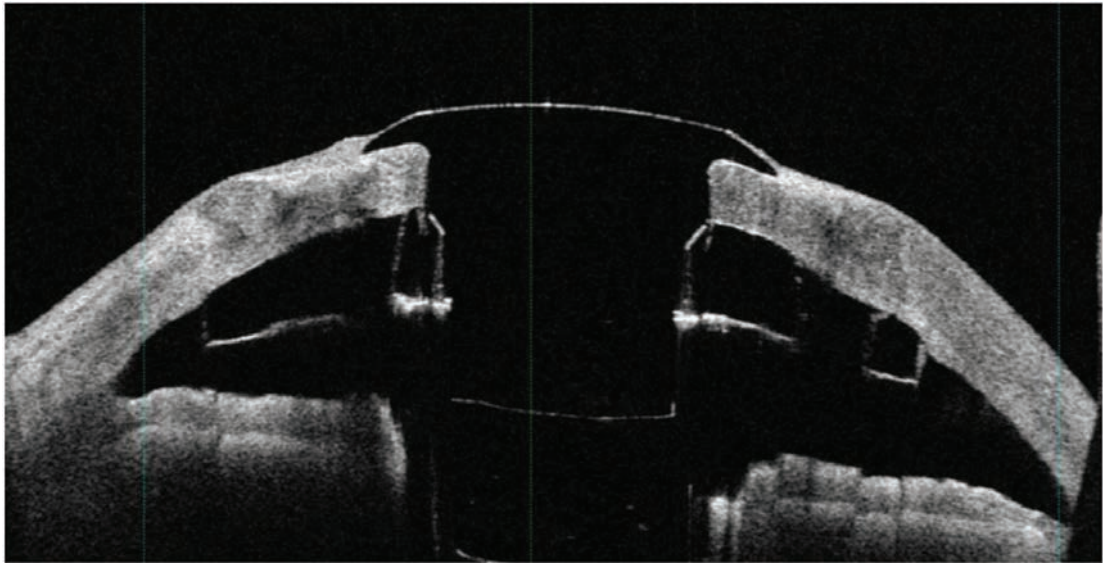
ทั้งนี้ภายหลังการผ่าตัด การประเมินด้วยกล้องจุลทรรศน์ลำแสงแคบเพียงอย่างเดียวอาจทำได้ยาก เนื่องจากอาจมีกระจกตาบวมขึ้น และมีอากาศในช่องหน้าม่านตาทำให้เกิดเงาสะท้อนภายในช่องหน้าม่านตามาก สำหรับในกรณีที่มีการหลุดลอกของเนื้อเยื่อกระจกตาที่ปลูกถ่าย การประเมินด้วย AS-OCT จะช่วยในการวางแผนการผ่าตัดฉีดอากาศเพิ่มเติมว่าควรทำหรือไม่ และควรเข้าแผลผ่าตัดในบริเวณใด เช่น หากตรวจพบการหลุดลอกของเนื้อเยื่อทางฝั่งหัวตา การฉีดอากาศผ่านเข็มซึ่งแทงเข้าทางด้านบนหรือด้านหางตาก็จะมีความเสี่ยงในการทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อกระจกตาที่ปลูกถ่ายเข้าไปน้อยกว่า และสามารถฉีดอากาศเข้าได้ต่อเนื้อเยื่อได้อย่างเหมาะสม ภายหลังการผ่าตัด DMEK เครื่อง AS-OCT สามารถใช้ในการประเมินด้านของเนื้อเยื่อกระจกตาที่ปลูกถ่ายว่าถูกต้องหรือไม่ได้โดยดูลักษณะการม้วนของเนื้อเยื่อตามที่ได้กล่าวมาข้างต้น^(41,42) (รูปที่ 11) การตรวจภายหลังการผ่าตัดด้วย AS-OCT ภายหลังการทำ DSAEK นอกจากจะเห็นตำแหน่ง ลักษณะการติดหรือหลุดลอกของเนื้อเยื่อแล้ว ยังสามารถวัดความหนาของกระจกตาและกระจกตาที่ได้รับการปลูกถ่ายได้อย่างแม่นยำ สามารถนำมาใช้ในการตรวจติดตามผู้ป่วยภายหลังการผ่าตัดได้เป็นอย่างดี (รูปที่ 12)



รูปที่ 12. รูป anterior segment-optical coherence tomogram ภายหลังการปลูกถ่ายกระจกตาด้วยวิธี Descemet stripping automated endothelial keratoplasty แสดงให้เห็นเนื้อเยื่อกระจกตาที่ปลูกถ่ายติดกับเนื้อเยื่อกระจกตาของผู้ป่วย และสามารถตรวจติดตามความหนาของกระจกตาทั้งส่วนของผู้ป่วยเองและส่วนที่ปลูกถ่ายได้ (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิสุกุล)

2.4 การผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาเทียม (keratoprosthesis)

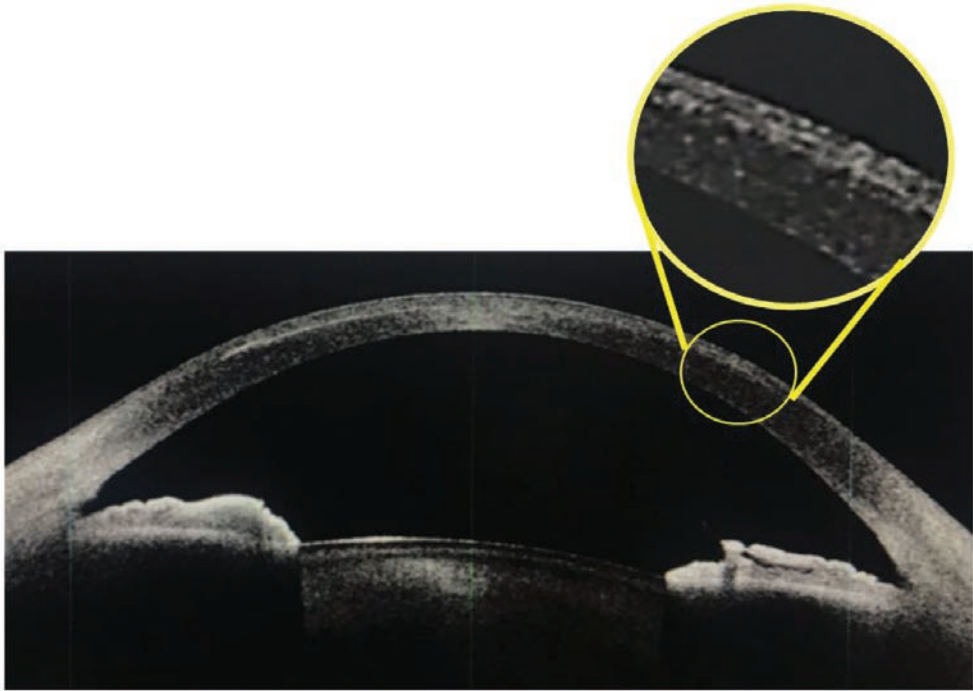
ผู้ป่วยซึ่งมีล้มเหลวจากการผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาด้วยกระจกตาบริจาคบางรายจำเป็นต้องได้รับการผ่าตัดรักษาด้วยกระจกตาเทียม โดยลักษณะของกระจกตาเทียมจะมีแผ่นรองกระจกตาด้านใน (back plate) ซึ่งบดบังการตรวจประเมินความผิดปกติของช่องหน้าม่านตา การตรวจประเมินด้วย AS-OCT สามารถประเมินความผิดปกติในผู้ป่วยภายหลังการผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตาเทียมได้ เช่น การเกิดรอยแยก (interface gap) การเกิด retroprosthesis membrane เป็นต้น (รูปที่ 13)



รูปที่ 13. รูป anterior segment-optical coherence tomogram ภายหลังการปลูกถ่ายกระจกตาเทียม แสดงให้เห็นตำแหน่งของกระจกตาเทียมและลักษณะภายในช่องน้าม่านตา (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

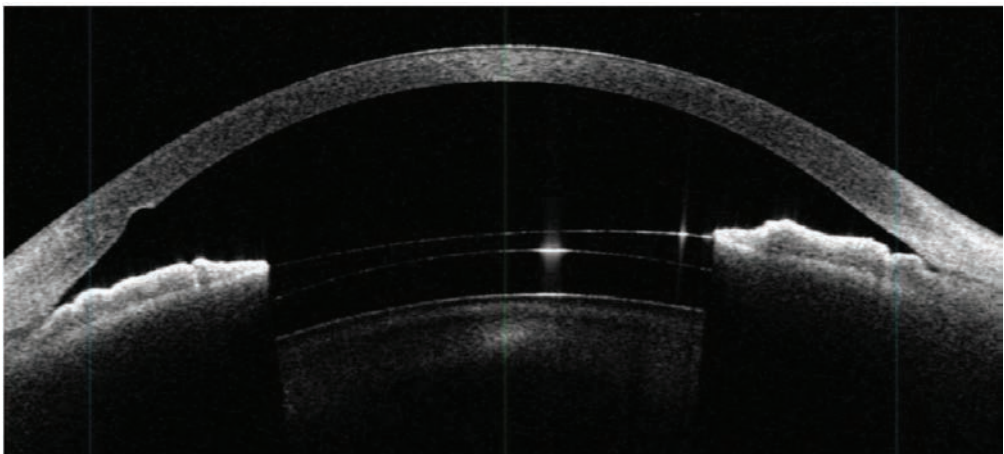
2.5 การผ่าตัดแก้ไขสายตา (refractive surgery)

การผ่าตัดแก้ไขสายตาในปัจจุบันสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มหลัก คือ การผ่าตัดแก้ไขสายตาที่กระจกตา (corneal refractive surgery) และการผ่าตัดแก้ไขสายตาที่แก้วตา (lens refractive surgery) การถ่ายภาพ AS-OCT มีส่วนช่วยในการตรวจประเมินเพื่อวางแผนการผ่าตัด เช่น ประเมินความหนาของกระจกต่อนก่อนการผ่าตัด และใช้ในการตรวจติดตามภายหลังการผ่าตัด เช่น ประเมินความหนาของฝากระจกตา (LASIK flap) ภายหลังการผ่าตัด ประเมินลักษณะความผิดปกติได้ฝากระจกตา (รูปที่ 14) ประเมินตำแหน่งของ intrastromal corneal ring segment เป็นต้น สำหรับการผ่าตัดแก้ไขสายตาที่เลนส์ตา AS-OCT มีส่วนช่วยในการประเมินตำแหน่งของ phakic intraocular lens ภายหลังการผ่าตัดได้ดี (รูปที่ 15)



รูปที่ 14. รูป anterior segment-optical coherence tomogram ภายหลังการ small incision lenticule extraction แสดงลักษณะให้เห็นน้ำในช่องว่างระหว่าง cap และ stromal bed (interface fluid syndrome)

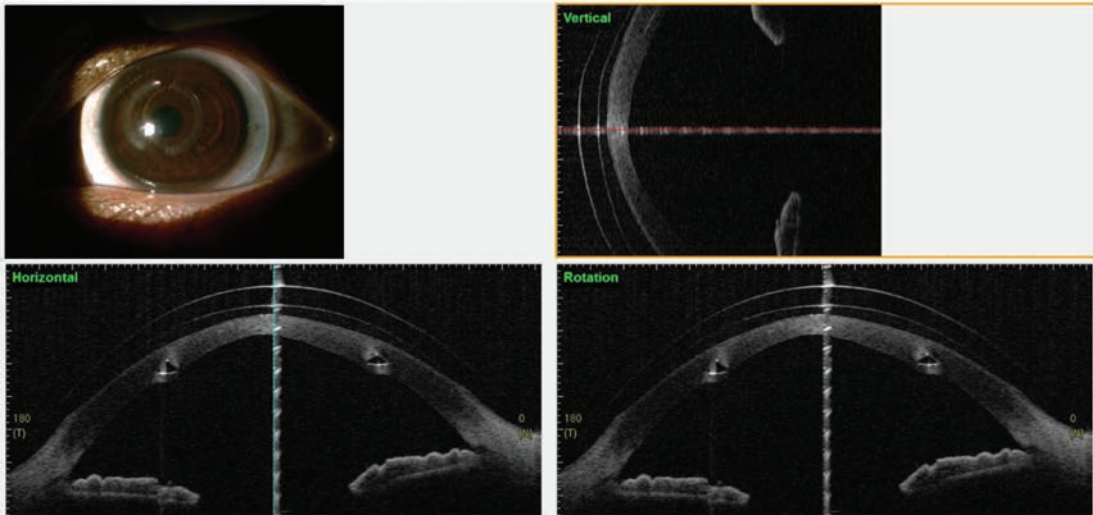
(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิฐกุล)



รูปที่ 15. รูป anterior segment-optical coherence tomogram ภายหลังการผ่าตัดใส่เลนส์เสริม (phakic IOL) แสดงให้เห็นตำแหน่งและระยะห่างระหว่างเลนส์เสริมและเลนส์ตาของผู้ป่วย (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิฐกุล)

2.6 การวัดเลนส์สัมผัสขนาดใหญ่ (scleral contact lens)

เลนส์สัมผัสขนาดใหญ่ (scleral contact lens) ช่วยให้ผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของรูปร่างของกระจกตา เช่น โรคกระจกตาโค้ง โรคกระจกต้าย้วยภายหลังการผ่าตัดเลเซอร์แก้ไขสายตา มีระดับการมองเห็นดีขึ้น และใช้ในผู้ป่วยที่มีผิวดวงตาผิดปกติรุนแรง เช่น โรค Stevens Johnson syndrome โดยเลนส์สัมผัสจะช่วยปรับรูปร่างของกระจกตา และระหว่างเลนส์สัมผัสกับกระจกตามีน้ำซึ่งคั่นระหว่างเลนส์สัมผัสและผิวดวงตา ทำให้เลนส์ชนิดนี้สามารถใช้ในผู้ป่วยโรคผิวดวงตาได้ การวัดเลนส์สัมผัสให้มีขนาดและความโค้งของเลนส์สัมผัสที่เหมาะสมจะช่วยให้ผู้ป่วยประสบความสำเร็จในการใส่เลนส์สัมผัส โดยเลนส์สัมผัสที่เหมาะสมจะวางอยู่บนตาขาว และไม่มีส่วนใดเลยสัมผัสกับกระจกตา โดยมีความห่างระหว่างกระจกตาดังเลนส์สัมผัสประมาณ 100-200 ไมครอน การใช้ AS-OCT ถ่ายภาพระหว่างที่ผู้ป่วยลองเลนส์สัมผัสจะช่วยให้การประเมินความโค้งและขนาดของเลนส์สัมผัสแม่นยำมากยิ่งขึ้น (รูปที่ 16)



รูปที่ 16. การประเมินขนาดของเลนส์สัมผัสขนาดใหญ่ (scleral lens) ด้วย anterior segment optical coherence tomogram แสดงให้เห็นตำแหน่งของเลนส์และขนาดของเลนส์ vault (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

3 การประเมินรูปร่างของกระจกตาแบบ corneal tomogram

เครื่อง AS-OCT สามารถนำภาพถ่ายกระจกตาที่ได้มาประมวลผลและแสดงผลออกมาในรูปแบบของ corneal tomogram และสามารถให้ค่า corneal biometry ได้อย่างแม่นยำ มีการศึกษาการตรวจติดตามผู้ป่วยโรคกระจกตาโค้งด้วยเครื่อง AS-OCT พบว่าผู้ป่วยที่มีการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างกระจกตาอย่างรวดเร็วมีความเสี่ยงในการเกิด corneal hydrops ได้มากขึ้น⁽⁴³⁻⁴⁵⁾

4 การประเมินหลอดเลือดของกระจกตาด้วย anterior segment optical coherence angiogram (AS-OCTA)

การตรวจจอประสาทตาด้วย optical coherence angiogram เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ นำมาใช้ในการประเมินหลอดเลือดที่จอประสาทตาโดยไม่ต้องฉีดสารทึบแสงให้แก่ผู้ป่วย อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีเครื่อง optical coherence angiogram ซึ่งผลิตขึ้นเพื่อตรวจลูกตาส່วนหน้า การตรวจลูกตาส່วนหน้าด้วย AS-OCTA ทำได้โดยการปรับวิธีการถ่ายภาพโดยใช้เครื่องถ่ายภาพ optical coherence angiogram ของจอประสาทตา⁽⁴⁶⁾ ในปัจจุบันเครื่องที่สามารถถ่ายภาพ AS-OCTA ได้ เช่น เครื่อง angioVue เครื่อง triton เป็นต้น อย่างไรก็ตามการถ่ายภาพ AS-OCTA ยังมีข้อจำกัดในเรื่องคุณภาพของภาพที่ได้หากมีการกลอกตาระหว่างการถ่ายภาพและรอยโรคที่กระจกตา เช่น แผลเป็นที่กระจกตาอาจบดบังสัญญาณภาพ ทำให้ได้ภาพที่ไม่ชัดเจนได้ นอกจากนี้เนื่องจากเครื่องไม่ได้ถูกพัฒนาเพื่อใช้สำหรับการถ่ายภาพลูกตาส່วนหน้าทำให้ไม่มีระบบ eye tracking ส่งผลให้การถ่ายภาพที่ตำแหน่งเดิมเพื่อใช้ในการตรวจติดตามทำได้ยาก⁽³³⁾

AS-OCTA มีส่วนช่วยในการประเมินรอยโรคที่กระจกตาและผิวดวงตาหลายหลายชนิด

การตรวจประเมินหลอดเลือดบริเวณขอบกระจกตา (limbus) เช่น ผู้ป่วยที่ถูกสารเคมีเข้าตา (chemical eye injury) โรคกระจกตาและตาขาวติดเชื้อซึ่งมีหลอดเลือดอุดตันร่วมด้วย (infectious keratitis with adjacent scleritis and occlusion of limbal vessels)⁽⁴⁷⁾ การเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดในคนไข้ภาวะพร่องเซลล์ต้นกำเนิดผิวกระจกตา (limbal stem cell deficiency)⁽⁴⁸⁾ ในผู้ป่วย chemical eye injury การใช้ AS-OCTA สามารถนำมาช่วยประเมินความรุนแรงของการขาดเลือดบริเวณขอบกระจกตา (limbal ischemia) ได้ โดยมีการศึกษาพบว่าสามารถให้รายละเอียดของหลอดเลือดได้ชัดเจนช่วยในการแบ่งระดับความรุนแรงของโรคและบอกการพยากรณ์โรคได้ดี⁽⁴⁹⁾

การถ่ายภาพบริเวณกระจกตาส່วนริมซึ่งเป็นตำแหน่งที่อยู่ของเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์ชั้นผิวกระจกตา (limbal stem cells) โดยเซลล์ต้นกำเนิดเหล่านี้อยู่ในบริเวณที่เรียกว่า palisades of Vogt การถ่ายภาพด้วยเครื่อง AS-OCT สามารถแสดงตำแหน่งของ palisades of Vogt ได้⁽⁵⁰⁻⁵²⁾ การตรวจประเมินหลอดเลือดที่กระจกตา เช่น หลอดเลือดที่เข้าสู่กระจกตาที่ได้รับการปลูกถ่าย (graft vascularization) เพื่อใช้บอกการพยากรณ์ถึงโอกาสเกิดการต่อต้านเนื้อเยื่อกระจกตา⁽⁵³⁾ การติดตามผลการรักษาหลอดเลือดที่กระจกตา⁽⁵⁴⁾ เป็นต้น

มีรายงานถึงความแตกต่างของลักษณะหลอดเลือดในโรคต้อเนื้อและ ocular surface squamous neoplasia จากการตรวจด้วย AS-OCTA โดยการตรวจต้อเนื้อพบหลอดเลือดลักษณะตรง (straight vessel pattern) บริเวณชั้นผิวและไม่พบหลอดเลือดในเนื้อเยื่อชั้นลึก ในขณะที่การตรวจ ocular surface squamous neoplasia พบหลอดเลือดทั้งในชั้นผิวและชั้นลึกของรอยโรค

โดยมีลักษณะเป็นซิกแซก (zigzag vessel patterns)⁽⁵⁵⁾

เครื่อง anterior segment optical coherence tomogram ต้นแบบและการนำไปใช้ทางคลินิก

เครื่อง AS-OCT ต้นแบบซึ่งมีรายงานถึงผลการตรวจที่ได้และการนำไปใช้ทางคลินิกมีการพัฒนาไปอย่างมาก ทั้งในแง่ความละเอียดของภาพ การแสดงภาพและผลของเครื่องที่นำไปใช้ทางคลินิก

1. เครื่อง high-resolution anterior segment optical coherence tomogram และเครื่อง ultrahigh resolution anterior segment optical coherence tomogram

เครื่อง high-resolution AS-OCT และเครื่อง ultrahigh resolution AS-OCT หมายถึงเครื่อง AS-OCT ซึ่งได้พัฒนาให้มีความสามารถในการถ่ายภาพได้อย่างละเอียดมาก โดยมีความละเอียดภาพในแนวตั้ง 1-4 ไมครอน และความละเอียดภาพในแนวขวาง 5-12 ไมครอน⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾ ซึ่งความละเอียดของภาพสามารถนำมาใช้ในการประเมินส่วนต่าง ๆ ของกระจกตา เช่น lipid layer thickness⁽⁵⁹⁾ ความหนาของชั้นน้ำตาและความหนาของชั้นเดสทิเมท⁽⁶⁰⁾

2 เครื่อง polarization sensitive optical coherence tomogram

เครื่อง polarization sensitive OCT ทำการวิเคราะห์ลักษณะ polarization state ของแสงที่สะท้อนจากเนื้อเยื่อ โดยอาศัยคุณสมบัติของเนื้อเยื่อที่มี birefringent เช่น กระจกตา ตาขาว และเส้นประสาทของจอตา (retinal nerve fiber layers) ซึ่งมีการสะท้อนแสงใน polarization state ที่ต่างกัน รายงานผลการนำมาใช้ทางคลินิกของ polarization sensitive OCT เช่น โรคกระจกตาโค้ง โรคกระจกตาโค้งมีการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยคอลลาเจนในชั้นโครงของกระจกตาส่งผลให้มีลักษณะ polarization state แตกต่างจากกระจกตาปกติ มีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของ polarization sensitive OCT ในผู้ป่วยโรคกระจกตาโค้งพบว่าสามารถนำมาใช้ในการแยกระยะต่าง ๆ ของโรคและใช้ในการตรวจติดตามผู้ป่วยภายหลังการรักษาด้วยวิธี collagen cross-linking⁽⁶¹⁻⁶³⁾ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีเครื่อง polarization sensitive OCT ออกขายเพื่อใช้ในทางคลินิก

3 เครื่อง optical coherence tomography elastogram

เครื่อง OCT elastogram ทำขึ้นเพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงความยืดหยุ่นของกระจกตาเมื่อได้รับแรงทั้งจากภายในและภายนอก (corneal biomechanics) โดยเมื่อได้รับแรงกระทำเครื่องจะถ่ายภาพการเปลี่ยนแปลงของกระจกตา ซึ่งมีรายงานว่าสามารถเปรียบเทียบความแตกต่าง

ระหว่างกระจกตาปกติและกระจกตาผิดปกติได้⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾

4 เครื่อง full-field optical coherence tomogram และ micro-optical coherence tomogram

เครื่อง full-field OCT และ micro-OCT เป็นเครื่อง OCT ซึ่งมีความละเอียดสูง และสามารถปรับภาพที่ได้จากการถ่ายให้แสดงลักษณะของเซลล์กระจกตาในแต่ละชั้น ตลอดจนสามารถแสดงรายละเอียดของเนื้อเยื่อในแต่ละชั้น เช่น เส้นประสาทของกระจกตาได้คล้ายกับภาพที่ได้จากการถ่ายด้วย in vivo confocal microscopy (IVCM) โดยมีความละเอียดของภาพที่ได้สูงกว่า นอกจากนี้ในขั้นตอนการถ่ายภาพไม่ต้องการสัมผัสระหว่างเครื่องกับกระจกตาของผู้ป่วยเหมือนเช่นในการตรวจด้วย IVCM⁽⁶⁷⁾

โดยสรุป เครื่อง AS-OCT สามารถถ่ายภาพกระจกตาและผิวดวงตาส່วนหน้าได้รวดเร็ว ไม่มีการสัมผัสกับดวงตาของผู้ป่วยและได้ความละเอียดของภาพสูง ในปัจจุบันเครื่อง AS-OCT มีส่วนช่วยในการวินิจฉัย การผ่าตัด การตรวจติดตามตลอดจนการพยากรณ์โรคของกระจกตาและผิวดวงตาหลากหลายชนิด

In vivo confocal microscopy

เครื่อง in vivo confocal microscopy (IVCM) ใช้เทคโนโลยีการถ่ายภาพแบบ confocal เพื่อถ่ายภาพเนื้อเยื่อของลูกตาส່วนหน้าโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณกระจกตา การถ่ายภาพด้วย IVCM สามารถให้รายละเอียดเล็ก ๆ ของเนื้อเยื่อในระดับเซลล์ได้ ในปัจจุบันใช้ช่วยในการบอก การเปลี่ยนแปลงของลูกตาส່วนหน้า ช่วยให้เข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงในโรคต่าง ๆ ช่วยในการวินิจฉัยและการติดตามการรักษาผู้ป่วยได้

1 ประวัติความเป็นมาและชนิดของเครื่อง IVCM

Confocal เป็นเทคนิคการถ่ายภาพโดยปรับให้เลนส์รับแสง (condenser lens) มีจุดโฟกัสเดียวกับเลนส์รับภาพ (objective lens) และปรับให้เลนส์รับภาพรับแสงที่ไม่โฟกัสน้อยที่สุดเพื่อให้สามารถถ่ายภาพที่มีความละเอียดและขนาดเล็กได้ การนำเทคนิค confocal มาพัฒนามีกล้องถ่ายภาพในมนุษย์ เรียกว่า IVCM

ด้วยเทคนิคการถ่ายภาพแบบ confocal ซึ่งต้องมีจุดโฟกัสของเลนส์ 2 ตัวในตำแหน่งเดียวกัน เพื่อให้ภาพมีความคมชัดมากที่สุด การถ่ายภาพลูกตาส່วนหน้าซึ่งโดยปกติจะมีการเคลื่อนไหวที่ได้ทั้งจากการกลอกตา การหายใจ และตามการเต้นของหัวใจส่งผลให้ภาพที่ได้ไม่คมชัด เครื่อง IVCM สำหรับถ่ายภาพลูกตาส່วนหน้าจึงมีการพัฒนาให้มีความไวในการถ่ายภาพสูง

นอกจากนี้แสงที่ใช้ในการถ่ายภาพไม่ควรทำให้เกิดการระคายเคืองหรืออันตรายต่อดวงตา เครื่อง IVCM ที่พัฒนาขึ้นเพื่อถ่ายภาพลูกตาส่วนหน้าในปัจจุบันมีทั้งหมด 3 ชนิด คือ

ก. Tandem scanning confocal microscope (TSCM)

TSCM เป็นเครื่อง IVCM รุ่นแรก ใช้การส่องสว่างแบบ point illumination ด้วยเทคนิคการถ่ายภาพของเครื่องจำเป็นต้องใช้แสงที่มีความเข้มแสงสูงจึงไม่เป็นที่นิยมนำมาใช้ในทางคลินิก

ข. Slit scanning confocal microscope (SSCM)

SSCM พัฒนาจากการถ่ายภาพแบบ point illumination ให้มีความกว้างมากขึ้นเป็นแบบ slit scan ทำให้ใช้ความเข้มแสงในการถ่ายภาพลดลง เครื่อง SSCM ที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน เช่น confoscan 3 และ confoscan 4

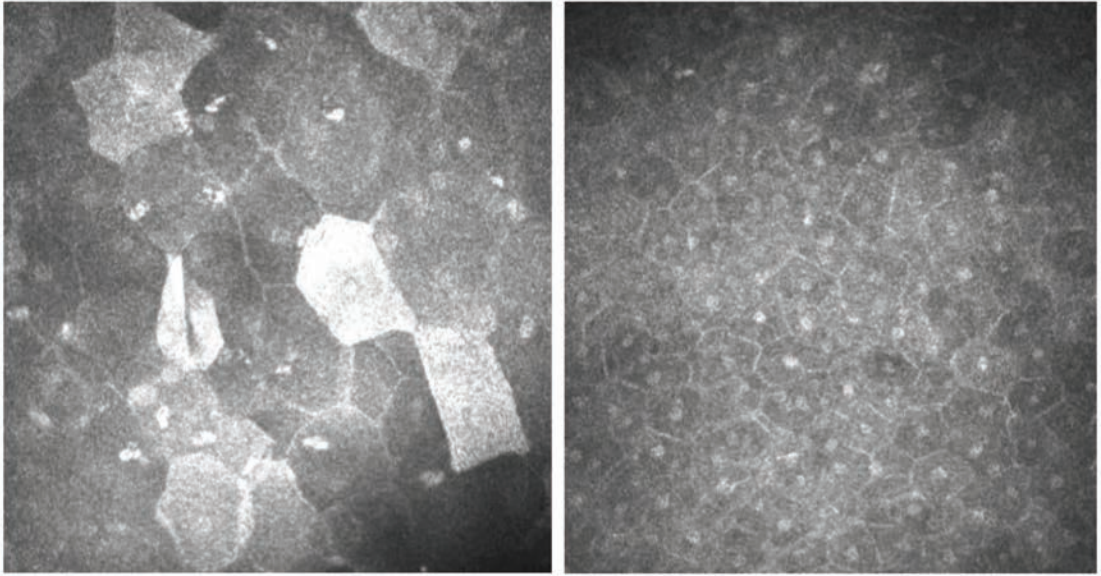
ค. Laser scanning confocal microscope (LSCM)

LSCM ใช้คลื่นแสง diode laser 670 นาโนเมตร ร่วมกับหลักการของ galvanometer ในการถ่ายภาพ ซึ่งด้วยหลักการนี้พบว่าภาพที่ได้มีความคมชัดมากกว่าภาพจากเครื่อง TSCM และ SSCM เครื่องที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน คือ Heidelberg retina tomogram III with rostock corneal module

2 ภาพ IVCM ในกระจกตาและเยื่อตาปกติ

เครื่อง IVCM จะให้ภาพของกระจกตาในแนว *en face* โดยสามารถแยกเป็นชั้นต่าง ๆ ของกระจกตา ดังนี้

ก. ชั้นผิวกระจกตา (corneal epithelial layer) เป็น nonkeratinized stratified squamous epithelium ซึ่งประกอบด้วย superficial cells, wing cell และ columnar basal cells โดยภาพถ่ายจาก IVCM จะเห็น superficial cells มีลักษณะเป็นเซลล์หลายเหลี่ยม (polygonal shape) ที่มีนิวเคลียสสว่างล้อมรอบด้วยวงสีดำ (bright nucleus surrounding by dark halo) ขนาด 40-50 ไมครอน การศึกษาความหนาแน่นของ superficial cells พบว่ามีความหนาแน่นตั้งแต่ 759-1,213 เซลล์ต่อตารางมม.^(68,69) (รูปที่ 17)

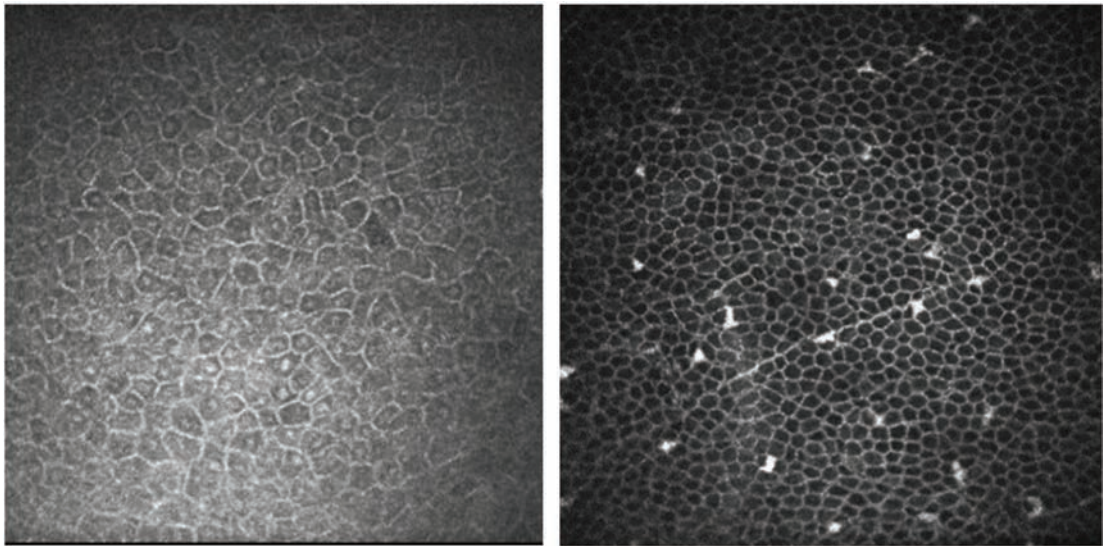


รูปที่ 17. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy รูปซ้ายแสดง shedding superficial corneal epithelium และรูปขวาแสดง superficial corneal epithelium

(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

Wing cells เป็นเซลล์ชั้นผิวที่อยู่ถัดจาก superficial cell ไปทางด้านในของกระจกตา ตรวจจาก IVCM พบเป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสและขอบของเซลล์สว่าง โดยไม่มีเงาดำรอบนิวเคลียส (bright cell nucleus and cell border) เซลล์ในชั้นนี้มีขนาดเล็กกว่า superficial cell มีความหนาแน่น $5,070 \pm 1,150$ เซลล์ต่อตารางมม.⁽⁷⁰⁾ (รูปที่ 18)

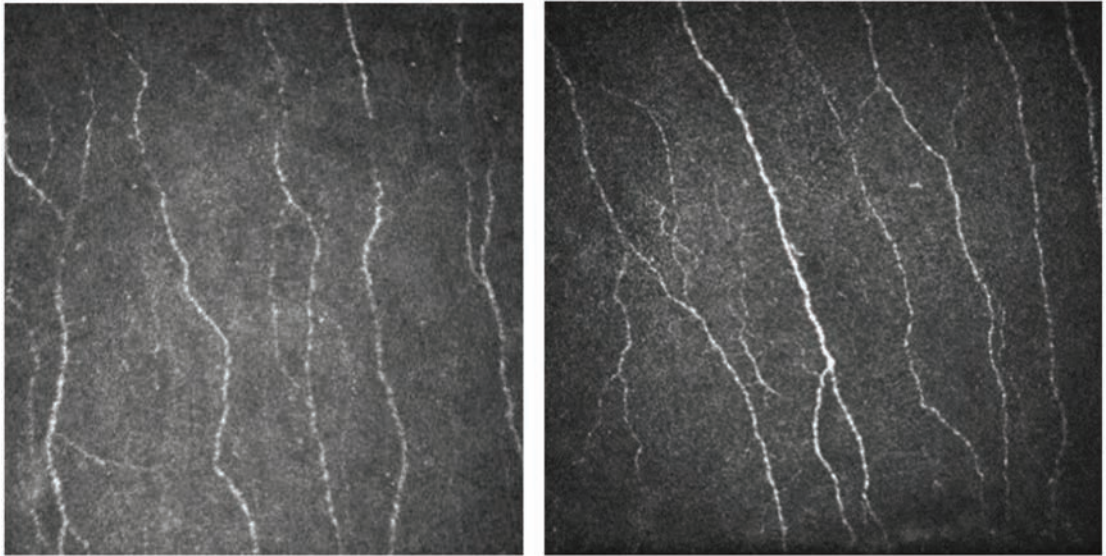
Basal cells เป็นเซลล์ที่อยู่ด้านในสุดของชั้นผิวกระจกตา มีขนาดเล็กกว่า superficial cell และ wing cell โดยมีขนาด 8-10 ไมครอน ตรวจจาก IVCM เห็นเป็นลักษณะเซลล์สีดำขนาดเล็ก มีขอบเขตของเซลล์เป็นสีขาวบาง ๆ ความหนาแน่นประมาณ 5,274-8,996 เซลล์ต่อตารางมม.^(70,71) ในชั้นของ basal cell และชั้นบาวแมนสามารถพบ dendritic cell ซึ่งเป็น antigen presenting cell ในกระจกตาปกติอาจไม่พบ dendritic cell หรือพบได้เล็กน้อยโดยมีความหนาแน่นของ dendritic cell ที่บริเวณกลางกระจกตาเท่ากับ 34 ± 3 เซลล์ต่อตารางมม.^(72,73) (รูปที่ 18)



รูปที่ 18. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy รูปซ้ายแสดง wing cell และขวาแสดง basal cell

(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาธิตพิสุกุล)

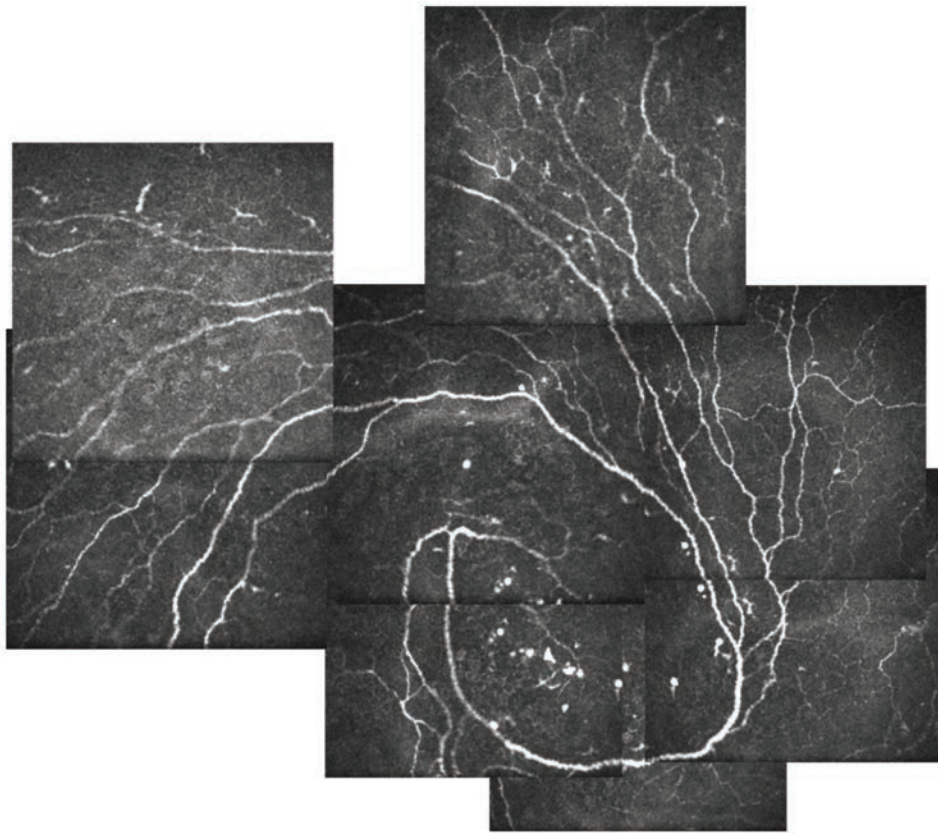
ข. Subbasal nerve plexus เป็นชั้นซึ่งมองเห็นเส้นประสาทของกระจกตาอยู่ใต้ต่อ basal epithelial cells โดยเส้นประสาทมีการเรียงตัวกันในแนวนาน มีการแตกกิ่งและเชื่อมต่อกันได้ ความหนาแน่นของเส้นประสาทในชั้นนี้มีรายงานตั้งแต่ 0.58-21.67 มม.ต่อตารางมม. ทั้งนี้ ความแตกต่างของความหนาแน่นอาจเนื่องมาจากวิธีการวัดความหนาแน่นและเครื่องมือที่ใช้ในการถ่ายภาพต่างกัน⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾ (รูปที่ 19) subbasal nerve plexus บริเวณ 1-2 มม.ใต้ต่อ corneal apex จะมีความหนาแน่นของเส้นประสาทมากขึ้นและการเรียงตัวของเส้นประสาทเป็นวง (vortex pattern)⁽⁷⁷⁾ (รูปที่ 20)



รูปที่ 19. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy แสดง subbasal nerve plexus โดยมีพื้นหลังเป็นชั้นบาวแมน

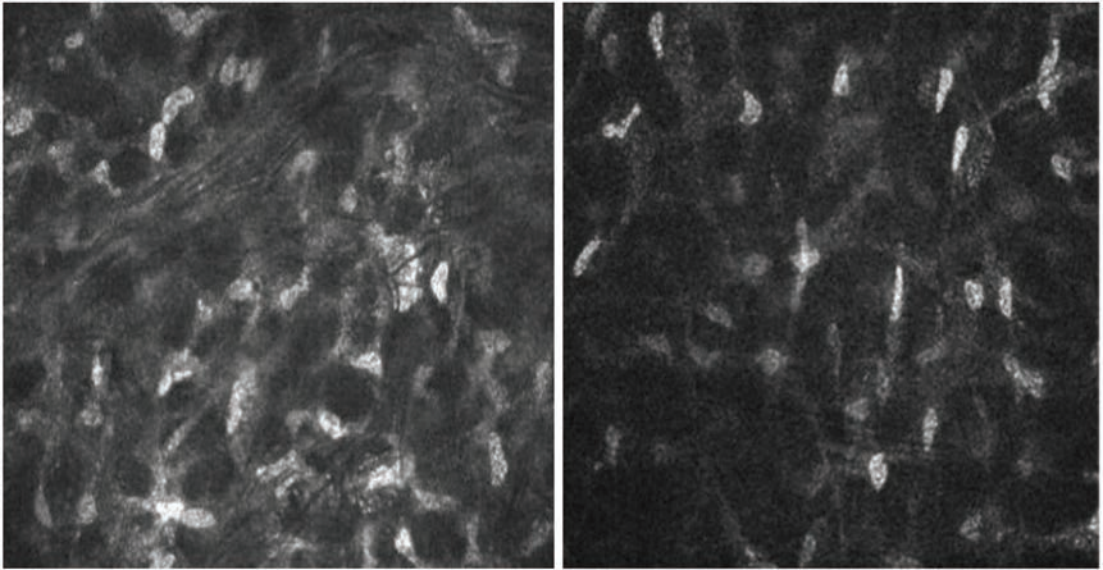
(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

ค. ชั้นบาวแมน (Bowman's layer) ชั้นบาวแมนเป็นชั้นซึ่งไม่มีเซลล์ ประกอบด้วยคอลลาเจนชนิดที่ 1 และ 3 โดยมีความหนาประมาณ 12 ไมครอน ภาพจาก IVCM เห็นชั้นนี้เป็นลักษณะ amorphous layer ไม่มีลักษณะของเซลล์ (รูปที่ 19)



รูปที่ 20. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy แสดง subbasal nerve plexus ลักษณะ vortex pattern (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

ง. ชั้นโครงของกระจกตา (stromal layer) ชั้นโครงของกระจกตาเป็นชั้นที่หนาที่สุดของกระจกตา ประกอบด้วย keratocytes คอลลาเจนและโปรทีโอไกลแคน การกระจายตัวของ keratocytes จะมีความหนาแน่นมากที่บริเวณกระจกตาส่นหน้า (anterior stroma) มากกว่าส่วนหลังของกระจกตา (posterior stroma) นอกจากนี้ในชั้นนี้มีเส้นประสาทของกระจกตาซึ่งเข้าสู่กระจกตาที่บริเวณกึ่งกลางของชั้นโครง (mid stroma) มีการแตกกิ่ง และวิ่งเข้าสู่กึ่งกลางและผิวกระจกตา การตรวจด้วย IVCM พบความหนาแน่นของ keratocytes ตั้งแต่ 258-1,058 เซลล์ต่อตารางมม. ในชั้นโครงของกระจกตาส่นหน้าและ 235-771 เซลล์ต่อตารางมม. ในชั้นโครงกระจกตาส่นหลัง^(68,69,78) (รูปที่ 21)

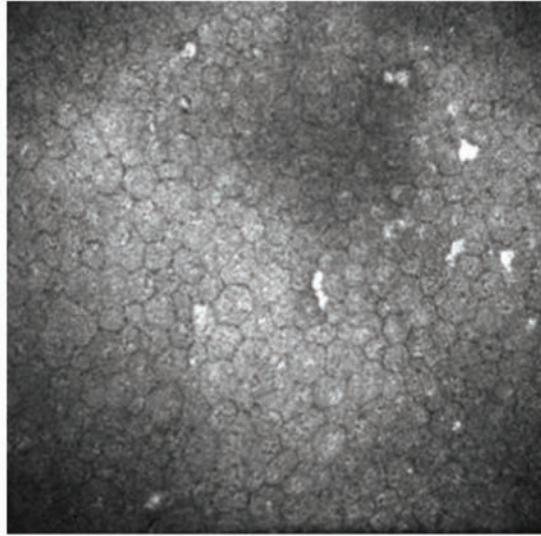


รูปที่ 21. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy รูปซ้ายแสดง anterior corneal stroma และรูปขวาแสดง posterior corneal stroma (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิรุณกุล)

จ. ชั้นเดซิเมท (Descemet's membrane) ชั้นเดซิเมทเป็น basement membrane ของเซลล์ชั้นในกระจกตา มีความหนา 3 ไมครอนเมื่อแรกเกิด และมีความหนาประมาณ 8-10 ไมครอนในผู้ใหญ่ การตรวจด้วย IVCM อาจไม่สามารถแยกชั้นนี้ออกจากชั้นโครงของกระจกตาได้

ฉ. ชั้นเยื่อบุโพรง (corneal endothelial layer) ชั้นเยื่อบุโพรงประกอบด้วยเซลล์ชั้นเดียว ซึ่งมีรูปร่างหกเหลี่ยม เห็นเซลล์มีลักษณะการสะท้อนของแสงมาก (hyperreflective) ขอบเซลล์มีการสะท้อนของแสงน้อย (hyporefective) โดยมีความหนาแน่นของเซลล์ในกระจกตาคิดตั้งแต่ 2,500-3,500 เซลล์ต่อตารางมม. (รูปที่ 22)

การถ่ายภาพ IVCM ของเยื่อตาพบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างเยื่อตาส่วน bulbar และ palpebral โดยสามารถตรวจพบเซลล์ชั้นผิว (superficial cell) และ basal cell มีความหนาแน่น $2,212 \pm 782$ เซลล์ต่อตารางมม. และ $2,368 \pm 741$ เซลล์ต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ในเยื่อตายังตรวจพบ antigen presenting cell หรือ Langerhans' cell ได้เช่นเดียวกับที่พบในกระจกตา การถ่ายภาพเยื่อตาส่วน palpebral สามารถตรวจพบต่อมไขมันที่เปลือกตาซึ่งอยู่ใต้ต่อเยื่อตาได้อีกด้วย



รูปที่ 22. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy แสดงชั้นเยื่อบุโพรงของกระจกตา (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

3 การเปลี่ยนแปลงในโรคต่าง ๆ และการนำไปใช้ทางคลินิก (clinical application)

ในปัจจุบันมีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของกระจกตาในโรคต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย ในที่นี้จะกล่าวถึงโรคที่มีการศึกษาและนำไปใช้อย่างมาก 2 โรค คือ โรคกระจกตาติดเชื้อ และโรคตาแห้ง

3.1 โรคกระจกตาติดเชื้อ (infectious keratitis)

โรคกระจกตาติดเชื้อพบได้บ่อยในประเทศกำลังพัฒนารวมถึงในประเทศไทย การวินิจฉัยถึงเชื้อก่อโรคที่ถูกต้องจะช่วยให้การรักษาเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว มีผลการรักษาและการพยากรณ์โรคที่ดีขึ้น สำหรับการวินิจฉัยหาเชื้อก่อโรควิธีมาตรฐานทำได้โดยเก็บสิ่งส่งตรวจจากกระจกตาเพื่อทำการเพาะเชื้อ อย่างไรก็ตามผลการเพาะเชื้อจำเป็นต้องใช้ระยะเวลาในการรอคอย ทำให้ผู้ป่วยบางรายมีอาการรุนแรงมากขึ้นและอาจสูญเสียการมองเห็นได้ การตรวจด้วย IVCN พบว่าสามารถตรวจหาเชื้อก่อโรคบางชนิดได้โดยตรง อาทิเช่น เชื้อรา เชื้อ *Acanthamoeba* เป็นต้น โดยภาพที่ได้จากการตรวจจะมีลักษณะที่ช่วยบอกถึงเชื้อก่อโรคดังกล่าว

3.1.1 โรคกระจกตาติดเชื้อรา (fungal keratitis)

โรคกระจกตาติดเชื้อราพบได้ทุกภูมิภาคทั่วโลก โดยเชื้อที่เป็นสาเหตุจะมีความแตกต่างกันไปตามสภาพภูมิอากาศและปัจจัยของผู้ป่วยเอง เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคกระจกตาติดเชื้อที่มีรายงานในปัจจุบันมีน้อยกว่า 100 species แบ่งตามกลุ่มของเชื้อราได้เป็น 2 กลุ่มหลัก

คือ filamentous fungus และ yeast โดยเชื้อที่พบเป็นสาเหตุของการติดเชื้อที่กระจกตาได้บ่อยในกลุ่ม filamentous fungus เช่น *Fusarium* species, *Aspergillus* species และเชื้อที่พบได้บ่อยในกลุ่ม yeast เช่น *Candida* species

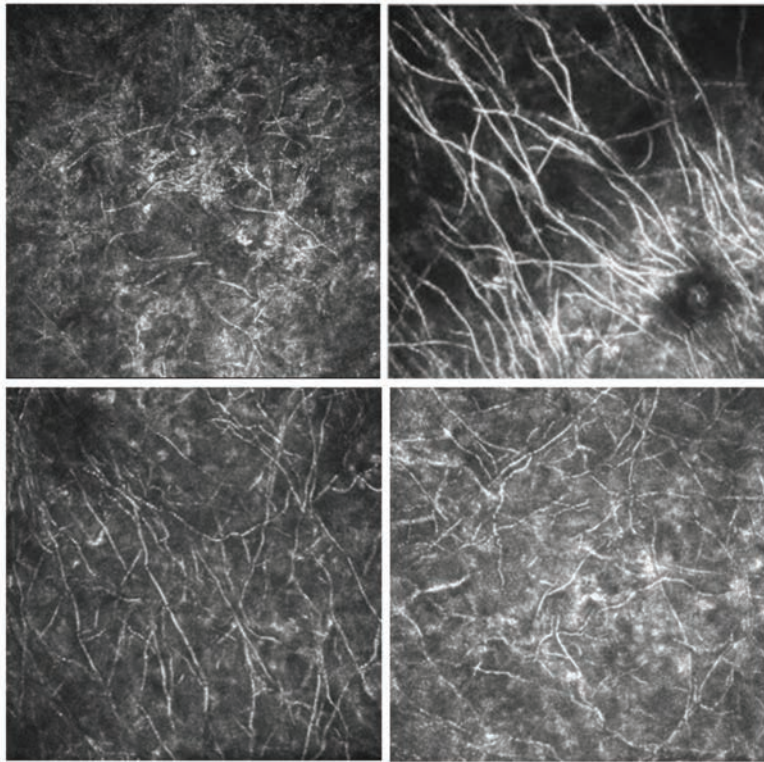
การถ่ายภาพด้วยเครื่อง IVCM เป็นการตรวจที่ช่วยในการวินิจฉัยโรคกระจกตาติดเชื้อราได้โดยสามารถตรวจพบเชื้อราในกลุ่ม filamentous fungi มีลักษณะเป็นเส้นที่มีการสะท้อนของแสงมาก เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 ไมครอน และมีความยาว 60-400 ไมครอน ตรวจพบการแตกกิ่งของเชื้อรา และเห็นลักษณะของ septate hyphae โดยกิ่งของราจะมีการสานกันแบบไขว้ทิศทาง (intersecting pattern) ได้ (รูปที่ 23) สำหรับเชื้อรา *Candida* species ตรวจพบเป็นราลักษณะกลมหรือรี มีการสะท้อนของแสงมาก ขนาดกว้าง 3-10 ไมครอน และยาว 10-40 ไมครอน^(77,79,80) (รูปที่ 24) การตรวจวิธีนี้ให้ผลได้อย่างรวดเร็วและไม่จำเป็นต้องตัดหรือขูดเนื้อเยื่อกระจกตาของผู้ป่วย อย่างไรก็ตามการถ่ายภาพและการแปลผลต้องอาศัยประสบการณ์ในการตรวจ โดยพบว่า การตรวจด้วยวิธีนี้มีความไวเท่ากับร้อยละ 42.9-88 และความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 87.5-91 โดยประสบการณ์ของผู้แปลผลการถ่ายภาพมีผลต่อการไวในการตรวจหาเชื้อ^(81,82)

3.1.2 โรคกระจกตาติดเชื้อ *Acanthamoeba* (*Acanthamoeba* keratitis)

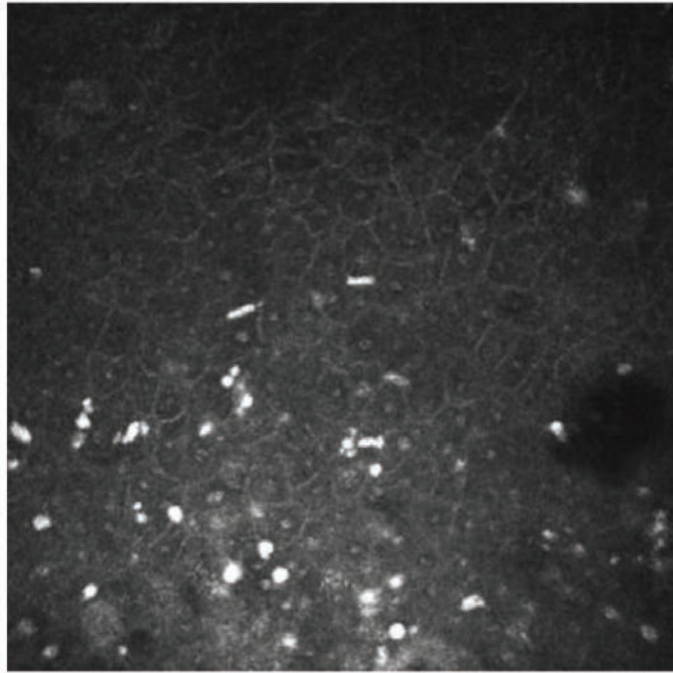
เชื้อ *Acanthamoeba* เป็นเชื้อในกลุ่มพยาธิ (parasite) พบได้ในรูป *Acanthamoeba* cyst ซึ่งมีขนาด 15-28 ไมครอน ลักษณะเป็น double-wall cyst และรูป trophozoites ซึ่งมีขนาด 25-40 ไมครอน⁽⁸³⁾ โรคกระจกตาติดเชื้อ *Acanthamoeba* พบได้ในผู้มีประวัติถูกน้ำสกปรก และพบได้มากขึ้นในกลุ่มผู้ใส่เลนส์สัมผัส พบว่าการวินิจฉัยโรคกระจกตาติดเชื้อ *Acanthamoeba* จากการตรวจร่างกายทำได้ยาก และการเพาะเชื้อมีอัตราการพบเชื้อที่ต่ำ การตรวจด้วย IVCM จึงมีส่วนช่วยในการวินิจฉัยโรคเป็นอย่างมาก

การตรวจด้วย IVCM พบ *Acanthamoeba* cyst มีลักษณะกลมหรือรี มีการสะท้อนของแสงมากและอาจเห็นลักษณะของ double-wall ได้ ขนาดของ *Acanthamoeba* cyst จากการถ่ายภาพด้วย IVCM เท่ากับ 10-26 ไมครอน (รูปที่ 25) โดยในช่วงที่เชื้อมีจำนวนมากมักอยู่รวมกันเป็นกลุ่มหรือเรียงตัวกันเป็นสาย และอาจมีการกระจุกตัวอยู่ใกล้กับเส้นประสาทของกระจกตา สำหรับ trophozoites พบมีรูปร่างรีไม่สม่ำเสมอ (ovoid irregular structures) มีความยาวประมาณ 23-25 ไมครอน และความกว้างประมาณ 11-19 ไมครอน⁽⁸⁴⁾ อย่างไรก็ตามลักษณะ trophozoites แยกได้ยากจากนิวเคลียสของ keratocyte ทำให้ไม่เป็นที่นิยมในการนำมาใช้บอกถึงการติดเชื้อ *Acanthamoeba* มากเท่ากับการตรวจหาลักษณะของ *Acanthamoeba* cyst นอกจากนี้ในกระจกตาที่มีการติดเชื้อ *Acanthamoeba* มีรายงานการพบลักษณะของเส้นประสาทที่มีการบวม โดยตรวจพบจาก IVCM ที่มีขนาดของเส้นประสาทใหญ่ขึ้นได้⁽⁸⁴⁾

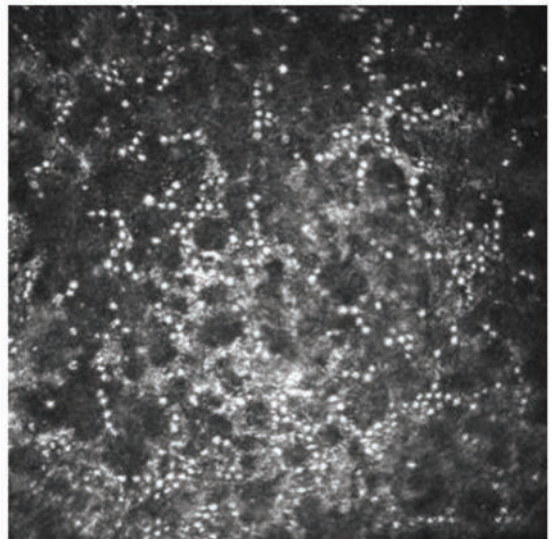
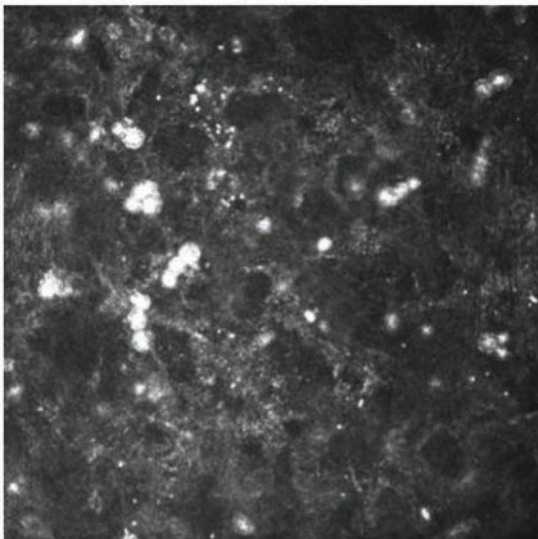
จากการศึกษาพบว่าการตรวจด้วย IVCM เพื่อวินิจฉัยโรคกระจกตาติดเชื้อ *Acanthamoeba* มีความไวร้อยละ 69.7-100 และความจำเพาะร้อยละ 77.3-100^(82,85,86) ซึ่งขึ้นกับประสบการณ์และความเชี่ยวชาญของการถ่ายภาพและการแปลผล การตรวจติดตามด้วย IVCM ยังสามารถใช้ช่วยในการตรวจติดตามผู้ป่วย การตอบสนองต่อยาที่ได้รับและช่วยในการตัดสินใจหยุดยา⁽⁸⁷⁾



รูปที่ 23. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy แสดง hyperreflective branching lesions ในชั้นโครงของกระจกตาในผู้ป่วยโรคกระจกตาติดเชื้อรา (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)



รูปที่ 24. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy แสดง hyperreflective ovoid lesions ในชั้นผิวของกระจกตาในผู้ป่วยโรคกระจกตาติดเชื้อ *Candida* (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาคิตพิษฐกุล)

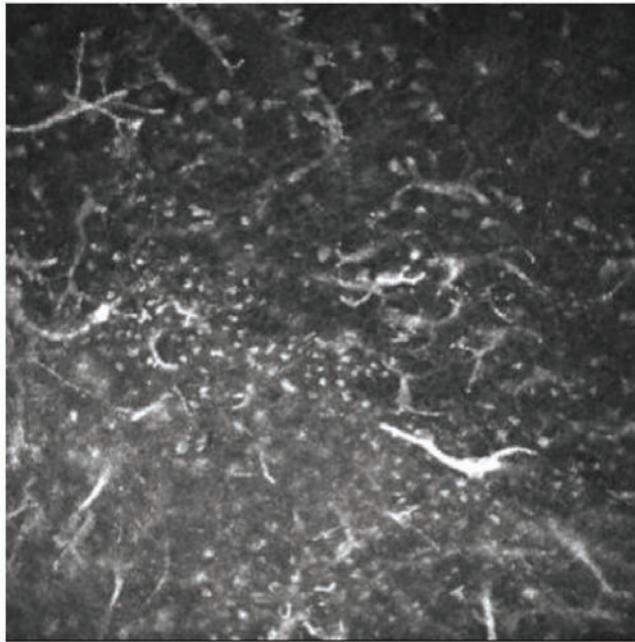


รูปที่ 25. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy แสดง hyperreflective round and ovoid lesions with double walls ในชั้นโครงของกระจกตาในผู้ป่วยโรคกระจกตาติดเชื้อ *Acanthamoeba* (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาคิตพิษฐกุล)

3.1.3 โรคกระจกตาติดเชื้อเริม (Herpes simplex keratitis)

โรคกระจกตาอักเสบจากการติดเชื้อเริมเป็นสาเหตุของการสูญเสียการมองเห็นที่พบได้บ่อยทั่วโลก เกิดจากการติดเชื้อเริมชนิดที่ 1 หรือ Herpes simplex virus การติดเชื้อเริมที่กระจกตามีอาการแสดงได้ตั้งแต่ การติดเชื้อบริเวณเซลล์ชั้นผิวของกระจกตา (Herpes simplex epithelial keratitis) การอักเสบของกระจกตาชั้นโครง (Herpes stromal keratitis) และการอักเสบของกระจกตาชั้นใน (Herpes simplex endotheliitis)

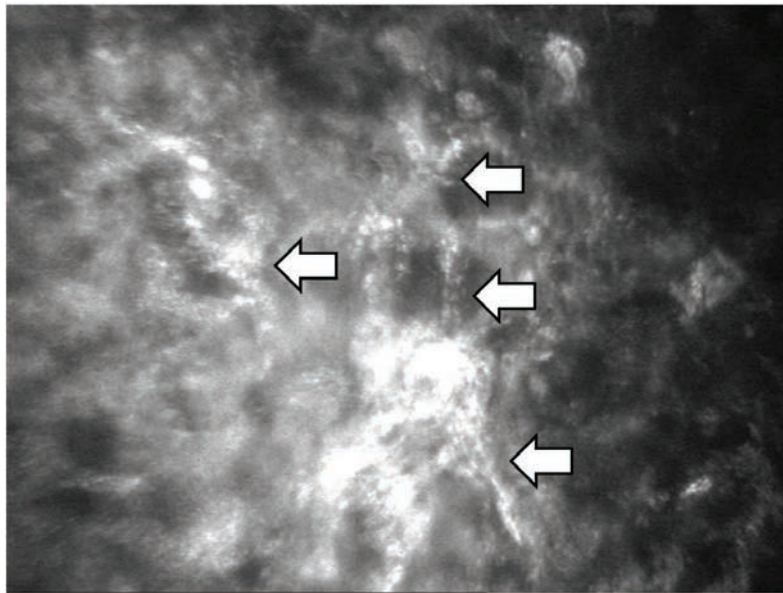
การตรวจด้วยเครื่อง IVCM ในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อเริมบริเวณเซลล์ชั้นผิวของกระจกตา พบว่าเซลล์กระจกตาชั้นผิวมีการสะท้อนแสงเพิ่มขึ้น เซลล์มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอโดยมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีความหนาแน่นของเซลล์ลดลง ร่วมกับการตรวจพบเซลล์อักเสบ (dendritic cell) บริเวณเซลล์ชั้นผิวด้านใน (deep epithelium) และบริเวณชั้น subbasal nerve plexus สำหรับความหนาแน่นของเส้นประสาทในชั้น subbasal nerve พบว่าลดลงทั้งในการติดเชื้อที่ชั้นผิว และชั้นโครงของกระจกตา^(72,88) (รูปที่ 26)



รูปที่ 26. รูป in vivo confocal microscopy แสดงเซลล์อักเสบของกระจกตา (dendritic cell) เพิ่มขึ้นจำนวนมากขึ้นในบริเวณเซลล์ชั้นผิวด้านในของกระจกตา (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

3.1.4 โรคกระจกตาติดเชื้อ microsporidia (microsporidia keratitis)

โรคกระจกตาติดเชื้อ microsporidia พบได้ไม่บ่อยนัก ผู้ป่วยมีอาการแสดงทางคลินิกได้ 2 รูปแบบ คือ microsporidial epithelial keratitis และ microsporidial stromal keratitis การวินิจฉัยโรค microsporidial epithelial keratitis สามารถทำได้โดยการขูดเซลล์ชั้นผิวกระจกตาเพื่อส่งตรวจหาเชื้อ ในขณะที่การขูดกระจกตาเพื่อตรวจหาเชื้อมีโอกาสในการพบเชื้อได้น้อยมาก ในผู้ป่วย microsporidial stromal keratitis ทำให้ผู้ป่วยมักได้รับการวินิจฉัยล่าช้า และการวินิจฉัยมักต้องทำการตัดเนื้อเยื่อกระจกตา (corneal biopsy) เพื่อส่งตรวจ การตรวจด้วยเครื่อง IVCM สามารถช่วยในการวินิจฉัยโรคกระจกตาติดเชื้อ microsporidia ได้โดยตรวจพบเชื้อ microsporidia มีลักษณะเป็นวงกลมขนาดเล็กที่มีการสะท้อนแสงมาก (small hyperreflective dot) อยู่ภายในเซลล์ชั้นโครงของกระจกตา (keratocyte) มีขนาดประมาณ 2 ไมครอน⁽⁸⁹⁾ (รูปที่ 27)



รูปที่ 27. รูป in vivo confocal microscopy แสดง small hyperreflective dot เรียงตัวใน keratocyte (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิสุกุล)

3.1.5 โรคกระจกตาติดเชื้อ *Nocardia* (*Nocardia* keratitis)

Nocardia เป็น aerobic, branching, beaded filamentous bacilli ซึ่งย้อมติดสี acid-fast bacilli พบได้มากในดิน การติดเชื้อ *Nocardia* ที่กระจกตาพบได้ไม่บ่อยและวินิจฉัยได้ยาก ผู้ป่วยมักได้รับการวินิจฉัยผิดพลาดและได้รับการรักษามานาน แต่อาการของโรคไม่ดีขึ้น การตรวจตาซึ่งแสดงลักษณะ wreath-like stromal infiltration ร่วมกับ satellite lesion ช่วยบ่งบอกถึงการติดเชื้อ *Nocardia* ได้ การตรวจด้วยเครื่อง IVCM สามารถช่วยในการวินิจฉัยโรคกระจกตา

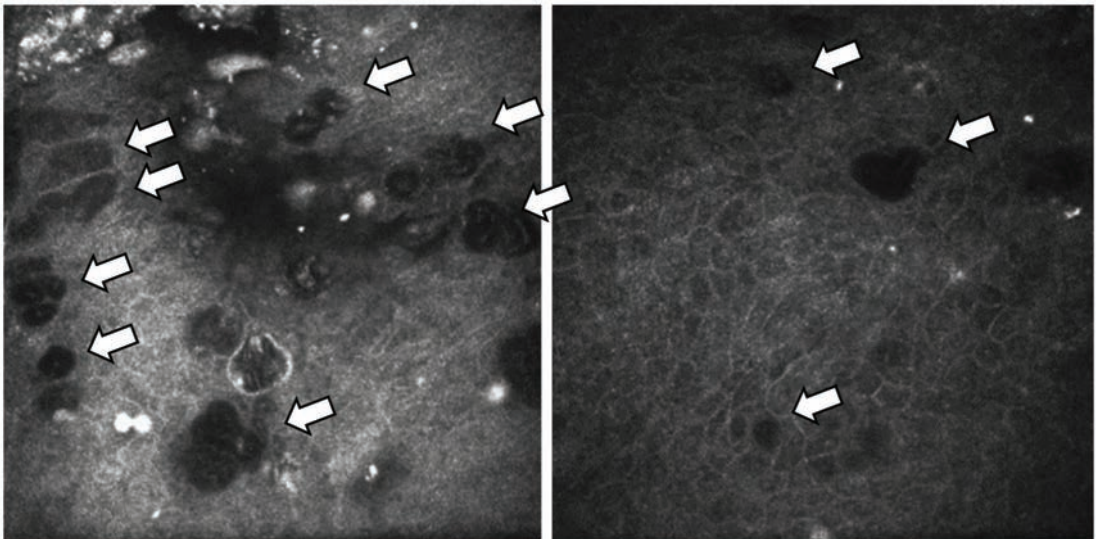
ติดเชื้อ *Nocardia* ได้เช่นกัน โดยในผู้ติดเชื้อ *Nocardia* จะพบลักษณะเส้นบาง ๆ ที่มีการสะท้อนของแสงมาก (thin and short filamentous line) โดยมักมีขนาดบางกว่า 1 ไมครอน ลักษณะเส้นเป็นตุ่มเล็ก ๆ เรียงกัน (beaded) และมีการแตกกิ่ง (branching)⁽⁹⁰⁾

3.2 โรคตาแห้งและโรคที่เกี่ยวข้อง (dry eye and associated conditions)

การตรวจด้วย IVCM ในโรคตาแห้งทำให้มีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงของผิวดวงตาในระดับเซลล์ในโรคตาแห้งได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีการนำไปใช้ในการวินิจฉัย การวางแผนการรักษา การตรวจติดตามผู้ป่วยและการประเมินผลจากการรักษาโรคตาแห้งได้ การเปลี่ยนแปลงของกระจกตาและเยื่อตาในโรคตาแห้ง ประกอบด้วย

3.2.1 การเปลี่ยนแปลงของเยื่อตาและเปลือกตา

Goblet cell เป็นเซลล์ที่แทรกอยู่ในชั้นผิวของเยื่อตา มีหน้าที่สร้างสารเมือก (mucin) ซึ่งเป็นส่วนประกอบหนึ่งของน้ำตา การศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเยื่อตาในคนไข้โรคตาแห้ง พบว่ามีการลดลงของ goblet cell ซึ่งตรวจพบเป็นเซลล์รูปร่างรีขนาดใหญ่และมีแสงสะท้อนมาก (large hyperreflective ovoid shaped cell) จากเครื่อง IVCM (รูปที่ 28) ความหนาแน่นของ goblet cell จากเครื่อง IVCM มีค่าเทียบเคียงได้กับการตรวจด้วยวิธี impression cytology ซึ่งเป็นวิธีการตรวจมาตรฐาน⁽⁹¹⁾



รูปที่ 28. รูป in vivo confocal microscopy แสดง goblet cell (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาทิตพิษฐกุล)

การศึกษากายวิภาคของเปลือกตาด้วยเครื่อง IVCM พบว่าสามารถถ่ายภาพเซลล์ อักเสบของเปลือกตาได้ทั้งในชั้นผิวของกระจกตาและเยื่อตา (epithelial immune cell) และในชั้น

โคร (stromal immune cell) มีการศึกษาพบว่าเซลล์อักเสบในชั้นผิวมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในคนไข้โรคต่อมไขมันที่เปลือกตาอุดตัน โดยเมื่อใช้ค่า 195.8 เซลล์ต่อตารางมม.จะให้ค่าความไวในการวินิจฉัยโรคต่อมไขมันที่เปลือกตาอุดตัน เท่ากับร้อยละ 94 และมีความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 92 โดยมี repeatability และ reproducibility ที่ดี การตรวจความหนาแน่นของเซลล์อักเสบของเยื่อตาจึงสามารถใช้ช่วยในการวินิจฉัยโรคต่อมไขมันที่เปลือกตาอุดตันได้ และยังมีการศึกษาพบว่าสามารถใช้ในการตรวจติดตามผู้ป่วยภายหลังการรักษาได้อีกด้วย⁽⁹²⁾ การศึกษาถึงเซลล์อักเสบในเยื่อตาของผู้ป่วยโรคตาแห้งยังพบว่ามีความเพิ่มมากขึ้นทั้งในผู้ป่วยโรคตาแห้งแบบ Sjogren และ non-Sjogren syndrome^(93,94)

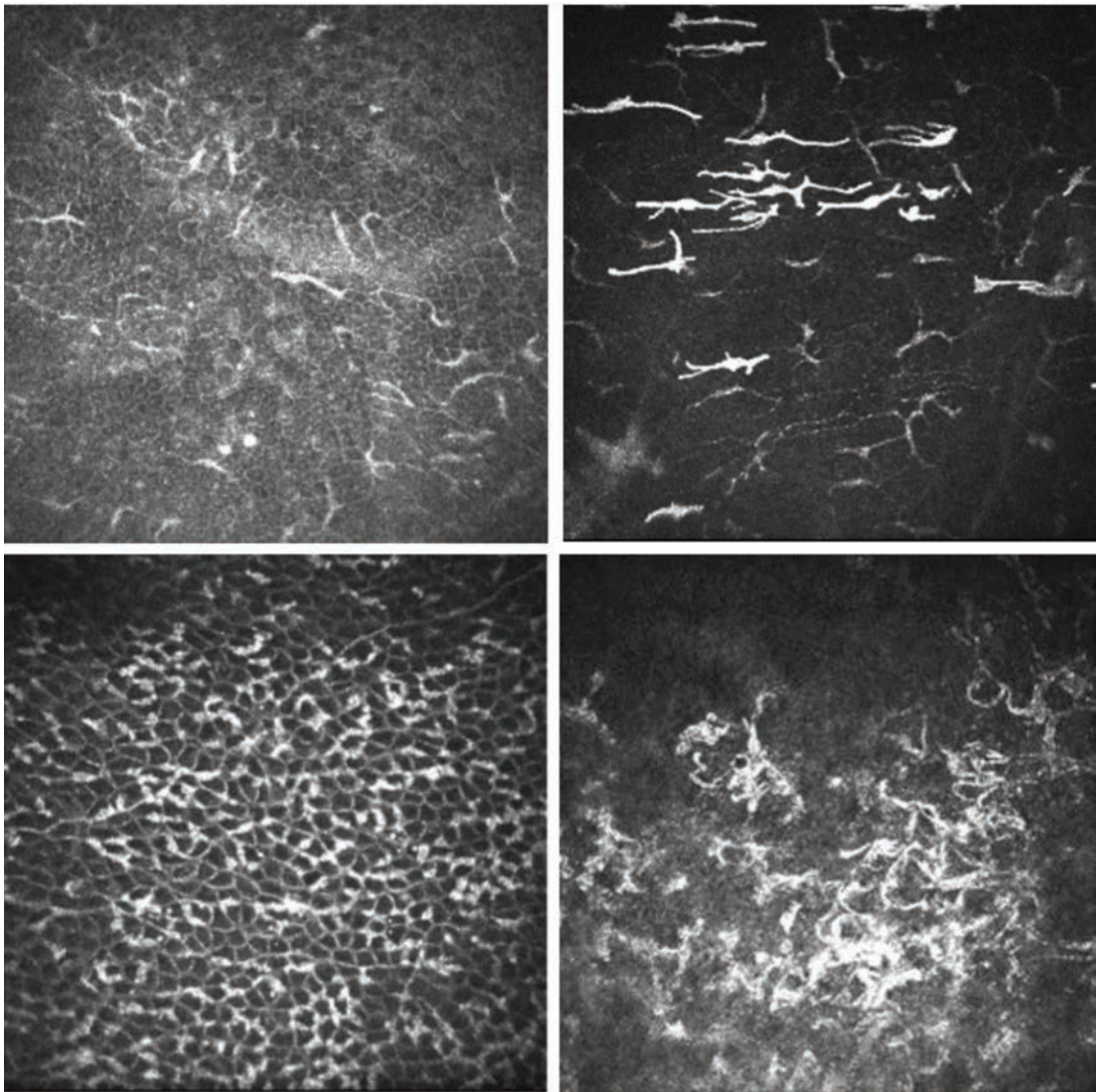
การเปลี่ยนแปลงของต่อมไขมันที่เปลือกตาในโรคต่อมไขมันที่เปลือกตาอุดตันจากการตรวจด้วย IVCM พบมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อข้างต่อมไขมันเห็นเป็นลักษณะของการสะท้อนแสงไม่สม่ำเสมอ (inhomogeneous periglandular interstices) ต่อมไขมันพบได้ทั้งที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (acinar wall enlargement) และที่มีขนาดเล็กลง (acinar wall atrophy) ลักษณะของไขมันภายในต่อมไขมันพบมีการสะท้อนแสงมากขึ้น (higher reflectivity) เมื่อเทียบกับไขมันปกติ และมีการเพิ่มขึ้นของเซลล์อักเสบบริเวณรอบ ๆ ต่อมไขมัน (periglandular inflammatory cell)^(95,96) สำหรับปริมาณของเซลล์อักเสบรอบต่อมไขมันพบสามารถนำมาใช้ในการตรวจติดตามผลการรักษาโรคต่อมไขมันที่เปลือกตาอักเสบได้อีกด้วย⁽⁹⁷⁾

3.2.2 การอักเสบของกระจกตา (corneal inflammation)

ในกระจกตาปกติสามารถพบเซลล์อักเสบชนิด immature dendritic cell หรือ Langerhans cell ซึ่งทำหน้าที่เป็น antigen presenting cell ของกระจกตา เซลล์ชนิดนี้พบได้ในพื้นที่ subbasal epithelium บริเวณกระจกตาส່วนริม และบริเวณกลางกระจกตา โดยพบได้เฉลี่ย 0-208 เซลล์ต่อตารางมม. บริเวณกระจกตาส່วนริม และพบได้ 9-64 เซลล์ต่อตารางมม.บริเวณกลางกระจกตา การถ่ายภาพ IVCM สามารถตรวจพบ dendritic cell ได้ โดยพบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกับการตรวจด้วยวิธี immunohistochemistry⁽⁹⁸⁾

ในภาวะที่มีการอักเสบของกระจกตาพบว่า dendritic cell (รูปที่ 29) จะมีการยืดยาวขึ้น มีจำนวนและขนาดมากขึ้นและมีการกระจายตัวไปยังตำแหน่งที่มีการอักเสบของกระจกตา⁽²⁷⁾ มีรายงานถึงการเพิ่มขึ้นของ dendritic cell ในโรคตาแห้งและโรคที่มีการอักเสบของกระจกตาหลายชนิด อาทิ โรคเยื่อตาอักเสบจากภูมิแพ้ โรคกระจกตาอักเสบติดเชื้อ การใส่เลนส์สัมผัส การใช้ยาต้อหิน เป็นต้น โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของ dendritic cell ในโรคตาแห้งจะมีการเพิ่มขึ้นบริเวณกลางกระจกตาในอัตราส่วนที่มากกว่าส่วนริมของกระจกตา⁽⁹⁹⁾

ในโรคตาแห้งพบว่าการเพิ่มขึ้นของ dendritic cell สัมพันธ์กับทั้งอาการและอาการแสดงของโรคตาแห้ง ตลอดจนสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารอักเสบ (inflammatory cytokine) ในน้ำตา ในปัจจุบันมีการใช้ความหนาแน่น รูปร่างและการกระจายตัวของ dendritic cell เข้ามาช่วยในการตรวจติดตามผลการรักษาโรคตาแห้ง⁽⁹⁸⁾ IVCM ยังมีการนำมาช่วยในการวินิจฉัยโรคตั้งแต่ในระยะต้น และใช้ในการตรวจติดตามโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของกระจกตาอื่น ๆ เช่น โรคกระจกตาดิดเชื้อ โรคกระจกต่าย้วยภายหลังการเลเซอร์แก้ไขสายตา (post LASIK ectasia) โรคกระจกตาอักเสบจากเชื้อเริม เป็นต้น

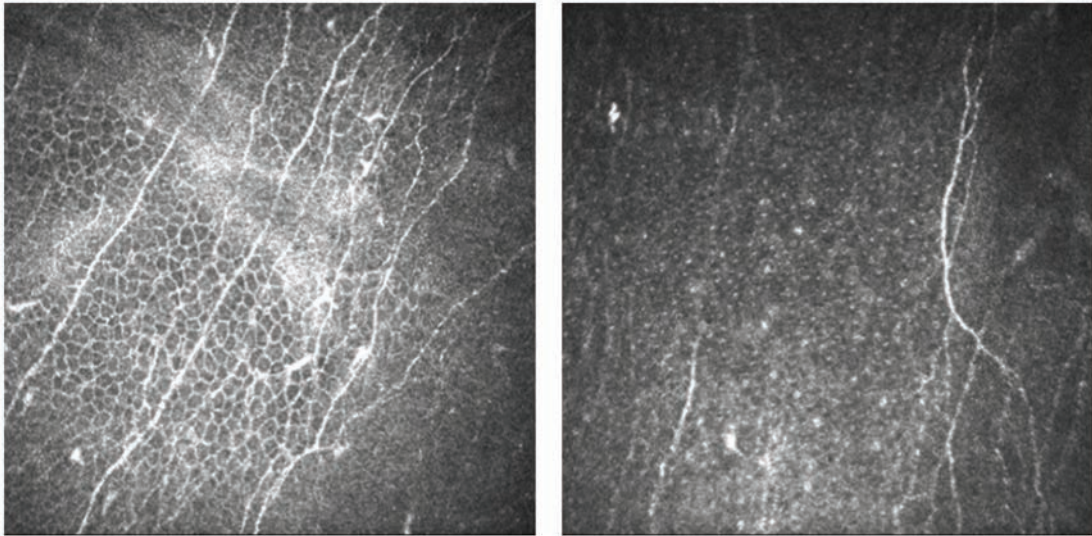


รูปที่ 29. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy แสดง dendritic cell ในผู้ป่วยโรคตาแห้ง (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิสุกุล)

3.2.3 การเปลี่ยนแปลงของเส้นประสาทที่กระจกตา (corneal nerve alteration)

กระจกตาเป็นอวัยวะที่มีเส้นประสาทหนาแน่นมากที่สุดในร่างกาย เส้นประสาทรับความรู้สึกที่กระจกตามีต้นกำเนิดมาจาก ophthalmic division ของ trigeminal nerve แยกแขนงเป็น nasociliary และ long ciliary nerve แล้วจึงเข้าสู่กระจกตา เส้นประสาทที่กระจกตามีหน้าที่ในการปกป้องดวงตาเมื่อเกิดสิ่งแปลกปลอมโดยทำให้เกิดการกระพริบตา (reflex blinking) ช่วยคงความแข็งแรงของเซลล์ชั้นผิวกระจกตา (corneal integrity) และมีส่วนช่วยในการสมานแผลของกระจกตา (corneal wound healing) การเปลี่ยนแปลงของเส้นประสาทที่กระจกตาพบได้ในโรคตาแห้งและโรคอื่น ๆ หลายโรค เช่น Fuch's corneal dystrophy โรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) โรคเบาหวาน เป็นต้น ในอดีตเราไม่สามารถทำการตรวจการเปลี่ยนแปลงของเส้นประสาทที่กระจกตาทางกายภาพได้หากไม่ทำการตัดเนื้อเยื่อกระจกตาออกมาตรวจ การตรวจเส้นประสาทของกระจกตาจะทำได้โดยการตรวจการทำงานของเส้นประสาทโดยการทดสอบความรู้สึกสัมผัสของกระจกตา (corneal sensation) ในปัจจุบันการตรวจด้วยเครื่อง IVCM สามารถนำมาใช้ในการประเมินลักษณะของเส้นประสาทที่กระจกตาได้โดยทำการตรวจประเมินเส้นประสาทของกระจกตาในชั้น subbasal nerve plexus ซึ่งสามารถประเมินได้ในหลายแง่มุม ดังนี้

ความหนาแน่นของเส้นประสาท (nerve fiber density) โดยทำการวัดความยาวของเส้นประสาททั้งหมดต่อตารางมิลลิเมตร จากการศึกษาในผู้ป่วยโรคตาแห้งพบมีรายงานทั้งกลุ่มที่มีการลดลง การเพิ่มขึ้นและกลุ่มที่ไม่พบความแตกต่างของความหนาแน่นของเส้นประสาทเมื่อเปรียบเทียบกับกระจกตาปกติ ซึ่งอาจเนื่องมาจากระดับความรุนแรงของโรคและระยะเวลาที่เป็นโรคตาแห้งไม่เท่ากันในแต่ละการศึกษา อย่างไรก็ตามการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าความหนาแน่นของเส้นประสาทที่กระจกตาจะลดลงในผู้ป่วยโรคตาแห้ง⁽¹⁰⁰⁻¹⁰³⁾ การลดลงของความหนาแน่นของเส้นประสาทยังพบได้ในภาวะอื่น ๆ เช่น ภายหลังการผ่าตัดปลูกถ่ายกระจกตา ภายหลังการเลเซอร์แก้ไขสายตา ภายหลังการติดเชื้อที่กระจกตา โรคเบาหวาน เป็นต้น^(77,104) (รูปที่ 30)

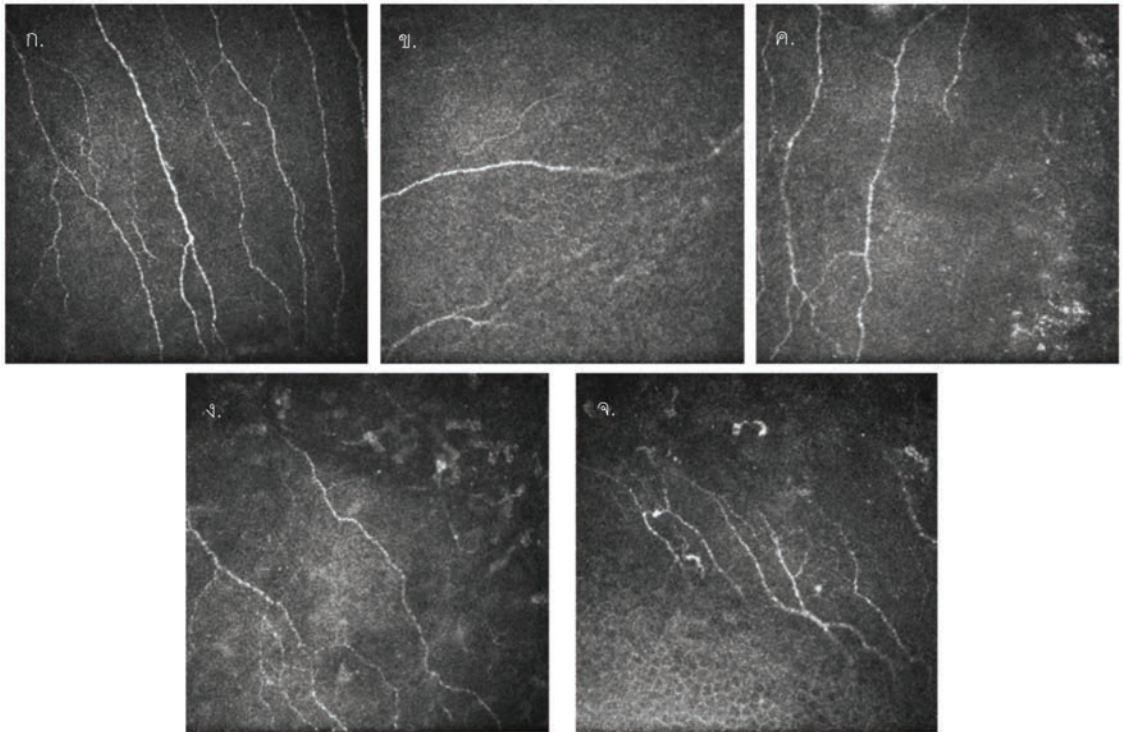


รูปที่ 30. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy รูปซ้ายแสดง subbasal nerve plexus ในกระจกตาปกติ และรูปขวาแสดง subbasal nerve plexus ลดลงในผู้ป่วยโรคตาแห้ง (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

อัตราการแตกกิ่งของเส้นประสาท (nerve branching density) วัดจากจำนวนการแตกกิ่งของเส้นประสาทต่อตารางมิลลิเมตร พบว่ามีการลดลงในโรคตาแห้งเมื่อเทียบกับกระจกตาปกติ⁽⁷⁷⁾

ความคดเคี้ยวของเส้นประสาท (nerve tortuosity) ความคดเคี้ยวของเส้นประสาท ทำการศึกษาลักษณะความคดเคี้ยวของเส้นประสาทจากการตรวจด้วย IVCM โดยแบ่งความคดเคี้ยวออกเป็น 5 ระดับ⁽¹⁰⁵⁾ (รูปที่ 31) ดังนี้

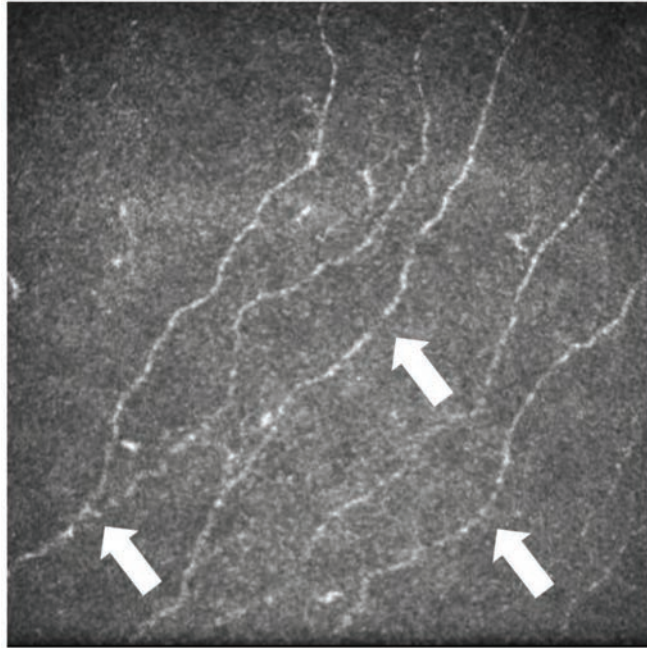
- ระดับ 0 เส้นประสาทเกือบเป็นเส้นตรง
- ระดับ 1 มีความคดเคี้ยวของเส้นประสาทเล็กน้อย
- ระดับ 2 มีความคดเคี้ยวของเส้นประสาทปานกลาง พบมีการเปลี่ยนทิศทางของเส้นประสาทในมุมแคบ ๆ
- ระดับ 3 มีความคดเคี้ยวของเส้นประสาทค่อนข้างมาก พบมีการเปลี่ยนทิศทางของเส้นประสาทในมุมกว้าง
- ระดับ 4 มีความคดเคี้ยวของเส้นประสาทมาก พบมีการเปลี่ยนทิศทางแบบทันทีและพบได้บ่อย



รูปที่ 31. การแบ่งระดับความคดเคี้ยวของเส้นประสาท ก. ระดับ 0 ข. ระดับ 1 ค. ระดับ 2 ง. ระดับ 3 จ. ระดับ 4 (ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

การศึกษาถึงความสัมพันธ์ของความคดเคี้ยวของเส้นประสาทกับระดับความรู้สึกของกระจกตาพบว่า เมื่อเส้นประสาทมีระดับความคดเคี้ยวมากขึ้นสัมพันธ์กับระดับความรู้สึกของกระจกตาที่ลดลง อย่างไรก็ตามการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความคดเคี้ยวของเส้นประสาทกับอาการและอาการแสดงของโรคตาแห้งยังได้ผลไม่เป็นที่แน่นอน กล่าวคือ มีทั้งการศึกษาที่พบว่ามีความสัมพันธ์^(101,106) และการศึกษาที่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าว⁽¹⁰⁷⁾ ข้อจำกัดของการศึกษาความคดเคี้ยวของเส้นประสาท คือ การประเมินความรุนแรงไม่มีระดับการประเมินที่ชัดเจนมากนัก (subjective assessment) ทำให้อาจมีความคลาดเคลื่อนในการประเมินได้ง่าย

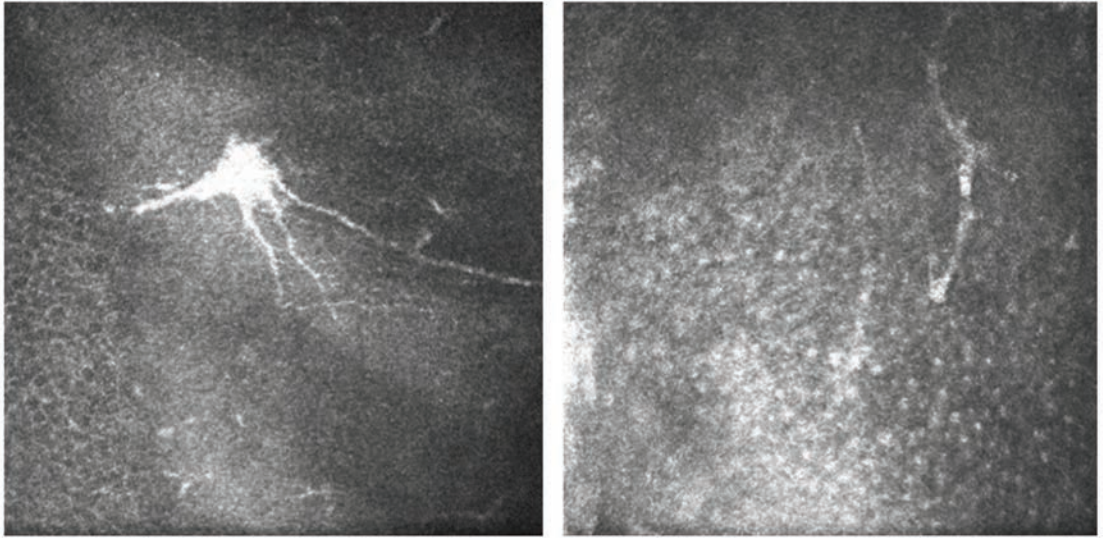
จำนวนตุ่มของเส้นประสาท (nerve beading) (รูปที่ 32) การนับจำนวนตุ่ม (beading) ของเส้นประสาทในชั้น subbasal nerve จากภาพถ่าย IVCM พบว่าผู้ป่วยโรคตาแห้งมีจำนวนตุ่มของเส้นประสาทเพิ่มมากขึ้น โดยในโรคตาแห้งแบบ Sjogren syndrome พบได้มากกว่าคนไข้โรคตาแห้งที่ไม่ใช่ Sjogren syndrome การเกิดตุ่มของเส้นประสาทที่เพิ่มขึ้นเชื่อว่าสัมพันธ์กับการถูกทำลายของเส้นประสาทจากโรคตาแห้ง หรือเป็นการปรับตัวเพิ่มการทำงานของเส้นประสาทเพื่อช่วยควบคุมให้เซลล์ชั้นผิวกระจกตาอยู่ในภาวะปกติ (epithelial trophism)⁽¹⁰⁸⁻¹¹⁰⁾ มีการศึกษาที่พบว่าตุ่มของเส้นประสาทลดจำนวนลงได้เมื่อผู้ป่วยได้รับการรักษาโรคตาแห้ง^(107,111)



รูปที่ 32. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy แสดงตุ่มของเส้นประสาท (nerve beading)
(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาทิตพิสุกุล)

Microneuroma หมายถึง ตำแหน่งที่มีการสิ้นสุดของเส้นประสาทอย่างทันที (รูปที่ 33) เห็นเป็นต่อของเส้นประสาทจากภาพถ่าย IVCM มีการศึกษาพบว่า microneuroma สัมพันธ์กับอาการปวดแบบ corneal neuropathy และเมื่อทำการรักษาด้วย autologous serum ผู้ป่วยมีอาการปวดน้อยลง ร่วมกับพบว่า microneuroma ลดลงเช่นกัน⁽¹¹²⁾

โดยสรุปจากการตรวจด้วยเครื่อง IVCM พบว่าเส้นประสาทที่กระจกตามีการเปลี่ยนแปลงทั้งในแง่ของความหนาแน่นและรูปร่าง ซึ่งสัมพันธ์กับการทำงานของเส้นประสาท อย่างไรก็ตามเนื่องจากเครื่อง IVCM ชนิดต่าง ๆ ให้ความละเอียดของภาพแตกต่างกัน ดังนั้นค่าที่ได้จากเครื่อง laser-scanning IVCM, slit-scanning IVCM และ tandem-scanning IVCM จะมีความแตกต่างกันตามไปด้วย ความรุนแรงของโรคตาแห้งและระยะเวลาในการเป็นโรคก็ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเส้นประสาทที่ตรวจพบได้เช่นกัน



รูปที่ 33. รูปจากเครื่อง in vivo confocal microscopy แสดง microneuroma
(ดัดแปลงจาก พญ.วรรณรัตน์ สาริตพิษฐกุล)

ข้อจำกัดของการตรวจเส้นประสาทที่กระจกตาด้วยเครื่อง IVCM คือ ความหนาแน่นและรูปร่างของเส้นประสาท ต้องใช้การวิเคราะห์รูปภาพเพิ่มเติมจากภาพถ่ายที่ได้โดยเครื่องไม่สามารถวิเคราะห์ให้ได้โดยอัตโนมัติ การตรวจติดตามเส้นประสาทในตำแหน่งเดิมและการถ่ายภาพกระจกตาสวนริมทำได้ยาก ด้วยเหตุผลดังกล่าว ทำให้การตรวจติดตามความหนาแน่นของเส้นประสาทที่กระจกตาในโรคตาแห้งและโรคอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องมักทำในการวิจัย เพื่อทราบถึงพยาธิสภาพที่เกิดขึ้นและยังไม่ได้นำมาใช้ในทางคลินิกมากนัก

3.2.4 การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ชั้นผิวกระจกตา

ชั้นผิวกระจกตามีส่วนสำคัญในการควบคุม ocular surface homeostasis ในโรคตาแห้งเซลล์ชั้นผิวกระจกตาจะมีการเปลี่ยนแปลงซึ่งสามารถตรวจพบได้ง่ายทางคลินิก สำหรับการตรวจเซลล์ชั้นผิวกระจกตาด้วยเครื่อง IVCM ในโรคตาแห้งพบว่าเซลล์ชั้นผิวชนิด superficial epithelial cell และ wing cell มีความหนาแน่นลดลง ในขณะที่เซลล์ชั้นผิวชนิด basal epithelial cell มีรายงานทั้งที่พบความหนาแน่นลดลงและเพิ่มขึ้นได้ โดยการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นของเซลล์ชั้นผิวพบได้มากกว่าในผู้ป่วยตาแห้งชนิด Sjogren^(108-110,113)

3.2.5 การเปลี่ยนแปลงของชั้นโครงกระจกตา

ชั้นโครงของกระจกตาในโรคตาแห้งมีการบางตัวลงร่วมกับมีการเปลี่ยนแปลงของ keratocyte โดยตรวจพบลักษณะ keratocyte ที่มีการสะท้อนแสงมากผิดปกติเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเชื่อ

ว่าเกิดจากการอักเสบของกระจกตากระตุ้นให้ keratocyte กลายเป็น activated keratocyte^(108,109)

เครื่อง IVCM ยังมีการนำไปใช้ศึกษาในโรคอื่น ๆ หลากหลายชนิด เช่น โรคกระจกตาเสื่อมจากพันธุกรรม (corneal dystrophy) โรคกระจกตาโค้ง การสमानแผลของกระจกตาทายหลังการผ่าตัดหรือการเลเซอร์ เป็นต้น อย่างไรก็ตามยังไม่มีการนำมาใช้ทางคลินิกมากนัก ข้อจำกัดของเครื่อง IVCM ในปัจจุบัน คือ การที่เครื่องไม่สามารถถ่ายภาพในตำแหน่งเดิมเพื่อตรวจติดตาม และยังไม่มีระบบในการวิเคราะห์ภาพอัตโนมัติ ทำให้การศึกษากการเปลี่ยนแปลงของกระจกตา เช่น ความหนาแน่นของเซลล์อักเสบ ความหนาแน่นของเส้นประสาท ต้องอาศัยการนำมาภาพมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องมืออื่น

โดยสรุปในปัจจุบันการถ่ายภาพผิวดวงตามีการพัฒนาไปมาก สามารถนำไปใช้ในการวินิจฉัย การรักษาและการตรวจติดตามผู้ป่วยได้อย่างแม่นยำ นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผิวดวงตาในโรคต่าง ๆ ได้อีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Izatt JA, Hee MR, Swanson EA, Lin CP, Huang D, Schuman JS, et al. Micrometer-scale resolution imaging of the anterior eye in vivo with optical coherence tomography. Arch Ophthalmol 1994;112:1584-9.
2. Nanji AA, Sayyad FE, Galor A, Dubovy S, Karp CL. High-Resolution Optical Coherence Tomography as an Adjunctive Tool in the Diagnosis of Corneal and Conjunctival Pathology. Ocul Surf 2015;13:226-35.
3. Kaliki S, Maniar A, Jakati S, Mishra DK. Anterior segment optical coherence tomography features of pseudoepitheliomatous hyperplasia of the ocular surface: a study of 9 lesions. Int Ophthalmol 2021;41:113-9.
4. Ong SS, Vora GK, Gupta PK. Anterior Segment Imaging in Ocular Surface Squamous Neoplasia J Ophthalmol 2016;2016:5435092.
5. Sayed-Ahmed IO, Palioura S, Galor A, Karp CL. Diagnosis and Medical Management of Ocular Surface Squamous Neoplasia. Expert Rev Ophthalmol 2017;12:11-9.
6. Shousha MA, Karp CL, Perez VL, Hoffmann R, Ventura R, Chang V, et al. Diagnosis and management of conjunctival and corneal intraepithelial neoplasia using ultra high-resolution optical coherence tomography. Ophthalmology 2011;118:1531-7.
7. Guilbert E, Saad A, Elluard M, Grise-Dulac A, Rouger H, Gatinel D. Repeatability of Keratometry Measurements Obtained With Three Topographers in Keratoconic and Normal Corneas. J Refract Surg 2016;32:187-92.

8. Li Y, Tan O, Brass R, Weiss JL, Huang D. Corneal epithelial thickness mapping by Fourier-domain optical coherence tomography in normal and keratoconic eyes. *Ophthalmology* 2012;119:2425-33.
9. Rattan SA, Anwar DS. Comparison of corneal epithelial thickness profile in dry eye patients, keratoconus suspect, and healthy eyes. *Eur J Ophthalmol* 2020;30:1506-11.
10. Repp DJ, Hodge DO, Baratz KH, McLaren JW, Patel SV. Fuchs' endothelial corneal dystrophy: subjective grading versus objective grading based on the central-to-peripheral thickness ratio. *Ophthalmology* 2013;120:687-94.
11. Wertheimer CM, Elhardt C, Wartak A, Luft N, Kassumeh S, Dirisamer M, et al. Corneal optical density in Fuchs endothelial dystrophy determined by anterior segment optical coherence tomography. *Eur J Ophthalmol* 2020;1120672120944796.
12. Bartuzel MM, Szczesna-Iskander DH, Iskander DR. Automatic dynamic tear meniscus measurement in optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 2014;5:2759-68.
13. Bai Y, Nichols JJ. Advances in thickness measurements and dynamic visualization of the tear film using non-invasive optical approaches. *Prog Retin Eye Res* 2017;58:28-44.
14. Yadav R, Lee KS, Rolland JP, Zavislan JM, Aquavella JV, Yoon G. Micrometer axial resolution OCT for corneal imaging. *Biomed Opt Express* 2011;2:3037-46.
15. Werkmeister RM, Alex A, Kaya S, Unterhuber A, Hofer B, Riedl J, et al. Measurement of tear film thickness using ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:5578-83.
16. King-Smith PE, Nichols JJ, Nichols KK, Fink BA, Braun RJ. Contributions of evaporation and other mechanisms to tear film thinning and break-up. *Optom Vis Sci* 2008;85:623-30.
17. Nichols JJ, Mitchell GL, King-Smith PE. Thinning rate of the precorneal and prelens tear films. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:2353-61.
18. Schmidl D, Witkowska KJ, Kaya S, Baar C, Faatz H, Nepp J, et al. The association between subjective and objective parameters for the assessment of dry-eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:1467-72.
19. Wozniak PA, Schmidl D, Bata AM, Fondi K, Witkowska KJ, Aranha Dos Santos V, et al. Effect of different lubricant eye gels on tear film thickness as measured with ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Acta Ophthalmol* 2017;95:e307-e13.
20. Akiyama-Fukuda R, Usui T, Yoshida T, Yamagami S. Evaluation of Tear Meniscus Dynamics Using Anterior Segment Swept-Source Optical Coherence Tomography After Topical Solution Instillation for Dry Eye. *Cornea* 2016;35:654-8.

21. Shen M, Li J, Wang J, Ma H, Cai C, Tao A, et al. Upper and lower tear menisci in the diagnosis of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:2722-6.
22. Shen M, Wang J, Tao A, Chen Q, Lin S, Qu J, et al. Diurnal variation of upper and lower tear menisci. *Am J Ophthalmol* 2008;145:801-6.
23. Wang J, Aquavella J, Palakuru J, Chung S. Repeated measurements of dynamic tear distribution on the ocular surface after instillation of artificial tears. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3325-9.
24. Cui L, Shen M, Wang J, Jiang J, Li M, Chen D, et al. Age-related changes in tear menisci imaged by optical coherence tomography. *Optom Vis Sci* 2011;88:1214-9.
25. Raj A, Dhasmana R, Nagpal RC. Anterior Segment Optical Coherence Tomography for Tear Meniscus Evaluation and its Correlation with other Tear Variables in Healthy Individuals. *J Clin Diagn Res* 2016;10:NC01-4.
26. Tung CI, Perin AF, Gumus K, Pflugfelder SC. Tear meniscus dimensions in tear dysfunction and their correlation with clinical parameters. *Am J Ophthalmol* 2014;157:301-10 e1.
27. Binotti WW, Bayraktutar B, Ozmen MC, Cox SM, Hamrah P. A Review of Imaging Biomarkers of the Ocular Surface. *Eye Contact Lens* 2020;46 Suppl 2:S84-S105.
28. Bandlitz S, Purslow C, Murphy PJ, Pult H. Lid-parallel conjunctival fold (LIPCOF) morphology imaged by optical coherence tomography and its relationship to LIPCOF grade. *Cont Lens Anterior Eye* 2019;42:299-303.
29. Bizheva K, Lee P, Sorbara L, Hutchings N, Simpson T. In vivo volumetric imaging of the human upper eyelid with ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *J Biomed Opt* 2010;15:040508.
30. Hwang HS, Park CW, Joo CK. Novel noncontact meibography with anterior segment optical coherence tomography: Hosik meibography. *Cornea* 2013;32:40-3.
31. Hwang HS, Shin JG, Lee BH, Eom TJ, Joo CK. In Vivo 3D Meibography of the Human Eyelid Using Real Time Imaging Fourier-Domain OCT. *PLoS One* 2013;8:e67143.
32. Liang Q, Pan Z, Zhou M, Zhang Y, Wang N, Li B, et al. Evaluation of Optical Coherence Tomography Meibography in Patients With Obstructive Meibomian Gland Dysfunction. *Cornea* 2015;34:1193-9.
33. Ang M, Baskaran M, Werkmeister RM, Chua J, Schmidl D, Aranha Dos Santos V, et al. Anterior segment optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res* 2018;66:132-56.
34. Le Q, Chen Y, Yang Y, Xu J. Measurement of corneal and limbal epithelial thickness by anterior segment optical coherence tomography and in vivo confocal microscopy. *BMC Ophthalmol* 2016;16:163.

35. Banayan N, Georgeon C, Grieve K, Borderie VM. Spectral-domain Optical Coherence Tomography in Limbal Stem Cell Deficiency. A Case-Control Study. *Am J Ophthalmol* 2018;190:179-90.
36. Edoth NA, El Maftouhi A, Djerada Z, Arndt C, Denoyer A. New model to better diagnose dry eye disease integrating OCT corneal epithelial mapping. *Br J Ophthalmol* 2021.
37. Liang Q, Le Q, Cordova DW, Tseng CH, Deng SX. Corneal Epithelial Thickness Measured Using Anterior Segment Optical Coherence Tomography as a Diagnostic Parameter for Limbal Stem Cell Deficiency. *Am J Ophthalmol* 2020;216:132-9.
38. Ehlers JP, Goshe J, Dupps WJ, Kaiser PK, Singh RP, Gans R, et al. Determination of feasibility and utility of microscope-integrated optical coherence tomography during ophthalmic surgery: the DISCOVER Study RESCAN Results. *JAMA Ophthalmol* 2015;133:1124-32.
39. Au J, Goshe J, Dupps WJ, Jr., Srivastava SK, Ehlers JP. Intraoperative Optical Coherence Tomography for Enhanced Depth Visualization in Deep Anterior Lamellar Keratoplasty From the PIONEER Study. *Cornea* 2015;34:1039-43.
40. Sng CC, Luengo Gimeno F, Mehta JS, Htoon HM, Tan DT. Intraoperative use of spectral-domain optical coherence tomography during Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. *Clin Ophthalmol* 2012;6:479-86.
41. Steven P, Le Blanc C, Velten K, Lankenau E, Krug M, Oelckers S, et al. Optimizing descemet membrane endothelial keratoplasty using intraoperative optical coherence tomography. *JAMA Ophthalmol* 2013;131:1135-42.
42. Ang M, Dubis AM, Wilkins MR. Descemet membrane endothelial keratoplasty: intraoperative and postoperative imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Case Rep Ophthalmol Med* 2015;2015:506251.
43. Fuentes E, Sandali O, El Sanharawi M, Basli E, Hamiche T, Goemaere I, et al. Anatomic Predictive Factors of Acute Corneal Hydrops in Keratoconus: An Optical Coherence Tomography Study. *Ophthalmology* 2015;122:1653-9.
44. Li Y, Chamberlain W, Tan O, Brass R, Weiss JL, Huang D. Subclinical keratoconus detection by pattern analysis of corneal and epithelial thickness maps with optical coherence tomography. *J Cataract Refract Surg* 2016;42:284-95.
45. Ortiz S, Perez-Merino P, Alejandro N, Gamba E, Jimenez-Alfaro I, Marcos S. Quantitative OCT-based corneal topography in keratoconus with intracorneal ring segments. *Biomed Opt Express* 2012;3:814-24.

46. Ang M, Sim DA, Keane PA, Sng CC, Egan CA, Tufail A, et al. Optical Coherence Tomography Angiography for Anterior Segment Vasculature Imaging. *Ophthalmology* 2015;122:1740-7.
47. Ang M, Sng C, Milea D. Optical coherence tomography angiography in dural carotid-cavernous sinus fistula. *BMC Ophthalmol* 2016;16:93.
48. Varma S, Shanbhag SS, Donthineni PR, Mishra DK, Singh V, Basu S. High-Resolution Optical Coherence Tomography Angiography Characteristics of Limbal Stem Cell Deficiency. *Diagnostics (Basel)* 2021;11.
49. Ang M, Foo V, Ke M, Tan B, Tong L, Schmetterer L, et al. Role of anterior segment optical coherence tomography angiography in assessing limbal vasculature in acute chemical injury of the eye. *Br J Ophthalmol* 2021 Mar 30;bjophthalmol-2021-318847. doi: 10.1136/bjophthalmol-2021-318847. Epub ahead of print.
50. Bizheva K, Tan B, MacLellan B, Hosseinaee Z, Mason E, Hileeto D, et al. In-vivo imaging of the palisades of Vogt and the limbal crypts with sub-micrometer axial resolution optical coherence tomography. *Biomed Opt Express* 2017;8:4141-51.
51. Falke K, Prakasam RK, Guthoff RF, Stachs O. [In vivo imaging of limbal epithelium and palisades of Vogt]. *Klin Monbl Augenheilkd* 2012;229:1185-90.
52. Grieve K, Ghoubay D, Georgeon C, Thouvenin O, Bouheraoua N, Paques M, et al. Three-dimensional structure of the mammalian limbal stem cell niche. *Exp Eye Res* 2015;140:75-84.
53. Bachmann B, Taylor RS, Cursiefen C. Corneal neovascularization as a risk factor for graft failure and rejection after keratoplasty: an evidence-based meta-analysis. *Ophthalmology* 2010;117:1300-5 e7.
54. Chang JH, Gabison EE, Kato T, Azar DT. Corneal neovascularization. *Curr Opin Ophthalmol* 2001;12:242-9.
55. Nampei K, Oie Y, Kiritoshi S, Morota M, Satoh S, Kawasaki S, et al. Comparison of ocular surface squamous neoplasia and pterygium using anterior segment optical coherence tomography angiography. *Am J Ophthalmol Case Rep* 2020;20:100902.
56. Bizheva K, Haines L, Mason E, MacLellan B, Tan B, Hileeto D, et al. In Vivo Imaging and Morphometry of the Human Pre-Descemet's Layer and Endothelium With Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:2782-7.
57. Hutchings N, Simpson TL, Hyun C, Moayed AA, Hariri S, Sorbara L, et al. Swelling of the human cornea revealed by high-speed, ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:4579-84.

58. Karimi AH, Wong A, Bizheva K. Automated detection and cell density assessment of keratocytes in the human corneal stroma from ultrahigh resolution optical coherence tomograms. *Biomed Opt Express* 2011;2:2905-16.
59. Dos Santos VA, Schmetterer L, Triggs GJ, Leitgeb RA, Groschl M, Messner A, et al. Super-resolved thickness maps of thin film phantoms and in vivo visualization of tear film lipid layer using OCT. *Biomed Opt Express* 2016;7:2650-70.
60. Werkmeister RM, Sapeta S, Schmidl D, Garhöfer G, Schmidinger G, Aranha dos Santos V, et al. Ultrahigh-resolution OCT imaging of the human cornea. *Biomed Opt Express* 2017;8:1221-39.
61. Fukuda S, Yamanari M, Lim Y, Hoshi S, Beheregaray S, Oshika T, et al. Keratoconus diagnosis using anterior segment polarization-sensitive optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:1384-91.
62. Gotzinger E, Pircher M, Dejaco-Ruhswurm I, Kaminski S, Skorpik C, Hitzenberger CK. Imaging of birefringent properties of keratoconus corneas by polarization-sensitive optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:3551-8.
63. Ju MJ, Tang S. Usage of polarization-sensitive optical coherence tomography for investigation of collagen cross-linking. *J Biomed Opt* 2015;20:046001.
64. Singh M, Han Z, Nair A, Schill A, Twa MD, Larin KV. Applanation optical coherence elastography: noncontact measurement of intraocular pressure, corneal biomechanical properties, and corneal geometry with a single instrument. *J Biomed Opt* 2017;22:20502.
65. Singh M, Li J, Han Z, Raghunathan R, Nair A, Wu C, et al. Assessing the effects of riboflavin/UV-A crosslinking on porcine corneal mechanical anisotropy with optical coherence elastography. *Biomed Opt Express* 2017;8:349-66.
66. Singh M, Li J, Vantipalli S, Han Z, Larin KV, Twa MD. Optical coherence elastography for evaluating customized riboflavin/UV-A corneal collagen crosslinking. *J Biomed Opt* 2017;22:91504.
67. Wartak A, Schenk MS, Buhler V, Kassumeh SA, Birngruber R, Tearney GJ. Micro-optical coherence tomography for high-resolution morphologic imaging of cellular and nerval corneal micro-structures. *Biomed Opt Express* 2020;11:5920-33.
68. Mustonen RK, McDonald MB, Srivannaboon S, Tan AL, Doubrava MW, Kim CK. Normal human corneal cell populations evaluated by in vivo scanning slit confocal microscopy. *Cornea* 1998;17:485-92.

69. Popper M, Morgado AM, Quadrado MJ, Van Best JA. Corneal cell density measurement in vivo by scanning slit confocal microscopy: method and validation. *Ophthalmic Res* 2004;36:270-6.
70. Eckard A, Stave J, Guthoff RF. In vivo investigations of the corneal epithelium with the confocal Rostock Laser Scanning Microscope (RLSM). *Cornea* 2006;25:127-31.
71. Harrison DA, Joos C, Ambrosio R, Jr. Morphology of corneal Basal epithelial cells by in vivo slit-scanning confocal microscopy. *Cornea* 2003;22:246-8.
72. Rosenberg ME, Tervo TM, Muller LJ, Moilanen JA, Vesaluoma MH. In vivo confocal microscopy after herpes keratitis. *Cornea* 2002;21:265-9.
73. Zhivov A, Stave J, Vollmar B, Guthoff R. In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243:1056-61.
74. Grupcheva CN, Wong T, Riley AF, McGhee CN. Assessing the sub-basal nerve plexus of the living healthy human cornea by in vivo confocal microscopy. *Clin Exp Ophthalmol* 2002;30:187-90.
75. Erie JC, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM. The effect of age on the corneal subbasal nerve plexus. *Cornea* 2005;24:705-9.
76. Patel DV, McGhee CN. Mapping of the normal human corneal sub-Basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:4485-8.
77. Niederer RL, McGhee CN. Clinical in vivo confocal microscopy of the human cornea in health and disease. *Prog Retin Eye Res* 2010;29:30-58.
78. Hollingsworth J, Perez-Gomez I, Mutalib HA, Efron N. A population study of the normal cornea using an in vivo, slit-scanning confocal microscope. *Optom Vis Sci* 2001;78:706-11.
79. Brasnu E, Bourcier T, Dupas B, Degorge S, Rodallec T, Laroche L, et al. In vivo confocal microscopy in fungal keratitis. *Br J Ophthalmol* 2007;91:588-91.
80. Chidambaram JD, Prajna NV, Larke N, Macleod D, Srikanthi P, Lanjewar S, et al. In vivo confocal microscopy appearance of *Fusarium* and *Aspergillus* species in fungal keratitis. *Br J Ophthalmol* 2017;101:1119-23.
81. Kheirkhah A, Syed ZA, Satitpitakul V, Goyal S, Muller R, Tu EY, et al. Sensitivity and Specificity of Laser-Scanning In Vivo Confocal Microscopy for Filamentous Fungal Keratitis: Role of Observer Experience. *Am J Ophthalmol* 2017;179:81-9.
82. Kanavi MR, Javadi M, Yazdani S, Mirdehghanm S. Sensitivity and specificity of confocal scan in the diagnosis of infectious keratitis. *Cornea* 2007;26:782-6.

83. Illingworth CD, Cook SD. Acanthamoeba keratitis. *Surv Ophthalmol* 1998;42:493-508.
84. Pfister DR, Cameron JD, Krachmer JH, Holland EJ. Confocal microscopy findings of Acanthamoeba keratitis. *Am J Ophthalmol* 1996;121:119-28.
85. Kheirkhah A, Satitpitakul V, Syed ZA, Muller R, Goyal S, Tu EY, et al. Factors Influencing the Diagnostic Accuracy of Laser-Scanning In Vivo Confocal Microscopy for Acanthamoeba Keratitis. *Cornea* 2018;37:818-23.
86. Tu EY, Joslin CE, Sugar J, Booton GC, Shoff ME, Fuerst PA. The relative value of confocal microscopy and superficial corneal scrapings in the diagnosis of Acanthamoeba keratitis. *Cornea* 2008;27:764-72.
87. Matsumoto Y, Dogru M, Sato EA, Katono Y, Uchino Y, Shimmura S, et al. The application of in vivo confocal scanning laser microscopy in the management of Acanthamoeba keratitis. *Mol Vis* 2007;13:1319-26.
88. Cavanagh HD, Petroll WM, Alizadeh H, He YG, McCulley JP, Jester JV. Clinical and diagnostic use of in vivo confocal microscopy in patients with corneal disease. *Ophthalmology* 1993;100:1444-54.
89. Sagoo MS, Mehta JS, Hau S, Irion LD, Curry A, Bonshek RE, et al. Microsporidium stromal keratitis: in vivo confocal findings. *Cornea* 2007;26:870-3.
90. Soleimani M, Masoumi A, Khodavaisy S, Heidari M, Haydar AA, Izadi A. Current diagnostic tools and management modalities of Nocardia keratitis. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2020;10:36.
91. Hong J, Zhu W, Zhuang H, Xu J, Sun X, Le Q, et al. In vivo confocal microscopy of conjunctival goblet cells in patients with Sjogren's syndrome dry eye. *Br J Ophthalmol* 2010;94:1454-8.
92. Wang YJ, Ke M. Meibomian Glands or Not? Identification of In Vivo and Ex Vivo Confocal Microscopy Features and Histological Correlates in the Eyelid Margin. *J Ophthalmol* 2020;2020:7516286.
93. Wakamatsu TH, Sato EA, Matsumoto Y, Ibrahim OM, Dogru M, Kaido M, et al. Conjunctival in vivo confocal scanning laser microscopy in patients with Sjogren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:144-50.
94. Villani E, Beretta S, Galimberti D, Viola F, Ratiglia R. In vivo confocal microscopy of conjunctival roundish bright objects: young, older, and Sjogren subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:4829-32.

95. Villani E, Beretta S, De Capitani M, Galimberti D, Viola F, Ratiglia R. In vivo confocal microscopy of meibomian glands in Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:933-9.
96. Matsumoto Y, Sato EA, Ibrahim OM, Dogru M, Tsubota K. The application of in vivo laser confocal microscopy to the diagnosis and evaluation of meibomian gland dysfunction. *Mol Vis* 2008;14:1263-71.
97. Matsumoto Y, Shigeno Y, Sato EA, Ibrahim OM, Saiki M, Negishi K, et al. The evaluation of the treatment response in obstructive meibomian gland disease by in vivo laser confocal microscopy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247:821-9.
98. Xu J, Chen P, Yu C, Liu Y, Hu S, Di G. In vivo Confocal Microscopic Evaluation of Corneal Dendritic Cell Density and Subbasal Nerve Parameters in Dry Eye Patients: A Systematic Review and Meta-analysis. *Frontiers in Medicine* 2021;8.
99. Lin H, Li W, Dong N, Chen W, Liu J, Chen L, et al. Changes in corneal epithelial layer inflammatory cells in aqueous tear-deficient dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:122-8.
100. Hosal BM, Ornek N, Zilelioglu G, Elhan AH. Morphology of corneal nerves and corneal sensation in dry eye: a preliminary study. *Eye (Lond)* 2005;19:1276-9.
101. Zhang M, Chen J, Luo L, Xiao Q, Sun M, Liu Z. Altered corneal nerves in aqueous tear deficiency viewed by in vivo confocal microscopy. *Cornea* 2005;24:818-24.
102. Villani E, Galimberti D, Viola F, Mapelli C, Del Papa N, Ratiglia R. Corneal involvement in rheumatoid arthritis: an in vivo confocal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:560-4.
103. Kheirkhah A, Satitpitakul V, Hamrah P, Dana R. Patients With Dry Eye Disease and Low Subbasal Nerve Density Are at High Risk for Accelerated Corneal Endothelial Cell Loss. *Cornea* 2017;36:196-201.
104. Alhatem A, Cavalcanti B, Hamrah P. In vivo confocal microscopy in dry eye disease and related conditions. *Semin Ophthalmol* 2012;27:138-48.
105. Oliveira-Soto L, Efron N. Morphology of corneal nerves using confocal microscopy. *Cornea* 2001;20:374-84.
106. Labbe A, Liang Q, Wang Z, Zhang Y, Xu L, Baudouin C, et al. Corneal nerve structure and function in patients with non-sjogren dry eye: clinical correlations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:5144-50.
107. Patel DV, Tavakoli M, Craig JP, Efron N, McGhee CN. Corneal sensitivity and slit scanning in vivo confocal microscopy of the subbasal nerve plexus of the normal central and peripheral human cornea. *Cornea* 2009;28:735-40.

108. Tuominen IS, Konttinen YT, Vesaluoma MH, Moilanen JA, Helinto M, Tervo TM. Corneal innervation and morphology in primary Sjogren's syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:2545-9.
109. Benitez del Castillo JM, Wasfy MA, Fernandez C, Garcia-Sanchez J. An in vivo confocal masked study on corneal epithelium and subbasal nerves in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:3030-5.
110. Villani E, Galimberti D, Viola F, Mapelli C, Ratiglia R. The cornea in Sjogren's syndrome: an in vivo confocal study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:2017-22.
111. Giannaccare G, Buzzi M, Fresina M, Velati C, Versura P. Efficacy of 2-Month Treatment With Cord Blood Serum Eye Drops in Ocular Surface Disease: An In Vivo Confocal Microscopy Study. *Cornea* 2017;36:915-21.
112. Aggarwal S, Kheirkhah A, Cavalcanti BM, Cruzat A, Colon C, Brown E, et al. Autologous Serum Tears for Treatment of Photoallodynia in Patients with Corneal Neuropathy: Efficacy and Evaluation with In Vivo Confocal Microscopy. *Ocul Surf* 2015;13:250-62.
113. Erdelyi B, Kraak R, Zhivov A, Guthoff R, Nemeth J. In vivo confocal laser scanning microscopy of the cornea in dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245:39-44.