

# ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ХИРУРГИИ РОГОВИЦЫ ГЛАЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *ex vivo*

DOI: 10.17691/stm2018.10.4.10

УДК 617.713–089.843

Поступила 3.07.2018 г.



**О.Ю. Комарова**, аспирант отдела трансплантационной и оптико-реконструктивной хирургии переднего отрезка глазного яблока<sup>1</sup>;

**К.Э. Лапшин**, научный сотрудник<sup>2</sup>;

**К.В. Бурдель**, врач-офтальмолог<sup>1</sup>;

**А.В. Шацких**, к.м.н., зав. лабораторией патологической анатомии и гистологии глаза<sup>1</sup>; врач-патологоанатом<sup>1</sup>;

**М.В. Зими́на**, аспирант отдела трансплантационной и оптико-реконструктивной хирургии переднего отрезка глазного яблока<sup>1</sup>;

**А.Н. Паштаев**, к.м.н., научный сотрудник отдела трансплантационной и оптико-реконструктивной хирургии переднего отрезка глазного яблока<sup>1</sup>;

**С.В. Новиков**, зам. генерального директора по производству<sup>3</sup>;

**С.К. Вартапетов**, ведущий научный сотрудник<sup>2</sup>;

**С.Б. Измайлова**, д.м.н., зав. отделом трансплантационной и оптико-реконструктивной хирургии переднего отрезка глазного яблока<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Минздрава России, Бескудниковский бульвар, 59а, Москва, 127486;

<sup>2</sup>Центр физического приборостроения Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН, Москва, Троицк, 108840;

<sup>3</sup>ООО «Научно-экспериментальное производство «Микрохирургия глаза»», Бескудниковский бульвар, 59а, главный корпус, корпус В, Москва, 127486

**Цель исследования** — оценка технической возможности и качества проведения различных видов инновационных хирургических вмешательств на роговице при помощи отечественной фемтосекундной лазерной установки «Фемто Визум» (ООО «Оптосистемы») в эксперименте *ex vivo*.

**Материалы и методы.** Сотрудниками Национального медицинского исследовательского центра «МНТК «Микрохирургия глаза»» совместно с ООО «НЭП «Микрохирургия глаза»» разработана технология хирургического вмешательства на роговице с имплантацией модели интрастромального кольца из полимерного материала для профилактики посткератопластического астигматизма. Создан новый окрашенный гелевый имплантат для введения в роговичный тоннель с целью коррекции дефектов радужной оболочки. Совместно с ООО «Оптосистемы» разработан алгоритм и соответствующее программное обеспечение для проведения фемтолазерной кератотомии в процессе лечения прогрессирующего кератоконуса. Данные процедуры выполнены с применением фемтосекундного лазера «Фемто Визум» на 23 донорских глазах, не прошедших отбор для кератопластики в донорском банке МНТК «Микрохирургия глаза». Для оценки возможности проведения задней послойной кератопластики с помощью установки «Фемто Визум» на 10 изолированных роговичных лоскутах исследовали качество поверхности заготовленных ультратонких трансплантатов.

**Результаты.** При реализации разработанной нами технологии проведения кератопластики с имплантацией интрастромального кольца выявлено полное просечение роговицы без образования тканевых мостиков и спаек. После проведения кератопигментации отмечено успешное фиксирование гелевого окрашенного имплантата в сформированном роговичном тоннеле, остальные зоны роговицы оставались интактными. В результате проведения фемтолазерной кератотомии зафиксировано успешное выполнение радиальных надрезов. Изучение качества поверхности ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики, полученного с применением фемтосекундного лазера, показало идентичную степень шероховатости с поверхностью среза, выполненного в глубоких слоях донорской роговицы с помощью механического микрокератома, что является стандартной процедурой.

**Заключение.** Применение фемтосекундной лазерной установки «Фемто Визум» в различных инновационных направлениях хирургии роговицы является эффективным и безопасным методом.

**Ключевые слова:** кератопластика; интрастромальное кольцо; кератопигментация; кератоконус; фемтолазерная кератотомия; ультратонкий трансплантат; фемтосекундный лазер.

**Как цитировать:** Komarova O.Yu., Lapshin K.E., Burdel K.V., Shatskikh A.V., Zimina M.V., Pashtaev A.N., Novikov S.V., Vartapetov S.K., Izmailova S.B. Innovative technologies in experimental corneal surgery *ex vivo*. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2018; 10(4): 84–93, <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.10>

Для контактов: Комарова Ольга Юрьевна, e-mail: ol.komarova91@gmail.com

English

## Innovative Technologies in Experimental Corneal Surgery *ex vivo*

**O.Yu. Komarova**, PhD Student, Department of Transplantation and Optical Reconstructive Surgery of Anterior Segment of the Eyeball<sup>1</sup>;

**K.E. Lapshin**, Researcher<sup>2</sup>;

**K.V. Burdel**, Ophthalmologist<sup>1</sup>;

**A.V. Shatskikh**, MD, PhD, Head of the Laboratory of Eye Pathology and Histology<sup>1</sup>; Pathologist<sup>1</sup>;

**M.V. Zimina**, PhD Student, Department of Transplantation and Optical Reconstructive Surgery of Anterior Segment of the Eyeball<sup>1</sup>;

**A.N. Pashtaev**, MD, PhD, Researcher, Department of Transplantation and Optical Reconstructive Surgery of Anterior Segment of the Eyeball<sup>1</sup>;

**S.V. Novikov**, Deputy Director-General in Charge of Production<sup>3</sup>;

**S.K. Vartapetov**, Leading Researcher<sup>2</sup>;

**S.B. Izmailova**, MD, DSc, Head of the Department of Transplantation and Optical Reconstructive Surgery of Anterior Segment of the Eyeball<sup>1</sup>

<sup>1</sup>S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, 59a Beskudnikovskiy Blvd, Moscow, 127486, Russia;

<sup>2</sup>Center for Physical Instrumentation, Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Troitsk, 108840, Russia;

<sup>3</sup>Scientific-Experimental Production "Eye Microsurgery" Ltd., 59a Beskudnikovskiy Blvd, Moscow, 127486, Russia

**The aim of the study** was to assess the feasibility and outcomes of surgical interventions on the cornea in *ex vivo* experiments using the Femto Visum femtosecond laser system (Optosystems Ltd., Russia).

**Materials and Methods.** This collective study was conducted by the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution together with the Scientific-Experimental Production "Eye Microsurgery" Ltd. We have developed a technology for surgical intervention on the cornea with the polymeric intrastromal ring implantation aimed to prevent post-keratoplastic astigmatism. To correct defects of the iris, an original colored gel implant was inserted into the corneal tunnel. With the participation of Optosystems Ltd., we developed an algorithm and related software for using femtolaser keratotomy in the treatment of progressive keratoconus. These interventions were performed with 23 donor (cadaver) eyes that had been earlier rejected for a possible use in human keratoplasty. To assess the feasibility of the posterior lamellar keratoplasty using Femto Visum, we tested the surface quality of the ultrathin grafts prepared from 10 isolated corneal flaps.

**Results.** The proposed keratoplasty technology and the implantation of the intrastromal ring resulted in a complete corneal penetration free from adverse tissue bridges or adhesions. Following the kerato-pigmentation procedure, the gel-colored implant was found stably held in the preformed corneal tunnel; the remaining cornea areas remained intact. The femtolaser-assisted keratotomy resulted in radial incisions at the pre-determined locations. According to the roughness parameter, the surface quality of the ultrathin grafts produced with the femtosecond laser assistance was similar to that of the standard samples produced with a mechanical microkeratome.

**Conclusion.** The use of the Femto Visum femtosecond laser system in innovative areas of corneal surgery is effective and safe.

**Key words:** keratoplasty; intrastromal ring; kerato-pigmentation; keratoconus; femtolaser keratotomy; ultrathin graft; femtosecond laser.

### Введение

В данной статье представлены результаты экспериментов *ex vivo*, в которых исследуются возможности использования в хирургии роговицы глаза фемтосекундной лазерной установки «Фемто Визум» (ООО «Оптосистемы», Россия). Исследования проводились по четырем направлениям: 1) профилактика посткератопластического астигматизма; 2) кератопигментация для коррекции дефектов радужки; 3) фемтолазерная кератотомия в лечении прогрессирующего кератоконуса; 4) изучение качества сформированного с помощью фемтолазера ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики.

1. При прозрачном приживлении трансплантата по-

сле выполнения сквозной кератопластики (СКП) или передней глубокой послойной кератопластики (ПГПК) послеоперационный астигматизм является одной из ведущих причин снижения зрительных функций пациента. Известные методы профилактики его возникновения включают использование трепанационных систем и фемтосекундного лазера для обеспечения более ровной и качественной трепанации роговицы реципиента и донорского корнеосклерального лоскута, изменение профиля среза с различными паттернами («гриб», «зигзаг»), изменение техники шовной фиксации трансплантата. Описан метод проведения СКП/ПГПК, при котором специальное интрастромальное кольцо (ИСК), изготовленное из сплава титана и других металлов, помещается в интерфейс меж-

ду донорской роговицей и роговицей реципиента [1]. При дальнейших исследованиях установлено, что нет существенной разницы в показателях посткератопластического астигматизма у пациентов с имплантацией ИСК и без его имплантации [2]. Описан способ профилактики послеоперационного астигматизма, включающий одномоментную имплантацию интрастромальных сегментов в диск донорской роговицы и проведение СКП или ПГПК [3]. Однако, несмотря на применение профилактических мер, величина астигматизма в послеоперационном периоде продолжает оставаться высокой и обуславливает актуальность поиска новых методов.

2. Существуют различные методы коррекции дефектов радужной оболочки: экстраокулярные — окрашенные контактные линзы; роговичные — кератопигментация, интрастромальные имплантаты; интраокулярные — искусственная радужка, интраокулярная линза с окрашенной гаптикой. Интрароговичные имплантаты впервые были предложены Р. Шоусе и представляли собой окрашенные в голубой цвет перфорированные кольцевидные пластины из полиметилметакрилата [4]. Имплантаты помещались в сформированный мануальным способом роговичный карман. Метод имеет ряд недостатков: низкую диафрагмирующую способность, возможное несоответствие профиля имплантата профилю роговицы, протрузию швов [5]. В ходе формирования роговичного кармана и введения имплантата также затрагивается центральная оптическая зона, что увеличивает риск развития вторичной дистрофии роговицы.

В МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова в 1986 г. исследовали окрашенный гидрогель для имплантации в слои роговицы. Все манипуляции происходили в роговице и не затрагивали интраокулярное пространство. К недостаткам этой технологии можно отнести плохую проницаемость, слабую диафрагмирующую способность [6]. Кератопигментацию (татуаж роговицы) как косметическую процедуру выполняют в течение продолжительного времени, но лишь совсем недавно появились сообщения об успешно проведенных операциях с использованием минеральных пигментов с лечебной целью. Выделяют поверхностную и интрастромальную (мануальную или с фемтолазерным сопровождением) техники кератопигментации [7]. Актуальность вопроса реабилитации пациентов с дефектами радужки различного генеза не вызывает сомнений, поскольку большинство из них — социально активные люди трудоспособного возраста. Жалобы на низкую остроту зрения в связи с засветами приводят к снижению качества жизни. Имплантация искусственной радужки не является методом выбора в лечении некоторых групп пациентов из-за своей травматичности и способов фиксации. Интерес представляет возможность коррекции дефектов радужки после иридэктомии по поводу но-

вообразования, так как имплантация искусственной радужки таким пациентам нежелательна в связи с возможностью травмирования послеоперационной зоны. Роговичный метод коррекции аниридии путем введения гелевого окрашенного имплантата в зону над дефектом радужки позволяет не прибегать к интраокулярному вмешательству.

3. Метод радиальной кератотомии для коррекции миопии и миопического астигматизма получил широкое распространение во второй половине XX в. во всем мире. В настоящее время данный вид вмешательства вытеснен более современными лазерными методами коррекции, однако в современной офтальмохирургии ряд исследователей продолжили использовать этот метод для коррекции аметропии у пациентов с кератоконусом. Эффективность метода была подтверждена результатами как зарубежных [8, 9], так и российских исследований [10, 11]. В 1997 г. итальянским офтальмологом М. Lombardi и его соратниками была представлена работа, доказывающая эффективность проведения асимметричной радиальной кератотомии у пациентов с кератоконусом различных стадий [12]. Позднее данная идея была доработана, и в 2016 г. М. Abbondanza представил результаты ретроспективного исследования проведения асимметричной радиальной кератотомии с последующим УФ-кросслинкингом, свидетельствующие о возможности коррекции аномалий рефракции и стабилизации кератэктатического процесса [13]. Ряд зарубежных исследователей также предоставляют данные об эффективности проведения радиальной кератотомии у пациентов с кератоконусом [14–16]. В процессе исследований был выявлен ряд осложнений, таких как незавершенное рубцевание в области насечки, врастание эпителия в зону насечек с образованием эпителиальных пробок и субэпителиального фиброза, что являлось причиной нестабильности эффекта и возможного снижения остроты зрения в последующем [15–17]. При проведении механической радиальной кератотомии также возможно образование микро- и макроперфорации [18]. Результаты указанных работ, свидетельствующие об эффективности радиальной кератотомии в лечении пациентов с кератоконусом различных стадий, а также имеющиеся характерные для данного вида техники осложнения служат материалом для разработки новых результативных методик проведения таких вмешательств, в том числе и с использованием фемтосекундного лазерного сопровождения хирургии роговицы.

4. Эндотелиально-эпителиальная дистрофия (ЭЭД) роговицы различной этиологии (вторичная ЭЭД, дистрофия Фукса, иридо-корнеальный эндотелиальный синдром) является одним из основных показаний к кератопластике в мире. Автоматизированная задняя послойная кератопластика, также известная как DSAEK (descemet's stripping automated endothelial keratoplasty), — практически «золотой стандарт» лечения ЭЭД, однако наиболее высокие зрительные

функции можно получить лишь при использовании так называемого ультратонкого трансплантата, у которого центральная толщина не превышает 130 мкм. Изготовление трансплантата такого рода стандартным методом — с помощью механического микрокератома — сопряжено с большим количеством технических сложностей, в связи с чем он нередко получается более толстым (что отрицательно сказывается на зрительных функциях) либо происходит перфорация и роговица выбраковывается [19–21]. Альтернативным методом в этом случае служит применение фемтосекундного лазера. Данная методика является более точной, но при формировании трансплантата с передней поверхности роговицы у нее отмечаются те же недостатки, что и у традиционной с применением микрокератома. К ним относятся: большая толщина периферической части трансплантата по сравнению с центральной, что приводит к гиперметропическому сдвигу рефракции и увеличивает шанс дислокации в послеоперационном периоде; слабая предсказуемость итоговой толщины трансплантата, обусловленная тем, что используемые ультразвуковые и оптические методы исследования толщины донорской роговицы имеют достаточно большую погрешность, связанную с сильной гидратацией донорского материала при хранении в консервационной среде; также, по всей видимости, возникают неточности, вызванные фокусировкой лазерного излучения на большие глубины [22, 23]. Решением проблемы является формирование трансплантата с эндотелиальной стороны роговицы.

**Цель исследования** — оценка технической возможности и качества проведения различных видов хирургических вмешательств на роговице с использованием лазера «Фемто Визум» в эксперименте *ex vivo*.

## Материалы и методы

Предлагаемый нами метод профилактики послеоперационного астигматизма включает имплантацию оригинального ИСК на подготовленное с помощью фемтосекундного лазера ложе роговицы реципиента. Совместно с ООО «НЭП «Микрохирургия глаза»» создана модель ИСК, состоящая из полимерного материала, с внешним диаметром от 6,5 до 8,5 мм. Была разработана методика градации величины трепанационных разрезов. Одномоментно с проведением СКП или ПГПК с профилем среза по типу «гриб» на остаточной периферической части роговицы реципиента формировали интраламеллярный карман. Имплантацию ИСК выполняли в сформированный карман, внешний диаметр ИСК соответствовал внешнему диаметру данного кармана. После этого трансплантат фиксируется к роговичному ложу реципиента обвивным швом 10/0 из нейлона. ИСК остается фиксированным к окружающим тканям в своем интраламеллярном кармане, что устраняет необходимость его подшивания [24, 25]. Оперативное вмешательство

проводили *ex vivo* на изолированных донорских (кадаверных) глазах. Техника операции смоделирована на 8 глазах, при этом на четырех из них была проведена СКП с имплантацией ИСК, на других четырех — ПГПК с имплантацией ИСК. В зависимости от толщины роговицы, полученной при помощи оптической когерентной томографии (ОКТ) в предоперационном периоде, определяли глубину залегания «ступеньки» в паттерне «гриб» — она составляла 2/3 от толщины роговицы в заданной зоне.

Процедуру кератопигментации проводили на 7 донорских глазах, не прошедших отбор для кератопластики в глазном тканевом банке МНТК «Микрохирургия глаза». При помощи фемтосекундного лазера (программа «Роговичный тоннель») на глубине 400 мкм был сформирован кольцевидный замкнутый роговичный тоннель с внешним (8,5 мм) и внутренним (5,0 мм) диаметром [26]. Насечка для входа в тоннель имела длину 3,5 мм. Толщина роговицы кадаверных глаз составляла 850–900 мкм. В роговичный тоннель с помощью канюли помещали 0,5 мл разработанного гелевого имплантата.

Для проведения лазерной радиальной кератотомии сотрудниками МНТК «Микрохирургия глаза» совместно со специалистами ООО «Оптосистемы» были разработаны алгоритм движения фокального пятна фемтосекундного лазера и соответствующее программное обеспечение для реализации данного типа операции на установке «Фемто Визум». Техническая сложность реализации такого алгоритма связана с одновременным движением лазерного пучка по трем координатам с высокой скоростью и точностью позиционирования. Стоит упомянуть, что в лазере реализована возможность взаимодействия с самой большой операционной зоной — диаметром более 12 мм. Таким образом, внешний диаметр роговичных надрезов ограничен только лимбом, при условии, что достигнута требуемая аппланация.

В ходе экспериментальных исследований на 8 кадаверных глазах, не прошедших отбор для кератопластики в глазном тканевом банке МНТК «Микрохирургия глаза», смоделирована процедура фемтолазерной кератотомии на лазерной установке «Фемто Визум» по разработанной и запатентованной нами технологии [27]. С этой целью на 8 кадаверных глазах выполнено 8 радиальных насечек в кольцевидной зоне с внешним (9,5 мм) и внутренним (4,0–5,0 мм) диаметром. Глубина выполнения насечек — 85% от минимального значения кератопахиметрии по данным ОКТ. Отступ от передней поверхности роговицы составлял 90–200 мкм без просечения боуеновой мембраны и 45 мкм — в случае ее просечения. Толщину эпителиального слоя определяли по данным ОКТ.

До и после проведения всех описанных выше экспериментов выполняли ОКТ роговицы на приборе Visante OCT (Carl Zeiss, Германия) и фоторегистрацию с помощью фотощелевой лампы (Haag-Streit, Германия).

Опытный материал фиксировали в растворе нейтрального формалина, промывали проточной водой, обезжировали в спиртах восходящей концентрации, а затем заливали в парафин. Выполняли гистологические срезы, окрашенные гематоксилином и эозином, полученные препараты изучали под микроскопом Leica DM (Leica Microsystems, Германия) при 50-, 100-, 200-, 400-кратном увеличении с последующей фоторегистрацией.

При изучении качества поверхности ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики, заготовленного с помощью фемтосекундного лазера, исследовали 10 образцов. Контрольную группу составили 5 роговичных лоскутов, полученных в ходе заготовки ультратонкого трансплантата с помощью механического микрокератома (Moria SLK 2; Moria, Франция). В основной группе 5 роговичных дисков были получены при формировании ультратонкого трансплантата с помощью фемтосекундного лазера с эндотелиального доступа. Горизонтальный срез выполняли на глубине 130 мкм. Сканировали поверхность стромы роговицы донора, конгруэнтную поверхность трансплантата. Донорскую роговицу хранили в среде Борзенка–Мороз.

При выкраивании ультратонкого трансплантата образцы донорской роговицы, содержащие поверхность, конгруэнтную поверхности трансплантата, помещали в 10% формалин. Непосредственно перед исследованием они подвергались лиофильной сушке (FreeZone; Triad Labconco, США). Процедуру сублимационной сушки выполняли по стандартной методике. Полученные обезвоженные образцы исследовали с помощью атомно-силового микроскопа Certus V («Нано Скан Технология», Россия) в контактном режиме в воздушной среде. При микроскопии использовали зонды для контактной атомно-силовой микроскопии MSCT-AUNM (Veeco, США) с жесткостью балки 0,01 Н/м и радиусом кривизны зонда 10 нм. Количественный морфометрический анализ проводили с использованием штатного программного обеспечения микроскопа. Перед расчетом среднеквадратичной шероховатости поверхности (RMS) полученные изображения программными средствами распрямляли по осям x, y. При этом для каждого из образцов анализировали не менее 5 изображений площадью 400 мкм<sup>2</sup> (20x20 мкм). Расчеты статистической значимости различий значений выполняли с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Коэффициент достоверности  $p < 0,05$  считали значимым.

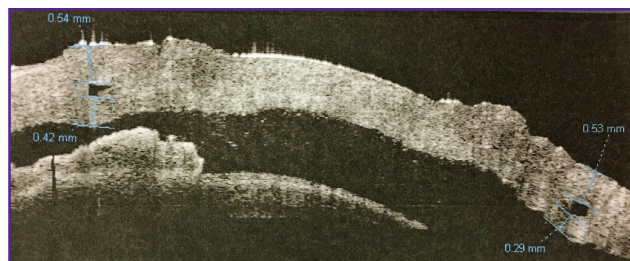
**Результаты**

При оценке результатов эксперимента, посвященного проведению кератопластики с имплантацией оригинального ИСК, во всех случаях было выявлено стабильное положение кольца на четко заданной глубине на всем протяжении (данные ОКТ, рис. 1).

По результатам гистологического исследования отмечено полное просечение роговицы без образования тканевых мостиков и спаек с достижением точно заданной с помощью фемтосекундного лазера формы (рис. 2).

Визуальная оценка результатов проведения кератопигментации в эксперименте показала успешное фиксирование гелевого окрашенного имплантата в сформированном с помощью фемтолазера роговичном тоннеле. Остальные зоны роговицы оставались интактными (рис. 3).

Гелевый имплантат распределен в роговичном тоннеле равномерно, обладает экранирующим эффектом (рис. 4). Гистологическое исследование гелевого красителя коричневого цвета, введенного в роговичный тоннель, показало визуализацию краевой пигментации (рис. 5).



**Рис. 1.** ОКТ: сагиттальный срез донорского глаза. Выполнена ПГПК с имплантацией ИСК; положение ИСК на всем протяжении — равномерное



**Рис. 2.** Гистологический препарат дезэпителизированной донорской роговицы после моделирования ПГПК с фемтолазерным сопровождением. Боковой интраламеллярный карман; периферическое расширение вследствие установки ИСК; окраска гематоксилином и эозином; а — x50; б — x200

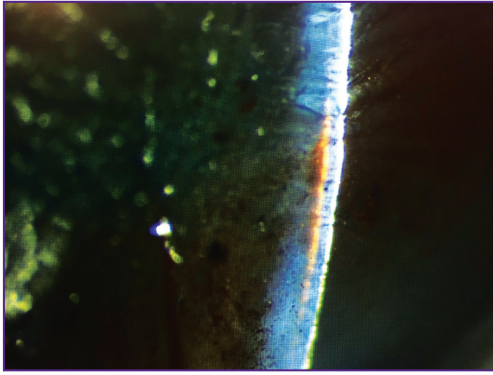


Рис. 3. Гелевый имплантат, компактно расположенный в сформированном роговичном тоннеле кадаверного глаза (фотощелевая лампа Haag-Streit, Германия)

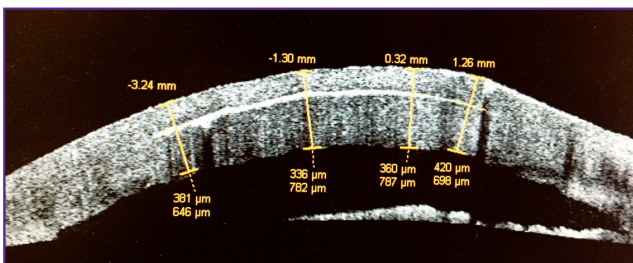


Рис. 4. ОКТ: визуализируется равномерно распределенный в роговичном тоннеле гелевый имплантат, обладающий экранирующим эффектом

При оценке результатов экспериментальной фемтолазерной кератотомии зафиксировано успешное выполнение всех 8 радиальных, симметричных по протяженности и толщине, равноудаленных насечек, перпендикулярных поверхности роговицы. Центральная и лимбальная зоны роговицы оставались интактными. Пузыри газа в передней камере отсутствовали, что косвенно свидетельствует о сохранении целостности десцеметовой мембраны (рис. 6). Гистологическое исследование роговиц кадаверных глаз после проведения фемтосекундной лазерной кератотомии выявило изменения роговичной ткани, соответствующие воздействию фемтолазера: интрастромальная ткань более плотно упакована по краю реза, где непосредственно осуществлялось воздействие; сформирована интрастромальная полость, возникающая за счет образования пузырьков газа. Строма была рассечена на заданную глубину на всем протяжении, во всех насечках сохранялся отступ от передней и задней поверхностей роговицы, сквозного прорезания роговицы не наблюдалось ни в одной насечке (рис. 7). В роговице глаза с выполненной мануальной радиальной кератотомией в отличие от фемтолазерной обнаруживается расхождение краев насечки непосредственно после проведения процедуры (рис. 8).

Изучение качества поверхности ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики

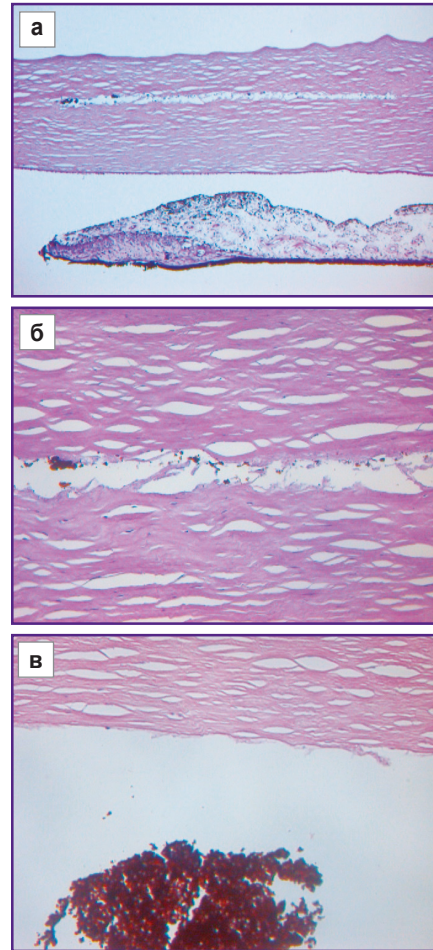


Рис. 5. Гистологический препарат дезэпителизированной донорской роговицы с интрастромальным тоннелем, выполненным фемтолазером

Краевая пигментация (остатки искусственного красителя); отмечается компактно расположенный пигмент; окраска гематоксилином и эозином; а —  $\times 50$ ; б, в —  $\times 200$

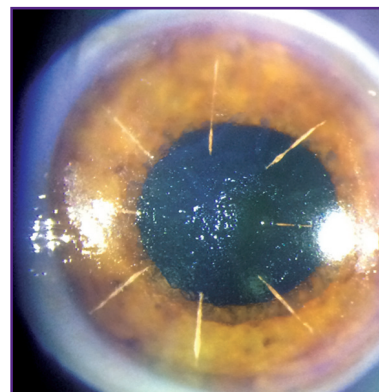


Рис. 6. Кадаверный глаз после проведенной радиальной кератотомии на фемтосекундной лазерной установке в эксперименте *ex vivo*

методом атомно-силовой микроскопии показало, что значение среднеквадратичной шероховатости поверхности образцов контрольной группы, заготовленных с

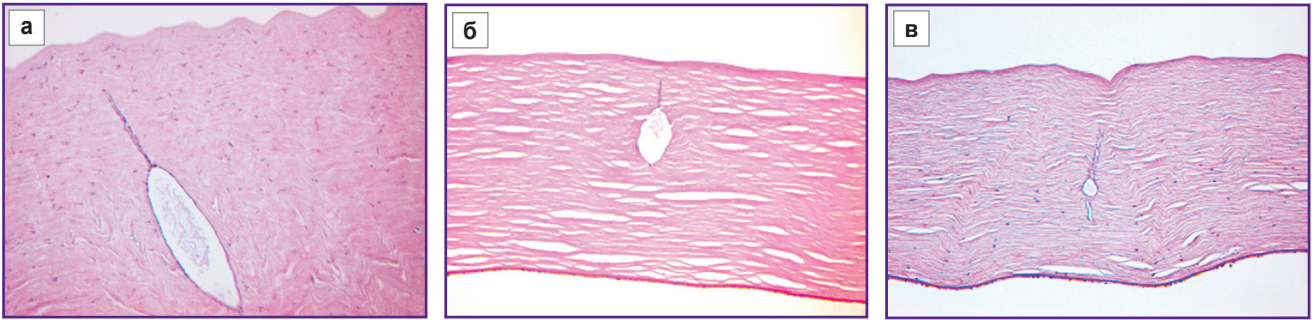


Рис. 7. Гистологические препараты донорской роговицы с фемтонасечками в строме (а, б, в)  
Окраска гематоксилином и эозином; x100

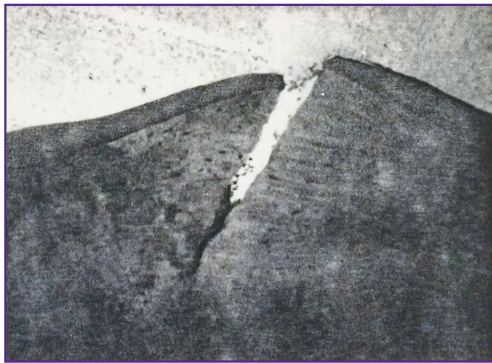


Рис. 8. Морфология зоны надреза после кератомии алмазным лезвием  
Микрофотография на фотомикроскопе Opton (Германия); полутонкий срез; окраска метиленовым синим и фуксином [11]

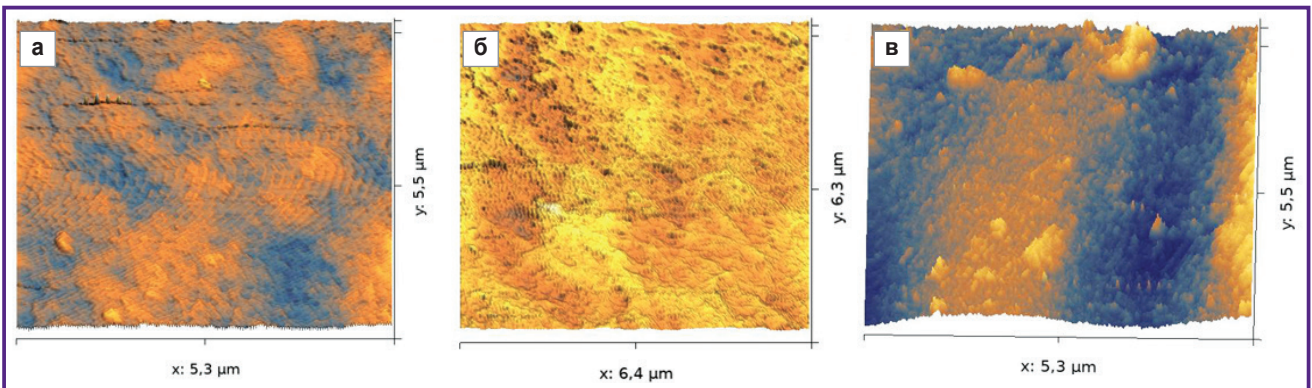


Рис. 9. Изображения поверхности образцов контрольной группы (а, б, в), полученные методом атомно-силовой микроскопии

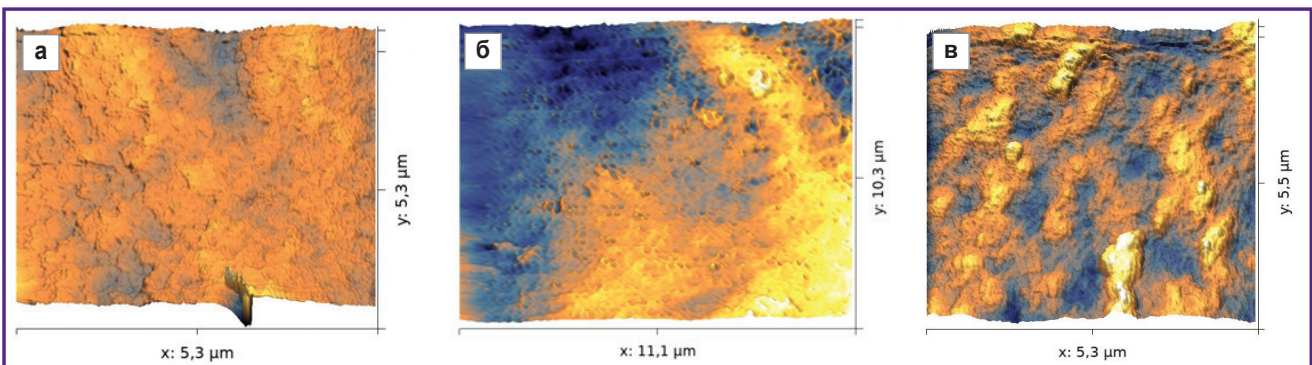


Рис. 10. Изображения поверхности образцов основной группы (а, б, в), полученные методом атомно-силовой микроскопии

помощью механического микрокератома, составило  $22,3 \pm 18,3$  мкм (рис. 9). Шероховатость образцов основной группы, заготовленных с помощью фемтосекундного лазера с эндотелиального доступа, составила  $18,72 \pm 12,0$  мкм (рис. 10). Статистический анализ не выявил статистически значимых различий между значениями исследуемого параметра в указанных группах ( $p > 0,05$ ).

## Обсуждение

В нашей работе получено четыре результата оценки технической возможности и качества выполнения инновационных хирургических вмешательств на роговице.

Эксперимент по проведению кератопластики с ИСК позволил сделать вывод, что именно формирование интраламеллярного кармана для имплантации ИСК дал возможность занять ему правильное стабильное положение без смещения и изменения глубины залегания. Также формирование кармана позволило отказаться от фиксации его обвивным швом, что могло повлечь за собой ряд осложнений (например, разрыв шва вследствие контакта шовного материала с поверхностью ИСК). Благодаря наличию оригинального программного обеспечения на фемтосекундном лазере удалось достичь необходимой конфигурации роговичных срезов.

Оценка эксперимента, связанного с интрастромальным введением окрашенного гелевого имплантата, показала, что формирование роговичного тоннеля с помощью фемтосекундного лазера для последующего выполнения процедуры кератопигментации является прецизионным, прогнозируемым и безопасным процессом, что сопоставимо с данными литературы [28]. Гелевая структура вводимого вещества способна обеспечить стабильную компактную фиксацию в пространстве роговичного тоннеля. По результатам гистологического исследования определено отсутствие краевого просачивания пигмента, пигмент фиксирован в роговичном тоннеле.

Результаты экспериментальной фемтолазерной кератотомии доказывают, что выполнение просечения боуеновой мембраны с сохранностью эпителиального слоя позволит избежать в раннем послеоперационном периоде выстилания области насечки эпителием с дальнейшим развитием характерных послеоперационных осложнений и рефракционного эффекта.

Исследование качества поверхности ультратонкого трансплантата показало преимущество его изготовления с помощью фемтосекундного лазера: значение среднеквадратичной шероховатости поверхности образцов контрольной группы, заготовленных с помощью механического микрокератома, составило  $22,3 \pm 18,3$  мкм (см. рис. 1), а образцов основной группы, заготовленных с помощью фемтосекундного лазера с эндотелиального доступа, —  $18,72 \pm 12,0$  мкм (см. рис. 2).

## Заключение

Оригинальное программное обеспечение к фемтолазерной установке «Фемто Визум» дает возможность достичь необходимых параметров роговичных резов, применимых во многих инновационных направлениях роговичной хирургии. Результаты проведенного экспериментального моделирования кератопластики с имплантацией ИСК позволили сделать вывод о стабильной фиксации кольца в своем интраламеллярном кармане по всей окружности и об отсутствии необходимости его шовной фиксации. Качество и легкость проведения процедуры с использованием нового гелевого имплантата и техническая возможность ее осуществления подтверждены результатами эксперимента *ex vivo* и данными гистологического исследования. Показана техническая успешность фемтолазерной кератотомии и воспроизводимость разработанной методики, что впоследствии позволит создать новый, перспективный, клинически применимый способ лечения пациентов с кератоконусом различных стадий. Изучение качества поверхности ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики, заготовленного с помощью фемтосекундного лазера, продемонстрировало идентичную степень шероховатости поверхности среза, выполненного в глубоких слоях донорской роговицы с помощью механического микрокератома и фемтосекундного лазера. Данный факт позволяет сделать вывод о высоких оптических свойствах этого трансплантата.

Применение фемтосекундного лазера «Фемто Визум» в описанных направлениях является прецизионным, эффективным и безопасным методом сопровождения оперативных вмешательств на роговице глаза. Предварительные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейших исследований для определения полного спектра возможностей использования данной лазерной установки в клинической практике.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность за содействие и личный вклад в работу А.С. Завьялову, начальнику группы фемтосекундных медицинских лазеров ООО «Оптосистемы».

**Финансирование исследования.** Работа проведена на личные средства авторов.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить.

## Литература/References

1. Krumeich J.H., Daniel J. Perforating keratoplasty with an intracorneal ring. *Cornea* 1999; 18(3): 277–281, <https://doi.org/10.1097/00003226-199905000-00006>.
2. Krumeich J.H., Duncker G. Intrastromal corneal ring in penetrating keratoplasty: evidence-based update 4 years after implantation. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32(6): 993–998, <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2006.02.020>.



3. Калинин Ю.Ю., Леонтьева Г.Д., Селифанов Ю.В., Беззаботнов А.И., Задорожный С.В. Способ проведения кератопластики (варианты). Патент РФ 2589633. 2016. Kalinnikov Yu.Yu., Leont'eva G.D., Selifanov Yu.V., Bezzabotnov A.I., Zadorozhnyy S.V. *Method of performing keratoplasty (versions)*. Patent RU 2589633. 2016.
4. Choyce D.P. Semirigid corneal in lays used the managment of albinism, aniridia and ametropia. In: *XXIV International Congress of ophthalmology*. Acta, San Francisco; 1982; p. 1230–1234.
5. Венгер Г.Е. Восстановительная хирургия радужной оболочки при травмах глаза и их исходах. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Одесса; 1984. Venger G.E. *Vosstanovitel'naya khirurgiya raduzhnoy obolochki pri travmakh glaza i ikh iskhodakh*. Avtoref. dis. ... dokt. med. nauk [Iris reconstructive surgery in case of eye injuries and their outcomes. PhD Thesis]. Odessa; 1984.
6. Федоров С.Н., Зуев В.К., Варгов С.Н. и др. Хирургическая коррекция аниридии и дефектов радужной оболочки глаза. *Офтальмохирургия* 1990; 2: 20–22. Fedorov S.N., Zuev V.K., Vagrov S.N., et al. Surgical correction of aniridia and iris defects. *Oftal'mokhirurgiya* 1990; 2: 20–22.
7. Rodríguez A., Alió J., Amesty M., Bahrawy M. *Text and atlas on corneal pigmentation*. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd.; 2015, <https://doi.org/10.5005/jp/books/12571>.
8. Bowman C.B., Thompson K.P., Stulting R.D. Refractive keratotomy in keratoconus suspects. *J Refract Surg* 1995; 11(3): 202–206.
9. Grandon S.C., Weber R.A. Radial keratotomy in patients with atypical inferior steepening. *J Cataract Refract Surg* 1994; 20(6): 670–671, [https://doi.org/10.1016/s0886-3350\(13\)80171-x](https://doi.org/10.1016/s0886-3350(13)80171-x).
10. Копаева В.Г., Лейкина С.Л., Текари М. Кератомия в коррекции аметропии при кератоконусе. В кн.: *Международный симпозиум по рефракционной хирургии*. М; 1991; с. 54. Кораева V.G., Leykina S.L., Tekari M. Keratomiya v korrektsii ametropii pri keratokonuse. V kn.: *Mezhdunarodnyy simpozium po refraktsionnoy khirurgii* [Keratotomy for the correction of ametropia in keratoconus. In: International symposium on refractive surgery]. Moscow; 1991; p. 54.
11. Ивашина А.И. Хирургическая коррекция близорукости методом передней радиальной кератотомии. Дис. ... докт. мед. наук. М; 1989. Ivashina A.I. *Khirurgicheskaya korrektsiya blizorukosti metodom peredney radialnoy keratotomii*. Dis. ... dokt. med. nauk [Surgical correction of myopia using anterior radial keratotomy. DSc Dissertation]. Moscow; 1989.
12. Lombardi M., Abbondanza M. Asymmetric radial keratotomy for the correction of keratoconus. *J Refract Surg* 1997; 13(3): 302–307.
13. Abbondanza M., Abdolrahimzadeh B., Guidobaldi M. Combined corneal collagen cross-linking and mini asymmetric radial keratotomy for the treatment of keratoconus. *Acta Med Int* 2016; 3(1): 63, <https://doi.org/10.5530/ami.2016.1.14>.
14. Kocak I., Aydin A., Kaya F., Baybora H., Bozkurt S. Efficacy of radial keratotomy in the optical rehabilitation of mild to moderate keratoconus cases. *Int Eye Sci* 2015; 15(4): 572–576.
15. Fujimoto K., Osawa H., Moriyama T., Miyamoto T., Irie T., Nishimura T., Inoue T. Long-term stability of minimally invasive radial keratotomy for mild to moderate keratoconus. *Asia Pac J Ophthalmol* 2017; 6(5): 407–411, <https://doi.org/10.22608/apo.2016204>.
16. Utine C.A., Bayraktar S., Kaya V., Kucuksumer Y., Eren H., Perente I., Yilmaz O.F. Radial keratotomy for the optical rehabilitation of mild to moderate keratoconus: more than 5 years experience. *Eur J Ophthalmol* 2006; 16(3): 376–384.
17. Durand L., Monnot J.P., Burillon C., Assi A. Complications of radial keratotomy: eyes with keratoconus and late wound dehiscence. *Refract Corneal Surg* 1992; 8(4): 311–314.
18. Panda A., Sharma N., Kumar A. Ruptured globe 10 years after radialkeratotomy. *J Refract Surg* 1999; 15(1): 64–65.
19. Малюгин Б.Э., Мороз З.И., Ковшун Е.В., Дроздов И.В. Задняя автоматизированная послойная кератопластика с использованием ультратонких трансплантатов. В кн.: IX съезд офтальмологов России: тезисы докладов. М; 2010; с. 310. Malyugin B.E., Moroz Z.I., Kovshun E.V., Drozdov I.V. Zadnyaya avtomatizirovannaya posloynnaya keratoplastika s ispol'zovaniem ul'tratonkikh transplantatov. V kn.: IX s'ezd oftal'mologov Rossii: tezisy докладov [Dorsal automated lamellar keratoplasty using ultrathin grafts. In: IX Congress of Russian ophthalmologists: abstracts of reports]. Moscow; 2010; p. 310.
20. Busin M., Patel A.K., Scorcio V., Ponzin D. Microkeratome-assisted preparation of ultrathin grafts for descemet stripping automated endothelial keratoplasty. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(1): 521–524, <https://doi.org/10.1167/iov.11-7753>.
21. Sikder S., Nordgren R.N., Neravetla S.R., Moshirfar M. Ultra-thin donor tissue preparation for endothelial keratoplasty with a double-pass microkeratome. *Am J Ophthalmol* 2011; 152(2): 202–208.e2, <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.01.051>.
22. Cheng Y.Y., Schouten J.S., Tahzib N.G., Wijdh R.J., Pels E., van Cleynenbreugel H., Eggink C.A., Rijnveld W.J., Nuijts R.M. Efficacy and safety of femtosecond laser-assisted corneal endothelial keratoplasty: a randomized multicenter clinical trial. *Transplantation* 2009; 88(11): 1294–1302, <https://doi.org/10.1097/tp.0b013e3181bc419c>.
23. Cheng Y.Y., van den Berg T.J., Schouten J.S., Pels E., Wijdh R.J., van Cleynenbreugel H., Eggink C.A., Rijnveld W.J., Nuijts R.M. Quality of vision after femtosecond laser-assisted descemet stripping endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty: a randomized, multicenter clinical trial. *Am J Ophthalmol* 2011; 152(4): 556–566.e1, <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.03.012>.
24. Измайлова С.Б., Малюгин Б.Э., Новиков С.В., Зимина М.В. Способ проведения кератопластики с одномоментной имплантацией интрастромального кольца. Патент РФ 2646588. 2017. Izmaylova S.B., Malyugin B.E., Novikov S.V., Zimina M.V. *Method of carrying out keratoplasty with one-momentary implantation of the intrastomal ring*. Patent RU 2646588. 2017.
25. Измайлова С.Б., Новиков С.В., Зимина М.В., Чуприн В.В. Способ проведения кератопластики с одномоментной имплантацией интрастромального кольца для профилактики послеоперационного астигматизма. Заявка на патент РФ 2018104821. 2018. Izmaylova S.B., Novikov S.V., Zimina M.V., Chuprin V.V. *Method of carrying out keratoplasty with one-momentary implantation of the intrastomal ring for the prevention of postoperative*

*astigmatism*. Application for a patent RU 2018104821. 2018.

26. Измайлова С.Б., Новиков С.В., Соболев Н.П., Яровой А.А., Комарова О.Ю. Способ хирургического лечения аниридии с аметропией. Заявка на Патент РФ 2017135291. 2017. Izmaylova S.B., Novikov S.V., Sobolev N.P., Yarovoy A.A., Komarova O.Yu. *Method of surgical treatment of aniridia with ametropia*. Application for a patent RU 2017135291. 2017.

27. Измайлова С.Б., Вартапетов С.К., Коновалова М.М.,

Бурдель К.В. Способ лечения кератоконуса I–III стадии (варианты). Заявка на Патент РФ 2018101843. 2018. Izmaylova S.B., Vartapetov S.K., Konovalova M.M., Burdel K.V. *Method for the treatment of keratoconus stage I–III (versions)*. Application for a patent RU 2018101843. 2018.

28. Alió J.L., Rodriguez A.E., Toffaha B.T., Piñero D.P., Moreno L.J. Femtosecond-assisted keratopigmentation for functional and cosmetic restoration in essential iris atrophy. *J Cataract Refract Surg* 2011; 37(10): 1744–1747, <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2011.08.003>.