

УДК 617.713-089.843

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОГОВИЧНЫХ ДИСКОВ ПРИ СКП, СФОРМИРОВАННЫХ С ПОМОЩЬЮ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА¹Лебедь Л.В., ²Шацких А.В., ¹Елаков Ю.Н., ¹Поздеева Н.А.¹Чебоксарский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологии», Чебоксары, e-mail: lebedlv@inbox.ru;²ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Росмедтехнологии», Москва, e-mail: info@mntk.ru

Проведен сравнительный морфологический анализ роговичных дисков, сформированных Fs- лазером и механическим трепаном. Объектом для экспериментального изучения воздействия Fs- излучения и механической трепанации служила роговая оболочка изолированных глаз свиньи, полученных от убойных животных (10 глаз) и кадаверные донорские глаза, не пригодные к трансплантации [5]. Для формирования роговичных дисков использовали фемтосекундный лазер «IntraLase Fs» с частотой повторения импульсов 60 кГц, энергией импульса 2,3–2,5 мкДж, расстоянием между импульсами 2–3 мкм, между уровнями 2–3 мкм, а также металлические трепаны в виде поршня. Проведен гистологический анализ образцов роговицы, подвергнутых Fs-лазерному и механическому воздействию. Установлено, что Fs-лазер оказывает меньшее повреждающее воздействие на роговичную ткань, о чем свидетельствует отсутствие деформации волокон стромы роговицы в крае среза и ее центральных отделах, обеспечивает точное выкраивание роговичного диска.

Ключевые слова: Fs-лазер «IntraLase», сквозная кератопластика, механический трепан, гистологический препарат

EXPERIMENTAL MORPHOLOGIC ANALYSIS OF CORNEAL FLAPS IN PENETRATING KERATOPLASTY FORMED WITH FEMTOSECOND LASER¹Lebed L.V., ²Shackih A.V., ¹Elakov Y.N., ¹Pozdeeva N.A.¹S.N. Fyodorov FSI IRTC Eye Microsurgery Complex, Cheboksary, e-mail: lebedlv@inbox.ru;²S.N. Fyodorov FSI IRTC Eye Microsurgery Complex, Moscow, e-mail: info@mntk.ru

Comparative morphologic analysis of corneal flaps formed with femtosecond laser and mechanic trepan was carried out. The object of observational studies of Fs-rays effect and a mechanical trepanation was a cornea of isolated pig eyes got from slaughter beast (10 eyes) and cadaver donor eyes inapplicable for transplantation [5]. A femtosecond laser «IntraLase Fs» with pulse frequency 60 khz, energy per pulse 2,3–2,5 micron J, impulse spacing 2–3 mkm, levels spacing 2–3 mkm, and metal plunger trepans were used to form corneal disks. It was taken a histological analysis of cornea probes submitted for Fs-laser and mechanical manipulations. It was revealed that impact of femtosecond laser on corneal tissue is less harmful, absence of corneal stromal fibers' deformation in cut edge and its central parts. Femtosecond laser provides precise cut of corneal flap.

Keywords: femtosecond laser «IntraLase», penetrating keratoplasty, mechanical trephine, histological medicine

В Российской Федерации насчитывается более 500 тыс. слабовидящих и слепых (Либман Е.Н., Шахова Е.В., 2005), из них до 18% приходится на пациентов с патологией роговицы (Мороз З.И. и др., 2004). Тяжесть процесса, сложность лечения, многообразие клинических исходов, трудности реабилитации пациентов этой группы придают особую актуальность проблеме. Одним из основных методов хирургического лечения является сквозная кератопластика (СКП) [1].

Применение металлических трепанов различных конструкций для выкраивания роговичных дисков при СКП, наряду с несомненными достоинствами, выявило и определенные недостатки: трудность получения ровного, отвесного среза роговицы по всему кругу без дорезания ножницами или алмазным лезвием, травмирование эндотелия, невозможность программирования различных профилей разрезов, недостаточ-

ную герметизацию и биомеханическую нестабильность послеоперационной раны [2].

Поэтому на современном этапе актуальна разработка безопасного, прогнозируемого и эффективного способа формирования роговичного диска с помощью фемтосекундного лазера с целью улучшения клинико-функциональных результатов сквозной кератопластики.

Fs-лазер «IntraLase» (Intralase Corp. США) использует инфракрасный луч света с длиной волны 1053 нанометров. Лазерные импульсы разделяют ткань на молекулярном уровне без передачи тепла и воздействия на окружающую ткань. Действие Fs-лазера базируется на принципе фоторазрушения роговичной ткани с использованием лазерной компрессии для индукции нелинейной абсорбции высокоинтенсивного инфракрасного света, в результате данных процессов происходит формирование кавитационного пузырька с последующим

рассечением роговичной ткани. Это достигается путем использования высокой энергии в импульсе и относительно небольшой частоты следования импульсов. В результате строго по заданным параметрам формируется роговичный диск определенной формы, с предельно ровными краями [3–8].

Цель данного исследования – сравнительный морфологический анализ роговичных дисков, сформированных Fs-лазером и механическим трепаном.

Материалы и методы исследования

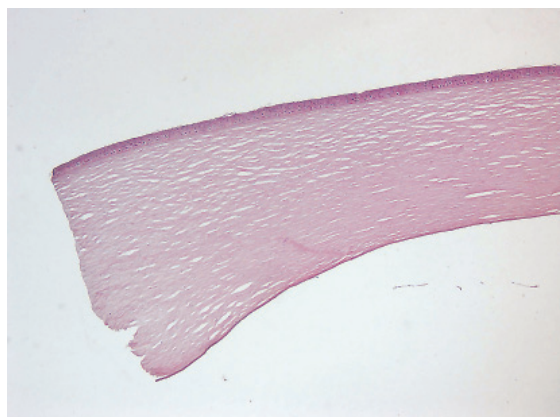
Объектом для экспериментального изучения воздействия Fs-излучения и механической трепанации служила роговая оболочка изолированных глаз свиньи, полученных от убойных животных (10 глаз) и кадаверные донорские глаза, не пригодные к трансплантации [5].

Для формирования роговичных дисков использовали фемтосекундный лазер «IntraLase Fs» с частотой

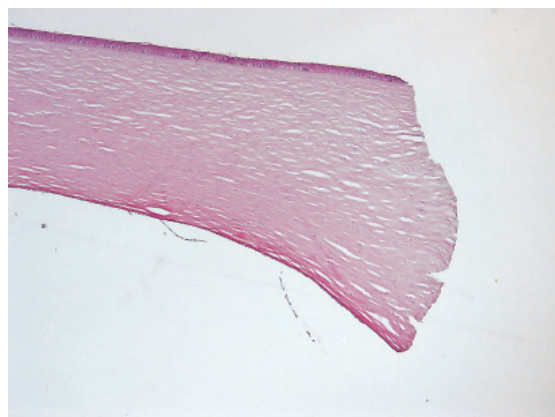
повторения импульсов 60 кГц, энергией импульса 2,3–2,5 мкДж, расстоянием между импульсами 2–3 мкм, между уровнями 2–3 мкм, а также металлические трепаны в виде поршня. Проведен гистологический анализ образцов роговицы, подвергнутых Fs-лазерному и механическому воздействию.

Донорские глаза были разделены на две группы. В I группе для формирования роговичных дисков использовали Fs-лазер, во II группе – металлические трепаны в виде поршня.

На исследуемых глазах I группы после установки вакуумной системы и аппланационного конуса производили сквозной разрез роговицы заданного профиля фемтосекундным лазером продолжительностью импульса 600–800 Fs. Разрез начинался со стороны передней камеры, движение луча лазера происходило по направлению вверх по окружности. Лазерный луч последовательно проходил задний эпителий, строму и передний эпителий. После завершения трепанации роговичный диск выделяли при помощи хирургического шпателя. Энергетические параметры, использованные в исследовании, были рекомендованы производителем (рис. 1 а, 2, 3, 6, 7, 8).



а



б

Рис. 1. Краевые зоны сформированного роговичного диска при помощи Fs-лазера (а) и механического поршневого трепана (б). Объяснение в тексте. Окраска гематоксилин – эозин, Ув. х50

Роговичные диски II исследуемой группы выкраивались с помощью металлических трепанов в виде поршня по традиционной методике диаметром 7,5 мм (рис. 1 б, 4, 5).

Для проведения морфологического анализа роговицу отделяли от глаза и фиксировали в растворе нейтрального формалина, подвергали стандартной гистологической проводке: промывали проточной водой, обезживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин, выполняли серии гистологических срезов с применением окраски гематоксилин-эозином. Препараты изучали под микроскопом фирмы Leica DM LB 2 при х50, х100, х200, х400 – кратном увеличении с последующим фотографированием.

Результаты исследования и их обсуждение

На электронных микроснимках роговичных дисков кадаверных глаз, сформированных при помощи Fs-лазера, край среза

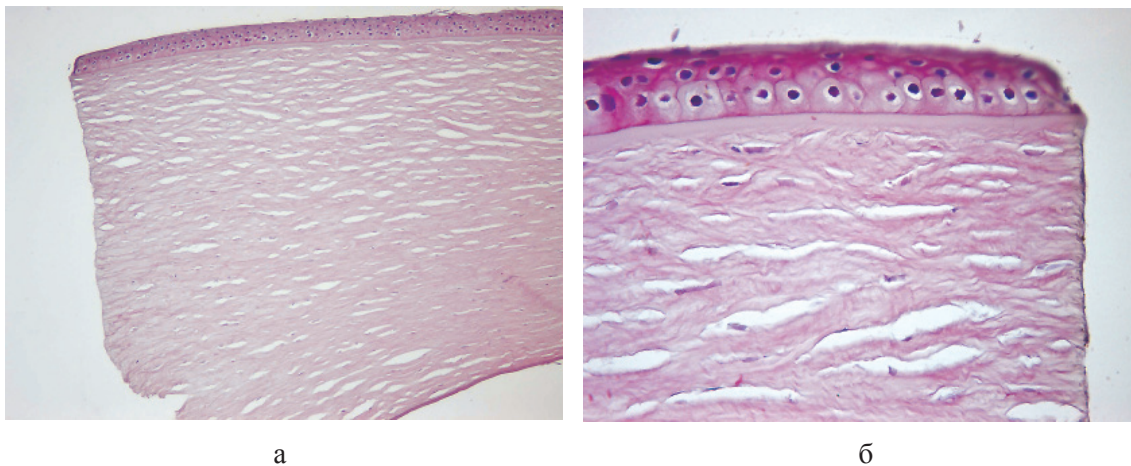
ровный перпендикулярный (рис. 1а, 2а). Волокна стромы сглажены, не подвержены деформации, имеется гомогенизация срезанной поверхности (оплавленность), о чем свидетельствует интенсивность окраски по линии среза (рис. 2б). Центральные отделы роговицы без видимых изменений.

На донорском глазу после выкраивания роговичного диска при помощи Fs-лазера (рис. 3) края ровные, полностью соответствуют краям вырезанного диска (рис. 1а, 2а). Эндотелий дифференцируется (рис. 3 в). Радужка и другие структуры переднего отрезка глаза без видимых изменений (рис. 3 а).

На роговичном диске, сформированном при помощи механического поршневого трепана (рис. 4) край среза скошенный (а). Волокна стромы по краю среза рыхлые (б), не

всегда ровные. В этой зоне определяется появление волнообразного хода стромальных волокон при приближении к срезу, отдельные из них приобретают гофрированный

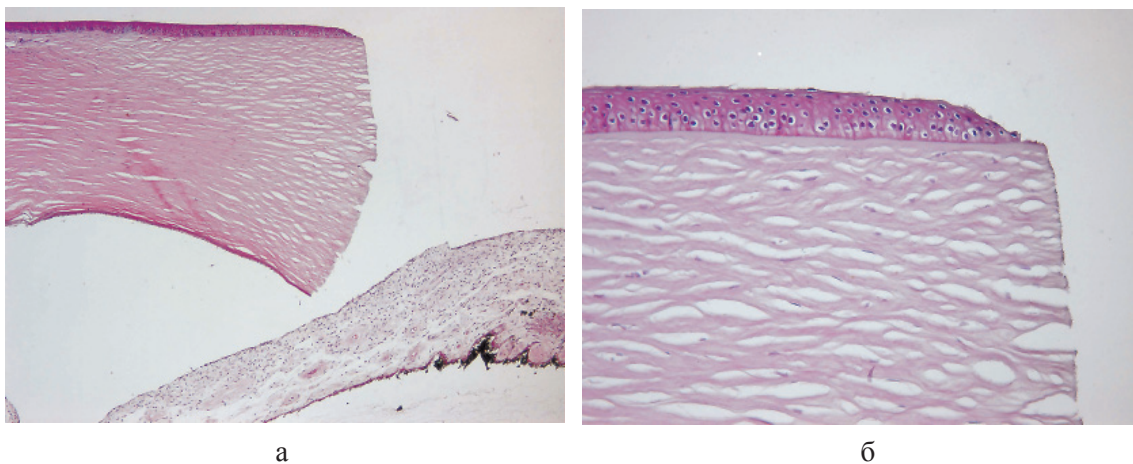
вид, что обусловлено механической деформацией стромы при работе трепана. Центральные отделы роговицы без видимых изменений. Эндотелий дифференцируется (в).



а

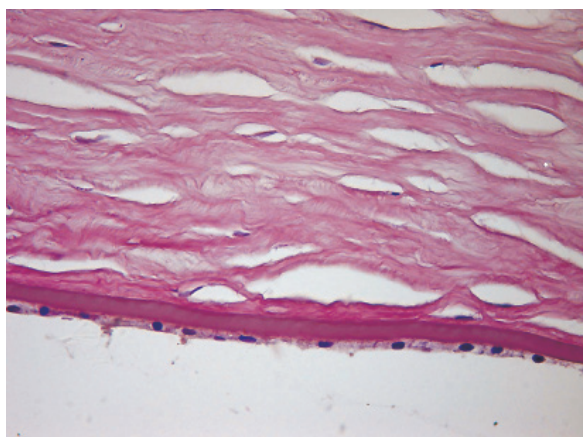
б

Рис. 2. Диск роговицы, сформированный при помощи F_s-лазера. Объяснение в тексте. Окраска гематоксилин – эозин, Ув. А х100, Б – х400



а

б



в

Рис. 3. Донорский глаз после выкраивания диска роговицы при помощи F_s-лазера. Объяснение в тексте. Окраска гематоксилин – эозин, Ув. А – х50, Б – х200, В – х400

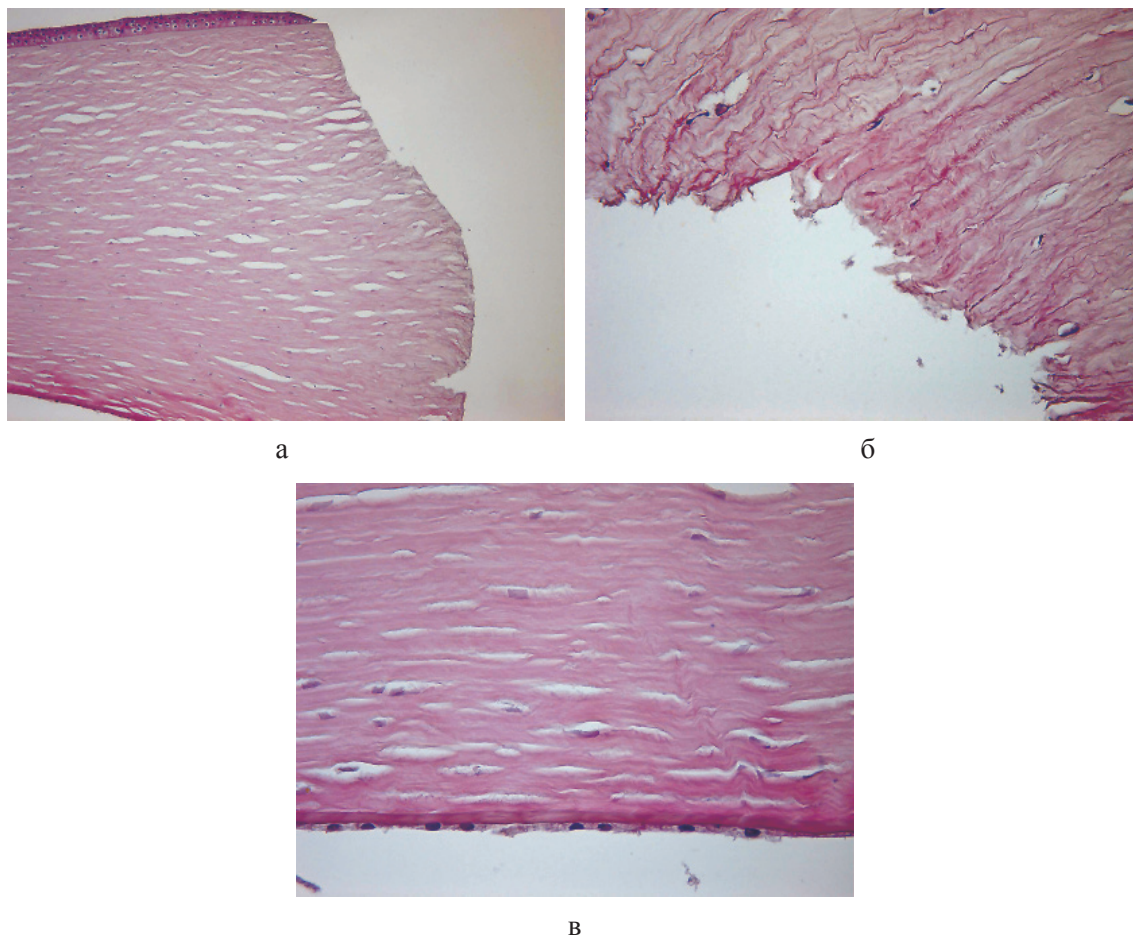


Рис. 4. Диск роговицы, сформированный при помощи механического поршневого трепана. Объянение в тексте. Окраска гематоксилин – эозин, Ув. А– x100, Б – x200, В – x400

На донорском глазу (рис. 5) после выкраивания диска роговицы при формировании ступенчатого среза при помощи механического трепана входной врез большего диаметра, что обуславливает клиновидные края диска роговицы (рис. 1б, 4а). Строма с разволокнением по линии среза (рис. 5 в, г), определяется перпендикулярный дефект стромы, нанесенный трепаном в основании «ступеньки», что может привести к отрыву данного участка (рис. 5 а, в – стрелка). Зона вреза трепана в эпителий роговицы без особенностей (рис. 5д).

Наряду с кадаверными донорскими глазами для исследования использовали роговую оболочку изолированных глаз свиньи, полученных от убойных животных.

После Fs-трепанации роговицы свиного глаза срезы ровные, линейные, разволокнение стромы отсутствует (рис. 6а, б).

На роговичном диске (форма «шляпа») срезанные поверхности конгруэнтны, края ровные, линейные, разволокнение стромы отсутствует (рис. 7а, б).

На препарате формы «зигзаг» (рис. 8) края ровные, линейные, разволокнение стромы отсутствует.

Выводы

Экспериментально-морфологический анализ роговичных дисков показал несомненные преимущества использования Fs-лазера для формирования роговичных дисков при СКП, так как он оказывает меньшее повреждающее воздействие на роговичную ткань, о чем свидетельствует отсутствие деформации волокон стромы роговицы в крае среза и ее центральных отделах, видимых изменений радужки и других структур переднего отрезка.

Фемтосекундный лазер делает возможным получение максимально ровного, отвесного среза по всему кругу, обеспечивает точное, предсказуемое и индивидуализированное выкраивание роговичного диска, что позволяет точно сопоставить размеры удаляемого и пересаживаемого дисков.

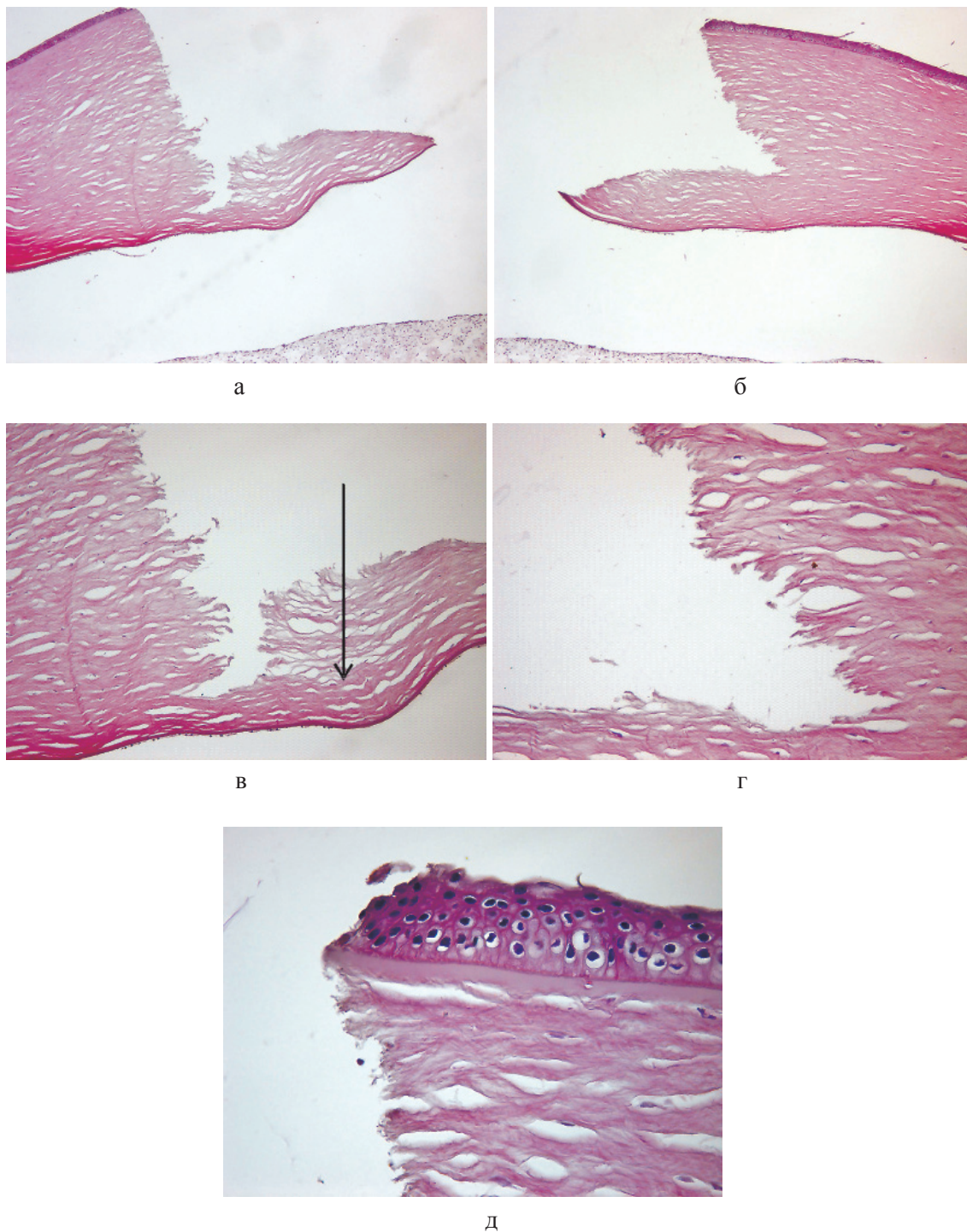
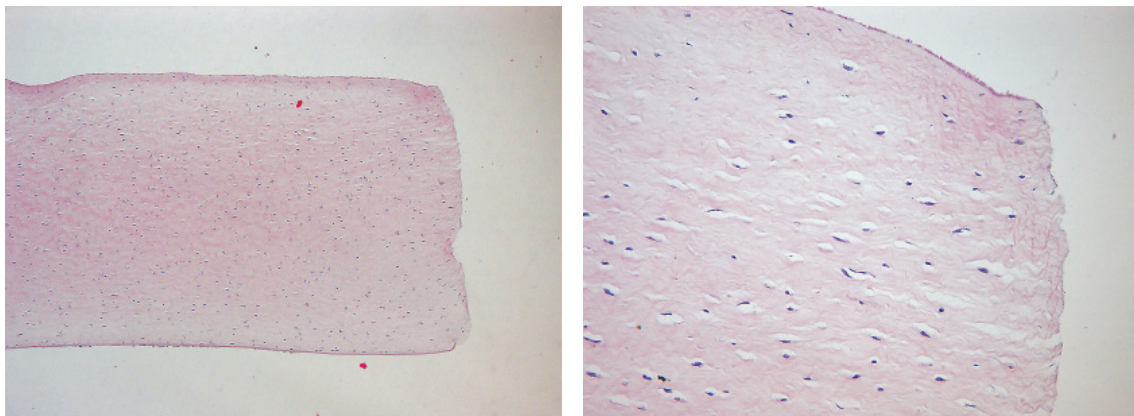


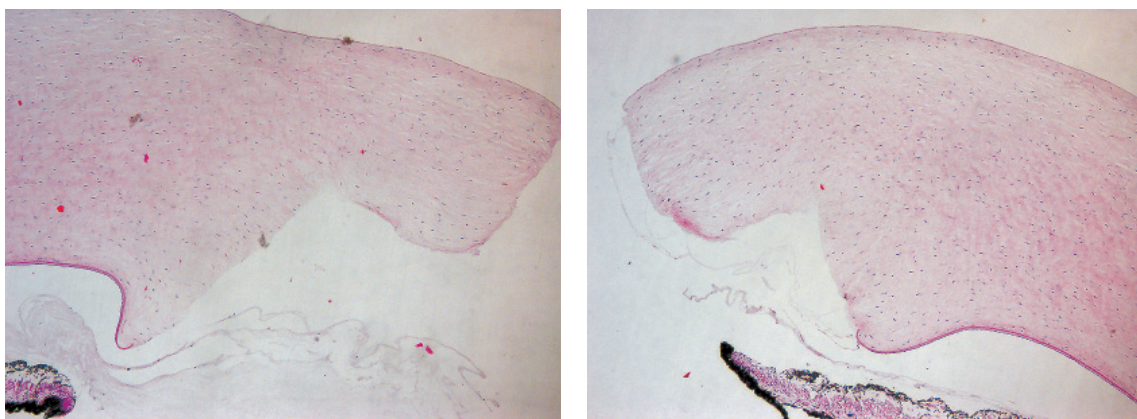
Рис. 5. Донорский глаз после выкраивания диска роговицы со ступенчатым срезом при помощи механического поршневого трепана. Объяснение в тексте.
Окраска гематоксилин – эозин, Ув. А, Б – x50, В, Г – x200, Д – x400



а

б

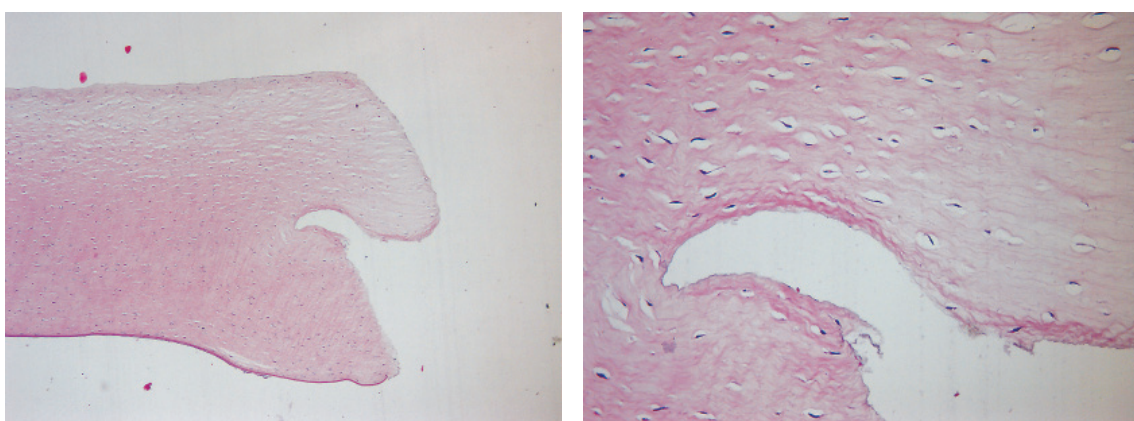
Рис. 6. Гистологический препарат роговицы свиного глаза после F5-трепанации. Описание в тексте. Окраска гематоксилин – эозин, Ув. А– x50, Б– x200



а

б

Рис. 7. Гистологический препарат склоро-роговичных структур свиного глаза после F5-трепанации. Описание в тексте. Окраска гематоксилин – эозин, Ув. А-Б– x50



а

б

Рис. 8. Гистологический препарат роговицы свиного глаза после F5-трепанации. Описание в тексте. Окраска гематоксилин – эозин, Ув. А – x50, Б– x200

Список литературы

1. Новые технологии в лечении заболеваний роговицы: материалы всерос. науч.-практич. конф. / З.И. Мороз, Х.П. Тахчиди, Ю.Ю. Калинин, Е.В. Ковшун, С.А. Борзенко. – М., 2004. – С. 280–287.
2. Копаев С.Ю., Копаева В.Г. Вакуумные трепаны «Barron» для сквозной кератопластики // Новые технологии в лечении заболеваний роговицы: материалы всерос. науч.-практич. конф., – М., 2004. – С. 216–219.
3. Rabinowitz Y. IEK: biggest advance in 30 years // EuroTimes. – 2009. – Vol. 14, №1. – P. 19.
4. Daya S. Femtosecond keratoplasty procedures show efficacy comparable to PK // EuroTimes. – 2009. – Vol. 14, №4. – P. 9.
5. Balestrazzi E., Mosca L. Femtosecond laser enhances safety and efficacy of keratoplasty procedures // EuroTimes. – 2009. – Vol. 14, №7/8. – P. 18.
6. Guttman C. Femtosecond laser-enabled techniques address limitations in transplant surgery // EuroTimes. – 2009. – Vol. 14, №4. – P. 6.
7. Guttman C. Update on features, performance and applications of femtosecond lasers // EuroTimes. – 2008. – Vol. 13, №9. – P. 15.
8. Schuyler D. Conductive keratoplasty appears stable at three years // EuroTimes. – 2007. – Vol. 12, №7. – P. 14.

References

1. Moroz Z.I., Tahchidi H.P., Kalinnikov Ju.Ju., Kovshun E.V., Borzenok S.A. *Novye tehnologii v lechenii zabolovaniy rogovicy: materialy vseros. nauch.-praktich. konf.* (New technologies in corneal disease treatment: materials to Russian National Research & Practice Conference), Moscow, 2004, pp. 280–287.

2. Kopaev S.Ju., Kopaeva V.G. *Vakuumnye trepany «Barron» dlja skvoznoj keratoplastiki (Vacuum trepans «Barron» for penetrating keratoplasty (PK)). Novye tehnologii v lechenii zabolovaniy rogovicy: materialy vseros. nauch.-praktich. konf. (New technologies in corneal disease treatment: materials to Russian National Research & Practice Conference)*, Moscow, 2004, pp. 216–219.

3. Rabinowitz Y. *IEK: biggest advance in 30 years / EuroTimes*, 2009, Vol. 14, no 1, pp. 19.

4. Daya S. *Femtosecond keratoplasty procedures show efficacy comparable to PK. EuroTimes*, 2009, Vol. 14, no 4, pp. 9.

5. Balestrazzi E., Mosca L. *Femtosecond laser enhances safety and efficacy of keratoplasty procedures. EuroTimes*, 2009, Vol. 14, no 7/8, pp. 18.

6. Guttman C. *Femtosecond laser-enabled techniques address limitations in transplant surgery. EuroTimes*, 2009, Vol. 14, no 4, pp. 6.

7. Guttman C. *Update on features, performance and applications of femtosecond lasers. EuroTimes*, 2008, Vol. 13, no 9, pp. 15.

8. Schuyler D. *Conductive keratoplasty appears stable at three years. EuroTimes*, 2007, Vol. 12, no 7, pp. 14.

Рецензенты:

Гаврилова Т.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой офтальмологии Пермской государственной медицинской академии им. ак. Е.А. Вагнера, г. Пермь;

Самойлов А.Н., д.м.н., профессор, зав. кафедрой офтальмологии Казанского ГМУ, г. Казань.

Работа поступила в редакцию 23.02.2012.