

УДК 617.713

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ФЕМТОКРОССЛИНКИНГА НА БИОМЕХАНИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА РОГОВИЦЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Паштаев Н.П., Поздеева Н.А., Зотов В.В., Тихонов Н.М.

*Чебоксарский филиал ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова»
Минздрава России, Чебоксары, e-mail: vadim_zot@mail.ru*

Цель. Определение влияния локального трансэпителиального кросслинкинга роговичного коллагена (КРК) в сравнении со стандартным КРК на биомеханические свойства роговицы в эксперименте. Методы. В работе использовали энуклеированные глаза взрослых свиней, взятые через 5–7 часов после забоя. Исследования выполнены на 25 глазах, которые были разделены на 5 групп по 5 глаз в каждой. Группа 1-я – контроль, 2-я – глаза после стандартного кросслинкинга, 3-я – после локального фемтокросслинкинга, 4-я – после фемтолазерного формирования интрастромального тоннеля без кросслинкинга, группа 5-я – глаза после фемтолазерного формирования интрастромального кармана без кросслинкинга. Результаты. Локальный трансэпителиальный фемтокросслинтинг и стандартный КРК имеют одинаковый биомеханический эффект, что может свидетельствовать о равной эффективности методов. Фемтолазерное формирование интрастромального кармана не вызывает значимого ухудшения биомеханической стабильности всей роговицы.

Ключевые слова: кросслинтинг роговичного коллагена, фемтосекундный лазер, фемтокросслинтинг, разрывная машина

COMPARATIVE STUDY OF THE BIOMECHANICAL EFFECT OF FEMTOCROSSLINKING IN PORCINE CORNEA

Pashtayev N.P., Pozdeyeva N.A., Zotov V.V., Tihonov N.M.

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Cheboksary, e-mail: vadim_zot@mail.ru

Purpose. Determination of the biomechanical effect of local femtocrosslinking in comparison with the standard corneal collagen crosslinking (CXL). Methods. We used enucleated eyes of adult pigs taken 5–7 hours after slaughter. The studies were performed on 25 eyes, which were divided into 5 groups of 5 in each eye: group 1 comprised control, group 2 – after standard CXL, group 3 – after local femtocrosslinking, group 4 – after femtolasers formation intrastromal tunnel without CXL, group 5 – after femtolasers formation intrastromal pocket without CXL. Results. Local transepithelial femtocrosslinking and standard CXL have the same biomechanical effect, which indicates on equal effectiveness both techniques. Femtolasers formation intrastromal pocket does not cause significant deterioration of the biomechanical stability of the entire cornea.

Keywords: cross-linking of corneal collagen, femtosecond laser, femtocrosslinking, tearing machine

Кросслинтинг роговичного коллагена (КРК) как метод лечения кератоконуса и кератэктазий был предложен в 2003 году доктором Волензаком с соавт. [11–13]. Стандартная методика кросслинкинга предполагает удаление роговичного эпителия с помощью шпателя перед инстилляцией 0,1%-го раствора рибофлавина (Wollensak G., Spoerl E., Seiler T., 2003). В течение 30-минутной процедуры периодически закапывают раствор рибофлавина из-за быстрого высыхания эрозированной поверхности роговицы. В связи с дефектом эпителия в раннем послеоперационном периоде пациенты отмечают жалобы на боль, раздраженный глаз. Кроме того, возможны осложнения в виде хейза, рецидивирующей эрозии, кератита, рубцов и перфорации роговицы [4, 6].

В связи с этим целесообразность полного удаления эпителия перед КРК является темой многих современных исследований [1, 3, 5, 7–10, 14]. Так как рибофлавин не может проникать через интактный эпителий в достаточном количестве, были пред-

ложены различные методы для улучшения насыщения роговичной стромы рибофлавином [5]. Такие методы предполагают использование до операции капель, содержащих консервант бензалкония хлорид для ослабления эпителиальных межклеточных связей, либо удаление лишь поверхностного слоя эпителия без полной деэпителизации. Однако исследования на животных показали уменьшение и неоднородность поглощения рибофлавина стромой роговицы при неполном удалении эпителия [5, 8]. Кроме того, в работах доктора Волензака было показано, что при применении методики с использованием консервантов достигается лишь одна пятая часть биомеханического эффекта [14].

Перспективной представляется техника локального трансэпителиального КРК с использованием фемтолазера для лечения прогрессирующего кератоконуса, разработанная в Чебоксарском филиале ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» [1]. Согласно данной методике раствор рибофлавина вводится в роговичный

карман, сформированный фемтосекундным лазером, с последующим локальным УФ-облучением. В результате 2-летних клинических исследований было отмечено повышение остроты зрения, уменьшение сферического и цилиндрического компонентов рефракции, а также значений максимальной кератометрии. Проведенные нами экспериментальные работы помогают объяснить описанные выше результаты.

Целью нашего исследования стало определение влияния локального транэпителиального фемтокротслинкинга в сравнении со стандартным методом кротслинкинга роговичного коллагена на биомеханические свойства роговицы.

Материалы и методы исследования

В работе использовали изолированные глаза взрослых свиней, взятые через 5–7 часов после забоя. Исследования выполнены на 25 глазах, которые были разделены на 5 групп по 5 глаз в каждой. Группа 1-я – контроль, 2-я – глаза после стандартного кротслинкинга, 3-я – после локального фемтокротслинкинга, 4-я – после фемтолазерного формирования интрастромального тоннеля без кротслинкинга, группа 5-я – глаза после фемтолазерного формирования интрастромального кармана без кротслинкинга.

Группу контроля составляли глаза свиней с прозрачными, интактными роговицами. Стандартная процедура КРК на свиной роговице глаз 2-ой группы включала в себя удаление роговичного эпителия диаметром 9 мм с помощью шпателя, инстилляцию 0,1%-го раствора рибофлавина в течение 15 минут, затем облучение ультрафиолетовым светом длиной волны 375–376 нм и плотностью мощности 3 мВт/см² в течение 30 минут. На глазах 3-й группы процедура локального фемтокротслинкинга начиналась с формирования интрастромального тоннеля с помощью фемтосекундного лазера IntraLase FS 60 кГц (Advanced Medical Optics). Для этого на заданной глубине 200 мкм формировали кольцевидный канал внутренним диаметром 5,0 мм и внешним 9,0 мм, после чего в радиальном направлении проводили входной разрез длиной 2 мм. Энергия импульса составила 1,5–1,8 мкДж. В сформированный таким образом тоннель вводили 0,1%-й раствор рибофлавина до полного пропитывания стромы в области тоннеля. Затем проводили в проекции сформированного кольцевидного тоннеля локальное облучение ультрафиолетовым светом при стандартных параметрах в течение 30 минут (рис. 1). Глаза 4-й группы подвергались процедуре фемтолазерного формирования кольцевидного интрастромального тоннеля на глубине 200 мкм внутренним диаметром 5,0 мм и внешним 9,0 мм, но, в отличие от глаз 3-й группы, без последующего облучения ультрафиолетовым светом. На глазах 5-й группы выполняли процедуру фемтолазерного интрастромального формирования кармана диаметром 9,0 мм, на глубине 200 мкм, с углом вреза 45 градусов, углом петли 45 градусов без последующей процедуры КРК.

Для исследования биомеханических свойств роговицы изучали способность к растяжению образцов роговицы экспериментальных животных, подвергшихся процедуре КРК и фемтолазерного формирования интрастромального тоннеля и кармана.

Выкраиваемые полоски ткани размером 12 на 20 мм захватывали весь диаметр роговицы и часть склеры для закрепления между лапками универсальной испытательной машины ZWICK/ROELL Z005 на расстоянии 10 мм (рис. 2, 3). Натяжение повышалось линейно со скоростью 50 мм/мин до напряжения в 5 МПа. Полученные результаты фиксировались программным управлением испытательной машины численно и графически. Данная разрывная машина была использована ранее для оценки биомеханической прочности послеоперационного рубца после фемтосекундной и традиционной сквозной кератопластики [2].

Результаты исследования и их обсуждение

При сравнении напряжения при растяжении образцов на 8% установлено различие в деформационных кривых, показывающих зависимость напряжения, приложенного к испытываемому образцу, от удлинения этого образца (рис. 4). Так, напряжение при растяжении образцов на 8% из группы подвергшихся локальному фемтокротслинкингу составило $4,09 \pm 0,39$ МПа, что практически соответствовало результатам группы стандартного КРК – $4,3 \pm 0,42$ МПа. Значения напряжения в группах фемтолазерного формирования интрастромального кармана ($2,11 \pm 0,27$ МПа) и тоннеля ($2,29 \pm 0,18$ МПа) были близки значениям напряжения группы контрольных, интактных образцов ($2,4 \pm 0,29$ МПа). Таким образом, необходимо почти 2-кратное увеличение силы для растяжения образцов, подвергшихся процедуре локального фемтокротслинкинга и стандартного КРК. В то же время само по себе фемтолазерное формирование интрастромального кармана и тоннеля не вызвало значимого снижения биомеханической прочности роговицы, что в свою очередь также подтверждается результатами аналогичного исследования доктора Волензака с соавт. [15]. Учитывая этот факт, а также то, что технология фемтокротслинкинга снижает риск инфицирования и интенсивность роговичного синдрома в раннем послеоперационном периоде, методика может рассматриваться как альтернатива стандартному КРК.

Заключение

Проведенное нами исследование показало, что и локальный транэпителиальный КРК и стандартный КРК имеют одинаковый биомеханический эффект, что может свидетельствовать о равной эффективности методик. Фемтолазерное формирование интрастромального кармана не вызывает значимого ухудшения биомеханической стабильности всей роговицы.

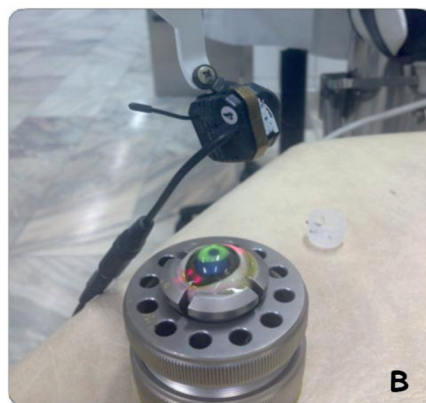
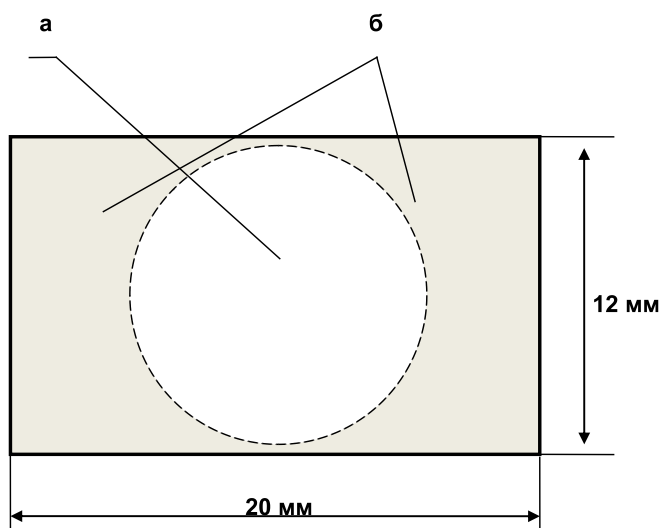


Рис. 1. Этапы процедуры локального фемтокреслинкинга: а) формирование интрастромального тоннеля с помощью фемтосекундного лазера IntraLase FS 60 кГц; б) интерфейс программы фемтосекундного лазера IntraLase FS 60 кГц в момент формирования интрастромального тоннеля; в) локальное облучение ультрафиолетовым светом



5

Рис. 2. Схема выкраивания корнеосклерального материала для проведения испытания, где: а – роговица; б – участки склеры, используемые для фиксации в разрывной машине

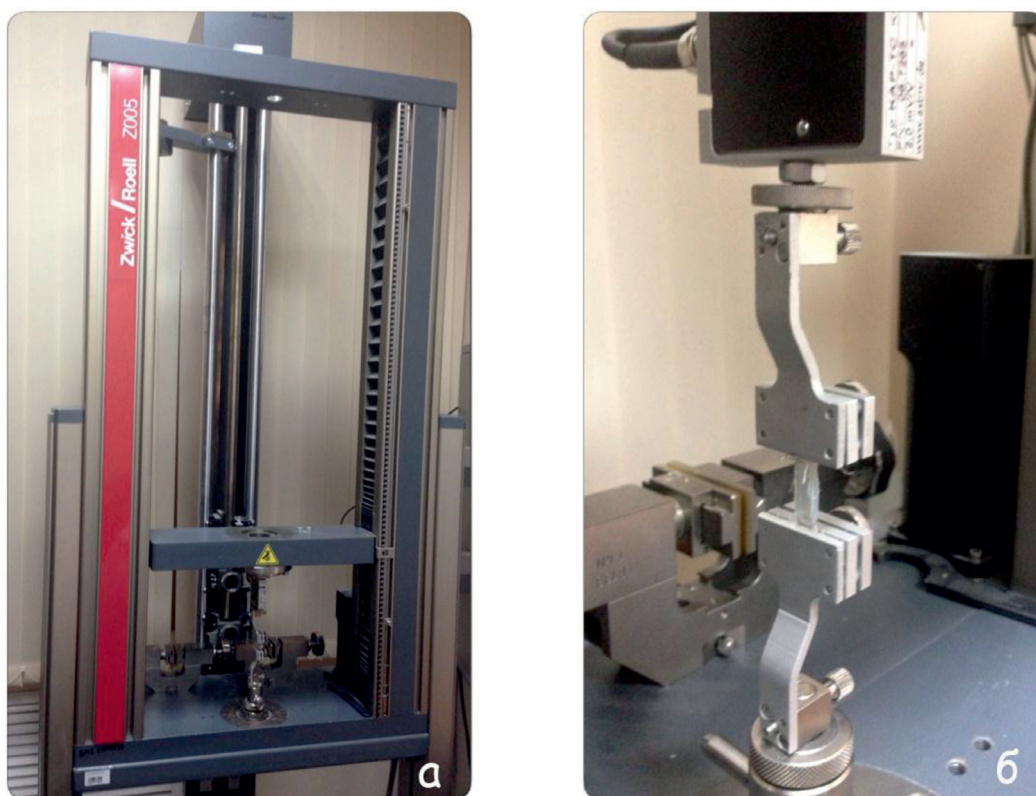


Рис. 3. Универсальная испытательная машина ZWICK/ROELL:
а) общий вид; б) процесс разрыва роговичного образца

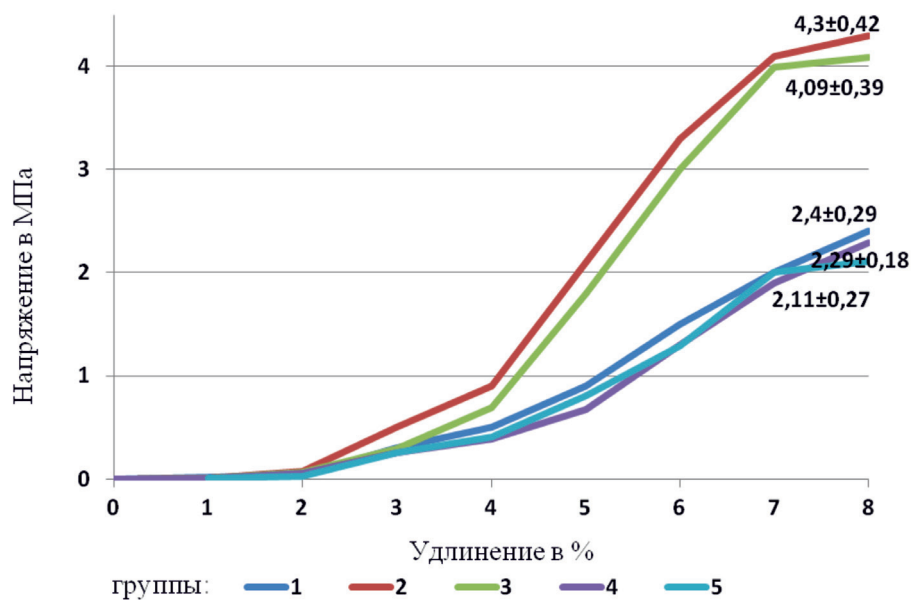


Рис. 4. График деформационных кривых, где 1 – группа контроля; 2 – группа стандартного кросслинкинга; 3 – группа локального фемтокросслинкинга; 4 – группа фемтолазерного формирования интрастромального тоннеля без кросслинкинга; 5 – группа фемтолазерного формирования интрастромального кармана без кросслинкинга

Список литературы

1. Зотов В.В., Паштаев Н.П. Новый метод кросслин-кинга роговичного коллагена в лечении больных с кератоконусом. Отдаленные результаты // Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии. сб. науч. ст. – М., 2011. – С. 299–302.
2. Лебедь Л.В., Поздеева Н.А. Оценка биомеханической силы послеоперационного рубца после фемтосекундной сквозной кератопластики // Офтальмохирургия. – 2012. – № 4. – С. 18–21.
3. Chan C.C., Sharma M., Wachler B.S. Effect of inferior-segment Intacs with and without C3-R on keratoconus. J. Cataract Refract. Surg., 2007. – Vol. 33. – P. 75–80.
4. Faschinger C., Kleinert R., Wedrich A. Corneal melting in both eyes after simultaneous corneal cross-linking in a patient with keratoconus and Down syndrome. Ophthalmologie. – 2010. – Vol. 107. – P. 951–952.
5. Hayes S., O'Brart D.P., Lamdin L.S., Douth J., Samaras K., Marshall J., Meek K.M. Effect of complete epithelial debridement before riboflavin-ultraviolet-A corneal collagen crosslinking therapy. J. Cataract Refract. Surg., 2008. – Vol. 34. – P. 657–661.
6. Koppen C., Vryghem J.C., Gobin L., Tassignon M.-J. Keratitis and corneal scarring after UVA/riboflavin cross-linking for keratoconus. J. Refract. Surg., 2009. – Vol. 25. – P. 819–823.
7. Leccisotti A., Islam T. Transepithelial corneal collagen cross-linking in keratoconus. J. Refract. Surg., 2010. – Vol. 26. – P. 942–948.
8. Samaras K., O'Brart D.P., Douth J., Hayes S., Marshall J., Meek K.M. Effect of epithelial retention and removal on riboflavin absorption in porcine corneas. J. Refract. Surg., 2009. – Vol. 25. – P. 771–775.
9. Vinciguerra R., Spoerl E., Romano M.R., Rosetta P., Vinciguerra P. Comparative stress strain measurements of human corneas after transepithelial UV-A induced cross-linking: impregnation with iontophoresis, different riboflavin solutions and irradiance power. Paper presented at The Association for Research in Vision and Ophthalmology Annual Meeting, 7th May, 2012; Fort Lauderdale, Florida.
10. Waring G.O. Iontophoretic delivery of riboflavin and future applications with corneal CXL with UV-A for keratoconus treatment. Paper presented at The American Society of Refractive Surgery Symposium And Congress, 24th April, 2012, Chicago.
11. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. Am. J. Ophthalmol., 2003. – Vol. 135. – P. 620–627.
12. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking // J. Cataract Refract. Surg., 2003. – Vol. 29. – P. 1780–1785.
13. Wollensak G., Spoerl E., Reber F., Seiler T. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. Eye (Lond), 2004. – Vol. 18. – P. 718–722.
14. Wollensak G., Iomdina E. Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. J. Cataract Refract. Surg., 2009. – Vol. 35. – P. 540–546.
15. Wollensak G., Hammer C.M., Spörl E., Klenke J., Skerl K., Zhang Y., Sel S. Biomechanical efficacy of collagen crosslinking in porcine cornea using a femtosecond laser pocket. Cornea, 2014. – Vol. 33. – P. 300–305.

References

1. Zotov V.V., Pashtayev N.P. Novyj metod krosslinkinga rogovichnogo kollagena v lechenii bol'nyh s keratokonusom.

Otdalennye rezultaty // Sovremennye tehnologii kataraktalnoj i refrakcionnoj hirurgii. sb. nauch. st. M., 2011. pp. 299–302.

2. Lebed L.V., Pozdeeva N.A. Ocenka biomechanicheskoy sily posleoperacionnogo rubca posle femtosekundnoj skvoznoj keratoplastiki // Oftalmohirurgiya. 2012. no. 4. pp. 18–21.

3. Chan C.C., Sharma M., Wachler B.S. Effect of inferior-segment Intacs with and without C3-R on keratoconus. J. Cataract Refract. Surg., 2007. Vol. 33. pp. 75–80.

4. Faschinger C., Kleinert R., Wedrich A. Corneal melting in both eyes after simultaneous corneal cross-linking in a patient with keratoconus and Down syndrome. Ophthalmologie. 2010. Vol. 107. pp. 951–952.

5. Hayes S., O'Brart D.P., Lamdin L.S., Douth J., Samaras K., Marshall J., Meek K.M. Effect of complete epithelial debridement before riboflavin-ultraviolet-A corneal collagen crosslinking therapy. J. Cataract Refract. Surg., 2008. Vol. 34. pp. 657–661.

6. Koppen C., Vryghem J.C., Gobin L., Tassignon M.-J. Keratitis and corneal scarring after UVA/riboflavin cross-linking for keratoconus. J. Refract. Surg., 2009. Vol. 25. pp. 819–823.

7. Leccisotti A., Islam T. Transepithelial corneal collagen cross-linking in keratoconus. J. Refract. Surg., 2010. Vol. 26. pp. 942–948.

8. Samaras K., O'Brart D.P., Douth J., Hayes S., Marshall J., Meek K.M. Effect of epithelial retention and removal on riboflavin absorption in porcine corneas. J. Refract. Surg., 2009. Vol. 25. pp. 771–775.

9. Vinciguerra R., Spoerl E., Romano M.R., Rosetta P., Vinciguerra P. Comparative stress strain measurements of human corneas after transepithelial UV-A induced cross-linking: impregnation with iontophoresis, different riboflavin solutions and irradiance power. Paper presented at The Association for Research in Vision and Ophthalmology Annual Meeting, 7th May, 2012; Fort Lauderdale, Florida.

10. Waring G.O. Iontophoretic delivery of riboflavin and future applications with corneal CXL with UV-A for keratoconus treatment. Paper presented at The American Society of Refractive Surgery Symposium And Congress, 24th April, 2012, Chicago.

11. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. Am. J. Ophthalmol., 2003. Vol. 135. pp. 620–627.

12. Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking // J. Cataract Refract. Surg., 2003. Vol. 29. pp. 1780–1785.

13. Wollensak G., Spoerl E., Reber F., Seiler T. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. Eye (Lond), 2004. Vol. 18. pp. 718–722.

14. Wollensak G., Iomdina E. Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. J. Cataract Refract. Surg., 2009. Vol. 35. pp. 540–546.

15. Wollensak G., Hammer C.M., Spörl E., Klenke J., Skerl K., Zhang Y., Sel S. Biomechanical efficacy of collagen crosslinking in porcine cornea using a femtosecond laser pocket. Cornea, 2014. Vol. 33. pp. 300–305.

Рецензенты:

Самойлов А.Н., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой офтальмологии, ГОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет», г. Казань;

Сметанкин И.Г., д.м.н., заведующий кафедрой глазных болезней, ГБОУ ВПО «НижГМА» Минздрава России, г. Нижний Новгород.