



УДК 617.713-089

А.В. ДОГА¹, С.А. БОРЗЕНОК¹, И.А. МУШКОВА¹, А.Н. КАРИМОВА¹, Е.В. КЕЧИН¹, Н.В. ШЕВЛЯГИНА²¹МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова МЗ РФ, 127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59а²ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи МЗ РФ, 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

Качественная оценка поверхности стромального ложа роговицы после формирования клапана с использованием различных фемтосекундных лазерных установок

Дога Александр Викторович — доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора по научно-клинической работе, тел. (499) 488-89-93, e-mail: alexander_doga@mail.ru**Борзенко Сергей Анатольевич** — доктор медицинских наук, профессор, руководитель центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем, тел. (499) 488-87-42, e-mail: mdborzenok@yandex.ru**Мушкова Ирина Альфредовна** — доктор медицинских наук, заведующая отделом лазерной рефракционной хирургии, тел. (499) 488-87-42, e-mail: i.a.muskova@mail.ru**Каримова Аделя Насибуллаевна** — кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела лазерной рефракционной хирургии, тел. (499) 488-85-26, e-mail: adelya.k.n@mail.ru**Кечин Евгений Владимирович** — аспирант отдела лазерной рефракционной хирургии, тел. (499) 488-85-26, e-mail: evgeny.kechin@gmail.com**Шевлягина Наталья Владимировна** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории анатомии микроорганизмов, тел. (499) 488-85-26, e-mail: evgeny.kechin@gmail.com

В эксперименте на 8 кадаверных глазах проведена качественная оценка поверхности стромального ложа роговицы после формирования роговичного клапана с помощью фемтосекундных лазерных установок Фемто Визум (Оптосистемы, Россия) (группа 1, n=4) и Femto LDV Z 6 (Ziemer, Швейцария) (группа 2, n=4). Стромальное ложе роговицы исследовали с помощью сканирующей электронной микроскопии. Полученные снимки образцов оценивали субъективным методом тремя группами исследователей по 5-и бальной шкале, предложенной Sarayba M.A. et al. (2007), где «1» — самые гладкие образцы, «5» — самые шероховатые. Образцы исследовали на увеличении $\times 200$ и $\times 400$. Для сравнения данных использовали непараметрический анализ U-критерий Манна — Уитни. Установка Фемто Визум позволяет формировать роговичную поверхность достаточно высокого качества не уступающую таковой полученной с помощью установки Femto LDV Z 6 ($p_{m-u} > 0,05$).

Ключевые слова: ЛАЗИК, стромальное ложе роговицы, качество поверхности, сканирующая электронная микроскопия, фемтосекундный лазер, Фемто Визум, Femto LDV.

A.V. DOGA¹, S.A. BORZENOK¹, I.A. MUSHKOVA¹, A.N. KARIMOVA¹, E.V. KECHIN¹, N.V. SHEVLYAGINA²¹The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, 59a Beskudnikovsky Blvd., Moscow, Russian Federation, 127486²Federal Scientific-Research Center for Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaley, 18 Gama-ley Str., Moscow, Russian Federation, 123098

Qualitative assessment of the corneal stromal bed surface after the flap formation using different femtosecond laser systems

Doga A.V. — D. Med. Sc., Professor, Deputy Director General on Scientific-Clinical Work, tel. (499) 488-89-93, e-mail: alexander_doga@mail.ru**Borzenok S.A.** — D. Med. Sc., Professor, Head of the Center for Fundamental and Applied Biomedical Problems, tel. (499) 488-89-93, e-mail: mdborzenok@yandex.ru

Mushkova I.A. — D. Med. Sc., Head of the Department of Refractive Laser Surgery, tel. (499) 488-85-26, e-mail: i.a.muskova@mail.ru

Karimova A.N. — Cand. Med. Sc., Researcher of the Department of Refractive Laser Surgery, tel. (499) 488-85-26, e-mail: adelya.k.n@mail.ru

Kechin E.V. — postgraduate student of the Department of Refractive Laser Surgery, tel. (499) 488-85-26, e-mail: evgeny.kechin@gmail.com

Shevlyagina N.V. — Cand. Med. Sc., Senior Researcher of the Laboratory of Microorganisms' Anatomy, tel. (499) 488-85-26, e-mail: evgeny.kechin@gmail.com

Qualitative assessment on 8 cadaver eyes was conducted of the corneal stromal bed after the flap formation using different femtosecond lasers: Femto Visum (Optosystems, Russia) (group 1, n=4) and Femto LDV Z6 (Ziemer, Switzerland) (group 2, n=4). The corneal stromal beds were investigated with scanning electron microscopy. The samples were assessed subjectively by three groups of researchers with a grading scale proposed by Sarayba M.A. et al. (2007), from 1 to 5, where 1 denotes the smoothest samples, and 5 — the roughest. The samples were observed at x200 and x400 magnification. Mann — Whitney nonparametric statistical analysis of U-criterion was performed to compare groups. The Femto Visum device was proved to be able to form the corneal surface of high quality, not inferior to that created with Femto LDV Z6 ($p_{m-u} > 0,05$).

Key words: LASIK, corneal stromal bed, quality of the surface, scanning electron microscopy, femtosecond laser, Femto Visum, Femto LDV.

Распространенность в мире различных видов аномалий рефракции, в частности миопии, достигает 80% (в среднем 25%), причем наибольшие показатели отмечаются в странах Юго-Восточной Азии [1-4]. Вместе с тем аномалии рефракции приводят к ограничению в выборе профессии, и такие специальности, как пилот самолета, машинист электропоезда и др., требующие стопроцентного зрения вдаль, становятся недостижимыми для человека. Однако на помощь таким пациентам приходят рефракционные операции. Среди всего многообразия самыми распространенными являются лазерные операции с предварительным формированием роговичного клапана — Laser in situ keratomileusis (LASIK/ЛАЗИК) [5]. Метод ЛАЗИК состоит из двух этапов: первый — формирование и подъем роговичного клапана на ножке с его репозицией после второго этапа — эксимерлазерной абляции стромы. Для формирования роговичного клапана наиболее распространенные получили два метода. Первый — формирует клапан с помощью механического микрокератома, второй — с помощью фемтосекундного лазера [6, 7]. Основной проблемой, с которой встречаются офтальмохирурги при использовании механического микрокератома, является высокий риск развития интраоперационных осложнений [8, 9]. Тогда как при использовании фемтосекундного лазера такие осложнения встречаются реже [10].

Считается, что более гладкая поверхность стромального ложа при формировании роговичного клапана способствует более высокому качеству зрения, чего также удается достичь при использовании фемтосекундного лазера [11]. С помощью сканирующей электронной микроскопии было показано, что при использовании механического микрокератома формируется менее ровная поверхность стро-

мального ложа роговицы, чем при использовании фемтосекундного лазера. Это связано с наличием осцилляторных движений лезвия микрокератома, в то время как фемтолазер равномерно расслаивает строму роговицы [12-14].

В зависимости от параметров частоты и энергии импульсов фемтосекундные лазерные установки условно разделяют на несколько групп: 1 — с высокой энергией импульса и низкой частотой (IntraLase (AMO, США), Femtec 520F (Technolas Perfect Vision, Германия)); 2 — с низкой энергией импульса и высокой частотой (Femto LDV (Ziemer, Швейцария), VisuMax (Carl Zeiss, Германия)); 3 — со средними значениями энергии и частоты импульсов (WaveLight (Alcon, США)) [7].

В ряде исследований было показано, что при использовании высокочастотных фемтосекундных лазерных установок с малой энергией в импульсе формируется более гладкая роговичная поверхность при создании клапана в отличие от установок с меньшей частотой и большей энергией [13, 14]. Возможно, это связано с наличием «тканевых мостиков» — не прорезанных участков роговицы, разрыв которых сопровождается затрудненным подъемом клапана, формированием ячеистой структуры интерфейса и дополнительной травмой роговицы. Данное явление наиболее характерно для использования фемтолазерных установок с низкой частотой и высокой энергией импульсов [15]. Поэтому в ходе совместной работы ООО «Оптосистемы» (Троицк, Россия) и ФГАУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова (г. Москва), как медицин-

Таблица 2.
Данные качественной оценки поверхности стромального ложа после формирования роговичного клапана фемтосекундными лазерными установками (баллы, $M \pm \sigma$)*

Увеличение	Группа 1 (Фемто Визум)	Группа 2 (Femto LDV Z6)
x200	2,34±1,31	2,38±1,16**
x400	2,21±1,06	2,31±0,97***

Примечание: * — шкала от «1» до «5» баллов, где «1» — самые гладкие образцы, «5» — самые шероховатые; ** — $p_{t-u} > 0,05$, сравнение с группой 1 на увеличении 200х; *** — $p_{t-u} > 0,05$, сравнение с группой 1 на увеличении 400х; U-критерий Манна — Уитни

Таблица 1.
Параметры фемтолазерных установок, используемые в исследовании, для формирования роговичного клапана

Параметры	Фемтолазерная установка	
	Фемто Визум	Femto LDV Z6
Частота импульсов, кГц	1000	1000
Энергия импульсов, нДж	640-1100	<100



ского соисполнителя, была создана первая отечественная фемтосекундная лазерная установка Фемто Визум с новым вариантом сочетания параметров частоты и энергии импульсов.

Цель — провести качественную оценку поверхности стромального ложа роговицы после формирования клапана с помощью фемтосекундных лазерных установок Фемто Визум и Femto LDV Z6.

Материал и методы

Исследование проводили на 8 кадаверных глазах от 4 доноров-трупов без признаков патологии роговицы, не соответствующих критериям отбора для кератопластики, предоставленных Глазным тканевым банком МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова, имеющим лицензию на осуществление медицинской деятельности по изъятию и хранению органов и (или) тканей человека для трансплантации; транспортировке органов и (или) тканей человека для трансплантации. Возраст доноров варьировал от 30 до 38 лет. От момента смерти до энуклеации проходило не более 6 часов, от момента смерти до выполнения эксперимента — не более 11 часов.

Было сформировано две группы по 4 кадаверных глаза в каждой. Первую группу составили кадаверные глаза, на которых роговичный клапан формировали с помощью фемтолазерной установки Фемто Визум (Оптосистемы, Россия); вторую группу — установка Femto LDV Z 6 (Ziemer, Швейцария). Фемтосекундный лазер Femto LDV Z 6 был выбран в качестве сравнения, ввиду того, что на сегодняшний день он является одним из самых удачных лазеров для формирования роговичного клапана и показавший свою безопасность и эффективность в коррекции аномалий рефракции [16-18]. Основные этапы пробоподготовки препаратов стромального ложа роговицы заключались в следующем: в обеих группах с помощью фемтолазера формировали роговичный клапан по заданным параметрам: диа-

метр клапана — 9,0 мм, толщина — 100 мкм. Параметры фемтолазерных установок, используемые в исследовании, для формирования роговичного клапана представлены в табл. 1.

Затем выкраивали роговичный диск, после этого одним пинцетом фиксировали край роговицы со стороны десцеметовой мембраны, а другим — край роговичного клапана и выполняли подъем клапана. Таким образом, отсутствовало механическое воздействие шпателя по обе стороны от фемтодиссекционного разреза. Далее стромальное ложе фиксировали в 4,0% растворе формальдегида, напыляли золотом и изучали центральную часть роговичного диска с помощью сканирующего электронного микроскопа Quanta 200 3D (FEI Company, США) в условиях высокого вакуума при ускоряющем напряжении 5 кВ. Сканирующую электронную микроскопию проводили на базе лаборатории анатомии микроорганизмов ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи.

В исследовании Sarayba M.A. et al. (2007) было показано, что результаты количественной оценки поверхности стромального ложа, полученные с помощью компьютерной программы, достоверно сопоставимы с результатами качественной оценки группой исследователей [13]. Поэтому качественную оценку поверхности стромального ложа роговицы проводили субъективным методом тремя группами независимых исследователей, в соответствии с предложенным М.А. Sarayba et al. (2007) методом [13]. Подготовлено по 2 снимка на увеличениях x200 и x400 обеих групп, всего 8 снимков. Образцы были зашифрованы и каждому исследователю представлялись в случайном порядке. Всем образцам присваивались баллы в соответствии со шкалой М.А. Sarayba et al. [13]: 1 балл — самые гладкие образцы среди всех; 2 — менее гладкие образцы, чем «1»; 3 — средняя группа; 4 — шероховатые образцы, но не худшие; 5 — самые шероховатые среди всех образцов. Статистическая обработка данных производилась с использованием

Рисунок 1. Стромальное ложе роговицы после формирования роговичного клапана с помощью установки Фемто Визум. Увеличение x200

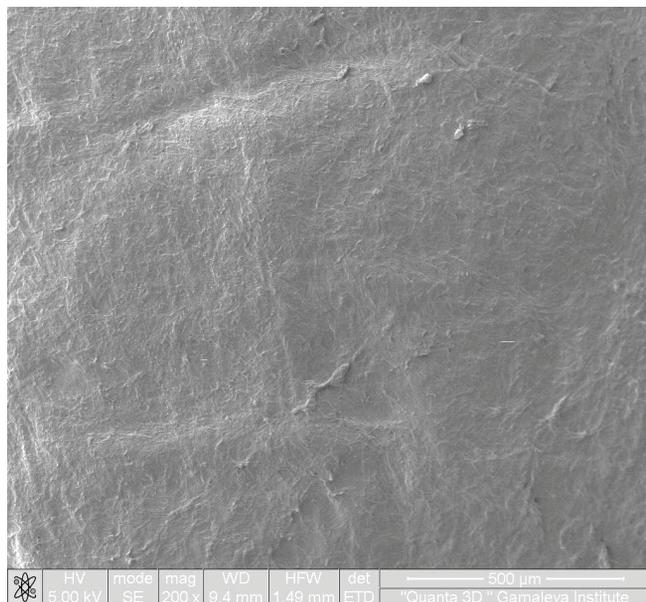


Рисунок 2. Стромальное ложе роговицы после формирования роговичного клапана с помощью установки Фемто Визум. Увеличение x400

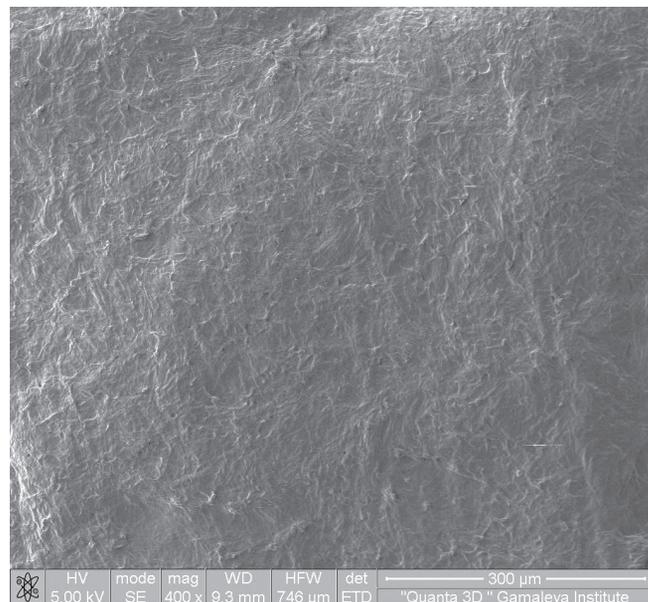


Рисунок 3.

Стромальное ложе роговицы после формирования роговичного клапана с помощью установки Femto LDV Z6. Увеличение $\times 200$

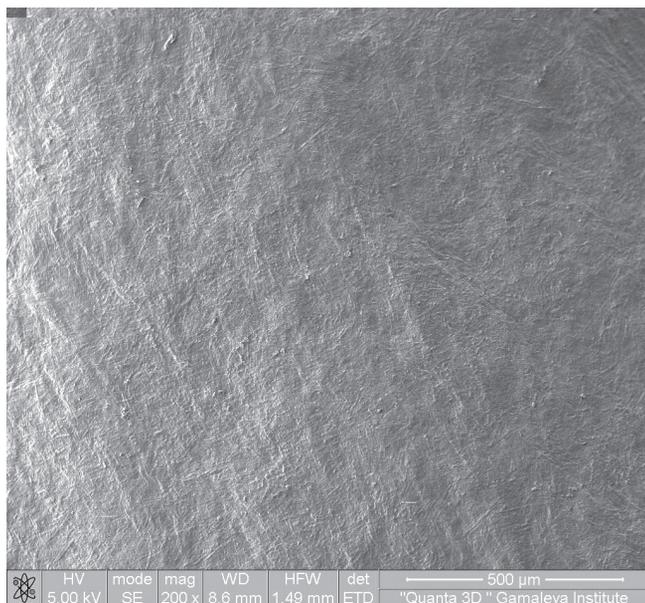
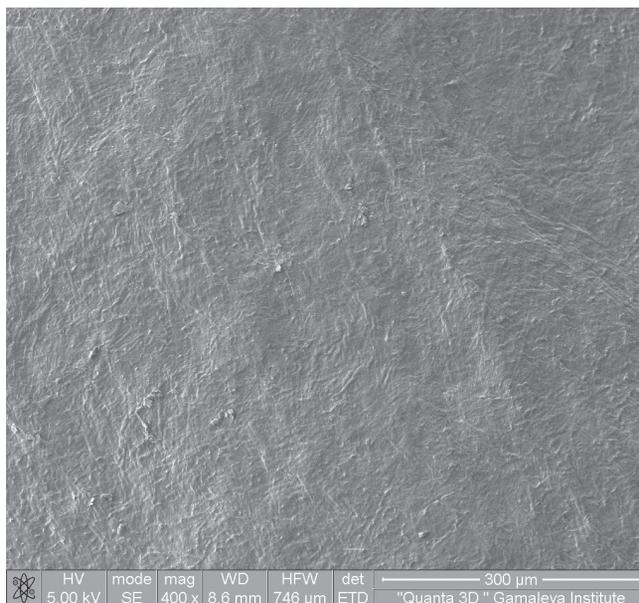


Рисунок 4.

Стромальное ложе роговицы после формирования роговичного клапана с помощью установки Femto LDV Z6. Увеличение $\times 400$



компьютерных программ Statistica 6.0 и Microsoft Excel 2007. Результаты представлены в виде средней арифметической величины (M) и стандартного отклонения (σ). Для сравнения данных использовали непараметрический анализ U-критерий Манна — Уитни. Статистически достоверными признавали различия, при которых уровень достоверности (p_{m-u}) $p_{m-u} < 0,05$, а при $p_{m-u} > 0,05$ различия признались недостоверными.

Результаты и обсуждение

Во всех образцах собственное вещество роговицы было представлено волокнистой структурой, состоящей из разноориентированных коллагеновых волокон, погруженных в аморфное межклеточное вещество (рис. 1-4).

При оценке тремя группами независимых исследователей качества поверхности стромального ложа роговицы по данным сканирующей электронной микроскопии были получены следующие результаты, представленные в табл. 2.

Таким образом, были получены удовлетворительные результаты при качественной оценке стромального ложа в обеих исследуемых группах. Вместе с тем, по данным статистического анализа (U-критерий Манна — Уитни), результаты первой группы (Фемто Визум) можно считать сопоставимыми со второй (Femto LDV Z6) группой на всех исследуемых увеличениях ($p_{m-u} > 0,05$).

Заключение

Качественная оценка поверхности стромального ложа роговицы после формирования клапана с использованием фемтосекундных лазерных установок Фемто Визум (Оптосистемы, Россия) и Femto LDV Z 6 (Ziemer, Швейцария) показала сопоставимость между обеими группами результаты. Установка Фемто Визум не уступает в качестве формируемой роговичной поверхности установке Femto LDV Z 6, которая, на сегодняшний день, является одной из самых современных и с успехом используется в клинической практике. Необходи-

мы дальнейший поиск и применение современных методов визуализации для проведения количественной оценки поверхности стромального ложа роговицы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Нероев В.В. Новые аспекты проблемы патологии сетчатки и зрительного нерва // Вестник офтальмологии. — 2000. — №5. — С. 14-16.
2. Williams K.M., Verhoeven V.J., Cumberland P. et al. Prevalence of refractive error in Europe: the European Eye Epidemiology (E(3)) Consortium // Eur. J. Epidemiol. — 2015. — Vol. 30, №4. — P. 305-15.
3. Wolfram C., Höhn R., Kottler U. et al. Prevalence of refractive errors in the European adult population: the Gutenberg Health Study (GHS) // Br. J. Ophthalmol. — 2014. — Vol. 98. — №7. — P. 857-61.
4. Wu L.J., You Q.S., Duan J.L. et al. Prevalence and associated factors of myopia in high-school students in Beijing // PLoS One. — 2015. — 24. — 10 (3).
5. Lundström M., Manning S., Barry P. et al. The European registry of quality outcomes for cataract and refractive surgery (EUREQUO): a database study of trends in volumes, surgical techniques and outcomes of refractive surgery // Eye Vis. (Lond). — 2015. — 30. — 2. — 8.
6. Дога А.В. Эксимерлазерная рефракционная микрохирургия роговицы на базе сканирующей установки «Микроскан»: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М., 2004.
7. Костенев С.В., Черных В.В. Фемтосекундная лазерная хирургия: принципы и применение в офтальмологии. — Новосибирск: Наука, 2012. — 142 с.
8. Al-Mezaine H.S., Al-Amro S.A., Al-Obeidan S. Incidence, management, and visual outcomes of buttonholed laser in situ keratomileusis flaps // J. Cataract Refract. Surg. — 2009. — Vol. 35, №5. — P. 839-845.
9. Stulting R.D., Carr J.D., Thompson K.P. et al. Complications of laser in situ keratomileusis for the correction of myopia // Ophthalmology. — 1999. — Vol. 106, №1. — P. 13-20.
10. Патева Т.З. Фемтолазерная коррекция миопии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2012. — 23 с.
11. Tran D.B., Sarayba M.A., Bor Z. et al. Randomized prospective clinical study comparing induced aberrations with IntraLase and Hansatome flap creation in fellow eyes: potential impact on wavefront-guided laser in situ keratomileusis // J. Cataract Refract. Surg. — 2005. — Vol. 31, №1. — P. 97-105.
12. Kymionis G.D., Kontadakis G.A., Naoumidi I. et al. Comparative study of stromal bed of LASIK flaps created with femtosecond lasers (IntraLase FS150, WaveLight FS200) and mechanical microkeratome // Br. J. Ophthalmol. — 2014. — Vol. 98, №1. — P. 133-137.
13. Sarayba M.A., Ignacio T.S., Binder P.S., Tran D.B. Comparative study of stromal bed quality by using mechanical, IntraLase femtosecond laser 15- and 30-kHz microkeratomes // Cornea. — 2007. — Vol. 26, №4. — P. 446-451.



14. Sarayba M.A., Ignacio T.S., Tran D.B., Binder P.S. A 60 kHz IntraLase femtosecond laser creates a smoother LASIK stromal bed surface compared to a Zyoptix XP mechanical microkeratome in human donor eyes // *J. Refract. Surg.* — 2007. — Vol. 23, №4. — P. 331-337.

15. Дога А.В., Кишкин Ю.И., Майчук Н.В., Кондакова О.И. Сравнительный анализ гистоморфологии роговиц in vivo после формирования поверхностного клапана с помощью механического микрокератома и фемтосекундного лазера // Сб. науч. тр. Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии. — 2009: Сб. науч. ст. — М., 2009. — С. 255-259.

16. Tomita M., Waring G.O. 4th, Watabe M. Analysis of corneal endothelial cell density and morphology after laser in situ keratomileusis using two types of femtosecond lasers // *Clin. Ophthalmol.* — 2012. — Vol. 6. — P. 1567-1572.

17. Zhou Y., Zhang J., Tian L., Zhai C. Comparison of the Ziemer FEMTO LDV femtosecond laser and Moria M2 mechanical microkeratome // *J. Refract. Surg.* — 2012. — Vol. 28, №3. — P. 189-194.

18. Zhang J., Zhou Y., Zhai C., Tian L. Comparison of 2 femtosecond lasers for laser in situ keratomileusis flap creation // *J. Cataract Refract. Surg.* — 2013. — Vol. 39, №6. — P. 922-927.