



Е.Н. Нурлыбекова¹, М.С. Сулейменов¹, З.Т. Утельбаева¹,
О.Г. Ульданов¹, А.С. Масимгазиев², Б.Е. Кадыргалиев¹

¹Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова¹

²Казахский научно-исследовательский институт глазных болезней²
Алматы, Казахстан

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ СОХРАННОСТИ ЛЕНТИКУЛЫ РОГОВИЦЫ ПОСЛЕ РЕФРАКЦИОННЫХ ОПЕРАЦИЙ В РАЗЛИЧНЫЕ СРОКИ ХРАНЕНИЯ

Резюме: В статье приведены данные о сохранности клеток лентикулы и изменения в них в различные сроки хранения. Изучены вопросы сохранности стромы роговицы (лентикулы) после воздействия фемтосекундным лазером. В результате операции Relex Smile высвобождается и остается невостребованной стромальная лентикула, обладающая оптико-рефракционными свойствами и открывающая широкие возможности для ее дальнейшего применения в клинике. В связи с этим актуальной остается проблема заготовки и длительного хранения лентикулярного материала, а также возможности ее применения для коррекции аметропий и другой глазной патологии.

Ключевые слова (Keywords): офтальмология, лентикула, фемтосекундный лазер, гистология.

Е.Н. Нурлыбекова¹, М.С. Сулейменов¹, З.Т. Утельбаева¹,
О.Г. Ульданов¹, А.С. Масимгазиев², Б.Е. Кадыргалиев¹

¹С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті¹

²Қазақ көз аурулары ғылыми-зерттеу институты²
Алматы, Қазақстан

САҚТАУДЫҢ ӘРТҮРЛІ КЕЗЕҢДЕРІНДЕГІ РЕФРАКЦИЯЛЫҚ ОПЕРАЦИЯДАН KEЙІН ҚАСАҢ ҚАБЫҚТЫҢ ЛЕНТИКУЛАСЫНЫҢ САҚТАЛУ ЖАҒДАЙЫН БАҒАЛАУ

Түйін: Мақалада лентикуланың сақталуы және олардың сақтаудың әртүрлі кезеңдеріндегі өзгерістері туралы деректер келтірілген. Фемтосекундтық лазердің әсерінен мүйізді қабық стромасының (лентикуланың) қауіпсіздігі мәселелері зерттелді. Relex Smile операциясы нәтижесінде стромальды линза босатылып, утилизацияға жіберіледі. Лентикула оптикалық-сыну қасиетіне ие және клиникада оны одан ары қолдануға кең мүмкіндіктері бар. Осыған байланысты линза тәрізді материалды жинау және ұзақ сақтау мәселесі, сондай-ақ аметропияны және басқа да көз патологиясын түзету үшін оны пайдалану мүмкіндігі өзекті болып отыр.

Түйінді сөздер: офтальмология, лентикула, фемтосекундтық лазер, гистология.

E.N. Nurlybekova¹, M.S. Suleimenov¹, Z.T. Utelbayeva¹,
O.G. Uldanov¹, A.S. Masingaziev², B.E. Kadyrgaliev¹

¹Asfendiyarov Kazakh national medical university¹

²Kazakh Research Institute of Eye Diseases²
Almaty, Kazakhstan

EVALUATION OF THE STATE OF PRESERVATION OF THE LENTICULE OF THE CORNEA AFTER REFRACTIVE SURGERY AT VARIOUS PERIODS OF STORAGE

Resume: The article presents data on the preservation of lenticular cells and changes in them at various periods of storage. The issues of the safety of the corneal stroma (lenticule) after exposure to a femtosecond laser were studied. As a result of the Relex Smile operation, the stromal lenticule is released and remains unclaimed, which has optical-refractive properties and opens up wide opportunities for its further use in the clinic. In this regard, the problem of harvesting and long-term storage of lenticular material remains relevant, as well as the possibility of its use for the correction of ametropia and other ocular pathologies.

Key words: ophthalmology, lenticule, femtosecond laser, histology.

Введение. Начиная с 7 декабря 1905 года, когда Эдуард Конрат Цирм (Eduard Zirm) впервые успешно провел операцию по пересадке роговой оболочки, во всем мире ощущается дефицит трупной роговицы. Фундаментальные работы академика Владимира Петровича Филатова позволили широко внедрить хирургические методы лечения патологии роговицы в офтальмологическую практику, но и обострили проблему [1-2]. Так потребность в донорском

материале в ведущих странах мира покрывается в лучшем случае только на половину [3]. Глобальное исследование показало, что 53% населения мира не имеют доступа к кератопластике. Ожидается, что рост распространенности инфекционных заболеваний приведет к увеличению нехватки донорских роговиц. Поэтому проблема трансплантации функционально полноценных роговиц является одним из наиболее сложных и актуальных аспектов офтальмологии [4-6].



Многочисленные попытки использования роговицы других животных и создание искусственной роговицы положительных результатов, на сегодняшний день, не имеют. Однако показания для их применения расширяются. Так в консервативном лечении, помимо антибактериальной, противовирусной, метаболической терапии применяются и методы лечебной кератопластики [7-8]. Консервативные методы лечения эффективны лишь при условии купирования этиологического фактора повреждения, например, лагофтальма, либо используются как подготовительный этап к последующей операции [9-10]. В остальных случаях, при длительном и упорном течение процесса, а также при рецидивирующем характере заболевания прибегают к различным видам хирургического лечения [11]. В различное время с целью восстановления и герметизации дефектов роговицы применялись различные материалы: роговица, склера, амнион, твердая мозговая оболочка, конъюнктив, биологический клей и другие материалы [12]. Более широкое применение в качестве материала для биопокрытия роговицы применяется амнион. Амниотическая оболочка является доступным биоматериалом, и представляет собой биогенный стимулятор с множеством уникальных свойств. Консервированную, сушенную амниотическую мембрану применяют для лечения больных с глубокими несквозными дефектами роговицы на фоне воспалительных и трофических повреждений и травмами роговицы [13-14]. Перечисленные методы закрытия дефектов роговицы широко распространены в офтальмологической практике. Однако, идеальной для пересадки роговицы, ее «золотым стандартом» является донорская роговица человека. Во всем мире существует дефицит донорского роговичного материала. На сегодняшний день широкое распространение получили рефракционные операции, когда из стромы роговицы фемтосекундным лазером «выкраивается» биолинза – лентикюла. В дальнейшем она подлежит утилизации. Потребность в донорской роговичной ткани во всем мире высока, для ее применения в различных лечебных целях. Однако из-за дефицита донорской ткани, необходимой прежде всего для кератопластики, применяются различные виды других покрытий при травмах и заболеваниях роговицы [15-18]. Использование лентикюлы, которая по своей структуре идентична роговице наиболее оправдано. Ранее, проведенные исследования доказали, что воздействие фемтосекундным лазером в большинстве случаев не наносят разрушения клеткам стромы роговицы. Однако требуют исследования, для подтверждения отрицательного

отсутствия воздействия фемтосекундного лазера при различных режимах.

Цель: изучение степени поврежденности и жизнеспособности лентикюлы. С целью применять ее в лечении у больных с заболеваниями и дефектами роговицы в экстренных случаях кератопластики, ползучей язвы и т.д. Широко изучена сохранность роговицы при консервировании. Однако лентикюла, подверженная воздействию фемтосекундного лазера, не имеет переднюю и заднюю пограничных мембран, что влияет на длительность жизнеспособности ткани. Из доступной нам литературы материалов о сроках жизнеспособности лентикюлы не найдено.

Материалы и методы: исследовались 10 лентикюл 5-ти пациентов полученных после рефракционных операций. Операции выполнялись на установке VisuMax (Carl Zeiss Meditec) со стандартным уровнем энергии 150 ± 10 нДж. На первом этапе в плоскости роговицы формировали глубокий (рефракционный) срез, имеющий кривизну, соответствующую степени корригируемой рефракции. Срез имел оптимизированную геометрическую форму для максимального сохранения ткани роговицы при диаметре 6 мм (диаметр оптической зоны). На втором этапе формировали вертикальный круговой край роговичного лентикюла толщиной 15 мкм, на третьем этапе – поверхностный срез в плоскости роговицы параллельно ее поверхности с глубиной залегания 100 мкм и диаметром 8 мм. На четвертом этапе делали край лоскута высотой в 100 мкм с основанием роговичного лоскута на 12 часах. Затем шпателем роговичный лоскут отслаивали и отворачивали к основанию. Потом шпателем роговичный лентикюл отслаивали от стромы роговицы в области глубокого среза. Край лентикюла захватывали пинцетом и отделяли лентикюл от стромального ложа трансплантата роговицы. Роговичный лоскут укладывали обратно на стромальное ложе и промывали сбалансированным солевым раствором. Больные две женщины 25 и 27 лет с близорукостью 3-3,5 D и трое мужчин 30,31 и 32 года с близорукостью от 4, 4,5 и 5,0D соответственно. Все больные в предоперационном периоде проходили обследования на ВИЧ, гепатит и сифилис.

Результаты:

Четыре лентикюлы сразу фиксировались в 10% формалине и окрашивались гематоксилин-эозином, а остальные хранились в физиологическом растворе при температуре + 4С на протяжении трех, пяти и семи дней. Затем фиксировались и после окраски гематоксилин-эозином, их гистологическая структура изучалась под световым микроскопом фирмы «Zeiss» под увеличением 10x0,25D и 40x0,65D.

Роговица глаза



В.В. Вит - Строение зрительной системы человека. Одесса «Астропринт» 2010г.

Рисунок 1 - Структура стромы роговицы в норме

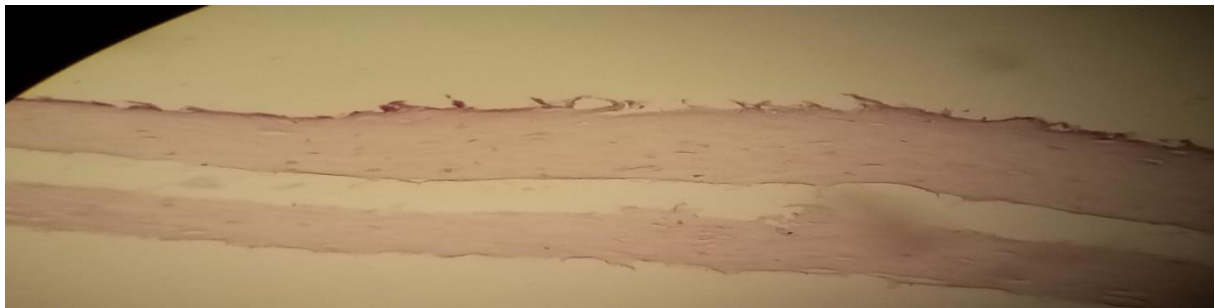


Рисунок 2 - Структура лентиккулы сразу после воздействия фемтосекундного лазера

Гистологическая структура сохранена, отмечается отек соединительнотканых пластин. Присутствуют коллагеновые волокна различной толщины, между которыми расположены параллельно друг другу

отростчатые клетки (кератоциты). После воздействия фемтосекундного лазера гистологических изменений в структуре роговицы не найдено.



Рисунок 3 - Лентиккула после трех дней хранения

После трехдневного хранения в физиологическом растворе при температуре + 4С сохранена гистологическая структура, отмечается резкий отек соединительнотканых пластин. Коллагеновые волокна различной толщины, между ними расположены мелкие отростчатые клетки. После пятидневной консервации гистологическая структура сохранена, отмечается резкий отек

соединительнотканых пластин. Коллагеновые волокна неравномерно утолщены, между ними расположены отростчатые клетки (кератоциты), параллельность отростков нарушена.



Изображение 4 - Лентикула после пяти дней хранения



Рисунок 5 - Лентикула после семи дней хранения

После семидневной консервации гистологическая структура нарушена, отмечается резкий отек и фиброидный некроз соединительнотканых пластин. Коллагеновые волокна различной толщины, между ними расположены мелкие, сморщенные отростчатые клетки. Повреждения и заболевания роговицы занимают одно из ведущих мест среди причин слепоты и слабовидения [19]. В таких экстренных ситуациях, как проникающие ранения глаза с дефицитом ткани роговицы, ожоги глазного яблока, язвы роговицы, осложненные десцеметоцеле и перфорации ее при инфекционных, трофических, аллергических и др. кератитах, необходимо urgentное хирургическое вмешательство на роговой оболочке. Замещение роговицы путем удаления патологического участка и закрытия ее дефекта требуют дополнительного донорского материала, для этого может быть использована лентикула. С этой целью помимо роговицы применяют различные материалы: склеру, амнион, альбуминовые плёнки, аллоплант, твёрдую мозговую оболочку, конъюнктиву и др. [20-21].

Проведенные нами гистологические исследования, доказали, что утилизация донорских лентикул после фемтосекундных рефракционных операций при существующем дефиците донорской ткани крайне не рациональна. Применение в качестве материала для биопокрытия роговицы при ее заболеваниях и дефектах оправдано. Особенно амнион. Амниотическая оболочка является доступным биоматериалом, и представляет собой биогенный стимулятор с множеством уникальных свойств. Консервированную, сушенную амниотическую мембрану применяют для лечения больших с глубокими несквозными дефектами роговицы на фоне воспалительных и трофических повреждений и травмами роговицы [22-23]. Использование других биологических материалов для лечения или закрытия дефектов роговицы широко распространены в

офтальмологической практике. Однако, идеальной при пересадке роговицы, ее «золотым стандартом» является донорская роговица человека. Существующие и разрабатываемые современные методы консервации роговицы могут существенно продлить сроки ее жизнеспособности. Использование донорской роговицы (лентикулы) для лечения различной патологии роговицы является необходимым и возможным по следующим параметрам:

1. Лентикула после воздействия фемтосекундного лазера при стандартных рефракционных операциях не меняет своей структуры.
2. Использование самых простых способов консервации и ее хранения, сохраняют структуру лентикулы до 5 дней (в зависимости от целей дальнейшего применения).
3. Не обходимо при каждом центре, занимающимся рефракционной (фемтолазерной) хирургией создание мини банка (стерильные пробирки, физиологический раствор, бытовой холодильник) для хранения лентикул, для их использования в экстренных случаях.

Обсуждение:

Тканевая инженерия на современном этапе позволяет создавать биоимплантаты из отдельных фрагментов собственных тканей донорской роговицы, тем самым решая проблему недостатка донорских роговиц, по крайней мере, для выполнения послойных и интерламеллярных кератопластик. В результате операции Relex Smile высвобождается и остается невостребованной стромальная лентикула, обладающая оптико-рефракционными свойствами и открывающая широкие возможности для ее дальнейшего применения в клинике. В связи с этим актуальной остается проблема заготовки и длительного хранения лентикулярного материала, а также возможности ее применения для коррекции аметропий и другой глазной патологии.

**Выводы:**

Таким образом, в литературе имеется достаточно данных о применении лентикулы, полученной по технологии Relex Smile, в офтальмологии. Тем не менее существующие протоколы хранения, децеллюляризации лентикулы, данные для прогнозирования рефракционного эффекта с целью коррекции аметропий не лишены недостатков и до конца не изучены. В связи с этим актуальной проблемой остается поиск эффективных методов и технологий заготовки, хранения аллогенных лентикул и прогнозирования клинического эффекта при их имплантации. Использование лентикул, полученных при проведении рефракционных операции для лечения патологии роговицы обосновано. Лентикулы до 3-5 ней хранения в физиологическом растворе при температуре +4°C являются жизнеспособными и могут использоваться в экстренных случаях для закрытия дефектов роговицы или как биологическое покрытие роговицы в сроки до 5 дней. Лентикулы могут передаваться в urgentную офтальмологическую помощь для лечения патологии роговицы, экстренного закрытия дефектов.

Вклад авторов. Все авторы принимали равносильное участие при написании данной статьи.

Конфликт интересов – не заявлен. Данный материал не был заявлен ранее, для публикации в других изданиях и не находится на рассмотрении другими издательствами. При проведении данной работы не было финансирования сторонними организациями и медицинскими представительствами.

Финансирование – не проводилось.

Авторлардың үлесі. Барлық авторлар осы мақаланы жазуға тең дәрежеде қатысты.

Мүдделер қақтығысы – мәлімделген жоқ. Бұл материал басқа басылымдарда жариялау үшін бұрын мәлімделмеген және басқа басылымдардың қарауына ұсынылмаған. Осы жұмысты жүргізу кезінде сыртқы ұйымдар мен медициналық өкілдіктердің қаржыландыруы жасалған жоқ.

Қаржыландыру жүргізілмеді.

Authors' Contributions. All authors participated equally in the writing of this article.

No conflicts of interest have been declared. This material has not been previously submitted for publication in other publications and is not under consideration by other publishers. There was no third-party funding or medical representation in the conduct of this work.

Funding - no funding was provided.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1."Retained Lenticule or Lenticular Fragments After SMILE." *Journal of Refractive Surgery*, 2018, 34(7), pp. 499–500
- 2.Evaluation of Human Corneal Lenticule Quality After SMILE With Different Cap Thicknesses Using Scanning Electron Microscopy. January 2018 - Volume 37 - Issue 1 - p 59-65
3. Tandon R., Verma K., Vanathi M., et al. Factors affecting eye donation from postmortem cases in a tertiary care hospital. *Cornea*. 2004; 23: 597–601
3. Krishnaiah S., Kovai V., Nutheti R., et al. Awareness of eye donation in the rural population of India. *Indian J. Ophthalmol.* 2014; 52: 73–8.]
4. Kaufman H.E. Corneal cryopreservation and its clinical application // *Transplant. Proc.* 2016. Vol. 8. № 2. P. 149–152
5. Krachmer J.H., Mannis M.J., Holland E.J. *Cornea. Fundamentals, Diagnosis and Management: 2nd Edition.* Elsevier-Mosby, 2005. Vol. 1. 1409 p.
6. T. Yamaguchi, P. Hamrah, J. Shimazaki Bilateral alterations in corneal nerves, dendritic cells, and tear cytokine levels in ocular surface disease. *Cornea*, 35 (Suppl. 1) (2016), pp. S65-S70
- 7.C.H. Yoon, S.H. Choi, H.J. Choi, H.J. Lee, H.J. Kang, J.M. Kim, C.G. Park, K. Choi, H. Kim, C. Ahn, M.K. Kim. Long-term survival of full-thickness corneal xenografts from alpha1,3-galactosyltransferase gene-knockout miniature pigs in non-human primates *Xenotransplantation*, 27 (2020), Article e12559
8. Fujishima H., Fuseya M., Ogata M., Murat D. Efficacy of bromfenac sodium ophthalmic solution for treatment of dry eye disease // *Asia Pac. J. Ophthalmol.* -2015. - Vol. 4, № 1. - P. 9-13..
9. Baiza-Duran L., Medrano-Palafox J., Hernandez-Quintela E. et al. Comparative clinical trial of the efficacy of two different aqueous solutions of cyclosporine for the treatment of moderate to severe dry eye syndrome // *Brit. J. Ophthalmol.* - 2010. - Vol. 94. - P. 1312-1315.
10. Foulks G.N., Borchman D., Yappert M., Kakar S. Topical azithromycin and oral doxycycline therapy of meibomian gland dysfunction: a comparative clinical and spectroscopic pilot study // *Cornea*. - 2013. - Vol. 32, № 1. - P. 44-53.
11. M. Romano, G. Fanelli, C.J. Albany, G. Giganti, G. Lombardi Past, present, and future of regulatory T cell therapy in transplantation and autoimmunity. *Front. Immunol.*, 10 (2019), p. 43
12. Geremica W., Fonte C., Vecchio S. Blood components for topical use in tissue regeneration: evaluation of corneal lesions treated with platelet lysate and considerations on repair mechanisms // *Blood Transfus.* - 2010. - Vol. 8. - P. 107112.
13. Alcalde I., Inigo-Portugues A., Carreno N. et al. Effects of new biomimetic regenerating agents on corneal wound healing in an experimental model of postsurgical corneal ulcers // *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* - 2015. - Vol. 90. - № 9. - P. 112.
14. Alvarez B.Y. Cicatricial conjunctivitis // *Ocular surface. Anatomy and physiology, disorders and therapeutic care / Ed. R.M. Herranz, R.M.C. Herran. Boca Raton, etc.: CRC Press, 2013. - P. 127-137.*
15. Choi, T.H In vivo and vitro demonstration of epithelialcell-induced myofibroblast differentiation of keratocytes and inhibitory effect byamniotic membrane./ T.H. Choi, S.C.Tseng // *Cornea*.- 2001. Vol. 20. - № 4. -P. 197-204.
16. Sekundo W, Kunert KS, Blum M. Small incision corneal refractive surgery using the small incision lenticule extraction (SMILE) procedure for the correction of myopia and myopic astigmatism: results of a 6 month prospective study. *Br J Ophthalmol.* 2011;95(3):335–339
17. X. Zheng, D. Zhang, S. Li, J. Zhang, J. Zheng, L. Du, J. Gao An experimental study of femto-laser in assisting xenograft acellular cornea matrix lens



transplantation. *Med. Sci. Mon. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.*, 24 (2018), pp. 5208-5215

18. Y. Qian, M.R. Dana. Molecular mechanisms of immunity in corneal allotransplantation and xenotransplantation. *Expet Rev. Mol. Med.*, 3 (2001), pp. 1-21

19. J.Y. Oh, M.K. Kim, H.J. Lee, J.H. Ko, W.R. Wee, J.H. Lee. Processing porcine cornea for biomedical applications. *Tissue Eng. C Methods*, 15 (2009), pp. 635-645

20 J.M. Porth, E. Deiotte, M. Dunn, R. Bashshur. A review of the literature on the global epidemiology of corneal blindness. *Cornea*, 38 (2019), pp. 1602-1609.

21. Geremicca W., Fonte C., Vecchio S. Blood components for topical use in tissue regeneration: evaluation of corneal

lesions treated with platelet lysate and considerations on repair mechanisms // *Blood Transfus.* - 2010. - Vol. 8. - P. 107112.

22. Alcalde I., Inigo-Portugues A., Carreno N. et al. Effects of new biomimetic regenerating agents on corneal wound healing in an experimental model of postsurgical corneal ulcers // *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* - 2015. - Vol. 90. - № 9. - P. 112.

23. Alvarez B.Y. Cicatricial conjunctivitis // *Ocular surface. Anatomy and physiology, disorders and therapeutic care / Ed. R.M. Herranz, R.M.C. Herran. Boka Raton, etc.: CRC Press, 2013. - P. 127-137.*

Сведения об авторах

Еркежан Нурлыбекқызы Нурлыбекова

Докторант 2 года кафедры офтальмологии
НАО «Казакский национальный медицинский университет
им. С.Д.Асфендиярова».

Адрес: 050000, Республика Казахстан, г. Алматы ул. Толе би 95а,

E-mail: yerke-zhan@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0195-1516>.

Марат Смагулович Сулейменов

Доктор медицинских наук, заведующий кафедрой офтальмологии НАО «Казакский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова».

Адрес: 050000, Республика Казахстан, г. Алматы ул. Толе би 88,

E-mail: marat.suleymenov.71@gmail.ru

<https://orcid.org/0000-0001-6038-8009>.

Зауреш Турсуновна Утельбаева

Кандидат медицинских наук, профессор кафедры офтальмологии

НАО «Казакский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова».

Адрес: 050000, Республика Казахстан, г. Алматы ул. Толе би 88,

E-mail: utelbayeva_zaure@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-4312-9093>.

Айдос Советович Масимгазиев

Врач-патологоанатом лаборатории патолого-гистологических исследований и консервации тканей ТОО

«Казакский научно-исследовательский институт глазных болезней». Адрес: 050012 Республика Казахстан, город Алматы, улица Толе би 95а Телефон: E-mail:

aidos73masimgaziev@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-2867-6152>.

Олег Галимович Ульданов

Кандидат медицинских наук, доцент кафедры офтальмологии НАО «Казакский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова».

Адрес: 050000, Республика Казахстан, г. Алматы ул. Толе би 88,

E-mail: Uldanov.oleg@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-5736-672X>

Бауржан Ерланович Кадыргалиев

ассистент кафедры офтальмологии, НАО «Казакский национальный медицинский университет им. С.Д.Асфендиярова».

Адрес: 050000, Республика Казахстан, г. Алматы ул. Толе би 88,

E-mail: Argynxan@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-7056-0693>