

На правах рукописи

ШКАНДИНА ЮЛИАНА ВИКТОРОВНА

**ИМПЛАНТАЦИЯ ИНТРАКОРНЕАЛЬНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ ЛИНЗ НА
ОСНОВЕ ГИДРОКСИЭТИЛМЕТАКРИЛАТА И
ОЛИГОУРЕТАНМЕТАКРИЛАТА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-
МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.07 - глазные болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2017

Работа выполнена в ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

- Научный руководитель:** доктор медицинских наук
Мушкова Ирина Альфредовна
- Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой глазных болезней
медицинского факультета ФГАОУ ВО
«Российский университет дружбы народов»
Фролов Михаил Александрович
доктор медицинских наук, профессор кафедры
офтальмологии ФГБОУ ДПО ИПК ФМБА
России, кафедры глазных болезней ФГУ
«Национальный медико-хирургический центр
им. Н. И. Пирогова Росздрава»
Эскина Эрика Наумовна
- Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное
учреждение «Научно-исследовательский
институт глазных болезней»

Защита состоится «17» апреля 2017 г. в 12 часов на заседании диссертационного совета Д.208.014.01 при ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59А.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Автореферат разослан _____ 2017 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

И. А. Мушкова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Старение человеческой популяции приводит к ежегодному росту распространенности пресбиопии в мире, современные способы коррекции которой многочисленны и включают в себя как традиционные нехирургические методики, так и динамично развивающиеся хирургические. Однако, несмотря на многообразие подходов к коррекции, общепринятого метода, имеющего минимальное количество недостатков и оптимального для каждого пациента на сегодняшний день, не существует (Аветисов С.Э. 2004, Малюгин Б.Э. 2006, Эскина Э.Н. 2012, Dai G.M., 2006, Charman W.N., 2014).

Имплантация интракорнеальных линз (ИКЛ) является динамично развивающимся направлением в хирургической коррекции пресбиопии, обретающим на сегодняшний день все большую популярность у офтальмохирургов (Waring G. 2011, Papadopoulos P. 2015).

Технология имплантации ИКЛ в коррекции аметропий была разработана в середине прошлого столетия и развивалась в направлении от использования биологических гомотрансплантатов к трансплантатам из полимерных материалов (Блаватская Е.Д. 1967, Краснов М.М. 1970, Беляев В.С., Груша О.В. 1974, Душин М.М. 1981, Темиров Н.Э., Корхов А.П. 1991, Фролов М.А. 1992 и др.).

Полимерные ИКЛ представляются перспективными, так как имеется возможность изготавливать изделия сложной геометрической формы, со стабильными оптическими и биомеханическими свойствами. Для хирургической коррекции аметропий исследователи использовали различные материалы, такие как силикон, полисульфон, лейкосапфир, оргстекло, полиметилметакрилат (ПММА), гидрогель, с целью поиска наиболее биосовместимого с тканью роговицы человека (Животовский Д.С. 1970, Морхат И.В. 1980, Верзин А.А. 2002, Мороз З.И. 2010, Knowles W. 1961; Barraquer J. 1949 - 1997; Brown S. 1966; Keates R.H. 1995г. Choyce P. 1996).

На сегодняшний день технология имплантации ИКЛ с целью коррекции афакии, гиперметропии высокой степени, миопического астигматизма не используется, в связи со снижением максимально корригированной остроты зрения у пациентов после операции по сравнению с дооперационными значениями (Swinger С.А. 1983).

С недавнего времени офтальмохирургов привлекает возможность имплантации ИКЛ с целью коррекции пресбиопии. В настоящий момент существует несколько разновидностей ИКЛ, разрешенных к применению в клинических условиях. По данным зарубежных авторов, результатом имплантации данных изделий является увеличение остроты зрения вблизи без дополнительной коррекции пресбиопии (Yilmaz O.F. 2008; Bouzoukis D.I. 2011; Seyeddain O. 2011; Tomita M. 2012; Garza E.B. 2013).

Однако имеются сообщения о возможных осложнениях и побочных эффектах, возникающих после выполнения данной процедуры, таких как смещение импланта, снижение остроты зрения вдаль на оперированном глазу, появление нежелательных зрительных эффектов (Dexl A.K. 2011; Santhiago M.R. 2012; Gatinel D. 2012; Fernandez E.J. 2013).

Кроме того, в Российской Федерации не существует зарегистрированных и разрешенных к использованию в клинической практике ИКЛ для хирургической коррекции пресбиопии, что делает актуальным их разработку и изучение. Среди доступных для исследования эластичных материалов, имеющих положительный опыт применения в офтальмохирургии (ИОЛ, внутрикапсульные кольца, интрастромальные роговичные сегменты и др.), в данной работе были выбраны 2 различных полимера на основе гидроксиэтилметакрилата (ГЭМА) и олигоуретанметакрилата (ОУМА) (Мороз З.И. 2009, Морозова Т.А. 2006). Данные материалы представляются потенциально пригодными для создания ИКЛ для коррекции пресбиопии, что потребовало доклинического изучения их биологической совместимости.

Таким образом, актуальным представляется разработка и изготовление ИКЛ, с учетом недостатков, имеющихся у зарубежных аналогов, с

последующим исследованием биосовместимости разработанных изделий и ткани роговицы и созданием технологии имплантации ИКЛ. В связи с вышеизложенным, в данной работе были поставлены следующие цель и задачи.

Цель настоящего исследования - экспериментально-морфологическое обоснование возможности имплантации интракорнеальных линз, изготовленных из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА.

Задачи исследования

1. Рассчитать геометрические параметры ИКЛ, изготовленных из ГЭМА и ОУМА, на основе изучения физических аспектов, математического моделирования процессов взаимодействия интракорнеального импланта и ткани роговицы.

2. На основании двухмерного клеточного культивирования *in vitro* изучить клеточную реакцию на различные материалы, потенциально пригодные для изготовления ИКЛ (ГЭМА, ОУМА).

3. Изучить в экспериментально-морфологическом исследовании *in vivo* влияние имплантированных ИКЛ, изготовленных из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА, на структуры переднего отрезка глаза экспериментального животного.

4. Изучить в экспериментально-морфологическом исследовании *ex vivo* реакцию донорской роговицы на имплантацию ИКЛ, изготовленных из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА.

5. Разработать технологию имплантации ИКЛ, изготовленных из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА.

Научная новизна результатов исследования

1. Впервые разработана оригинальная математическая формула для расчета радиуса кривизны передней поверхности ИКЛ для хирургической коррекции пресбиопии, изготовленных из современных материалов, используемых в офтальмохирургии, и проведено математическое

моделирование происходящих в роговице изменений в ответ на их имплантацию.

2. Впервые проведено экспериментально-морфологическое обоснование возможности применения ИКЛ, изготовленных из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА, и изучена биосовместимость разработанных изделий.

3. Впервые разработана технология имплантации экспериментальных моделей ИКЛ из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА, с использованием оригинального инструмента, изготовленного на базе отечественного предприятия.

Практическая значимость

1. На основании математического моделирования рассчитаны оптимальные геометрические параметры ИКЛ из ГЭМА и ОУМА для хирургической коррекции пресбиопии¹, на базе отечественных предприятий изготовлены экспериментальные образцы ИКЛ, пригодные для последующего серийного производства.

2. Разработан алгоритм доклинического исследования биосовместимости ИКЛ на моделях выделенных клеток стромы роговицы, роговицы кролика и донорской роговицы человека.

3. Изготовлен макетный образец оригинального инструмента для имплантации разработанных ИКЛ и отработана техника его использования².

Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Разработанные ИКЛ с рассчитанными геометрическими характеристиками и определенными параметрами имплантации в роговицу являются биологически совместимыми и могут быть рекомендованы к дальнейшему изучению в клинических условиях.

¹ «Способ определения радиуса кривизны интрастромальной оптической линзы для коррекции пресбиопии», Патент на изобретение № RU 2015103022 от 04.05.2016 г.

² «Инструмент для имплантации интракорнеальной оптической линзы для коррекции пресбиопии», Патент на изобретение № RU 2015109249 от 25.02.2016 г.

2. Полимерные материалы на основе ГЭМА и ОУМА не обладают токсическими свойствами, клетки стромы роговицы (КСР) характеризуются сниженной способностью к адгезии к образцам материалов, что является предпочтительным для интракорнеальной имплантации в оптической зоне.

3. При имплантации разработанные ИКЛ не вызывают выраженной воспалительной реакции глаза кролика, имеют стабильное положение в сформированном внутрироговичном кармане (ВРК). В проекции импланта происходит образование псевдоцеллюлярной мембраны, что опровергает абсолютную обратимость вмешательства.

4. Фибропластическая реакция при имплантации разработанных ИКЛ в строму донорских роговиц, визуализируемая при флуоресцентной микроскопии (ФМ) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), сопоставима с реакцией на идентичное хирургическое вмешательство без имплантации линзы.

Апробация работы

Результаты научно-исследовательской работы были успешно доложены и обсуждены на еженедельной научно-клинической конференции ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» (Москва, 2014, 2016), на научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2015, 2016), международной научно-практической конференции «Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии» (Москва, 2015), на ежегодном конгрессе Европейского Общества Катарактальных и Рефракционных хирургов (Копенгаген, 2016).

Научно-исследовательская работа выполнялась при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований в рамках научного проекта №15-29-03882 «Исследование биосовместимости внутрироговичных имплантов из современных полимерных материалов (гидроксиэтилметакрилат, олигоуретанметакрилат, полиметилметакрилат) для коррекции аномалий рефракции и лечения кератэктазий различного генеза».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них – 5 в научных журналах, рецензируемых ВАК РФ. Получено 3 положительных решения о выдаче патентов РФ на изобретение.

Внедрение результатов работы

Основные положения работы включены в тематику лекций цикла повышения квалификации врачей-офтальмологов «Эксимерлазерная хирургия роговицы с использованием фемтосекундного лазера» в ФГАУ «МНТК «Микрохирургии глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Результаты проведенных исследований использованы при разработке патентов на изобретения, написании монографии, изложены в докладах на научно-практических конференциях, публикациях, кандидатской диссертации

Структура и объём работы

Текст диссертации изложен на 162 страницах, включает 17 таблиц и 50 рисунков. Работа состоит из введения и 4 глав, включающих обзор литературы, материалы и методы исследования, математическое моделирование, результаты экспериментально-морфологических исследований, содержит общее заключение и выводы. Список литературы состоит из 252 источников, включающих 82 отечественных и 170 иностранных публикаций.

Математическое моделирование выполнено на базе вычислительного центра ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, при непосредственном участии Бессарабова А. Н.

Экспериментальные образцы и изделия из полимерных материалов на основе ГЭМА были изготовлены ООО «НЭП МГ» г. Москва, при непосредственном участии Новикова С.В., на основе ОУМА – ООО «Репер-НН» г. Нижний Новгород, при непосредственном участии Треушникова В. М.

Экспериментальные исследования *in vitro* и *ex vivo* были проведены на базе лаборатории Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем (зав. Центром – д.м.н., проф. С.А. Борзенок) ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. Акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Акустомикроскопические исследования проводились на базе лаборатории акустической микроскопии Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН при поддержке научного сотрудника Морокова Е. С.

Сканирующая электронная микроскопия проводилась на базе Лаборатории анатомии микроорганизмов ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи (под руководством к.м.н. Шевлягиной Н.В. и д.м.н. проф. Диденко Л.В.)

Экспериментальные исследования *in vivo* выполнены на базе Калужского филиала ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. Акад. С.Н. Федорова» Минздрава России (директор – д.м.н. Терещенко А.В.) под руководством зам. директора по научной работе – д.м.н. проф. Белого Ю.А., при непосредственном участии зав. оперблоком, к. м. н. Плахотного М. А.

Гистологические исследования выполнены на базе лаборатории патологической анатомии и гистологии глаза ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. Акад. С.Н. Федорова» Минздрава России заведующей лабораторией – к.м.н. Шацких А.В. и на базе ОБУЗ «Областное патологоанатомическое бюро» КЗ Курской области заведующим отделением общей патологии, врачом-патологоанатомом Криволаповым С. В.

Разработка оригинального инструмента и изготовление его макетного образца проводилась совместно с ЭТП «МГ» - филиалом ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. Акад. С. Н. Федорова» Минздрава России, при непосредственном участии зам. директора по производству и развитию Латыпова И. А.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Для достижения поставленной цели работа была разделена на 5 последовательных этапов, соответствующих задачам исследования.

Математическое моделирование

На первом этапе работы проводили математическое моделирование происходящих в роговице изменений в ответ на имплантацию ИКЛ. По результатам которого было выявлено, что при имплантации ИКЛ для коррекции пресбиопии в роговичный карман в поверхностные слои стромы (120-150 мкм) или в глубокие слои (280-300 мкм), изменения кривизны передней поверхности роговицы минимальны и ими можно пренебречь. Оптический эффект операции при этом определяется рефракционной силой импланта. При формировании роговичного клапана в поверхностных слоях стромы послеоперационный результат зависит не только от оптической силы ИКЛ, но и от изменения кривизны передней поверхности роговицы, в связи плотным облеванием импланта клапаном, что является менее прогнозируемым. Имплантация ИКЛ в глубокие слои стромы под роговичный клапан представляется небезопасной в связи с избыточным ослаблением каркаса роговицы и высоким риском послеоперационной кератэктазии.

С учетом результатов моделирования была выведена формула для расчета радиуса кривизны передней поверхности ИКЛ, что сделало возможным индивидуализированный подход к хирургическому вмешательству:

$$R = \frac{(N_{\text{матер}} - N_{\text{рогов}})}{\frac{N_{\text{матер}} - N_{\text{рогов}}}{R_{\text{задн}}} + \frac{0,001 D_{\text{пресб}} (0,001253 H - 1,376 + N_{\text{матер}})}{N_{\text{матер}} - 1}}$$

где R – искомый радиус кривизны передней поверхности ИКЛ (мм),
 N_{рогов} – показатель преломления стромы роговицы – 1,376, N_{матер} –
 показатель преломления материала ИКЛ (для ГЭМА – 1,430, для ОУМА –

1,505), $R_{\text{задн}}$ – радиус кривизны задней поверхности роговицы 7,796 мм (значение данного показателя зависит от формы ИКЛ); H – глубина имплантации оптической линзы, которую выбирали, исходя из данных об исходных параметрах роговицы и в зависимости от возможной предшествующей рефракционной операции (ЛАЗИК) (120-300 мкм), $D_{\text{пресб}}$ – необходимый пресбиопический компонент (3 дптр).

На основании формулы были рассчитаны геометрические параметры ИКЛ из исследуемых полимерных материалов (ГЭМА и ОУМА), с учетом особенностей строения роговицы человека, что предопределило необходимость доклинического изучения разработанных ИКЛ и решение последующих задач диссертационной работы.

Экспериментально-морфологические исследования

Согласно разработанному алгоритму доклинического исследования ИКЛ биосовместимость полимерных материалов (ГЭМА и ОУМА) была изучена на нескольких экспериментальных моделях: культура клеток стромы роговицы человека (*in vitro*), глаза экспериментальных животных (*in vivo*) и глазные яблоки доноров-трупов (*ex vivo*).

Экспериментально-морфологическое исследование in vitro

На втором этапе работы для постановки эксперимента были изготовлены образцы материалов в форме «шайб» высотой 0,5 мм и диаметром 10 мм. Указанные геометрические параметры были определены эмпирически, при этом площадь поверхности «шайбы» выбранного диаметра (10 мм) представлялась достаточной для пролиферации клеток, а высота «шайб» (0,5 мм) – технически доступна для изготовления.

Проводили 2D культивирование КСР человека в присутствии опытных образцов полимеров, потенциально пригодных для интракорнеальной имплантации (ГЭМА (O1), ОУМА (O2) и ПММА (K1)), и без использования полимера (поверхность стандартного 24-луночного планшета (K2)).

Подсчитывали количество клеток каждый день в течение 6 суток с последующим построением таблиц и графиков, отражающих динамику количества клеток. На основании полученных данных делали вывод о токсических и адгезивных свойствах исследуемых материалов. Всего в эксперименте было использовано свыше 1,9 миллионов КСР.

По результатам исследования в каждой из экспериментальных групп отмечалась тенденция к планомерному увеличению количества клеток с 1-х к 6-ым суткам наблюдения (таблица 1), S-образная форма кривых роста клеток указывала на нетоксичность материалов и их способность не препятствовать пролиферации клеток. В присутствии материалов на основе ГЭМА и ОУМА пролиферация клеток оказалась статистически достоверно ниже ($p < 0,001$), чем в присутствии биосовместимого полимера с известными свойствами (ПММА)(таблица 2).

В полученных числовых значениях учитывались только те клетки, которые были прикреплены к подлежащему субстрату (опытные образцы материалов), в связи с чем, можно предположить, что адгезивная способность КСР к материалам ГЭМА и ОУМА ниже, чем к ПММА.

Таблица 1 – Распределение количества клеток в экспериментальных группах по срокам наблюдения, тыс. клеток \pm ст.кв.откл

Группа		O1	O2	K1	K2
Сутки наблюдения	1	10,42 \pm 1,31	12,44 \pm 0,96	15,67 \pm 0,49	15,08 \pm 0,9
	2	22,19 \pm 1,97	25,67 \pm 1,07	30,25 \pm 0,45	35,44 \pm 1,71
	3	38,56 \pm 1,75	44,50 \pm 1,24	120,17 \pm 2,17	96,50 \pm 3,92
	4	71,00 \pm 1,76	76,19 \pm 1,52	179,00 \pm 0,93	160,33 \pm 2,77
	5	93,81 \pm 2,93	101,0 \pm 11,74	242,33 \pm 4,56	231,44 \pm 6,61
	6	128,0 \pm 3,13	182,75 \pm 6,58	261,75 \pm 9,44	253,42 \pm 6,14

Таблица 2 – Распределение значения критерия статистической достоверности p полученных результатов в исследуемых группах в различные сроки наблюдения

Сравниваемые группы		O1 и O2	O1 и K1	O1 и K2	O2 и K1	O2 и K2	K1 и K2
Сутки	1	0,3	0,001*	0,008*	0,006*	0,05*	0,5
	2	0,1	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,007*
	3	0,01*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
	4	0,03*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*
	5	0,5	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,2
	6	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	0,4

* $p < 0,05$, статистически значимые различия, t -критерий Стьюдента

При сравнении полученных результатов в опытных группах на 6-е сутки было обнаружено, что клетки в присутствии материала ГЭМА проявили достоверно меньшую тенденцию к пролиферации, чем в присутствии ОУМА ($p < 0,001$). Однако различия числовых значений в группах с ГЭМА и ОУМА оказались статистически достоверными не во всех сроках наблюдения, в связи с чем представляется актуальным дальнейшее изучение обоих полимеров (ГЭМА и ОУМА) в условиях *in vivo*.

Экспериментально-морфологическое исследование in vivo

Для проведения третьего этапа работы потребовалось изготовление экспериментальных изделий из полимеров на основе ГЭМА и ОУМА со следующими параметрами: оптически прозрачные ИКЛ с гладкой поверхностью, с толщиной в центральной зоне 50 мкм, диаметром 2 мм. Указанные значения были определены эмпирически на основании литературных данных о геометрических параметрах существующих аналогов линз. Полученные от производителей экспериментальные изделия изучались методами акустической микроскопии и СЭМ на предмет соответствия техническому заданию, после чего, в условиях *in vivo*, изучалась биосовместимость разработанных ИКЛ.

По результатам акустомикроскопического исследования толщина изготовленного экспериментального изделия из полимерного материала на основе ГЭМА оказалась больше на 16%, а на основе ОУМА больше на 6%, чем было заявлено в техническом задании. В связи с тем, что требуемое значение толщины ИКЛ (50 мкм) было определено эмпирически, а целью эксперимента *in vivo* являлось изучение биосовместимости полимерных материалов, без учета рефракционных изменений, происходящих при имплантации ИКЛ, было принято решение пренебречь данными незначительными отклонениями толщины изделий от заданного значения.

При СЭМ ИКЛ из ГЭМА отмечалась неровная форма ее края, наличие зазубрин, ИКЛ из ОУМА имела ровный край, зазубрины не определялись. Наличие в технологии изготовления линзы из материала ГЭМА этапа механической обработки в негидратированном состоянии обуславливает невозможность изготовления изделия с абсолютно ровным краем. С учетом данной особенности полученные экспериментальные образцы из обоих материалов были использованы для постановки эксперимента *in vivo*.

Экспериментально-морфологическое исследование *in vivo* включало 12 кроликов породы шиншилла, которым проводили имплантацию экспериментальных изделий из ГЭМА (группа 1) и ОУМА (группа 2). При моделировании эксперимента на животных учитывался факт наличия у кроликов тонкой (400 мкм) и большой в диаметре (15 мм) роговой оболочки, что предопределяло техническую сложность хирургического вмешательства, связанную с высоким риском перфорации роговицы. Операции проводились под общей анестезией с иммобилизацией животных пеленанием.

Техника операции: с помощью кератотомического ножа с микроподачей выполняли насечку, отступя 1 мм от лимба, на глубину 200 мкм с последующим механическим расслаиванием средних слоев стромы роговицы прямым ножом-расслаивателем (Mani, Япония). В опытных группах ИКЛ вводилась в сформированный ВРК и центрировалась. В контрольную группу (группа 3) вошли парные глаза животных, при этом формировался ВРК, но линза не

имплантировалась. Поверхность роговицы разглаживалась тупфером, швы не накладывались.

После хирургического вмешательства животных наблюдали в течение 3 месяцев, по истечении которых большую часть (8 кроликов) выводили из эксперимента, а у оставшихся (4 кролика) проводили эксплантацию линз с последующим наблюдением в течение 2 месяцев, по истечении которых также выводили из эксперимента. В определенные сроки было проведено биомикроскопическое исследование, офтальмоскопия в условиях мириаза, оптическая когерентная томография (ОКТ), прижизненная конфокальная микроскопия, световая микроскопия.

В ходе проведенного исследования было показано, что разработанные ИКЛ при имплантации не вызывают выраженной воспалительной реакции глаза кролика, визуализируемой биомикроскопически и офтальмоскопически, имеют стабильное положение в сформированном ВРК.

При выполнении ОКТ отмечалось увеличение толщины роговицы в проекции линзы в группе 1 (ГЭМА) на $28,75 \pm 5,56$ мкм, в группе 2 (ОУМА) на $29,5 \pm 5,80$ мкм. На сроке наблюдения 3 месяца после операции по имплантации ИКЛ клеточно-тканевой ответ роговицы кролика, визуализируемый методами прижизненной конфокальной микроскопии и световой микроскопии, был умеренно выражен в группе 1 (ГЭМА) и незначительно выражен в группе 2 (ОУМА), что согласуется с результатами СЭМ интактных ИКЛ. Умеренно выраженный клеточно-тканевой ответ роговицы в группе 1 (ГЭМА) обусловлен неровной формой края линзы, наличием зазубрин.

В ходе эксперимента наблюдались атипичные случаи течения послеоперационного периода: при поверхностной имплантации ИКЛ (менее 150 мкм) развивался асептический некроз стромы роговицы над линзой с последующей экстррузией ее к 3 месяцу после операции (2 глаза в группе ГЭМА, 1 глаз в группе ОУМА). При незавершенной адгезии ВРК наблюдалась децентрация ИКЛ (1 глаз в группе ОУМА).

На сроке наблюдения 2 месяца после экплантации ИКЛ при конфокальной микроскопии визуализировалась псевдоцеллюлярная мембрана в строме роговицы в проекции располагавшегося ранее импланта, что опровергает абсолютную обратимость вмешательства. Однако при биомикроскопическом исследовании, ОКТ и световой микроскопии роговицы кролика патологических изменений выявлено не было, что предопределило дальнейшее изучение разработанных ИКЛ на модели роговицы человека.

Экспериментально-морфологическое исследование ex vivo

Для выполнения четвертого этапа работы производителями были изготовлены экспериментальные ИКЛ из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА с параметрами, рассчитанными в ходе проведенного математического моделирования.

В эксперимент вошло 13 донорских роговиц, разделенных на 4 группы. В опытных группах (ГЭМА – 3 роговицы, ОУМА – 3 роговицы) были имплантированы разработанные ИКЛ, в контрольных группах хронический эксперимент (ХЭ; 4 роговицы) и острый эксперимент (ОЭ; 3 роговицы) формировали ВРК без имплантации линзы. Роговично-склеральные диски (РСД) в группах ГЭМА, ОУМА и ХЭ культивировали в течение 3 месяцев, по истечении которых фиксировали в 10% водном растворе формальдегида, в группе ОЭ РСД фиксировали без культивирования.

Для доступа к зоне интереса все РСД подготавливали к микроскопическим исследованиям, при этом выполняли разрезы роговицы по краю сформированного ВРК для вскрытия его полости, после чего отгибали и отсекали «крышку» с обнажением «ложа» ВРК. Выраженность реакции донорской роговицы оценивали по степени покрытия поверхностей ВРК клеточно-волокнистыми элементами методами ФМ и СЭМ.

По результатам проведенных морфологических исследований в группах ГЭМА, ОУМА и ХЭ на внутренних поверхностях ВРК были обнаружены клеточно-волокнистые структуры, в группе ОЭ аналогичные адгезированные

элементы не определялись. Было выявлено статистически значимое влияние процесса органного культивирования на выраженность клеточной реакции на «крышке» и «ложе» ВРК ($p=0,029$). В то же время, результаты проведенных экспериментов не дают оснований полагать, что присутствие в строме донорской роговицы ИКЛ оказало статистически значимое влияние на ее реактивность ($p=1,0$). Также не было отмечено значимой зависимости между реактивностью ткани роговицы и типом полимерного материала импланта ($p=1,0$).

В опытных группах (ГЭМА и ОУМА) на поверхности ИКЛ обнаруживались адгезировавшие клеточно-волоконистые элементы, которые, однако не образовывали единого монослоя, в связи с чем можно предположить наличие у исследуемых полимерных материалов минимальных адгезивных свойств. Разработанные линзы не имели тенденции к инкапсуляции. В группе ГЭМА волоконистые мембраны визуально были менее плотными, чем в группе ОУМА, что представляется важным для имплантации в оптическую зону. Однако, обнаруженные мембраны в виде «нежной сеточки» были многочисленны в группе ГЭМА, в то время как «плотные» волоконистые образования на поверхности ИКЛ из ОУМА были единичны, что затрудняло определение предпочтительного материала.

Нахождение разработанных ИКЛ в строме донорских роговиц вызвало клеточно-тканевую реакцию, сопоставимую по уровню с вызываемой идентичным хирургическим вмешательством без имплантации ИКЛ.

Согласно результатам проведенных исследований *in vitro* и *ex vivo* биосовместимость полимерного материала на основе ГЭМА несколько выше, чем у ОУМА. Однако в эксперименте *in vivo* была обнаружена более выраженная фибропластическая реакция роговицы при имплантации ИКЛ из ГЭМА. Полученные результаты оказались ожидаемыми, так как полимерные материалы с гидрофильными свойствами, обладают большей биологической совместимостью (ГЭМА), по сравнению с гидрофобными материалами (ОУМА). Однако необходимость механической обработки поверхностей линз из ГЭМА в негидратированном состоянии обусловила невозможность изготовления изделия

сопоставимого по качеству поверхностей с фотополимеризуемой линзой из ОУМА, что требует усовершенствования технологии производства.

Согласно результатам экспериментально-морфологических исследований, разработанные ИКЛ из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА пригодны для интракорнеальной имплантации и могут быть рекомендованы к дальнейшему изучению в клинических условиях, поскольку являются биологически совместимыми.

Технология имплантации разработанных ИКЛ

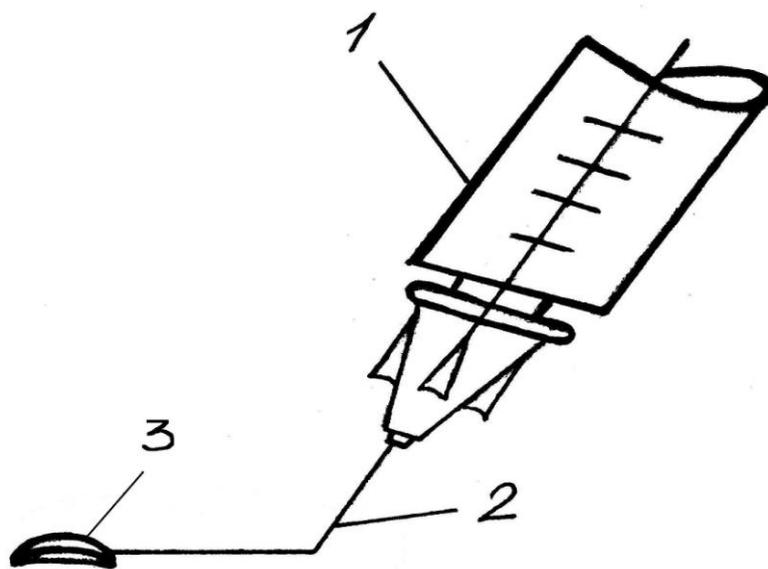
Создание технологии имплантации ИКЛ явилось пятым завершающим этапом диссертационной работы, в ходе выполнения которого необходимо было разработать оригинальный инструмент для введения линзы на роговичное ложе и оптимизировать технологию имплантации ИКЛ для хирургической коррекции пресбиопии.

При разработке вакуумного инструмента в виде шприца, были учтены технические сложности, с которыми может столкнуться хирург, такие как ограниченные движения рабочей части инструмента в пределах ВРК, сложность манипуляций с эластичным изделием малого диаметра.

Разработанный оригинальный инструмент для имплантации ИКЛ, состоит из рукоятки и канюли, соединенных между собой, концевая часть канюли представлена рабочей частью, выполненной из биологически инертного материала (рисунок 1). Рабочая часть инструмента имеет переднюю и заднюю поверхность, при этом передняя поверхность выпуклой формы, а задняя вогнутой, конгруэнтной передней поверхности ИКЛ (рисунок 2). Канюля соединена с передней поверхностью рабочей части, для чего в рабочей части выполнено отверстие.

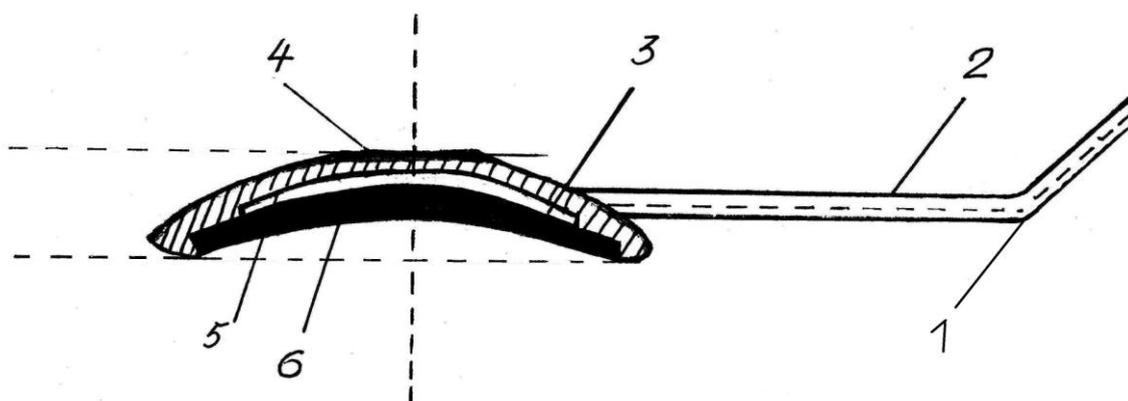
Рукоятка выполнена в виде шприца, создающего вакуум, а канюля – в виде изогнутой под углом 80-140° полой трубки круглого или овального сечения с внутренним диаметром 0,3-0,7 мм. Максимальная высота рабочей части составляет 0,5-1,0 мм, расстояние от места изгиба канюли до центра

рабочей части – 4,5-6 мм. Задняя поверхность рабочей части представляет собой ложе для ИКЛ.



1 – рукоятка; 2 – канюля; 3 – рабочая часть инструмента

Рисунок 1 Инструмент для имплантации ИКЛ. Общий вид



1 – изгиб канюли; 2 – канюля; 3 – рабочая часть инструмента; 4 – передняя поверхность рабочей части; 5 – задняя поверхность рабочей части; 6 – ИКЛ

Рисунок 2 Рабочая часть инструмента для имплантации ИКЛ, в разрезе

Оригинальный инструмент использовали в оптимизированной технологии имплантации ИКЛ для коррекции пресбиопии. На сегодняшний день требуется специфическое программное обеспечение для того, чтобы с

помощью энергии фемтосекундного лазера сформировать ВРК. При отсутствии которого может быть использован разработанный ***Протокол имплантации ИКЛ:***

1. Определение оптического центра глаза пациента относительно первичного рефлекса Пуркинье
2. Формирование стандартного роговичного клапана на фемтолазерной установке (диаметром от 8 до 10 мм);
3. Разрушение образовавшихся «тканевых мостиков» с помощью прямого шпателя в пределах тоннеля шириной 3 мм, до оптической оси;
4. Фиксация ИКЛ в рабочей части разработанного инструмента для имплантации;
5. Введение рабочей части инструмента с канюлей до места изгиба последней, центрирование по оптической оси глаза, при этом лифтинг роговичного клапана не производится;
6. Снятие вакуума и выведение рабочей части инструмента из ВРК.

Оптимизированная технология имплантации ИКЛ проста в выполнении и может быть применена на сегодняшний день на любой фемтолазерной установке, что расширяет возможности применения ИКЛ в коррекции пресбиопии.

Таким образом, в ходе выполнения диссертационной работы рассчитаны геометрические параметры полимерных ИКЛ для коррекции пресбиопии, которые могут быть использованы производителями для последующего серийного производства изделий. По результатам проведенных доклинических экспериментально-морфологических исследований доказана биосовместимость ИКЛ из материалов на основе ГЭМА и ОУМА, разработанные изделия могут быть рекомендованы к дальнейшему изучению в клинических условиях. Оптимизирована технология доставки ИКЛ на роговичное ложе с использованием оригинального инструмента, который должен обеспечить прецизионную работу с эластичным изделием малого диаметра.

ВЫВОДЫ

1. На основании проведенного математического моделирования были вычислены геометрические параметры ИКЛ на основе ГЭМА и ОУМА: плоско-выпуклой, выпукло-вогнутой формы, при имплантации в поверхностные слои (120-150 мкм), в глубокие слои стромы роговицы (280-300 мкм). Согласно результатам математического моделирования процессов взаимодействия внутрироговичного импланта и ткани роговицы более прогнозируемый рефракционный эффект после операции возможно получить при формировании ВРК в глубоких слоях стромы роговицы.

2. Полимерные материалы на основе ГЭМА и ОУМА не обладают токсическими свойствами, адгезивная способность КСР к образцам материалов ниже в 2,04 раза у ГЭМА, в 1,43 раза у ОУМА, чем к биосовместимому полимеру с известными свойствами ПММА.

3. При имплантации ИКЛ на основе ГЭМА и ОУМА не возникает выраженная воспалительная реакция глаза экспериментального животного, отмечается увеличение толщины роговицы в проекции линзы из ГЭМА на $28,75 \pm 5,56$ мкм, из ОУМА на $29,5 \pm 5,80$ мкм, клеточно-тканевой ответ более выражен в группе с ГЭМА. Фибропластическая реакция на наличие импланта проявляется в формировании псевдоцеллюлярной мембраны, не визуализируемой биомикроскопически, что ставит под сомнение абсолютную обратимость данного вмешательства.

4. Клеточно-тканевая реакция ткани роговицы донора трупа на имплантацию разработанных ИКЛ сопоставима с реакцией на формирование ВРК без введения линзы, что подтверждает инертность разработанных ИКЛ.

5. Оптимизированная технология имплантации ИКЛ для хирургической коррекции пресбиопии с использованием оригинального инструмента учитывает технические сложности, с которыми может столкнуться хирург.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Мушкова И. А., **Шкандина Ю.В.** Имплантация интракорнеальных линз как способ хирургической коррекции пресбиопии (Обзор литературы). // Офтальмохирургия. – 2015. - №2. – С. 87-90
2. Мушкова И.А., **Шкандина Ю.В.** Хирургическая коррекция пресбиопии путем имплантации интракорнеальных оптических линз(инлаев) в эксперименте *in vivo*// Вестник Тамбовского университета. Серия: естественные и технические науки. -2015. - Т. 20. -№ 3. - С. 654-657.
3. Мушкова И.А., Малюгин Б.Э., Борзенко С.А., Каримова А.Н., **Шкандина Ю.В.** Сравнительная оценка результатов имплантации внутрироговичных линз в экспериментальном исследовании// Современные технологии в офтальмологии. - 2015.-№4. - С.175-178.
4. Мушкова И.А., Борзенко С.А., Каримова А.Н., **Шкандина Ю.В.** Гистоморфологические изменения роговицы кролика после имплантации внутрироговичных линз и электронно-микроскопическое обоснование полученных результатов// Вестник ОГУ. -2015. -№ 12. -С.151-154.
5. **Шкандина Ю.В.**, Мушкова И.А. Имплантация внутрироговичных линз для коррекции пресбиопии в экспериментальном исследовании *in vivo*// Современные технологии в офтальмологии. -2015.-№3.-С.189-191.
6. **Шкандина Ю.В.**, Малюгин Б.Э., Мушкова И.А., Каримова А.Н. Оценка гистоморфологических изменений роговицы экспериментального животного при имплантации интракорнеальных линз оригинальной конструкции// Современные технологии в офтальмологии. -2016.-№4.-С.264-267.
7. Малюгин Б.Э., Борзенко С.А., Мушкова И.А., Шевлягина Н.В., **Шкандина Ю.В.**, Островский Д.С., Попов И.А. Морфологическое исследование биосовместимости интракорнеальных полимерных линз с роговицей человека в эксперименте *in vitro*. Офтальмохирургия. -2016. -№4. – С.51-60.
8. Малюгин Б.Э., Мушкова И.А., Борзенко С.А., **Шкандина Ю.В.**, Островский Д.С., Попов И.А. Исследование биосовместимости материалов

на основе олигоуретанметакрилата и гидроксиэтилметакрилата на модели культуры клеток стромы роговицы человека. Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2017. №1. – С. 32-41

Патенты РФ на изобретения по теме диссертации

1. Патент на изобретение № 2544097 от 04.07.2013 г. «Интракорнеальная линза для коррекции пресбиопии». Авторы: Малюгин Б. Э., Новиков С. В., **Перлова Ю. В.**

2. Патент на изобретение № 2015103022 от 04.05.2016 г. «Способ определения радиуса кривизны интрастромальной оптической линзы для коррекции пресбиопии» Авторы: Бессарабов А. Н., Мушкова И. А., **Шкандина Ю. В.**

3. Патент на изобретение № 2015109249 от 25.02.2016 г. «Инструмент для имплантации интракорнеальной оптической линзы для коррекции пресбиопии» Авторы: Мушкова И. А., Латыпов И. А., **Шкандина Ю. В.**

Биографические данные

Шкандина Юлиана Викторовна (девичья фамилия Перлова) - 1988 г.р., с отличием окончила ФГБОУ ВО "Курский Государственный Медицинский Университет" Минздрава России по специальности "Лечебное дело" в **2011 г.**

С 2011 по 2013 гг. проходила обучение в клинической ординатуре на базе ФГАУ "Межотраслевой научно-технический комплекс "Микрохирургия глаза" им. акад. С.Н. Фёдорова" Минздрава России.

С 2013 по 2016 гг. обучалась в очной аспирантуре в ФГАУ "Межотраслевой научно-технический комплекс "Микрохирургия глаза" им. акад. С.Н. Фёдорова" Минздрава России. За время обучения в аспирантуре приняла участие в исполнении работы по гранту «Исследование биосовместимости внутрироговичных имплантов из современных полимерных материалов (гидроксиэтилметакрилат, олигоуретанметакрилат, полиметилметакрилат) для коррекции аномалий рефракции и лечения кератэктазий различного генеза» Российского Фонда Фундаментальных Исследований. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 5 в журналах, рецензируемых ВАК РФ, получено 3 патента на изобретения

Список сокращений

ВРК – внутрироговичный карман	ОКТ – оптическая когерентная томография
ГЭМА – гидроксиэтилметакрилат	ОК – острый контроль
дптр – диоптрия	ПММА – полиметилметакрилат
ИКЛ – интракорнеальная линза	РСД – роговично-склеральный диск
КСР – клетки стромы роговицы	СЭМ – сканирующая электронная микроскопия
ЛАЗИК – лазерный кератомилез in Situ	ФМ – флуоресцентная микроскопия
мкм – микрометр	ХК – хронический контроль
ОУМА – олигоуретанметакрилат	

Подписано в печать: 10.02.2017

Объем: 1,0 усл.п.л.

Тираж: 100 экз. Заказ №754

Отпечатано в типографии "Реглет"

г.Москва, Ленинский проспект, д.2

8(495)978-66-63