

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«МЕЖОТРАСЛЕВОЙ НАУЧНО – ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
«МИКРОХИРУРГИЯ ГЛАЗА» ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н. ФЕДОРОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ШКАНДИНА ЮЛИАНА ВИКТОРОВНА

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

14.01.07 – глазные болезни

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
Мушкова Ирина Альфредовна

Москва 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
 ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Определение и эпидемиология пресбиопии.....	13
1.2. Теории аккомодации и патогенеза пресбиопии.....	16
1.3. Современные способы коррекции пресбиопии	
1.3.1. Нехирургическая коррекция пресбиопии	20
1.3.2. Хирургическая коррекция пресбиопии... ..	24
1.3.2.1. Кераторефракционная хирургия	
1.3.2.1.1. История развития кераторефракционной хирургии.....	30
1.3.2.1.2. Современный этап развития метода имплантации интракорнеальных линз в коррекции пресбиопии.....	32
1.3.2.1.3. Полимерные материалы потенциально пригодные для интракорнеальной имплантации.....	37
 ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	
2.1. 2D культивирование клеток стромы роговицы человека в присутствии полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА (<i>in vitro</i>)	40
2.2. Экспериментально-морфологическое исследование влияния разработанных ИКЛ на ткани глаза экспериментального животного (<i>in vivo</i>)	
2.2.1. Изучение морфометрических параметров и характера поверхности ИКЛ, изготовленных для постановки эксперимента <i>in vivo</i>	
2.2.1.1. Акустомикроскопическое исследование.....	46
2.2.1.2. Электронно-микроскопическое исследование.....	49
2.2.2. Экспериментально-морфологическое исследование (<i>in vivo</i>).....	50
2.3. Экспериментально-морфологическое исследование влияния разработанных ИКЛ на роговицу человека (<i>ex vivo</i>).....	53

ГЛАВА 3. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

3.1. Математическое моделирование происходящих в роговице изменений при имплантации интракорнеальных линз

3.1.1. Математическое моделирование происходящих в роговице изменений при имплантации ИКЛ в глубокие слои стромы в роговичный карман.....63

3.1.2. Математическое моделирование происходящих в роговице изменений при имплантации ИКЛ в поверхностные слои стромы в роговичный карман.....63

3.1.3. Математическое моделирование происходящих в роговице изменений при имплантации ИКЛ в поверхностные слои стромы под клапан роговицы.....64

3.2. Математическое моделирование геометрических параметров ИКЛ из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА с учетом особенностей строения роговицы человека.....66

3.3. Примеры расчета параметров ИКЛ для коррекции пресбиопии.....69

ГЛАВА 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПРИМЕНЕНИЯ ИКЛ ИЗ ГЭМА И ОУМА И РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ИМПЛАНТАЦИИ

4.1. Результаты 2D культивирования клеток стромы роговицы человека в присутствии полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА73

4.2. Результаты исследования влияния разработанных ИКЛ на ткани глаза экспериментального животного

4.2.1. Результаты изучения геометрических параметров и характера поверхности ИКЛ, изготовленных для постановки эксперимента *in vivo*

4.2.1.1. Результаты акустомикроскопического исследования.....78

4.2.1.2. Результаты электронно-микроскопического исследования.....81

4.2.2. Результаты изучения реакции ткани глаза экспериментального животного на имплантацию разработанных ИКЛ.....	83
4.3. Результаты экспериментально-морфологического исследования влияния разработанных ИКЛ на роговицу человека	
4.3.1. Флюоресцентная микроскопия.....	107
4.3.2. Сканирующая электронная микроскопия.....	112
4.4. Технология имплантации разработанных ИКЛ	
4.4.1. Разработка оригинального инструмента.....	121
4.4.2. Оптимизация технологии имплантации ИКЛ.....	125
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	127
ВЫВОДЫ.....	138
ОСНОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	139
БИБЛИОГРАФИЯ.....	140

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время общая численность населения нашей планеты неуклонно растет, данный показатель достиг значения 7,2 млрд. человек в начале 2014 г. В период с 1994 по 2014 гг. количество людей старше 60 лет удвоилось, в результате чего пожилых людей в мире стало больше, чем детей в возрасте до пяти лет (по данным 47-ой сессии Комиссии ООН по народонаселению и развитию).

Старение человеческой популяции приводит к ежегодному росту распространенности пресбиопии в мире. Данное рефракционное нарушение обуславливает ухудшение качества жизни более миллиарда человек, которые испытывают необходимость в очках для чтения в возрасте 45-50 лет (Goertz A. 2014). Разработка и совершенствование методов коррекции пресбиопии обретают все большую актуальность в связи с тем, что прогрессирующее снижение остроты зрения вблизи является препятствием не только для осуществления интеллектуальной деятельности, но и затрудняет выполнение профессиональных и бытовых задач (Киваев А. А., Шапиро Е. И., 2000, McDonnell P., Lee P. 2003).

Современные способы коррекции пресбиопии включают в себя как традиционные нехирургические методики, так и динамично развивающиеся хирургические. К первым следует отнести очковую и контактную коррекцию. Хирургические методики можно разделить в зависимости от точки приложения воздействия: операции на склере, хрусталике и роговице. 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., Егорова Г. Б., 2004, Малюгин Б. Э., Антонян С. А., 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). Операции, при которых в роговицу имплантируется дополнительная линза с целью коррекции аметропий, относят к кераторефракционным. Основоположником подобного направления в хирургии является профессор Barraquer Jose I., который впервые ввел термин рефракционная кератопластика. В 1949 году он применил ИКЛ из стекла с рефракционной целью в исследовании на животных. Однако данный эксперимент закончился образованием язвенного дефекта передних слоев стромы, с последующей протрузией линзы в конъюнктивальную полость.

Дальнейшее развитие данной технологии шло в направлении от использования биологических гомотрансплантатов к трансплантатам из полимерных материалов. Отечественными офтальмологами разрабатывалась интраламеллярная пересадка диска донорской роговицы в коррекции аметропий. Из ткани роговицы доноров трупов изготавливались трансплантаты различной формы и размеров, которые имплантировались в строму роговицы реципиента для коррекции миопии, миопического астигматизма и афакии. Были выявлены закономерности в изменении преломляющей силы роговицы после данных хирургических вмешательств и получены значительные рефракционные результаты. Однако использование биологических тканей сочеталось со сложностью в получении, заготовке и хранении донорского материала, отмечалась высокая частота помутнения трансплантата и низкая прогнозируемость послеоперационного эффекта (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.).

Использование полимерных материалов для изготовления ИКЛ выглядит более перспективным, так как имеется возможность изготавливать изделия сложной геометрической формы, со стабильными оптическими и биомеханическими свойствами. Для интракорнеальной имплантации 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., Гурбанов Р. С. 2010, Knowles W. 1961; Barraquer J. 1949 - 1997; Brown S. 1966; Keates R. H. 1995г. Choyce P. 1996). Однако на сегодняшний день технология имплантации ИКЛ с целью коррекции афакии, гиперметропии высокой степени, миопического астигматизма не используется, в связи со снижением максимально скорректированной остроты зрения у пациентов после операции по сравнению с дооперационными значениями. Интраокулярная и рефракционная лазерная хирургия обеспечивают более прогнозируемые и высокие результаты в коррекции перечисленных аметропий (Swinger С.А. 1983).

В настоящее время в клинической практике с целью коррекции пресбиопии применяются несколько видов ИКЛ. Их условно можно разделить на 3 группы по механизму действия. Первая группа – рефракционные, ИКЛ этой группы обладают собственной оптической силой. Вторая группа – апертурные, механизм действия данных линз основан на том, что при прохождении света через узкое отверстие, отсекаются периферические лучи света, что приводит к увеличению глубины фокуса. Третья группа – «заполняющие пространство», ИКЛ изменяют кривизну передней поверхности роговицы, что придает ей мультифокальные свойства. 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 явлений (Dexl A.K. 2011; Santhiago M.R. 2012; Gatinel D. 2012; Fernandez E.J. 2013).

На сегодняшний день зарегистрированных на территории Российской Федерации и разрешенных к использованию в клинической практике ИКЛ для хирургической коррекции пресбиопии не существует. Таким образом, актуальным представляется их разработка и изготовление, с учетом недостатков, имеющих

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: Экспериментально-морфологическое обоснование возможности имплантации интракорнеальных линз, изготовленных из полимерных материалов на основе гидроксиэтилметакрилата (ГЭМА) и олигоуретанметакрилата (ОУМА).

Задачи:

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

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 из ГЭМА и ОУМА 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

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 и сканирующей электронной микроскопии, 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 изобретения.

Внедрение результатов работы

Основные положения работы включены в тематику лекций цикла повышения квалификации врачей-офтальмологов «Экимерлазерная 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* выполнены на базе лаборатории Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических

проблем (зав. центром – д.м.н. С.А. Борзенко) ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Акустомикроскопическое исследование проводилось на базе лаборатории акустической микроскопии Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН при поддержке научного сотрудника Морокова Е. С.

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

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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Определение и эпидемиология пресбиопии

Возникающее в пожилом возрасте состояние, при котором постепенно исчезает возможность ясно видеть вблизи, привлекало к себе внимание людей еще в античные времена. Древнегреческие философы, среди них Цицерон, Светоний, переходили в разряд старейшин именно в этот период жизни, когда просили своих молодых учеников читать им. Аристотель в своих трудах при описании пожилого человека использовал греческий термин «пресбиоп» [142].

Римский философ Сенека отмечал, что при рассматривании через стеклянный шар, наполненный водой, мелкое и неясное письмо кажется крупнее и разборчивее [53]. В 1250 году английский естествоиспытатель Бэкон Р., основываясь на более ранние работы арабского ученого Аль-Хазена, указывал на проблему зрения вблизи у пожилых людей и предлагал возможное ее решение в использовании кристалла или стекла. Примерно в это же время началось использование положительных линз, вставленных в оправу, в качестве первых очков для чтения при пресбиопии [221]. В XVIII веке американский ученый Франклин Б. будучи аметропом пресбиопом был вынужден использовать две пары очков для дали и близи, что вызывало у него определенный дискомфорт. Им впервые были предложены бифокальные очковые стекла, предшественники современных би-, трифокальных и прогрессивных очков [105].

Термин пресбиопия (*presbyopia* от греч. *presbys* – старик и *opsis* – зрение) – «старческое зрение» является не самым удачным, так как физиологическое снижение аккомодационной способности глаза начинается в возрасте 20-25 лет. При этом к 40-49 годам запас относительной аккомодации (ЗОА) снижается до 0-1 дптр, а объем абсолютной аккомодации (ОАА) до 2-5 дптр, что приводит к появлению характерных жалоб [61]. В 1965 году Радзиховский Б. Л. предложил использовать понятие «возрастная недостаточность аккомодации» как состояние

зрительного анализатора, с которым в той или иной мере сталкивается каждый человек, характеризующееся постепенным и естественным, обусловленным возрастом, необратимым снижением аккомодационной способности глаза [49]. Однако широкого распространения среди офтальмологов данный термин так и не получил. На сегодняшний день не существует общепринятого определения понятия пресбиопии. Согласно Международной классификации болезней (МКБ-10) данное состояние органа зрения относится к нарушению рефракции и аккомодации (H 52.4) [50].

Таким образом, пресбиопом можно считать человека, острота зрения вблизи у которого недостаточна для удовлетворения его потребностей, обычно сочетающаяся со снижением ОАА менее 3 дптр [134, 244].

Пресбиопия представляет собой закономерное проявление возрастной инволюции глаза и на сегодняшний день является самым распространенным рефракционным нарушением в мире [1]. По данным Всемирной Организации Здравоохранения в начале 2014 года насчитывалось около 2 млрд пресбиопов при общей численности населения нашей планеты 7,2 млрд человек. Из них 517 млн не использовали оптическую коррекцию или имели очки, недостаточно корригирующие пресбиопию, 410 млн лиц испытывали трудности при выполнении профессиональных и бытовых задач. Распространенность пресбиопии в развитых странах достигает 35-40%. Существенные негативные эффекты на зрительные функции, связанные с некорригированной пресбиопией, приводящие к снижению качества жизни, наблюдаются у 94 % людей после 45 лет в развивающихся странах [2, 59, 138, 149, 192]. Количество людей в мире старше 60 лет возросло с 8 % в 1950 г. до 11 % в 2009 г. и к 2050 г. может достигнуть 22 % [189].

Очевидно, что увеличение численности населения планеты коррелирует с распространенностью пресбиопии, к 2020 году количество людей, испытывающих дискомфорт при зрении вблизи, возрастет до 2,3 млрд человек. МакДонел П. и соавторы в своих исследованиях обнаружили, что качество жизни у людей пресбиопического возраста ниже, чем у более молодых эметропов, что

обусловленно неудовлетворительными зрительными функциями, отсутствием или недостаточностью коррекции [180].

Развитие пресбиопии не связано с фиксированным возрастным периодом, это многофакторный процесс [242]. Несомненно, что возраст - основной фактор риска, однако преждевременные симптомы недостаточности аккомодации могут иметь место при врожденных, травматических, воспалительных, сосудистых, опухолевых и дегенеративных заболеваниях, при воздействии токсинов и как результат побочного действия лекарственных препаратов [152, 201, 224].

Ряд исследователей выявили корреляционную связь между временем появления первых признаков пресбиопии и температурными и географическими условиями проживания индивидуумов, видом и особенностями коррекции сопутствующей аметропии, родом трудовой деятельности, образом жизни [102, 109, 124, 154, 186, 223, 245]. Например, жители Скандинавского полуострова отмечают первые признаки недостаточности аккомодации в более позднем возрасте, чем жители Средиземноморья, что возможно связано с неблагоприятным влиянием солнечной радиации [42, 195]. Кроме того, пресбиопия возникает раньше у лиц, бытовая или профессиональная деятельность которых связана с рассматриванием мелких объектов, причем, чем меньше контраст объектов с фоном, тем сильнее действует этот фактор [33].

Ряд исследователей выявили определенные гендерные различия и подтвердили более раннее развитие возрастной недостаточности аккомодации у представительниц женского пола [192, 171, 201]. Однако ранняя манифестация пресбиопии у женщин по сравнению с мужчинами не связана с физиологическими различиями аккомодационной системы, а обусловлена особенностями выполняемых задач: мелкая работа вблизи (шитье, рукоделие), офисная работа с малоконтрастными объектами [146].

1.2. Теории аккомодации и патогенеза пресбиопии

Аккомодация – это способность изменять диоптрийную силу глаза путем изменения анатомических структур с целью получения четкого изображения на сетчатке при различном расстоянии до объекта. Точный механизм аккомодации и патогенез возрастных изменений является предметом дискуссий на протяжении нескольких веков [126]. Первое описание возрастного снижения аккомодации было дано голландским биологом Дондерсом Ф. в 1864 году [112]. Благодаря последующим исследовательским работам, проведенным в начале XX столетия, Дуэйном А., были установлены пределы аккомодации для различных возрастных групп [114, 115].

Несмотря на обилие гипотез по физиологии аккомодации, полуторавековые представления Г. Гельмгольца продолжают оставаться востребованными в современных взглядах на механизмы аккомодации [27, 29, 36, 40, 54, 58, 79, 246]. Согласно теории Гельмгольца, при максимальном напряжении цинновых связок, хрусталик находится на минимуме оптической мощности. Передняя, задняя и экваториальная порции связок оказывают напряжение одновременно. Оптическая сила хрусталика увеличивается при уменьшении натяжения цинновых связок, в то время как увеличение натяжения приводит к снижению оптической силы [144, 145]. Однако эта теория не объясняет уплощение части хрусталика и снижение сферических аберраций, которые наблюдаются во время аккомодации [126].

В 1894 году датский офтальмолог Тшернинг М. опубликовал свою теорию аккомодации, которая отличалась от описанной выше тем, что сокращение цилиарной мышцы приводит к натяжению цинновых связок [232]. В результате чего увеличивается кривизна передней поверхности хрусталика и образуется центральный лентиконус, сочетающийся с уплощением периферических отделов. Сужение зрачка в процессе аккомодации препятствует прохождению световых лучей через уплощенные периферические отделы

хрусталика, что в свою очередь уменьшает сферические aberrации [163]. Теория Тшернинга привела к многочисленным спорам среди исследователей, не утихающим и сегодня [214].

В первой половине 20-го века, Гульстранд А., шведский офтальмолог предположил, что аккомодация обусловлена различной преломляющей силой хрусталиковых волокон, при этом показатель преломления в центральном отделе линзы больше, чем на периферии [89]. Связанное с этим явлением усиление преломляющей способности хрусталика он называл внутрикапсулярной аккомодацией [177].

Колман Дж. считал, что хрусталик, цинновы связки и частично стекловидное тело формируют диафрагму между передним отрезком глаза и витреальной камерой. При сокращении цилиарной мышцы формируется градиент давления между водянистой влагой и стекловидным телом, в результате чего передняя поверхность хрусталика в центре становится круче, а на периферии уплощается [215].

Оригинальную теорию аккомодации предложил Шахар Р. в 1993 г., согласно которой при рассматривании объекта вблизи сокращается цилиарная мышца, при этом происходит натяжение волокон в экваториальной зоне хрусталика и увеличение его диаметра. Кривизна передней и задней поверхностей хрусталика в центре увеличивается, а на периферии уменьшается. При аккомодации происходит натяжение только экваториальной порции цинновой связки, а передние и задние волокна расслабляются [213, 214]. Экспериментальная работа Глассера А., включающая эксперимент на обезьянах с использованием ультразвуковой микроскопии (УБМ), установила уменьшение экваториального диаметра хрусталика на высоте аккомодации, что опровергло состоятельность теории Шахара Р. [136, 137].

Структуры глаза неизбежно претерпевают возрастные изменения, при этом увеличивается размер и вес хрусталика, одновременно происходит процесс уплотнения его ядра, меняется его консистенция и эластичность. Кроме того,

изменяется толщина и эластичность капсулы хрусталика, происходят дегенеративные изменения цилиарной мышцы [110, 123, 137, 164, 226, 227].

В целом, многочисленные возрастные изменения структур глаза, которые могут приводить к формированию недостаточности аккомодации, являются основой для нескольких теорий. Согласно наиболее ранней *лентиккулярной теории*, пресбиопия формируется вследствие снижения эластичности хрусталика и его капсулы, а изменения цилиарной мышцы не рассматриваются как значимые [38, 78, 86, 99, 116, 128, 144, 196, 243].

Фишером Р. было обнаружено, что значение модуля Юнга капсулы хрусталика снижается вдвое в возрасте 60 лет, при этом исследователь отмечает, что благодаря ее эластическим свойствам меняется форма хрусталика [129]. В экспериментальном исследовании на молодых обезьянах при удалении капсулы хрусталик становился более тонким и плоским, это позволяет предположить, что эластичная капсулярная сумка и хрусталиковое вещество взаимодействуют антагонистически [118].

Согласно *экстралентиккулярной теории* развития пресбиопии, первичными являются изменения в цилиарной мышце – снижение сократительной способности за счет склероза ее задней части, атрофии продольной и радиальной частей, утолщения циркулярной части ресничной мышцы, которые постепенно приводят к снижению эластичности хрусталика и его капсулы [120, 127, 130, 172, 227]. Инволюционные дистрофические изменения в цилиарной мышце заключаются в прекращении образования мышечных волокон, замещении их соединительной тканью и жировой дегенерацией [14, 19, 41, 226].

Геометрическая теория формирования возрастной недостаточности аккомодации включает в себя уменьшение натяжения, провисание средней и задней частей связочного аппарата хрусталика, смещение передних частей к экватору, с одновременным увеличением размеров хрусталика [59, 99, 123].

Возрастное изменение геометрии переднего отрезка глаза приводит к снижению влияния цинновых связок на процесс аккомодации [141]. Однако, на

сегодняшний день экспериментальных доказательств данной теории не существует.

В противовес классическим теориям формирования пресбиопии была сформулирована *теория Шахара*, согласно которой с возрастом снижается натяжениеzonулярных волокон, обусловленное уменьшением расстояния от хрусталика до ресничного тела, в связи с постоянным ростом хрусталика в диаметре [213, 214]. Однако данные гониовидеографии и УБМ показали, что при аккомодации диаметр хрусталика уменьшается и происходит движение экватора хрусталика от склеры, что соответствует теории Гельмгольца [137, 242].

В настоящее время развитие пресбиопии все чаще рассматривают как многофакторный процесс, связанный с многочисленными инволюционными физиологическими изменениями глаза, в связи с чем потенциально значимыми в патогенезе можно считать не только изменения в хрусталике и ресничном теле [15, 32]. Согласно визиодинамической теории Хипсли А. (2003 г.), на основании биомеханической модели, пресбиопия рассматривается как «старческая болезнь», при которой возрастным изменениям подвергаются все структуры глазного яблока [147].

1.3. Современные способы коррекции пресбиопии

Несколько столетий человечество пытается найти оптимальный способ коррекции возрастной недостаточности аккомодации. Помимо традиционных нехирургических методов, таких как очковая и контактная коррекция пресбиопии, на сегодняшний день все большую популярность обретают хирургические подходы к получению оптимального зрения вблизи после 40-45 лет [8, 202].

1.3.1. Нехирургическая коррекция пресбиопии

Целью коррекции пресбиопии является обеспечение возможности оптической установки глаза на различные расстояния (главным образом вдаль и вблизи) при применении одного корригирующего средства, то есть реализация принципа мультифокальности [47].

Традиционным и наиболее распространенным методом, реализующим данный принцип, являются очковые линзы. На сегодняшний день среди средств очковой коррекции пресбиопии различают монофокальную коррекцию, широко используемую эмметропами-пресбиопами, би- и трифокальную, подходящую пациентам с аметропией, и мультифокальную коррекцию (прогрессивные очковые линзы) [48, 52, 105].

Использование прогрессивных очковых линз является современным и удобным способом коррекции возрастной недостаточности аккомодации, при этом используется одна пара очков для получения хорошего зрения на различных расстояниях [182]. Для улучшения зрения на средних расстояниях в линзах данной конструкции существует плавный переход оптической силы в виде коридора прогрессии, вне которого расположена зона нежелательных aberrаций. Ограничениями данного вида коррекции являются сложности подбора и расчета очков, длительная адаптация пациента к новым условиям деятельности зрительной системы [219, 233].

На сегодняшний день, помимо очков традиционного дизайна, разрабатываются очковые линзы с переменной оптической силой. Данные изделия в своей конструкции имеют переднюю стенку, обеспечивающую сфероцилиндрическую коррекцию, гибкую заднюю стенку и жидкость, заключенную между ними [113, 228]. Для рассматривания объектов на различных расстояниях необходима мануальная регулировка оптической силы очковых стекол [205].

Перспективной выглядит разработка очковых линз на основе технологии жидких кристаллов. Под воздействием слабого электрического поля происходит трансформация ориентации молекул кристаллов, что приводит к изменению рефракционного индекса среды [206, 207]. Первый коммерческий девайс, который был создан по данной технологии, представляет собой прогрессивные бифокальные очки, предназначенные для зрения вдаль и на средние расстояния. Жидкокристаллический дифракционный компонент для зрения вблизи расположен в нижнем сегменте линзы, переключение на него происходит автоматически при наклоне головы вниз, благодаря встроенному в оправу акселерометру [169, 236].

Использование традиционных очков — это надежный способ коррекции возрастной недостаточности аккомодации, с помощью которого можно удовлетворить быстро меняющиеся потребности пресбиопы в зрении вблизи, не требующий длительной адаптации. Однако очковые линзы любой конструкции имеют ряд недостатков, среди них неизбежный призматический эффект на периферии, искажение пространства при переводе взгляда с одних предметов на другие, косметическая неудовлетворенность пациентов [183].

В последнее время для коррекции пресбиопии все чаще применяются мягкие контактные линзы (МКЛ). Первые бифокальные МКЛ были доступны в Соединенных Штатах Америки в конце 80-х годов XX века, однако не были внедрены в широкую клиническую практику в связи с высокой ротационной способностью. За последующие 30 лет значительным изменениям подверглась их конструкция и материалы, используемые для изготовления [222]. В настоящее время коррекция пресбиопии МКЛ может быть осуществлена несколькими способами: комбинация очковой и контактной коррекции, использование системы монозрения, применение мультифокальных линз [2].

Комбинированный метод, при котором используются контактные линзы для коррекции аномалий рефракции вдаль с дополнительной очковой коррекцией для близи, широко применяется в настоящее время. При этом пациент получает не только высокую остроту зрения на всех расстояниях, но и не происходит

снижение пространственной контрастной чувствительности, однако неудовлетворенность может вызывать сохраняющаяся необходимость ношения очков [55].

Система монозрения (*monovision*), предложенная Фонда Дж. в 1966г., заключается в создании у пациента дозированной анизометропии, при этом один глаз, чаще всего доминантный, корригируется для зрения вдаль, а другой для близи [131]. При использовании данной коррекции происходит подавление размытого изображения от одного глаза и бинокулярная острота зрения соответствует монокулярной остроте зрения, лучше видящего на данном расстоянии, глаза [82, 216]. Интересной представляется технология модифицированного моновидения, при которой используются мультифокальные линзы на оба глаза, однако на доминантном глазу используется МКЛ с центральной зоной для дали, а на недоминантном с центральной зоной для близи [95]. К недостаткам *monovision* стоит отнести сложность адаптации к искусственной анизометропии, преодолеть которую могут не все пациенты, уменьшение бинокулярной суммации и снижение контрастной чувствительности [31, 121].

Современная мультифокальная контактная коррекция обретает все большую популярность у пресбиопов, по данным отчета Международной Ассоциации производителей контактных линз в 2011 году доля мультифокальных конструкций среди МКЛ в мире составила 11% [191]. Различают альтернирующие и симультанные контактные линзы, последние в свою очередь могут быть дифракционными, концентрическими бифокальными и с асферическим профилем [158]. Интересна разработка аккомодирующей контактной линзы, оптическая сила которой изменяется при приближении рассматриваемого объекта к глазу, которая, однако, в настоящее время не доступна к клиническому применению и требует дополнительных исследований [105].

Контактные линзы альтернирующего типа аналогичны бифокальным очковым стеклам, так как нижняя зона линзы предназначена для зрения вблизи, а верхняя и средняя для дали. Несимметричный дизайн стабилизирован

призмным балластом, который помогает нижнему веку смещать линзу вверх при взгляде вниз, для того, чтобы зона для близи переместилась в область зрачка [30, 68]. Широкое использование альтернирующих линз ограничивается зрачково-зависимостью конструкции, сложностью в достижении унифицированности движений МКЛ у различных пациентов и возможностью ротации [101]. Подбор данных линз пресбиопам представляет собой трудоемкий процесс, требующий определенного навыка, а наличие призмного балласта несколько снижает комфортность ношения [96].

Конструкция симультанных контактных линз основана на принципе одновременного зрения, когда зоны для дали и близи расположены в области зрачка постоянно. Поток света, проходя через МКЛ, формирует несколько фокусов, один из которых проецируется на сетчатку, в зависимости от удаленности рассматриваемого объекта от глаза [30, 247]. Изображение, находящееся не в фокусе, представляется размытым и должно быть избирательно подавлено пациентом, при этом формируются круги светорассеяния, которые вызывают нежелательные зрительные эффекты, такие как засветы и ореолы вокруг источников света. Разделение потока света линзой неизбежно приводит к снижению пространственной контрастной чувствительности [235]. Неоспоримыми преимуществами симультанных МКЛ являются стабильность зрительных функций при возможных ротационных движениях, быстрая адаптация к линзам и высокая комфортность ношения [200].

В концентрических симультанных МКЛ оптические зоны ориентированы кольцевидно, при этом если в центре линзы расположена зона для дали, то она окружена по периферии зоной для близи и наоборот. МКЛ с центральной зоной для дали предпочтительны пресбиопам с высокими требованиями к зрительным функциям вдаль (военнослужащие, водители), а МКЛ с центральной зоной для близи – для пациентов, основной сферой деятельности которых, является работа на близком расстоянии [4, 135].

Асферические концентрические симультанные МКЛ характеризуются тем, что передняя или задняя поверхность линзы имеет асферический профиль,

что уменьшает резкий перепад оптической силы между зонами для близи и дали. В связи с чем, получаемые зрительные функции и удовлетворенность пациентов должны быть выше, чем при моновизуальной коррекции монофокальными МКЛ, что было подтверждено несколькими исследовательскими работами [125, 209]. Однако мультифокальные линзы данного дизайна обладают определенным абберрационным профилем, который суммируется с индивидуальными абберрациями глаза, что и определяет качественные и количественные характеристики зрения на различных расстояниях [200].

В симультанных линзах дифракционного дизайна оптимальное зрение вдаль обеспечивается оптической силой МКЛ, а зрение вблизи достигается при прохождении света через концентрические дифракционные грани, расположенные на задней поверхности линзы. Несомненное преимущество данной конструкции – независимость от диаметра и лабильности зрачка, однако значительная дифракция светового потока вызывает снижение контрастной чувствительности не только на высоких, но и на низких пространственных частотах [37, 250]. Дифракционные МКЛ достаточно широко использовались в 80-90-х годах прошлого века, однако немалая стоимость, обусловленная технологической сложностью изготовления, сделала их коммерчески нежизнеспособными и в настоящее время их производство приостановлено [143].

Успешная коррекция пресбиопии с помощью контактных линз возможна при тщательной оценке параметров зрительной системы пациента и моделировании оптического эффекта. Немаловажным в последующей адаптации представляются степень мотивации пациента и особенности его психологического портрета [7, 80].

1.3.2. Хирургическая коррекция пресбиопии.

На сегодняшний день очки и контактные линзы остаются доминирующими способами коррекции возрастной недостаточности аккомодации, однако за

последние несколько десятилетий появились многочисленные конкурирующие хирургические подходы к проблеме восстановления зрения у пресбиопов [240]. Некоторые из предложенных методов доказали свою эффективность и нашли широкое применение в клинической практике, другие остаются спорными или не оправдали ожидания исследователей [174].

Существующие на сегодняшний день методы хирургической коррекции пресбиопии включают операции на склере и роговице, а также использование интраокулярных вмешательств. При этом в коррекции утраченной аккомодации можно выделить два основных направления: восстановление естественного механизма аккомодации и оптическая компенсация дефицита аккомодации [133].

Хирургические вмешательства, точкой приложения которых является склера, основаны на оригинальной теории аккомодации и формирования пресбиопии Шахара Р. (см. 1.2.) и направлены на восстановление естественного механизма аккомодации. Для моделирования супрацилиарной склеры, с целью увеличения расстояния между экваториальной частью хрусталика и цилиарным телом, было предложено множество методик, среди них интрасклеральное введение 4-ех коллагеновых дугообразных сегментов [39, 204]. Возможные осложнения подобного хирургического вмешательства включали истончение склеры и возможность перфорации, ишемию переднего отдела глазного яблока, риск экстррузии имплантов [173, 220]. Послеоперационный результат был трудно прогнозируемым и не стабильным, в связи с чем, метод супрацилиарной склеротомии в классическом виде на сегодняшний день не применяется [178].

Хипсли А. в 2011 году предложена методика моделирования склероцилиарного комплекса с помощью энергии эрбиево-YAG лазера, при этом выполняют абляцию до 90 % толщины склеры в 9-ти точках по заданному паттерну, на одном глазу выполняется 4 паттерна, что, по мнению автора, устраняет влияние ригидной соединительнотканной оболочки на сократительную способность цилиарной мышцы [148]. После проведения данного вмешательства исследователи отмечают увеличение аккомодации в среднем на 1,5 дптр, максимальный срок наблюдения составил 18 месяцев [229].

В последние годы в хирургической коррекции пресбиопии все большую популярность обретают вмешательства, точкой приложения которых является хрусталик, включающие в себя интраокулярную анизокоррекцию, имплантацию псевдоаккомодирующих и аккомодирующих интраокулярных линз (ИОЛ) [62, 65].

На заре интраокулярной хирургии при имплантации монофокальных ИОЛ рефракцией цели являлась эметропия, а для зрения вблизи неизбежно предполагалось ношение очков. Однако, было обнаружено, что некоторые пациенты могут достичь удовлетворительного зрения на близком расстоянии без использования дополнительных средств коррекции, что наблюдается у ряда пресбиопов в настоящее время [24, 77, 190]. Данное явление псевдоаккомодации вероятно связано с увеличением глубины фокуса из-за небольшого диаметра зрачка, наличием резидуального миопического астигматизма или индуцированием появления послеоперационных аберраций высших порядков [57, 151, 193].

Интраокулярная моновизуальная коррекция, при правильном отборе пациентов, является достаточно эффективной методикой, финансово доступной для большинства пациентов. До операции целесообразно проводить тест для определения толерантности к анизометропии с использованием очков или контактных линз, который является положительным у 64-100% пресбиопов [155]. Основные недостатки применения данной технологии заключаются в снижении стереоскопического зрения и недостаточных зрительных функциях на средних расстояниях, но, при соблюдении величины анизометропии в 1,25-1,5 дптр, перечисленные нежелательные эффекты минимизируются [72, 239].

Среди псевдоаккомодирующих ИОЛ, разрешенных на сегодняшний день к клиническому применению, различают рефракционные, дифракционные, рефракционно-дифракционные и градиентные конструкции, каждая из которых имеет свои преимущества и недостатки. Прецизионное дооперационное обследование пациентов и хорошая хирургическая техника определяют успех интраокулярной коррекции пресбиопии [6].

При использовании современных псевдоаккомодирующих ИОЛ достигается независимость от очков, высокая глубина фокуса, простота имплантации, длительная стабильность капсульного мешка и уменьшение нежелательных зрительных эффектов, таких как *glare* и *halo*, при формировании нейроадаптации [28, 44, 85]. По результатам ряда исследований было показано, что более 90% опрошенных пациентов с мультифокальными ИОЛ выбрали бы линзу той же конструкции снова. Причины неудовлетворенности послеоперационным результатом в большинстве случаев могут быть идентифицированы и исправлены [66, 185, 237]. Однако, значительное снижение пространственной контрастной чувствительности и низкие зрительные функции на средних расстояниях, по сравнению с аккомодирующими ИОЛ, лимитируют использование псевдоаккомодирующих линз у пациентов, имеющих необходимость работать при слабом освещении и за компьютером, а неизбежное монокулярное соперничество делает в ряде случаев данную коррекцию непереносимой [9, 104].

Одним из необходимых условий для восстановления утраченной аккомодации является сохранная сократительная способность цилиарной мышцы, есть основания полагать, что данная мышца не подвергается полной атрофии с возрастом и остается функционально-активной [92, 226]. Несмотря на то, что в 25-30 лет ОАА составляет 7-10 дптр, большинству пресбиопов достаточно восстановления 2-3 дптр ОАА для полноценной работы вблизи. Перечисленные особенности учитываются при разработке аккомодирующих ИОЛ, предназначенных для симулирования аккомодационного ответа. В механизме действия линз данной группы может быть использована сократительная способность цилиарной мышцы, эластичность капсульного мешка или давление стекловидного тела для смещения ИОЛ или изменения формы ее оптической части, что делает аккомодацию привычной для пациента, не требующей длительной адаптации [167, 181].

При прохождении светового потока через аккомодирующую ИОЛ, как и через монофокальную, формируется одна фокальная плоскость, что предотвращает потерю световой энергии, поступающей в глаз, и тем самым

сохраняется высокая контрастная чувствительность и высокая острота зрения на различных расстояниях [69, 194, 197]. Однако, несмотря на обилие имеющихся моделей линз данной группы и постоянный поиск исследователями новых конструкций, в настоящее время аккомодирующей ИОЛ, простой в имплантации, дающей прогнозируемый долговременный результат, не вызывающей серьёзных осложнений, не существует [50].

Интересной методикой по восстановлению утраченной аккомодационной способности глаза является фотодезинтеграция хрусталика с помощью энергии фемтосекундного лазера. Предполагается повышение эластичности хрусталика после выполнения данной процедуры, а прецизионное воздействие лазерного луча обеспечивает безопасность для капсульной сумки [83, 165]. На сегодняшний день разработка технологии ведется в направлении определения оптимального паттерна фотодезинтеграции, который бы обеспечивал достаточный аккомодационный ответ, но не приводил бы к катарактальным изменениям хрусталика [97, 217].

Роговичный подход к коррекции пресбиопии включает в себя как операции, выполняющиеся на одном глазу, чаще всего недоминантном, так и билатеральные вмешательства. К первой группе относят формирование с помощью фоторефрактивной кератэктомии, лазерного кератомилеза *in Situ* (ЛАЗИК) или различных видов термокератопластики индуцированной анизометропии, имплантацию интракорнеальных линз (ИКЛ); ко второй группе следует отнести различные варианты пресбиопического ЛАЗИКа и технологию INTRACOR.

На заре рефракционной лазерной хирургии при использовании эксимерных лазеров с формирующей системой излучения в виде широкого пучка, абляция стромы роговицы проводилась по «гауссовскому профилю», что приводило в ряде случаев к индуцированию сферической аберрации и увеличению глубины фокуса, пациенты при этом отмечали удовлетворительные зрительные функции вблизи в пресбиопическом возрасте [188].

На сегодняшний день формирование индуцированной анизометропии с помощью энергии эксимерного лазера – один из вариантов применения системы

моновидения, механизм действия и недостатки которой описаны в п. 1.3.1. Данный метод хорошо прогнозируем и при правильном отборе пациентов удовлетворенность от коррекции достигает 80-98% [187].

Различные алгоритмы аблиации роговицы, при которых она приобретает мультифокальные свойства, можно объединить термином пресбиЛАЗИК. При этом на роговице формируются две зоны: для зрения вблизи и вдаль. Каждая из которых может быть, как в центральной зоне, так и на периферии. Например, в программах Supracor и PresbyMax, центральная часть оптической зоны предназначена для зрения вблизи, а периферическая для дали, а при коррекции пресбиопии на эксимерном лазере «Микроскан Визум» центральная зона роговицы формируется для зрения вдаль, а периферическая - для близости [5, 60, 81, 199]. Клинические результаты применения различных алгоритмов пресбиЛАЗИКа демонстрируют высокий процент послеоперационной удовлетворенности пациентов, однако изучения требует стабильность полученного рефракционного эффекта и оценка зрительных функций в условиях сниженной освещенности и контрастности рассматриваемого объекта [119, 153, 199].

INTRACOR - технология, при которой в строме роговицы формируются пять концентрических колец с помощью энергии фемтосекундного лазера, что приводит к локальным биомеханическим изменениям и укрупнению центральной зоны роговицы [34, 139]. После данной операции пациенты отмечают увеличение остроты зрения вблизи при сохранной или незначительно сниженной остроте зрения вдаль, сохраняющиеся до 18 месяцев [150, 210]. Однако ряд исследователей показали малую эффективность процедуры у некоторых пациентов и возможную нестабильность рефракционного результата, обусловленную продолжающимся ремоделированием роговицы, что требует дальнейшего наблюдения [184, 211].

Технология изменения кривизны роговицы путем нанесения нескольких коагулятов на ее периферии использовалась достаточно широко в коррекции гиперметропии в 80-90 гг. прошлого столетия. Однако использование методов термокератопластики, лазерной и кондуктивной, возможно и в коррекции

пресбиопии. При лазерной термокератопластике используется энергия инфракрасного гольмиевого YAG лазера для нанесения серии коагулятов на роговице, в результате чего радиус кривизны и оптическая сила роговицы увеличиваются [46, 162]. При кондуктивной термокератопластике используется зонд, излучающий низкочастотные радиоволны, во время операции наносится от 8 до 32 коагулятов на расстоянии 7 и 8 мм от оптического центра роговицы [88, 223]. На сегодняшний день термокератопластка не используется широко в связи со сложностью в прогнозировании послеоперационного рефракционного эффекта и его нестабильностью, значительными гистоморфологическими изменениями в зоне коагулятов [21, 90].

1.3.2.1. Кераторефракционная хирургия

В настоящее время все большую популярность обретает имплантация интракорнеальных линз (ИКЛ) с целью коррекции пресбиопии. Операции, при которых в роговицу вводится дополнительная линза с целью коррекции аметропий, относят к кераторефракционным.

1.3.2.1.1. История развития кераторефракционной хирургии

При детальном ознакомлении с литературой обнаружено, что впервые профессор из Колумбии Барракер Х., имплантировал ИКЛ, изготовленную из стекла, в экспериментальном исследовании на животных, после операции произошло образование язвенного дефекта в передних отделах стромы роговицы, с последующей протрузией линзы в конъюнктивальную полость [49]. Однако данное исследование положило начало развитию рефракционной кератопластики.

Отечественными офтальмологами разрабатывалась интраламеллярная пересадка диска донорской роговицы в коррекции аметропий. Из ткани роговицы

доноров трупов изготавливались трансплантаты различной формы и размеров, которые имплантировались в строму роговицы реципиента для коррекции миопии, миопического астигматизма и афакии. Были выявлены закономерности в изменении преломляющей силы роговицы после данных хирургических вмешательств и получены значительные рефракционные результаты [10, 17, 22, 35, 67, 75].

В работах Блаватской Е. Д. (1967-1973 гг.) изучалось влияние формирующих сил роговицы на трансплантат. При этом было показано, что биологическая линза, имплантированная в строму роговицы, по истечении определенного срока, приобретает форму мениска с закругленными краями. Причём, чем больше высота имплантата, тем больше он подвергается ремоделированию. Кроме того, было показано, что степень ослабления рефракции глаза после пересадки кольцевидных биологических линз прямо пропорциональна толщине трансплантата и обратно пропорциональна квадрату его внутреннего диаметра [11, 12].

Однако использование биологических тканей сочеталось со сложностью в получении, заготовке и хранении донорского материала, отмечалась высокая частота помутнения трансплантата и низкая прогнозируемость послеоперационного эффекта [56, 70].

Дальнейшее развитие технологии шло в направлении от использования биологических гомотрансплантатов к трансплантатам из полимерных материалов. Использование полимерных материалов для изготовления ИКЛ выглядит более перспективным, так как имеется возможность изготавливать изделия сложной геометрической формы, со стабильными оптическими и биомеханическими свойствами. Для интракорнеальной имплантации исследователи использовали различные материалы, такие как силикон, полисульфон, лейкосапфир, полиметилметакрилат (ПММА), гидрогель, с целью поиска наиболее биосовместимого с тканью роговицы человека [18, 23, 43, 71, 93, 108, 166, 179].

При имплантации ИКЛ, изготовленных из пластмассы, Морхат И. В. обнаружил, что линзы меньшего диаметра при одинаковой толщине имеют

большую биосовместимость с тканью роговицы, а большая глубина имплантации минимизирует риск отторжения импланта [45]. В работе Верзина А. А. большое внимание было уделено изучению биосовместимости различных материалов, потенциально пригодных для интракорнеальной имплантации. На основании математического моделирования были рассчитаны оптимальные биометрические параметры ИКЛ, изготовленных из полимера на основе гидрогеля, с последующим клиническим подтверждением полученных результатов [16].

Однако, на сегодняшний день технология имплантации ИКЛ с целью коррекции афакии, гиперметропии высокой степени, миопического астигматизма не применяется в связи со снижением максимальной корригированной остроты зрения у пациентов после операции по сравнению с дооперационными значениями. Интраокулярная коррекция и рефракционная лазерная хирургия обеспечивают более прогнозируемые и высокие результаты в коррекции данных аметропий [231].

В 1995г. R. H. Keates одним из первых применил технологию кератофакии для хирургической коррекции пресбиопии, он использовал ИКЛ, изготовленные из гидрогеля на 5-ти глазах. Все пациенты после операции отмечали улучшение зрения вблизи, однако данных об отдаленных результатах в доступной литературе не найдено [159].

1.3.2.1.2. Современный этап развития метода имплантации интракорнеальных линз в коррекции пресбиопии.

В настоящее время в клинической практике с целью коррекции пресбиопии применяются несколько видов ИКЛ. Одним из основных требований к современным ИКЛ является высокая биосовместимость материала, из которого

изготовлена линза, для обеспечения оптимального естественного движения питательных веществ через роговицу [106].

Все ИКЛ для коррекции пресбиопии, разрешенные на сегодняшний день к клиническому применению, имплантируются внутрироговично на недоминантном глазу эметропам или пациентам после рефракционных операций, в случае эметропической целевой рефракции, при этом используется система моновидения [87]. Для имплантации ИКЛ может формироваться как роговичный клапан с помощью микрокератома или энергии фемтосекундного лазера, так и роговичный карман [98]. В случае предшествующего у пациента ЛАЗИКа, возможна имплантация линзы, после лифтинга ранее сформированного клапана [225]. Технология с использованием роговичного кармана представляется более перспективной, по сравнению с клапанной, так как при ее использовании не происходит повреждение большинства периферических нервов роговицы, вследствие чего сохраняется ее чувствительность, а синдром сухого глаза проявляется в меньшей степени [161, 241, 252]. ИКЛ при имплантации располагают на ложе роговицы и центрируют относительно оптического центра глаза.

По механизму действия современные ИКЛ для коррекции пресбиопии условно можно разделить на 3 группы. Первая группа – рефракционные линзы, показатель преломления материала, из которого они изготовлены, выше, чем у роговицы, что обеспечивает им собственную оптическую силу. Среди них Icolens (Neoptics AG, Швейцария) и Flexivue Microlens (Presbia, США; Presbia Cooperatief, Нидерланды) [91, 170]. Вторая группа – апертурные, механизм действия данных линз основан на том, что при прохождении света через узкое отверстие в центре линзы, отсекаются периферические лучи света, что приводит к увеличению глубины фокуса. Представителем этой группы является Kamra, в состав которой входят светоотражающие частицы (AcuFocus, США) [212, 218, 234]. Третья группа – «заполняющие пространство», включает ИКЛ, имплантируемые в поверхностные слои роговицы, при этом происходит выпячивание передней поверхности роговой оболочки и уменьшение радиуса ее

кривизны, что придает роговице мультифокальные свойства. Представитель данной группы The Raindrop Near Vision Inlay (Revision Optics, США) [132, 251]. Перечисленные ИКЛ отличаются не только по механизму действия, но и по биометрическим параметрам (Таблица 1).

Таблица 1 – Биометрические параметры ИКЛ для коррекции пресбиопии

	Flexivue Microlens; Presbia	Icolens; Neoptics	Kamra; AcuFocus	Raindrop Inlay; Revision Optics
Глубина имплантации	300 мкм	280-300 мкм	170-220 мкм	120-130 мкм
Материал	гидрофильный акрил	гидрофильный акрил	поливинилиден фторид (PVDF)	гидрогель
Толщина в центре	15 мкм	20 мкм	5 мкм	24-40 мкм
Толщина края	15-20 мкм	15-20 мкм	?	10 мкм
Диаметр	3,0 мм	3,0 мм	3,8 мм	2,0 мм
Центральное отверстие	0,15 мм, зона 1,8 мм planum	0,15 мм, зона 1,8 мм planum	1,6 мм, 8400 микроотверстий	-
Оптическая сила	на периферии от +1,5 до 3,50 дптр	на периферии от +1,25 до 3,00 дптр	-	-
CE Mark / FDA	+ / клинические исследования	+ / -	+ / + (2015 год)	+ / + (2016 год)
Рефракционный индекс	1,4583	1,4583	?	1,376

С 2003 года Kamra используется в клинической практике, на сегодняшний день имплантировано более 20000 данных линз по всему миру [106, 249]. Результаты наиболее длительного 5-ти летнего наблюдения 32 пациентов, опубликованные в рецензируемом источнике, представлены многообещающими (Таблица 2). В зарубежной литературе имеются немногочисленные сообщения о результатах применения ИКЛ других конструкций (Таблица 2). Несомненное преимущество имплантации ИКЛ, как способа хирургической коррекции пресбиопии, заключается в возможной обратимости процедуры, однако

сообщений о долгосрочных послеоперационных результатах (больше 6 месяцев) после экплантации в доступной литературе на сегодняшний день не существует [84].

Таблица 2 – Результаты имплантации различных типов ИКЛ для коррекции пресбиопии

	Kamra (Dexl A.K., 2013)	Flexivue Microlens (Limnopoulos A.N. 2013)	Icolens (Baily C. 2014)	Raindrop (Garza E.B. 2013)
Vis вблизи без коррекции до операции	20/50 (0,4)*	0,68±0,03 (0,2)*	6/18-6/24 (0,2-0,3)*	<0.4 LogMAR (<0,4)*
Vis вблизи без коррекции после операции	74,2% - ≥20/32 (≥0,6)*	0,14±0,09 (0,7)*	100% - ≥ 6/16 (100% - ≥0,4)* 17% - ≥6/5 (17% - ≥1,2) *	> 0.3 LogMAR (>0,5)*
Vis вдаль без коррекции до операции	20/12.5 (1,6)*	0,06 ±0,09 (0,9)*	0.05 LogMAR ± 0.12 (0,9)*	> 0.1 LogMAR (0,8)*
Vis вдаль без коррекции после операции	93,5% - ≥20/20 (≥1,0)*	0,38 ±0,15 (0,4)*	0.22 ± 0.15 LogMAR (0,6)*	<0.2 LogMAR (>0,7)*
Количество пациентов	32	47	52	20
Количество экплантаций	1	-	11	1
Срок наблюдения	60 месяцев	12 месяцев	12 месяцев	12 месяцев

*- острота зрения, выраженная в виде десятичной дроби.

На сегодняшний день для доставки современных ИКЛ на роговичное ложе существуют различные инструменты, индивидуальные для каждой модели линз. Кроме того, ИКЛ может быть изначально загружена в рабочую часть инструмента, так называемая «preloaded» форма, что освобождает хирурга от необходимости манипулировать с крайне небольшим по размеру эластичным изделием [91]. Крайне важным при имплантации является прецизионная центровка изделия по оптической оси глаза, которая определяется относительно первичного рефлекса Пуркинье [176]. Существуют инструменты для определения до- и послеоперационного расположения оптической оси глаза, которые позволяют объективизировать обследование пациентов и визуализировать причину возможной неудовлетворенности после операции [140].

При детальном ознакомлении с иностранной литературой обнаружено, что, несмотря на достаточно перспективные результаты операций по имплантации ИКЛ для коррекции пресбиопии, имеются сообщения о появлении нежелательных зрительных эффектов и возможных осложнениях. Среди них, как типичные для операций, в основе которых лежит моновизуальная коррекция, такие как снижение некорригированной остроты зрения вдаль на оперированном глазу, снижение пространственной контрастной чувствительности, появление субъективных зрительных симптомов, таких как *glare*, *halo*. Так и специфические осложнения, встречающиеся при имплантации ИКЛ, использующихся в настоящее время в клинической практике, такие как децентрация линзы, хейз в оптической зоне, отложение депозитов по ходу интерфейса или на поверхности импланта, инфекционно-воспалительные заболевания роговицы, гиперметропизация в позднем послеоперационном периоде [84, 107, 111, 117, 218, 238].

1.3.2.1.3. Полимерные материалы потенциально пригодные для интракорнеальной имплантации

При разработке интракорнеальной линзы для хирургической коррекции пресбиопии немаловажным является использование материала, обладающего рядом физико-химических свойств, среди них – оптическая прозрачность, стабильные механические свойства (упругость, прозрачность), проницаемость для воды и питательных веществ. Решающее значение в выборе материала имеет его высокая биосовместимость с тканями глаза человека. В целом, все импланты так или иначе взаимодействуют с тканью имплантационного ложа. В зависимости от типа взаимодействия, выделяют материалы: **токсичные** (материал вызывает гибель клеток в зоне имплантации), **инертные** (вокруг материала образуется волокнистая непрлегающая ткань), **биоактивные** (возникает прилегающая межповерхностная связь материала и ткани, инкапсуляция минимальна), **биорезорбируемые** (материал по мере растворения замещается тканью организма хозяина, продукты растворения должны быть нетоксичны). Все перечисленные типы материалов, кроме токсичных, считаются биосовместимыми [76]. Тем не менее, в соответствии с изложенной классификацией и клиническими требованиями, материал интракорнеальной линзы не должен быть ни токсичным, ни биорезорбируемым и не должен инкапсулироваться, иными словами, он должен находиться в строме роговицы сколь угодно долго без провокации помутнения и расплавления последней, а также сохраняя изначально заданную форму и оптические свойства.

Выраженность инкапсуляции напрямую связана с адгезивными свойствами поверхности импланта. Чем выше адгезивная способность клеток стромы роговицы (КСР) к поверхности изделия из исследуемого материала, тем более выражен фибропластический процесс [76]. При этом происходит образование плотной капсулы и, как следствие, снижение прозрачности роговицы. Актуальным представляется поиск биосовместимого материала, инертного по

отношению к ткани стромы роговицы, в присутствии которого КСР обладают сниженной тенденцией к адгезии и пролиферации.

Одним из первых материалов, используемых в офтальмохирургии, является полимерный материал на основе полиметилметакрилата (ПММА). Инертность данного материала по отношению к тканям глаза доказана многолетним опытом его применения в офтальмологической практике как на территории РФ, так и за рубежом [71, 93, 166]. Примечательным является успешное использование данного материала в виде интрастромальных роговичных сегментов [25].

Однако, при имплантации изделий из ПММА в оптическую зону роговицы, возможно развитие асептического некроза роговицы над линзой, формирование грубого рубцевания с последующим выпадением импланта [16, 35]. Перечисленные возможные осложнения при использовании ПММА обусловлены водонепроницаемостью и жесткостью материала.

В роговице человека поток питательных веществ идет по направлению от эндотелия к переднему эпителию. При имплантации ИКЛ малого диаметра из водонепроницаемого материала в глубокие слои стромы роговицы, поток питательных веществ и воды сможет обогнуть ИКЛ, при этом питание не будет нарушено значительно [16]. В связи с чем, использование эластичных биосовместимых полимерных материалов, актуально при разработке ИКЛ для коррекции пресбиопии.

Среди доступных эластичных материалов, имеющих положительный опыт применения в офтальмохирургии (ИОЛ, интрастромальные роговичные сегменты, внутрикапсульные кольца и др.), в данной работе были выбраны 2 различных полимера на основе ГЭМА и ОУМА [43, 44]. Данные материалы представляются потенциально пригодными для создания ИКЛ для коррекции пресбиопии (Табл. 3), что потребовало доклинического исследования их биологической совместимости с тканью стромы роговицы.

Таблица 3 – Параметры полимерных материалов, потенциально пригодных для интракорнеальной имплантации, доступные для дальнейшего изучения

Основа полимерного материала	гидроксиэтилметакрилат	олигоуретанметакрилат
Производитель	ООО «Научно-экспериментальное производство МГ», г. Москва	ООО «Репер-НН», г. Нижний Новгород
Показатель преломления	1.430	1.505
Технология изготовления изделий	механическая обработка в негидратированном состоянии («точение»)	фотоотверждение жидкой светочувствительной композиции («фотополимеризация»)
Взаимодействие с водой	гидрофильный (водосодержание 18%)	гидрофобный
Эластические свойства	эластичный	эластичный

Таким образом, современные исследования возможности имплантации ИКЛ активно продолжаются и направлены на внедрение данных вмешательств в систему хирургической коррекции пресбиопии. На сегодняшний день зарегистрированных на территории Российской Федерации и разрешенных к использованию в клинической практике пресбиопических ИКЛ не существует. Актуальным представляется изучение биосовместимости материалов, потенциально пригодных для создания подобных изделий, с целью выбора наиболее оптимального, для последующей разработки и изготовления отечественной модели линзы, с учетом недостатков, имеющих у зарубежных аналогов. Отдельного внимания заслуживает совершенствование технических приемов по имплантации ИКЛ и снижение частоты возникновения возможных осложнений.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В данной работе для решения поставленных задач была проведена серия экспериментально-морфологических исследований. При этом биосовместимость полимерных материалов изучена на нескольких экспериментальных моделях: культура клеток стромы роговицы (*in vitro*), глаза экспериментальных животных (*in vivo*) и глазные яблоки доноров-трупов (*ex vivo*).

2.1. 2D культивирование клеток стромы роговицы человека в присутствии полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА (*in vitro*)

Исследуемые химические материалы:

Для постановки эксперимента производителями были изготовлены опытные образцы исследуемых полимерных материалов (Таблица 4).

Таблица 4 - Объем опытной серии изделий для проведения работы

Материал	Производитель	Количество образцов
Гидроксиэтилметакрилат (ГЭМА)	ООО «Научно-экспериментальное производство МГ» (Москва)	24
Олигоуретанметакрилат (ОУМА)	ООО «Репер-НН», (Нижний Новгород)	24
Полиметилметакрилат (ПММА)	ООО «Экспериментально-техническое производство» (Москва)	24

Полученные образцы были изготовлены в форме «шайб» высотой 0,5 мм и диаметром 10 мм (рисунок 1). Геометрические параметры их 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.



Рисунок 1 Опытный образец полимерного материала в форме «шайбы»

Культура клеток стромы роговицы

В качестве источника клеточного материала использовали корнеосклеральный диск трупного донорского глаза без роговичного эпителия, не востребованный для целей трансплантации³. Параметры донора: возраст – 48 лет, время от момента смерти – 18 часов, показатели трансплантабельности донорского материала по Борзенку С.А. – 2В [13]. Протокол выделения КСР:

1. Выкраивание центральной зоны роговицы трепаном 16 мм
2. Удаление эндотелия роговицы микрохирургическим пинцетом
3. Механическая дезагрегация роговицы хирургическими ножницами
4. Химическая дезагрегация роговицы в растворе коллагеназы 2-го типа, диспазы, трипсина (ПанЭко, Россия)
5. Центрифугирование в режиме 1800 об/мин при температуре 37°C (Центрифуга SL-40 R, Thermo Scientific, Германия)

³ Предоставлен для экспериментальной работы Глазным тканевым банком МНТК «Микрохирургия глаза», Москва (заведующая к.м.н. Х.Д. Тонаева) с соблюдением всех действующих процедур в рамках законодательства РФ

6. Взвесь клеток переносили в чашку Петри диаметром 35 мм и заливали *питательной средой* на основе DMEM/F12 (ПанЭко, Россия; 89%) с добавлением эмбриональной телячей сыворотки (HyClone, США; 10%), смеси антибиотиков (MP Biomedicals, США; 1%) и L-глутамина (ПанЭко, Россия)

В результате получали первичную 2D культуру КСР. Культивирование проводили в стандартных условиях (температура 37°C, концентрация CO₂ – 5%, влажность – 95%) в инкубаторе NU-5510 (Nu-Aire, США). Питательную среду заменяли раз в три дня. Для получения необходимого для экспериментальной работы количества клеток (около 2-х млн.) культуру пассировали по стандартной схеме [74] в чашках Петри диаметром 100 мм, получая таким образом культуру клеток 3-4-го пассажа.

Для экспериментальных исследований культуру клеток извлекали из культуральной посуды. Для этого в чашке Петри питательную среду заменяли 0,25% раствором трипсина - ЭДТА и раствором Версена (1:1 по объему) и инкубировали в стандартных условиях в течение 5-10 минут; суспензию отделившихся от субстрата клеток переносили в центрифужную пробирку, в которую для нейтрализации ферментативной смеси добавляли 1 мл FBS, и центрифугировали в режиме 1800 об/мин при температуре 37°C в течение 5 мин, надосадочную жидкость удаляли. Осадок разбавляли 1 мл питательной среды с FBS и переносили в пробирку 15 мл (Corning, США). Концентрацию клеток в суспензии оценивали в камере Горяева (МикМед, Россия; рисунок 2), после чего суспензию разбавляли питательной средой с таким расчетом, чтобы получить требуемую концентрацию клеток (20 тыс. клеток в 1 мл питательной среды).

Наблюдение за клеточными культурами и подсчет клеток проводили при помощи инвертированного микроскопа IX-81 (Olympus, Япония).



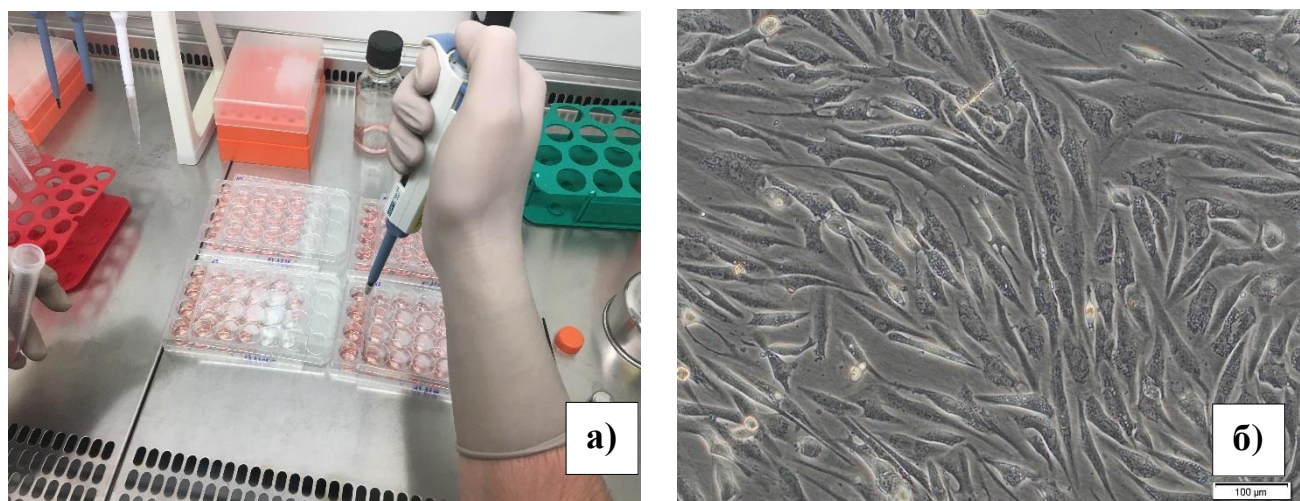
Рисунок 2 Камера Горяева с покровным стеклом. Общий вид

Формирование экспериментальных групп

Были сформированы 4 экспериментальные группы (2 опытные: O_1 , O_2 и 2 контрольные: K_1 , K_2) (Таблица 5). Группа O_1 – включала опытные образцы, изготовленные из полимерного материала на основе ГЭМА. O_2 – опытные образцы, изготовленные из полимерного материала на основе ОУМА. Группа K_1 служила контролем для материалов, в нее включали опытные образцы из полимерного материала на основе ПММА.

В группах O_1 , O_2 и K_1 предоставленные производителями образцы полимерных материалов в форме «шайб» укладывали на дно лунок стандартных культуральных 24-луночных планшетов для культивирования (изготовлены из полистирола) (Costar, США) по одному образцу в лунку, после чего сверху добавляли суспензию КСР человека (рисунок 3 а) в количестве 20 тыс. клеток на 1 мл питательной среды (рисунок 3 б).

В группе K_2 суспензию клеток в таком же количестве вносили в пустую лунку такого же планшета. Данная группа была сформирована с целью контроля роста клеточной культуры.



а) Введение суспензии КСР в лунки культуральных планшетов;
 б) клеточная культура КСР

Рисунок 3 Клеточное культивирование

Всего в эксперимент было введено свыше 1,9 миллионов клеток стромы донорской роговицы (Таблица 5).

Таблица 5 - Распределение клеток стромы роговицы по экспериментальным группам

Группа	O ₁	O ₂	K ₁	K ₂
Количество экспериментальных образцов	24	24	24	-
Исследуемый полимерный материал	Гидроксиэтил-метакрилат (ГЭМА)	Олигоуретан-метакрилат (ОУМА)	Полиметил-метакрилат (ПММА)	Полистирол
Использованное количество клеток стромы роговицы, тыс. клеток (20 тыс. клеток /лунка)	480	480	480	480

Культивирование проводили по описанной ранее схеме в течение 6-ти суток, питательную среду меняли однократно на третий день культивирования. Ежедневно суспензию КСР извлекали по описанной методике из 4-х лунок планшетов каждой из экспериментальных групп (O₁, O₂, K₁ и K₂). Для этого клетки из каждой лунки отделяли ферментативно, центрифугировали, разбавляли

осадок в 1-ом мл питательной среды (по схеме, описанной выше). Образец суспензии объемом 20 мкл использовали для подсчета клеток в камере Горяева.

При подсчете числовых значений количества КСР, которые были получены в экспериментальных группах, учитывались только те клетки, которые на момент исследования были прикреплены к подлежащему субстрату (опытные образцы материалов, дно лунки). КСР, которые располагались свободно в объеме лунки культурального планшета, извлекались вместе с питательной средой перед ферментативной обработкой.

Обработка данных

Для оценки биологической совместимости исследуемых полимерных материалов на основании 2D культивирования КСР, полученные числовые значения количества клеток в группах O_1 , O_2 , K_1 и K_2 суммировались в виде таблицы и подвергались статистической обработке. Те же данные представляли в форме графиков. Качественную оценку биологической совместимости исследуемых материалов определяли по форме кривых клеточного роста на основании известных критериев [76].

При количественной оценке числовые значения клеток в группах сравнивались друг с другом в соответствующие сроки наблюдения.

Динамику изменения количества клеток при культивировании в разных условиях оценивали при помощи программного обеспечения Statistica 7.0 (Statsoft) и Excel (Microsoft Office). В расчетах использовали критерий статистической достоверности Стьюдента (p).

2.2. Экспериментально-морфологическое исследование влияния разработанных ИКЛ на ткани глаза экспериментального животного (in vivo)

Для проведения исследования потребовалось изготовление производителями экспериментальных изделий из полимерных материалов на

основе ГЭМА (ООО «Научно-экспериментальное производство МГ» г. Москва) и на основе ОУМА (ООО «Репер-НН», г. Нижний Новгород). Согласно техническому заданию, полученные изделия должны были обладать следующими параметрами: оптически прозрачные ИКЛ с гладкой поверхностью, с толщиной в центральной зоне 50 мкм и диаметром 2 мм. Указанные значения были определены эмпирически на основании литературных данных о геометрических параметрах существующих аналогов линз. Полученные от производителей экспериментальные изделия были изучены нами на предмет соответствия техническому заданию. После чего, в условиях *in vivo*, изучалась биосовместимость разработанных ИКЛ.

2.2.1. Изучение морфометрических параметров и характера поверхности ИКЛ, изготовленных для постановки эксперимента *in vivo*

2.2.1.1. Акустомикроскопическое исследование⁴

Материалом для проведения исследований, с целью измерения толщины разработанных ИКЛ в центральной зоне, послужили экспериментальных образцы линз из полимерного материала на основе ГЭМА (1 линза) и ОУМА (1 линза).

Исследования проводились с помощью импульсного акустического микроскопа SIAM (рисунок 4) [168, 198, 203]. Использование высокочастотного (200 МГц) фокусированного короткого ~ 15 нс (1.5÷2 осцилляции) зондирующего ультразвукового импульса позволило принимать сигналы, отраженные от передней и задней поверхности объекта, и с точностью ~ 1.5 мкм рассчитывать толщину исследуемых линз. ИКЛ помещались в иммерсионную среду (дистиллированная вода) между акустическим объективом и предметным стеклом, малое фокусное расстояние 2 мм и поверхностное натяжение воды допустили использование минимального количества иммерсионной жидкости –

⁴ Исследования проводились в лаборатории акустической микроскопии Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН при поддержке научного сотрудника Морокова Е. С.

одной капли было достаточно для подведения ультразвукового излучения к изучаемому объекту, соответственно необходимость крепления линзы к предметному стеклу отсутствовала.

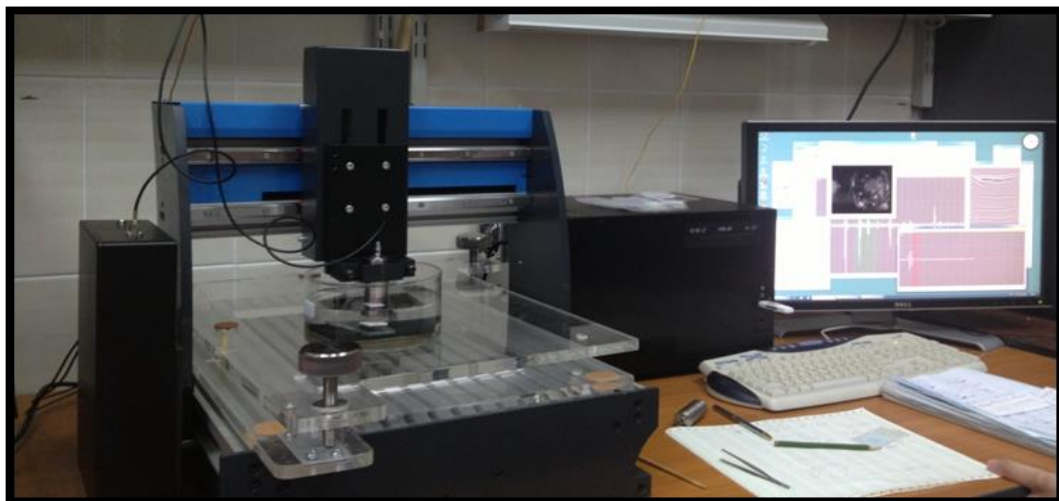


Рисунок 4 Импульсный сканирующий акустический микроскоп SIAM.

Общий вид

При исследовании оптически прозрачного менискообразного объекта на одномерном акустическом изображении (В-скане) отображаются линии (рисунок 5), сформированные при отражении зондирующего пучка от верхней (1) и нижней (2) поверхности линзы и поверхности предметного стекла (3), на осциллограмме (рисунок 5 а), при этом визуализируются эхо-сигналы, отраженные от выше перечисленных поверхностей.

Различие в величинах скоростей распространения звуковых волн при прохождении через иммерсионную жидкость c_0 и объем изучаемого объекта c_L ($c_L > c_0$) формирует на В-скане (рисунок 5 б) ступенчатую линию, отображаемую поверхность предметного стекла (3). Нахождение времени задержки τ_0 между эхо-сигналом, отраженным от передней поверхности изучаемого объекта, и сигналом, отраженным от поверхности предметного стекла при прохождении через иммерсионную жидкость, при известной скорости распространения звуковых волн в воде ($c_0 = 1490$ м/с) дает возможность рассчитать скорость распространения звуковых волн в материале ИКЛ:

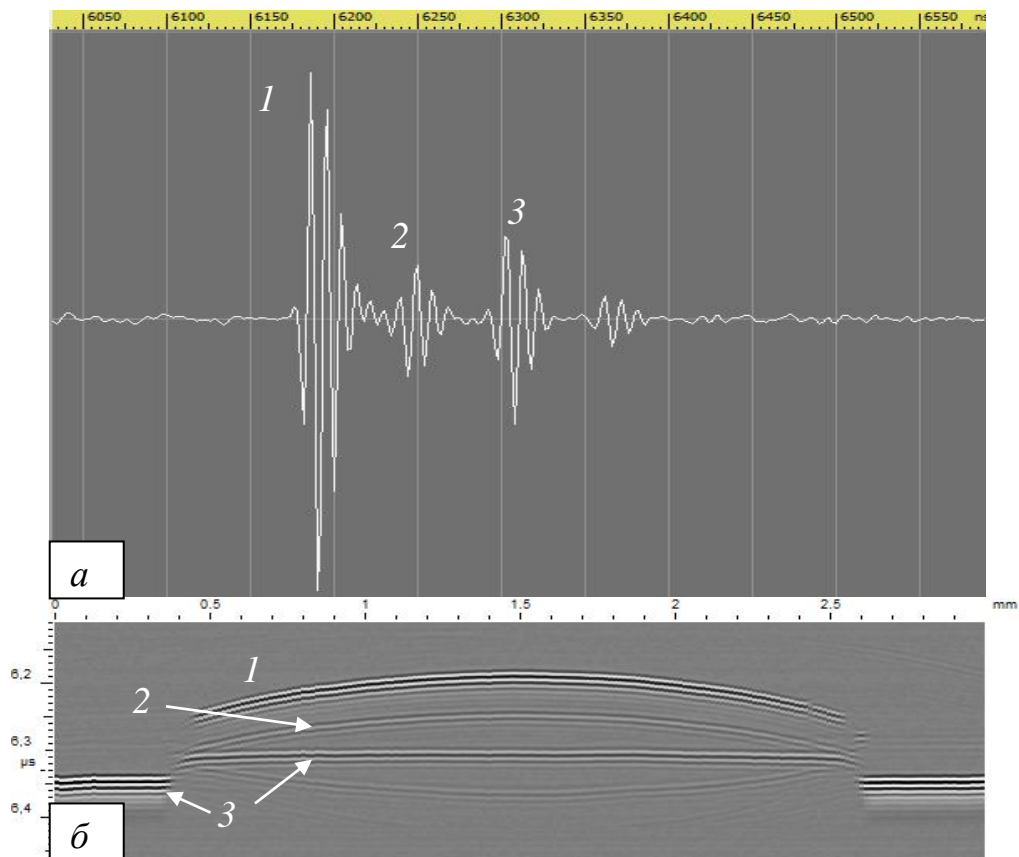
$$c_L = \tau_0 \cdot c_0 / \tau_{\text{периф}}$$

где c_L - скорость распространения звуковых волн в исследуемом материале, τ_0 - время задержки эхо-сигнала, c_0 - скорость распространения звуковых волн в дистиллированной воде, $\tau_{\text{периф}}$ - время задержки между сигналами от верхней (1) и нижней (2) поверхностей в периферической зоне ИКЛ, определенное по осциллограмме.

Для последующего нахождения толщины h ИКЛ в центре применяем следующую формулу:

$$h = c_L \cdot \tau_{\text{центр}} / 2$$

где h - толщина ИКЛ в центральной части, c_L - скорость распространения звуковых волн в исследуемом материале, $\tau_{\text{центр}}$ - время задержки между сигналами от верхней (1) и нижней (2) поверхностей в центральной зоне ИКЛ.



а) осциллограмма в центральной части объекта; б) В-скан образца проходящего через центр линзы. 1- верхняя поверхность линзы, 2 – нижняя поверхность линзы, 3 – поверхность предметного стекла

Рисунок 5 Акустомикроскопическое исследование разработанной ИКЛ

Полученные значения величины толщины ИКЛ в центральной части (h) сравнивали с данными технического задания, на основании которого производителями были изготовлены экспериментальные изделия, после чего принималось решение о пригодности ИКЛ к дальнейшему изучению.

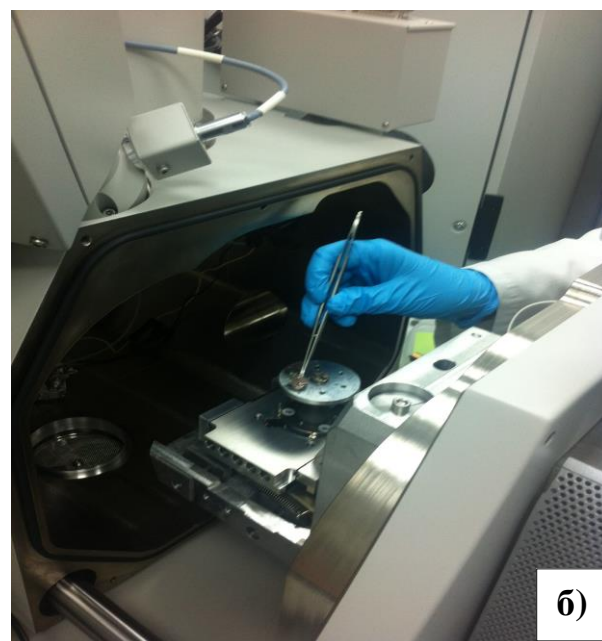
2.2.1.2. Электронно-микроскопическое исследование⁵

Материалом для проведения исследования, с целью изучения характера поверхности разработанных изделий, послужили 2 типа интактных ИКЛ, изготовленных из полимерного материала на основе ГЭМА (1 линза) и на основе ОУМА (1 линза).

Каждая интактная ИКЛ изучалась согласно ***Протоколу сканирующего электронно-микроскопического исследования:***

1. Механическая фиксация исследуемых препаратов к предметному столику с помощью карбонового скотча — по одному столику на каждый объект.
2. Напыление золотом в вакуумной напылительной установке SPI (SPI Supplies, США).
3. Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) с помощью электронно-ионного микроскопа “Quanta 200 3D” (FEI Company, США) при увеличениях 150, 400, 800, 1600 (рисунок 6).
4. Фоторегистрация изображений

⁵ Выполнено на базе Лаборатории анатомии микроорганизмов ГУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи (под руководством д.м.н. проф. Л.В. Диденко и к.м.н. Н.В. Шевлягиной)



а) общий вид; б) установка образцов в вакуумную камеру микроскопа

Рисунок 6 Сканирующий электронный микроскоп «Quanta 200 3D»

2.2.2. Экспериментально-морфологическое исследование *in vivo*

Материалом для проведения экспериментального исследования *in vivo* послужили 3 группы кроликов породы шиншилла, весом 2,5-4 кг, в возрасте 3 – 6 месяцев. В 1 группе экспериментальных животных - 6 кроликов (6 глаз) имплантировались ИКЛ, изготовленные из ГЭМА. Во 2-ой группе экспериментальных животных - 6 кроликов (6 глаз) имплантировались ИКЛ, изготовленные из ОУМА. В 3-ей группе - контрольной использовались парные глаза (12 глаз) экспериментальных животных из групп 1 и 2.

*Экспериментальная хирургия*⁶

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,

⁶ Исследования проводились на базе Калужского филиала ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» МЗ РФ (директор – к.м.н. Терещенко А.В.) при поддержке д.м.н., проф. Белого Ю.А

связанную с высоким риском перфорации роговицы. Операции проводились под общей анестезией с иммобилизацией животных пеленанием.

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 1 и 2 - ИКЛ вводились в сформированный роговичный карман и центрировались. В контрольной группе на парном глазу формировался роговичный карман, сравнимый с выполненным в опытной группе, без последующей имплантации линзы. Поверхность роговицы разглаживалась тупфером, швы не накладывались. В послеоперационном периоде проводили антибактериальное и противовоспалительное лечение в течение 10 дней.

После операции в определенные сроки выполнялось комплексное офтальмологическое обследование. Перед хирургическим вмешательством и на сроках наблюдения 1, 3, 7, 14 суток, 1, 3 и 5 месяцев применяли стандартные офтальмологические методы обследования.

Биомикроскопия переднего отрезка глаза проводилась на щелевой лампе *10-SL* ("Opton", Германия), при этом оценивали состояние переднего отрезка глазного яблока, прозрачность роговицы, наличие импланта и его положение, состоятельность краев сформированного роговичного кармана.

В те же сроки проводили офтальмоскопию в условиях миопии с бесконтактной асферической линзой с оптической силой 78 дптр («Volk Optical», США) для визуализации состояния глазного дна.

Специальные методы обследования включали оптическую когерентную томографию (ОКТ) роговицы и прижизненную конфокальную микроскопию роговицы.

Перед хирургическим вмешательством и на сроках наблюдения 14 суток, 1, 3 и 5 месяцев проводили исследование на оптическом когерентном томографе *RTVue - 100* («Optovue», США) с длиной волны 870 нм. Продольное оптическое разрешение прибора составляет не менее 5 мкм, скорость сканирования – до 26000 А-сканов в секунду, получение линейного скана сетчатки за 0,038 с. При

изучении структурных особенностей роговицы после операции регистрировались следующие параметры: глубина и равномерность залегания ИКЛ, наличие протрузии или экстррузии имплантата, глубина формирования роговичного кармана, толщина роговицы в проекции импланта и вне его.

Прижизненная конфокальная микроскопия роговицы на приборе *ConfoScan 4* («Nidek», Япония) была выполнена на сроках наблюдения 3 и 5 месяцев. Обследование проводили после однократной инстилляцией местного анестетика через иммерсионный гель. В ходе исследования изучались следующие параметры: состояние переднего и заднего эпителия, прозрачность экстрацеллюлярного матрикса в проекции импланта и вне его, клеточная реакция на имплант.

Большая часть экспериментальных животных (8 из 12-ти кроликов) была выведена из эксперимента на сроке наблюдения 3 месяца для проведения световой микроскопии серии гистологических срезов роговицы⁷ (группа 1 - 4 глаза, группа 2 - 4 глаза, группа 3 - 8 глаз). При этом материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, промывали проточной водой, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Выполняли серии гистологических срезов с применением окраски гематоксилин-эозином (Г-Э). Препараты изучались под микроскопом фирмы Leica *DM LB2* с камерой *DFC 320* при x50, x100, x200, x400 кратном увеличении с последующим фотографированием.

У оставшейся части животных (4 из 12-ти кроликов) проводили эксплантацию ИКЛ (в опытных группах) или ревизию ранее сформированного роговичного кармана (в контрольной группе) в условиях операционной под общей анестезией (группа 1 - 2 глаза, группа 2 - 2 глаза, группа 3 – 4 глаза). При этом с помощью шпателя вскрывался ранее сформированный роговичный карман с последующим извлечением линзы пинцетом для завязывания нитей. Поверхность роговицы разглаживалась тупфером, швы не накладывались. В

⁷ Исследования выполнены на базе лаборатории патологической анатомии и гистологии глаза ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» МЗ РФ (заведующая лабораторией – к.м.н. Шацких А.В.) и на базе ОБУЗ «Областное патологоанатомическое бюро» КЗ Курской области (заведующий отделением общей патологии – врач-патологоанатом Криволапов С. В.).

послеоперационном периоде проводили антибактериальное и противовоспалительное лечение в течение 10 дней. Через 2 месяца после эксплантации ИКЛ выполнялось биомикроскопическое исследование, оптическая когерентная томография (ОКТ) роговицы, прижизненная конфокальная микроскопия, с последующим выведением животных из эксперимента путем воздушной эмболии. После чего глаза энуклеировали и проводили световую микроскопию роговицы по технологии, описанной выше (Таблица 6).

Таблица 6 - Распределение методов исследования экспериментальных животных по срокам наблюдения

	1 сут	3 сут	7 сут	14 сут	30 сут	3 мес	5 мес
Биомикроскопия	+	+	+	+	+	+	+
Офтальмоскопия	+	+	+	+	+	+	+
ОКТ				+	+	+	+
Конфокальная микроскопия						+	+
Световая Микроскопия						+	+

2.3. Экспериментально-морфологическое исследование влияния разработанных ИКЛ на роговицу человека (*ex vivo*)

Дизайн экспериментально-морфологического исследования *ex vivo*:

1. Заказ и получение имплантируемых ИКЛ.
2. Отбор глазных яблок доноров-трупов (ГЯДТ).
3. Имплантация ИКЛ в строму роговицы ГЯДТ.
4. Выкраивание и органное культивирование роговично-склерального диска (РСД).
5. Морфологические исследования: флуоресцентная микроскопия (ФМ) и сканирующая электронная микроскопия (СЭМ).
6. Анализ результатов.

Характеристика донорского материала⁸

Для моделирования процесса интракорнеальной имплантации использовали ГЯДТ.

Для выполнения работы ГЯДТ отбирали по следующим критериям:

1. Возраст доноров — до 55 лет.
2. Время от момента смерти до интракорнеальной имплантации — не более 18 часов.
3. Показатели трансплантабельности трупной донорской роговицы по С.А. Борзенку: адреналиновая проба — А и В, морфологический показатель — 1 и 2 [13].

Отбор ГЯДТ по перечисленным критериям был связан с необходимостью получения донорского материала с максимально возможными параметрами жизнеспособности всех слоев роговицы. Таким образом, для работы были отобраны 13 ГЯДТ и распределены по группам исследования произвольным образом (Таблица 7).

Были сформированы четыре экспериментальные группы (Таблица 7):

1. Опытная группа «ГЭМА» — в строме роговицы ГЯДТ формировали внутрироговичный карман (ВРК), внутрь которого имплантировали ИКЛ из материала ГЭМА. После имплантации РСД выкраивали и культивировали в стандартных условиях в течение 3 месяцев. По окончании культивирования проводили морфологические исследования.
2. Опытная группа «ОУМА» — те же этапы, что и в группе «ГЭМА», но имплантировали ИКЛ из материала ОУМА.
3. Группа сравнения «Хронический контроль» (ХК) — те же этапы, что и в первых двух группах, но без имплантации ИКЛ.
4. Группа сравнения «Острый контроль» (ОК) — те же этапы, что и в группе «Хронический контроль», но без культивирования.

⁸ Предоставлен для экспериментальной работы Глазным тканевым банком МНТК «Микрохирургия глаза», Москва (заведующая к.м.н. Х.Д. Тонаева) с соблюдением всех действующих процедур в рамках законодательства РФ

Таблица 7 – Основные этапы работы в экспериментальных группах

Экспериментальные группы	Опытные группы		Группы сравнения	
	“ГЭМА”	“ОУМА”	“Хронический контроль”	“Острый контроль”
Формирование ВРК	+	+	+	+
Имплантация ИКЛ	Гидроксиэтил-метакрилат	Олигоуретан-метакрилат	-	-
Выкраивание РСД	+	+	+	+
Органное культивирование	+	+	+	-
Морфологические исследования	+	+	+	+
Количество ГЯДТ	3	3	4	3

Имплантируемые интракорнеальные линзы

Производителями были изготовлены экспериментальные изделия из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА с параметрами (Таблица 8), рассчитанными в ходе математического моделирования (см. 3.2.).

Таблица 8 – Параметры ИКЛ, изготовленных для проведения экспериментально-морфологического исследования *ex vivo*

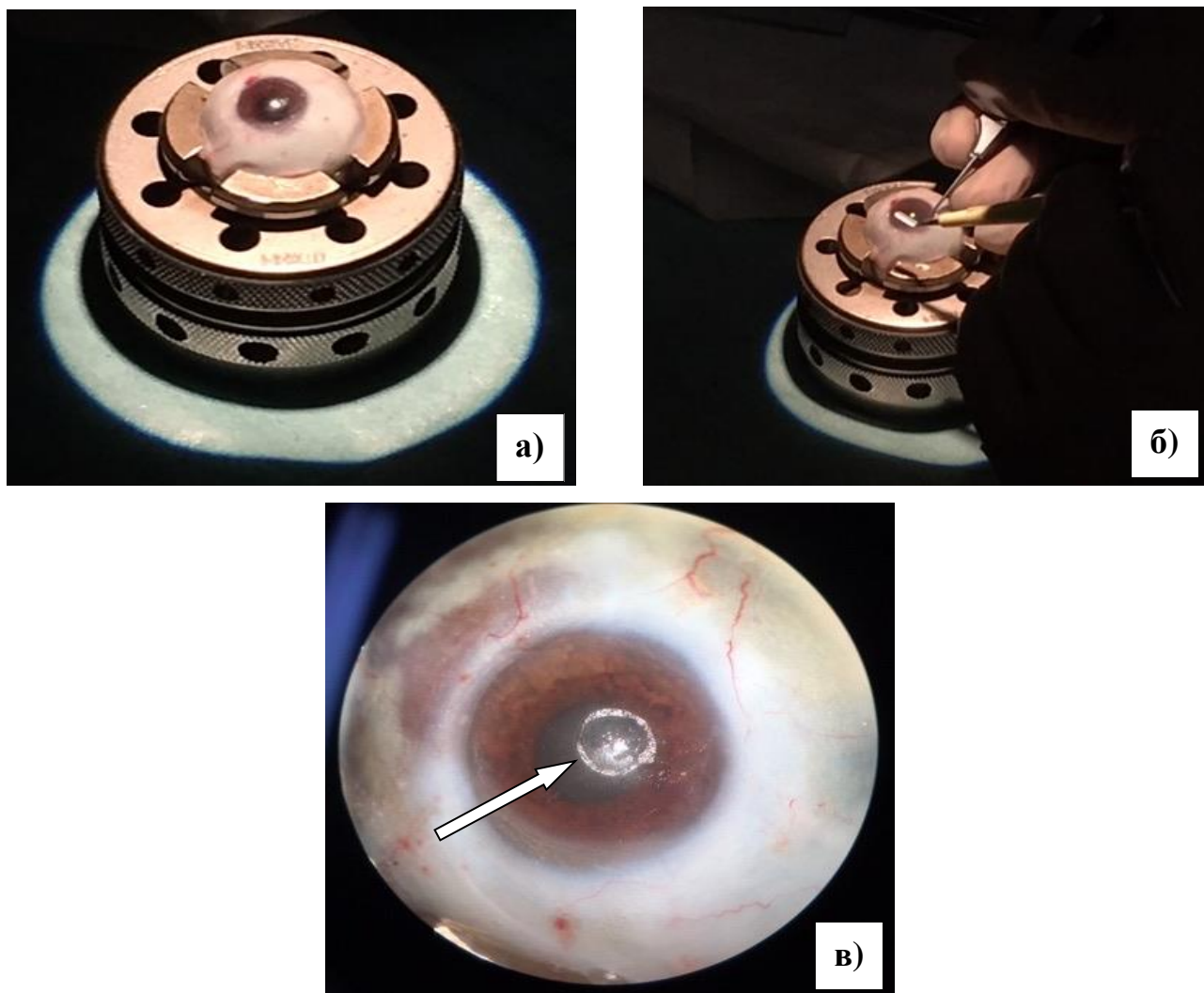
Материал ИКЛ	ГЭМА	ОУМА
Форма	Менискообразная	Менискообразная
Диаметр	2,5 мм	2,5 мм
Оптическая сила	3 дптр	3 дптр
Показатель преломления материала	1,430	1,505
Радиус кривизны задней поверхности	7,8 мм	7,8 мм
Радиус кривизны передней поверхности	5,4 мм	6,6 мм
Количество	3	3

Экспериментальная хирургия

В строме роговицы всех ГЯДТ формировали ВРК для ИКЛ и в опытных группах имплантировали ИКЛ согласно *Протоколу имплантации ИКЛ*:

1. Промывание ГЯДТ раствором Повидон-йода (EGIS Pharmaceuticals, Венгрия); механическая фиксация в зажиме-держателе (рисунок 7); доведение уровня внутриглазного тургора действием резьбового кольца зажима до уровня, эквивалентного клинической нормотензии (пальпаторно).
2. Удаление переднего эпителия роговицы скарификатором для достижения ее оптической прозрачности (рисунок 7 а).
3. Выполнение насечки на роговице длиной 2,5 мм параллельно лимбу, отступя 1 мм от него, на глубину 300 мкм кератотомическим ножом с микроподачей.
4. Механическое расслаивание слоев стромы роговицы с формированием слепого ВРК шириной 2,5 мм, достигающего до оптической зоны, прямым ножом-расслаивателем (рисунок 7 б). ВРК представляет собой щелевидное пространство (интерфейс), ограниченное передней и задней стенками, и имеет вход (основание) в 1 мм от лимба и слепой конец в оптической зоне роговицы. Передняя стенка («крышка») включает в себя боуменову мембрану и переднюю часть стромы роговицы. Задняя стенка («ложе») — заднюю часть стромы, десцеметову мембрану, задний эпителий.
5. Имплантация ИКЛ в оптическую зону роговицы путем введения её прямым пинцетом для завязывания нитей по сформированному ВРК вплоть до его слепого конца (рисунок 7 в).
6. Операцию завершали без наложения швов.

В группах сравнения этап 5 опускали.



а) Этап деэпителизации роговицы; б) Этап формирования ВРК; с) ИКЛ (показана стрелкой) имплантирована в строму донорской роговицы

Рисунок 7 Имплантация ИКЛ в строму донорской роговицы

Органное культивирование

Сразу после хирургического этапа РСД выкраивали и культивировали *in vitro* согласно **Протоколу органного культивирования РСД**:

1. Концентрическое выкраивание РСД из ГЯДТ роговичным трепаном диаметром 16 мм.
2. Перенос РСД в культуральный флакон с площадью дна 25 см² (Corning, США) в положении боуменовой мембраной вниз.
3. Добавление во флакон 25 мл питательной среды состава:

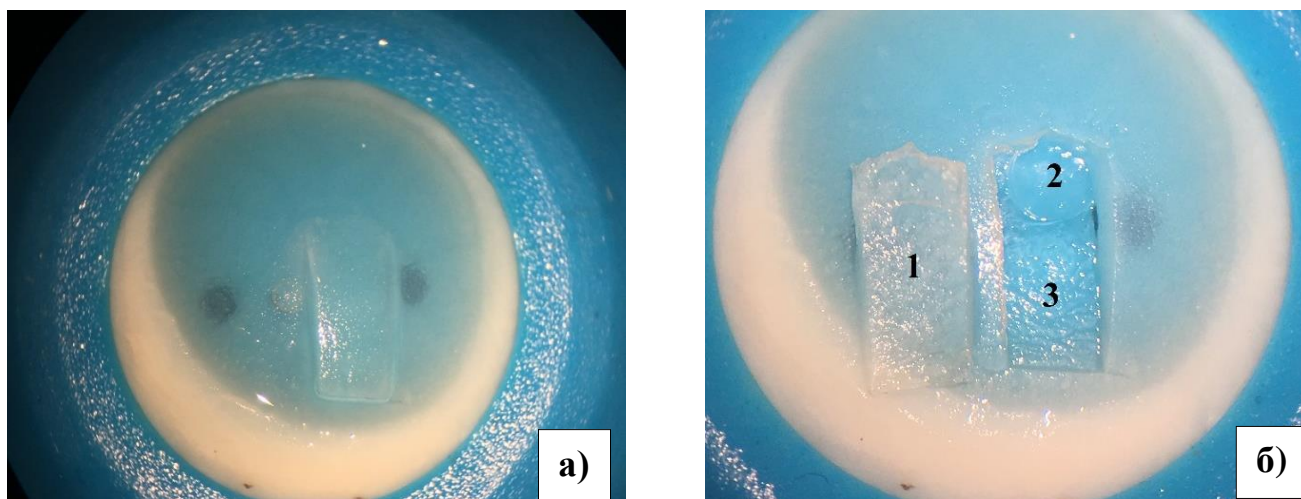
- A. Среда Игла в модификации Дульбекко в смеси со средой Хэма F12 1:1 (DMEM/F12 (ПанЭко, Россия).
 - B. Эмбриональная телячья сыворотка 5% (HyClone, США).
 - C. Смесь антибиотиков 1% (MP Biomedicals, США).
 - D. L-глутамин 2 ммоль/л (ПанЭко, Россия).
4. Инкубация в стандартных условиях (37°C; 5% концентрация CO₂; 95% влажность; инкубатор NU-5510 (NuAire, США) в течение 3 месяцев.
 5. Замена питательной среды каждые 3 дня.
 6. Химическая фиксация в 10% водном растворе формальдегида по окончании срока культивирования.

В группе “Острый контроль” этапы 2-5 опускали.

Морфологические исследования

Для доступа к зоне интереса все РСД подготавливали к микроскопическим исследованиям согласно **Протоколу вскрытия ВРК**:

1. Извлечение РСД из фиксирующего раствора; трехкратное промывание фосфатным буфером.
2. Механическая фиксация РСД в искусственной передней камере. Симуляция внутриглазного тургора на уровне нормотензии (пальпаторно).
3. Нанесение двух разрезов роговицы по краю сформированного ВРК для вскрытия его полости (рисунок 8 а).
4. Отгибание и отсечение «крышки» с обнажением «ложа» ВРК (рисунок 8 б).
5. Освобождение РСД из искусственной передней камеры.



а) Выполнены сквозные разрезы «крышки» ВРК; б) «крышка» ВРК (1) отсечена, визуализируется ИКЛ (2), располагающаяся на «ложе» (3)

Рисунок 8 РСД фиксирован в искусственной передней камере. Вскрытие ВРК

После вскрытия ВРК во всех исследуемых группах изучалась «крышка» и «ложе» роговицы согласно **Протоколу флуоресцентно-микроскопического исследования:**

1. Выдерживание исследуемых фрагментов в растворе флуоресцентного красителя Hoechst 33258 (0,002 мг/мл) в темноте при комнатной температуре в течение 20 минут; трехкратное промывание раствором фосфатно-солевого буфера.
2. Оптическая микроскопия инвертированным световым микроскопом IX-81 (Olympus, Япония) во флуоресцентном режиме: длина волны при возбуждении/эмиссии — 343/483 нм.
3. Фоторегистрация цифровой фотокамерой ХС-10, интегрированной с инвертированным микроскопом (Olympus, Япония).

Далее каждая «крышка», «ложе» ВРК и поверхность имплантированной ИКЛ исследовались согласно **Протоколу сканирующего электронно-микроскопического исследования** (см. 2.2.1.2.). При проведении СЭМ поверхностей ВРК и ИКЛ была проблематична морфологическая

дифференцировка визуализируемых структур, в связи с чем, микроскопия проводилась с учетом результатов, полученных при проведении ФМ.

Обработка данных

По окончании исследования оценивали наличие на изучаемых поверхностях клеток, волокнистых соединительнотканых элементов, степень деформации ИКЛ. Качественно сравнивали изображения в опытных и контрольных группах, а также полученных различными методами — ФМ и СЭМ.

Если клетки при ФМ-исследовании занимали более 50% исследуемой поверхности, то клеточную реакцию считали “условно выраженной”. Если менее 50% — то “условно невыраженной”. Оценку площади покрытия поверхности проводили при помощи программного обеспечения CellSens (Olympus, Япония).

Для сравнения клеточной реакции в ответ на имплантацию различных ИКЛ (опытные группы), и в ответ на хирургическую травму (контрольные группы) формулировали три нулевые гипотезы:

1. Выраженность клеточной реакции на внутренних поверхностях ВРК не зависит от процесса органного культивирования.
2. Выраженность клеточной реакции на внутренних поверхностях ВРК не зависит от присутствия в них ИКЛ.
3. Выраженность клеточной реакции на поверхностях ИКЛ не зависит от их материала.

Для проверки нулевых гипотез использовали точный критерий Фишера. Пороговый уровень статистической значимости различий p принимали равным 0,05. Для вычислений использовали программное обеспечение Statistica 7.0 (Statsoft).

ГЛАВА 3. МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ

Цель данной главы - выполнить математическое моделирование геометрических параметров разрабатываемых ИКЛ из полимерных материалов на основе олигоуретанметакрилата и гидроксиэтилметакрилата с учетом особенностей строения роговицы человека и математическое моделирование происходящих в роговице изменений в ответ на имплантацию ИКЛ.

Для достижения указанной цели необходимо было смоделировать изменения, происходящие в роговице человека при имплантации ИКЛ в оптическую зону с рефракционной целью, с последующим учетом параметров полимерных материалов, выбранных для изучения в данной работе.

3.1 Математическое моделирование происходящих в роговице изменений при имплантации ИКЛ

Рефракционный эффект имплантации ИКЛ для коррекции пресбиопии, равный в среднем 3,0 дптр, состоит из оптической силы линзы в среде роговицы и изменения кривизны передней поверхности роговицы (уменьшения радиуса) за счет линзы, расположенной внутри стромы – описанный Барракером X. - эффект “плюс ткань”, который используется при кератомилезе в коррекции аномалий рефракции [94].

На рисунке 9 представлен профиль поверхностей роговицы и ИКЛ: ($C_1 C_2 C_3 C_4 C_5$) – профиль поверхности роговичного кармана, прилегающей к передней поверхности ($L_1 L_2 L_3 L_4 L_5$) ИКЛ, ($L_1 L_6 L_5$) – профиль задней поверхности линзы.

При плотном прилегании профиля ($C_1 C_2 C_3 C_4 C_5$) и ($L_1 L_2 L_3 L_4 L_5$), когда соответствующие точки роговицы C и линзы L совпадают, передняя поверхность роговицы должна быть конгруэнтна передней поверхности линзы, и рефракция передней поверхности роговицы будет задаваться радиусом кривизны передней поверхности линзы (рисунок 9).

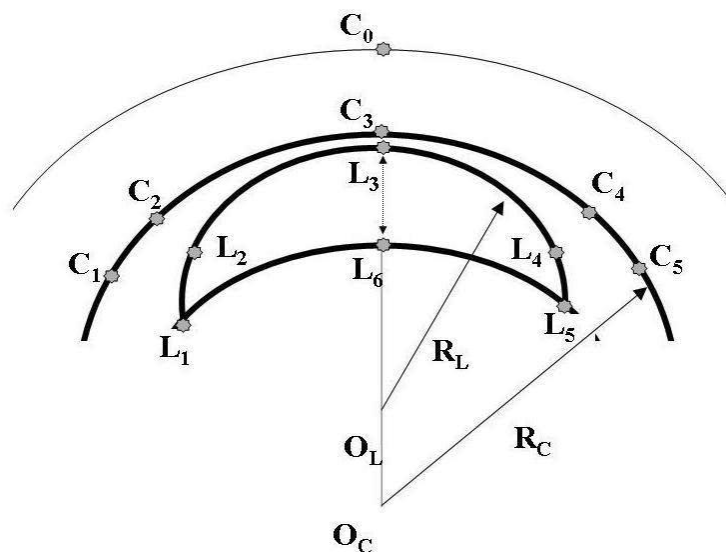


Рисунок 9 Профиль поверхностей роговицы и интракорнеальной линзы

Такой характер геометрического прилегания поверхностей предполагается в рефракционной эксимерлазерной хирургии, когда роговичный клапан толщиной 90-150 мкм возвращается на место после абляции стромы и создании нового профиля с диаметром 8,0-9,5 мм при гиперметропической программе, с более выраженным удалением стромы на периферии ложа. Успешное применение гиперметропических программ абляции свидетельствует о достаточно плотном прилегании вышеуказанных профилей.

Однако изменения, происходящие в роговице при формировании роговичного клапана и имплантации линзы, могут отличаться от изменений, происходящих при формировании роговичного кармана. Кроме того, немаловажную роль играет глубина введения ИКЛ. В связи с вышесказанным, необходимо смоделировать происходящие в роговице изменения при имплантации ИКЛ в каждом из возможных случаев.

3.1.1. Математическое моделирование происходящих в роговице изменений при имплантации ИКЛ в глубокие слои стромы в роговичный карман

При имплантации ИКЛ для коррекции пресбиопии диаметр профилей (рисунок 9) приблизительно в 3-4 раза меньше, а толщина верхней зоны роговицы, к которой прилежит внешняя поверхность линзы, в ряде случаев существенно больше и составляет 280-300 мкм. Поэтому плотного прилегания профилей быть не может. Плотному прилеганию дополнительно будет препятствовать также большая жесткость краев роговичного кармана (жесткое закрепление края оболочки по терминологии теории сопротивления материалов), по сравнению с практически полностью свободным краем клапана при операции ЛАЗИК (свободно опирающаяся оболочка по терминологии теории сопротивления материалов).

Согласно проведенному моделированию при имплантации ИКЛ в роговичный карман на глубину 280 мкм и более форма передней поверхности роговицы практически не изменяется [98].

3.1.2. Математическое моделирование происходящих в роговице изменений при имплантации ИКЛ в поверхностные слои стромы в роговичный карман

При имплантации ИКЛ в поверхностные слои стромы в роговичный карман над ИКЛ находится практически интактный слой стромы толщины 120-150 мкм. Ткань этого слоя ослаблена тоннелем, занимающим по протяженности не более 30% границы слоя стромы над ИКЛ.

В учебнике Феодосьева В.И. по сопротивлению материалов рассмотрена задача деформации упругой пластины с жестко закрепленным краем [73]. Это условие близко к условию рассматриваемой задачи поведения поверхностного

слоя стромы при имплантации ИКЛ в роговичный карман. Получено, что прогиб

w определяется формулой $w = \frac{pR^4}{64D}$,

где $D = \frac{Eh^3}{12(1-\nu^2)}$ - жесткость поверхностного слоя стромы,

R – радиус пластины,

p – давление на пластину,

h – толщина жесткость поверхностного слоя стромы,

E – модуль Юнга стромы роговицы, $E=6,2$ МПа,

ν – коэффициент Пуассона стромы роговицы, $\nu=0,47$ [26, 27]

Верхний слой стромы при имплантации ИКЛ в роговичный карман практически не деформируется вследствие малой толщины линзы. Плотному облеганию передней поверхности ИКЛ поверхностным слоем стромы препятствует сопротивление интактных окружающих слоев. В таких условиях имплантации ИКЛ оптический эффект операции определяется оптической силой ИКЛ.

3.1.3. Математическое моделирование происходящих в роговице изменений при имплантации ИКЛ в поверхностные слои стромы под клапан роговицы

При имплантации ИКЛ в поверхностные слои стромы под клапан роговицы над ИКЛ находится практически не связанный со стромой роговицы клапан той же толщины 120-150 мкм, что и в предыдущем случае имплантации в роговичный карман. Отличие состоит в том, что отсутствует сопротивление стромы плотному облеганию передней поверхности ИКЛ.

В вышеупомянутой монографии Феодосьева В.И. по сопротивлению материалов рассмотрена задача деформации упругой пластины со свободным,

незакрепленным краем [73]. Это условие близко к условию рассматриваемой задачи поведения поверхностного слоя стромы при имплантации ИКЛ под роговичный клапан. Получено, что прогиб w определяется

$$\text{формулой } w = \frac{pR^4}{64D} \frac{5 + \nu}{1 + \nu}.$$

Сравнивая эту формулу с формулой, приведенной в п. 3.1.2 получаем, что при прочих равных условиях прогиб в случае имплантации ИКЛ под клапан в $\frac{5 + \nu}{1 + \nu} = 3,7$ раз больше, чем в случае имплантации ИКЛ в роговичный карман.

Следовательно, при имплантации ИКЛ под роговичный клапан сопротивление плотному облеганию передней поверхности ИКЛ почти в 4 раза меньше. Поэтому оптический эффект определяется не только оптической силой ИКЛ, но и изменением формы передней поверхности роговицы, обусловленной плотному облеганию и, соответственно, полученному радиусу кривизны передней поверхности роговичного клапана.

Сравнивая два способа имплантации ИКЛ в поверхностные слои стромы можно утверждать, что в первом случае оптический эффект более дозирован, а именно, он равен оптической силе ИКЛ. В случае имплантации под роговичный клапан появляется дополнительная составляющая оптического эффекта, направленная в сторону увеличения, но имеющая недозированный характер. Недозированный характер этой составляющей связан с зависимостью величины уменьшения радиуса кривизны передней поверхности роговицы после имплантации ИКЛ под клапан, которая зависит от степени плотности облегания передней поверхности ИКЛ, величины смещения ИКЛ вниз к задней поверхности роговицы и других непрогнозируемых факторов.

Таким образом, согласно проведенному моделированию при имплантации ИКЛ в роговичный карман в поверхностные слои стромы (120-150 мкм) и на глубину 280 мкм и более форма передней поверхности роговицы практически не изменяется, а оптический эффект определяется рефракционной силой линзы. При формировании роговичного клапана в поверхностных слоях стромы оптический

эффект определяется не только силой ИКЛ, но и изменением формы передней поверхности роговицы, обусловленной плотным облеплением импланта клапаном и, соответственно, полученным радиусом кривизны передней поверхности роговичного клапана, что является менее прогнозируемым. Имплантация ИКЛ в глубокие слои стромы под роговичный клапан представляется небезопасной в связи с избыточным ослаблением каркаса роговицы.

3.2. Математическое моделирование геометрических параметров ИКЛ из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА с учетом особенностей строения роговицы человека

Ближайшим аналогом является способ определения радиуса кривизны ИКЛ для коррекции пресбиопии по патенту US № 20070255401. Способ включает вычисление кривизны передней поверхности ИКЛ на основании показателей преломления стромы роговицы и материала линзы, фиксированной кривизны задней поверхности линзы. Рефракционный эффект в прототипе складывается из оптической силы самой линзы и увеличения кривизны передней поверхности роговицы вследствие размещения ИКЛ в поверхностных слоях стромы роговицы. При глубокой имплантации этой линзы в строму роговицы эффект изменения кривизны передней поверхности роговицы практически отсутствует и оптический результат имплантации соответствует только оптической силе импланта в строме роговицы.

Методика расчета:

Для создания математической модели разрабатываемых изделий использовались известные величины, такие как показатель преломления стромы роговицы ($N_{\text{рогов}}$), в среднем равный 1,376; показатель преломления материала оптической линзы ($N_{\text{матер}}$) в воздухе, для материала на основе гидроксиэтилметакрилата равный 1,430, для материала на основе

олигоуретанметакрилата равный 1,505; радиус кривизны задней поверхности $R_{\text{задн}}$ 7,796 мм, значение данного показателя зависит от формы ИКЛ; диаметр разрабатываемого изделия 2,5 мм (определялся эмпирически на основе усредненного значения данного параметра у имеющихся аналогов); необходимый дополнительный компонент рефракции $D_{\text{пресб}}$, равный 3-м диоптриям, глубина имплантации оптической линзы H мкм, которую выбирали, исходя из исходных параметров роговицы и в зависимости от возможной предшествующей рефракционной операции (ЛАЗИК).

Из оптики известно, что положительная оптическая линза может быть двояковыпуклая, плоско-выпуклая, выпукло-вогнутая (в виде мениска). Для заданной оптической силы в среде роговицы (в случае пресбиопии от +1,0 до +5,0 Д) и любой из этих форм для конкретного материала существует определенное сочетание радиусов кривизны передней и задней поверхностей ИКЛ. При этом наименьшую толщину имеет двояковыпуклая линза, так как обе ее поверхности имеют положительную оптическую силу. Для плоско-выпуклой линзы плоская часть не имеет оптической силы и, соответственно, для достижения того же значения оптической силы радиус кривизны выпуклой поверхности должен быть примерно в 2 раза меньше, чем у двояковыпуклой линзы.

В случае имплантации линзы в строму роговицы, которая сама по себе имеет ламеллярную структуру в виде формы мениска (выпукло-вогнутую), более физиологичным представляется конгруэнтность задней поверхности ИКЛ ламеллярным пластинам (с радиусом примерно 7,2 мм). Однако, при такой форме импланта, радиус кривизны задней поверхности в 8-9 раз меньше, чем у линзы плоско-выпуклой формы. При этом точность изготовления ИКЛ с заданными параметрами имеет особое значение. В то же время технология изготовления импланта с плоской задней поверхностью менее трудоемка, а радиус кривизны передней поверхности ИКЛ в данном случае находится в пределах 17-45 мм, что соответствует диапазонам промышленно изготавливаемых ИОЛ (как методом фотополимеризации, так и методом точения), и вопросы получения заданной точности в этой области промышленности решены.

Целесообразным представляется использование варьирующего значения радиуса кривизны задней поверхности ИКЛ (от плоского до 7,8 мм), в зависимости от возможностей производителей, и для заданного значения оптической силы коррекции пресбиопии определять передний радиус R, как представлено в формуле изобретения.

Условие получения рефракционного эффекта имплантации ИКЛ приводим к вершине передней поверхности роговицы (точка C₀ на рисунке 9).

Было предположено линейный характер уменьшения влияния плотности прилегания роговицы к поверхности ИКЛ от гипотетического случая H=0, когда радиус передней поверхности роговицы должен быть равен радиусу передней поверхности импланта, до глубины имплантации более 280 мкм (длина отрезка C₀-C₃ равна 280 мкм), когда радиус кривизны передней поверхности роговицы не изменяется.

Радиус кривизны передней R поверхности интракорнеальной линзы в мм определяли по разработанной формуле, согласно патенту № 2015103022 от 04.05.2016:

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

Где R – радиус кривизны передней поверхности интракорнеальной линзы (мм), N_{рогов} - показатель преломления стромы роговицы, N_{матер} - показатель преломления материала ИКЛ, R_{задн} - радиус кривизны задней поверхности роговицы (мм), H - глубина имплантации ИКЛ (мкм), D_{пресб} - необходимый пресбиопический компонент (дптр).

Таким образом, на основании математического моделирования были определены геометрические параметры ИКЛ из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА с учетом особенностей строения роговицы человека.

3.3. Примеры расчета параметров ИКЛ для коррекции пресбиопии.

Разработанную математическую модель взаимодействия ткани роговицы и ИКЛ из полимерных материалов на основе ГЭМА или ОУМА можно использовать для расчета геометрических параметров линз (см. 3.2.), при этом возможен индивидуализированный подход к хирургическому вмешательству.

Пример 1. Расчет параметров ИКЛ из гидроксиэтилметакрилата с показателем преломления 1,43, радиусом задней поверхности 7,796, диаметром 2,5 мм, технологической толщиной (закруглением) края 5 мкм и глубиной имплантации 300 мкм.

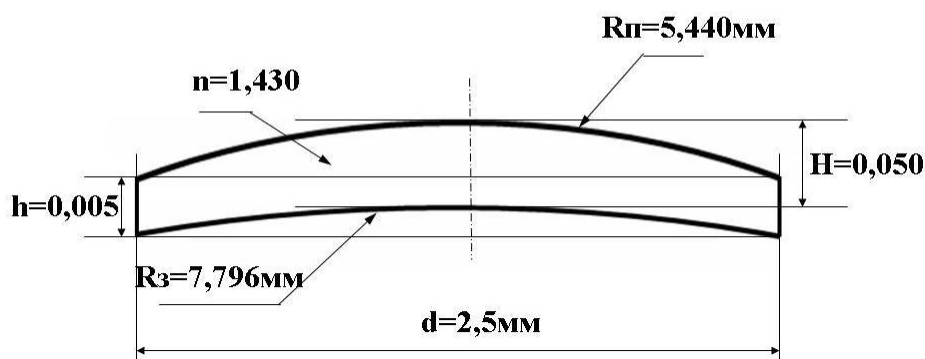
Подставляя приведенные значения параметров в разработанную формулу, можно рассчитать радиус кривизны передней поверхности ИКЛ:

$$R = \frac{(1,43 - 1,376)}{\frac{1,43 - 1,376}{7,796} + \frac{0,001 \times 3(0,001253 \times 300 - 1,376 + 1,43)}{1,43 - 1}}$$

$$R \approx 5,440 \text{ мкм}$$

Гидроксиэтилметакрилат

Глубина имплантации Inlay 0,300мм. Увеличение оптической силы в центре 3,0 Д



Пример 2. Расчет параметров ИКЛ из олигоуретанметакрилата с показателем преломления 1,505, радиусом задней поверхности 7,796, диаметром 2,5 мм, технологической толщиной (закруглением) края 5 мкм и глубиной имплантации 300 мкм.

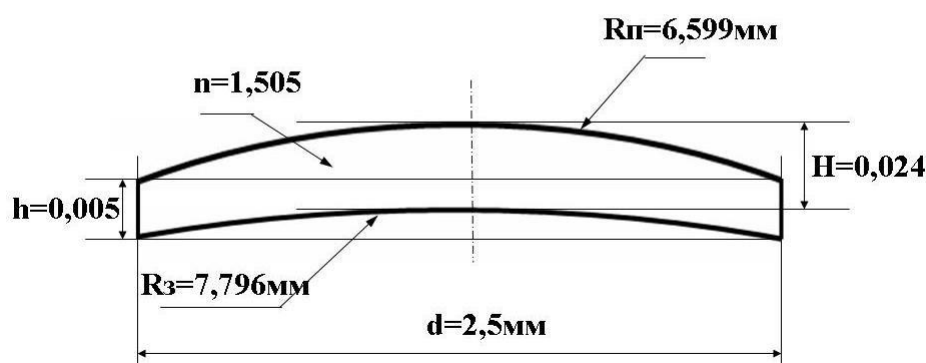
Подставляя приведенные значения параметров в разработанную формулу, можно рассчитать радиус кривизны передней поверхности ИКЛ:

$$R = \frac{(1,505 - 1,376)}{\frac{1,505 - 1,376}{7,796} + \frac{0,001 \times 3(0,001253 \times 300 - 1,376 + 1,505)}{1,505 - 1}}$$

$$R \approx 6,599 \text{ мкм}$$

Олигоуретанметакрилат

Глубина имплантации Inlay 0,300мм. Увеличение оптической силы в центре 3,0 Д



Пример 3. Расчет параметров ИКЛ из олигоуретанметакрилата с показателем преломления 1,505, плоской задней поверхностью, диаметром 2,5 мм, технологической толщиной (закруглением) края 5 мкм и глубиной имплантации 150 мкм.

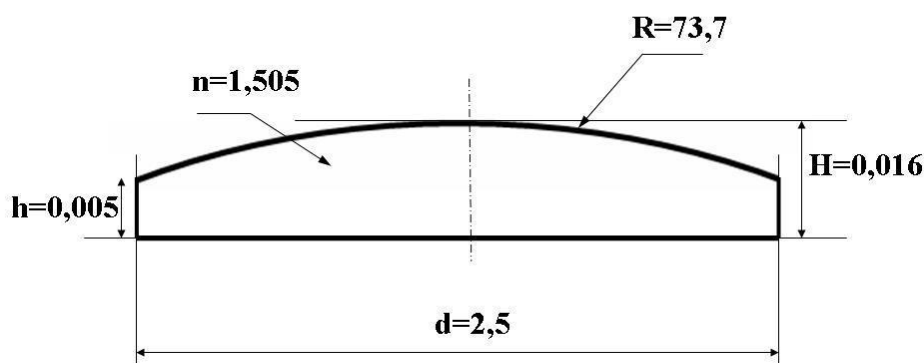
Подставляя приведенные значения параметров в разработанную формулу, можно рассчитать радиус кривизны передней поверхности ИКЛ:

$$R = \frac{(1,505 - 1,376)}{\frac{1,505 - 1,376}{+\infty} + \frac{0,001 \times 3(0,001253 \times 150 - 1,376 + 1,505)}{1,505 - 1}}$$

$$R \approx 73,7 \text{ мкм}$$

Олигоуретанметакрилат

Глубина имплантации Inlay 0,150. Увеличение оптической силы в центре 3,0 Д с учетом деформации передней поверхности роговицы



Пример 4. Расчет параметров ИКЛ из гидроксиэтилметакрилата с показателем преломления 1,430, плоской задней поверхностью, диаметром 2,5 мм, технологической толщиной (закруглением) края 5 мкм и глубиной имплантации 150 мкм.

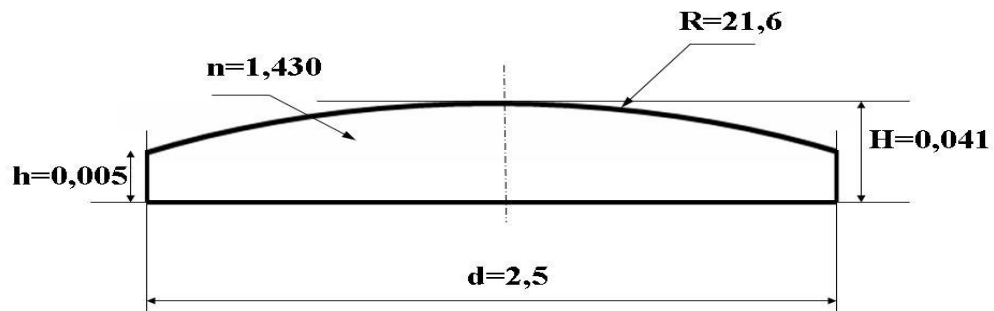
Подставляя приведенные значения параметров в разработанную формулу, можно рассчитать радиус кривизны передней поверхности ИКЛ:

$$R = \frac{(1,43 - 1,376)}{\frac{1,43 - 1,376}{+\infty} + \frac{0,001 \times 3(0,001253 \times 150 - 1,376 + 1,43)}{1,43 - 1}}$$

$$R \approx 21,6 \text{ мкм}$$

Гидроксиэтилметакрилат

Глубина имплантации Inlay 0,150. Увеличение оптической силы в центре 3,0 Д с учетом деформации передней поверхности роговицы



Таким образом, на основании проведенного математического моделирования можно заключить, что при имплантации ИКЛ в роговичный карман в поверхностные слои стромы (120-150 мкм) и на глубину 280 мкм и более форма передней поверхности роговицы практически не изменяется, а оптический эффект определяется рефракционной силой линзы. При формировании роговичного клапана в поверхностных слоях стромы оптический эффект определяется не только силой ИКЛ, но и изменением формы передней поверхности роговицы, обусловленной плотным облеплением и, соответственно, полученным радиусом кривизны передней поверхности роговичного клапана, что является менее прогнозируемым. Имплантация ИКЛ в глубокие слои стромы под роговичный клапан представляется небезопасной в связи с избыточным ослаблением каркаса роговицы.

На основании моделирования была разработана формула для расчета радиуса кривизны передней поверхности ИКЛ, что сделало возможным индивидуализированный подход к хирургическому вмешательству. Кроме того, были определены геометрические параметры оригинальных ИКЛ из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА с учетом особенностей строения роговицы человека, что предопределило необходимость доклинического изучения разработанных ИКЛ и решение последующих задач диссертационной работы.

ГЛАВА 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ ПРИМЕНЕНИЯ ИКЛ ИЗ ГЭМА И ОУМА И РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ИМПЛАНТАЦИИ

В данной работе для решения поставленных задач была проведена серия экспериментально-морфологических исследований и была разработана технология имплантации ИКЛ. При этом биосовместимость полимерных материалов изучена на нескольких экспериментальных моделях: культура клеток стромы роговицы (*in vitro*), глаза экспериментальных животных (*in vivo*) и глазные яблоки доноров-трупов (*ex vivo*).

4.1. Результаты 2D культивирования клеток стромы роговицы человека в присутствии полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА

Целью данной части работы явилось изучение клеточной реакции на различные материалы, потенциально пригодные для изготовления ИКЛ (ГЭМА, ОУМА), на основании двухмерного клеточного культивирования *in vitro*.

Для достижения поставленной цели исследования были сформулированы и решены следующие задачи: качественно оценить биологическую совместимость полимерных материалов на основе ОУМА и ГЭМА в культуре клеток стромы роговицы человека (КСР) и количественно сравнить между собой биологическую совместимость полимерных материалов из ОУМА и ГЭМА в культуре КСР человека.

Количество КСР в экспериментальных группах в различные сроки наблюдения представлены в Таблице 9. Эти же данные представлены в графическом виде на рис. 10.

Таблица 9 – 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

Графики, отражающие динамику изменения количества клеток в различные сроки культивирования, во всех экспериментальных группах имели S-образную форму. Начиная со 2-х суток, наблюдался экспоненциальный рост количества клеток. На 5-е - 6-е сутки клеточное деление замедлялось, и графики в экспериментальных группах выходили на фазу плато.

Различия в полученных числовых значениях в исследуемых группах в соответствующие сроки наблюдения подвергли статистической обработке (Таблица 10).

Количество клеток на 6-е сутки было достоверно меньше в опытных группах по сравнению с группой K1, в группе O₁ (ГЭМА) в 2,04 раза ($p < 0,001$), в группе O₂ (ОУМА) в 1,43 раза ($p < 0,001$). При сравнении полученных результатов в опытных группах на 6 сутки – в группе O₁ было достоверно меньшее количество КСР ($p < 0,001$), чем в группе O₂.

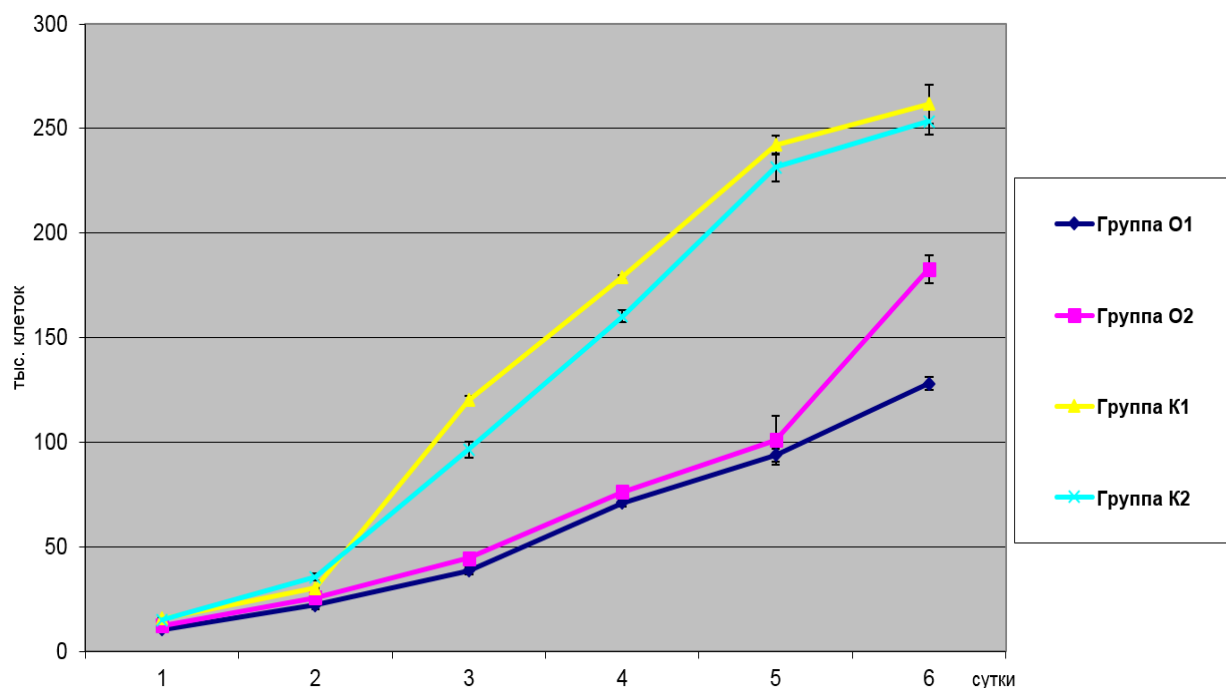


Рисунок 10 Динамика изменения количества клеток стромы роговицы в присутствии полимерных материалов (группы O₁, O₂ и K₁) и в их отсутствии (K₂)

Таблица 10 – 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

Количество КСР в опытных группах (O₁ и O₂) на протяжении всего эксперимента было достоверно меньшим (*p* < 0,05), чем в контрольных группах (K₁ и K₂). Различия числовых значений в опытных группах (O₁ и O₂) оказались

статистически достоверными не во всех сроках наблюдения (1, 2 и 5 сутки - $p > 0,05$).

Ожидаемым результатом, в ходе выполнения 2D клеточного культивирования, являлось доказательство нетоксичной природы исследуемых материалов. Как видно из таблицы 8 и рисунка 10, в каждой из экспериментальных групп отмечалась тенденция к планомерному увеличению количества клеток от 1-х к 6-ым суткам наблюдения, что подтверждает пролиферацию КСР в присутствии полимеров. В противном случае, графики (рис. 10), отражающие динамику численности клеток, стремились бы к нулю. При сравнении полученных результатов в группе K_2 (без использования опытного образца) с группами O_1 , O_2 , K_1 , была видна сходная картина экспоненциального роста количества КСР, что подтверждает нетоксичную природу всех исследуемых материалов (ГЭМА, ОУМА и ПММА).

Анализируя таблицы 9 и 10, обнаружили, что количество клеток на 6-е сутки наблюдения в опытных группах было достоверно меньше ($p < 0,001$), чем в группе K_1 , в которой исследовался биосовместимый полимер ПММА с известными свойствами. 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. Полимеры, исследуемые в опытных группах O_1 и O_2 , предпочтительны для интракорнеальной имплантации в оптической зоне.

Количество КСР в опытных группах (O_1 и O_2) на протяжении всего эксперимента было достоверно меньшим ($p < 0,05$), чем в группе (K_2), что подтверждает наличие неких антиадгезивных свойств у исследуемых полимерных материалов (ГЭМА и ОУМА), что может рассматриваться как положительное свойство при интракорнеальной имплантации.

При сравнении полученных результатов в опытных группах на 6-е сутки - материал ГЭМА проявил меньшую тенденцию к адгезии клеток, чем ОУМА ($p < 0,001$). Однако, различия числовых значений в опытных группах (O_1 и O_2)

оказались статистически достоверными не во всех сроках наблюдения (1, 2 и 5 сутки - $p > 0,05$), в связи с чем представляется актуальным дальнейшее изучение обоих полимеров (ГЭМА и ОУМА) *in vivo* и решение 3 задачи диссертационного исследования, с целью выявления наиболее пригодного для интракорнеальной имплантации.

Таким образом, в результате проведенного 2D культивирования клеток стромы роговицы человека в присутствии полимеров на основе ОУМА и ГЭМА (*in vitro*) была доказана нетоксичность исследованных полимеров, а также их более низкая, по сравнению с контрольным материалом (ПММА), способность обеспечивать адгезию КСР (наименьшая у ГЭМА), что говорит об их потенциальной пригодности к интракорнеальной имплантации, однако требует дальнейшего изучения биосовместимости *in vivo* конкретных изделий медицинского назначения и решение 3 задачи диссертационной работы.

4.2. Результаты исследования влияния разработанных ИКЛ на ткани глаза экспериментального животного

Целью данной части работы явилось изучение в экспериментально-морфологическом исследовании *in vivo* влияния разработанных ИКЛ, изготовленных из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА, на структуры переднего отрезка глаза экспериментального животного.

Для достижения поставленной цели исследования были сформулированы и решены следующие задачи: изучить морфометрические параметры экспериментальных образцов разработанных полимерных ИКЛ из ГЭМА и ОУМА, смоделировать клиническое течение послеоперационного периода при имплантации ИКЛ на основе ГЭМА и ОУМА и оценить клинико-

морфологические изменения глаза кролика при имплантации разработанных ИКЛ, с последующей оценкой их биосовместимости.

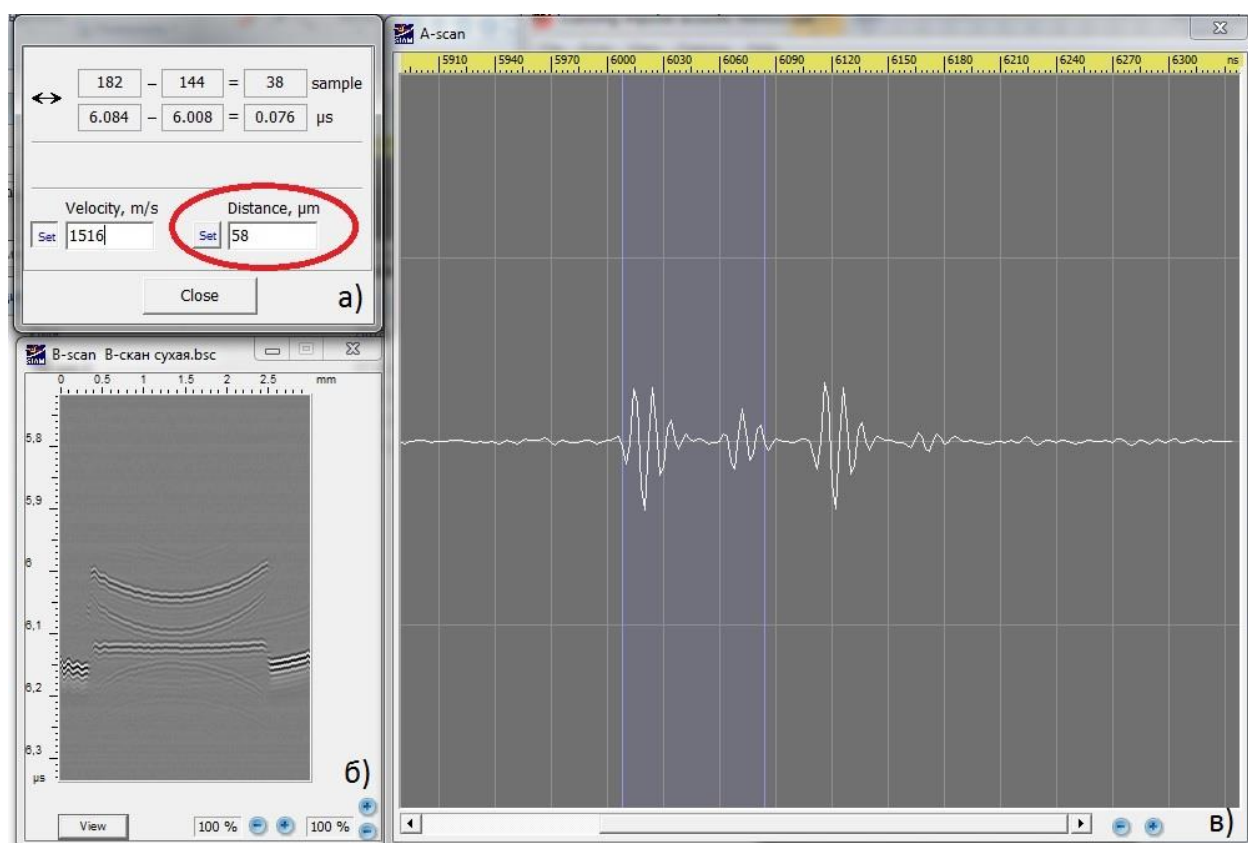
4.2.1. Результаты изучения морфометрических параметров и характера поверхности разработанных ИКЛ, изготовленных для постановки эксперимента *in vivo*

4.2.1.1. Результаты акустомикроскопического исследования

Приведенный в п. 2.2.1.1. алгоритм расчета необходимых в данной работе параметров включен в программное обеспечение импульсного сканирующего акустического микроскопа SIAM. Необходимые значения скорости распространения звуковых волн в материале и толщины ИКЛ в центральной зоне определялись автоматически на основании данных осциллограммы.

При проведении исследования ИКЛ не были фиксированы, в связи с чем акустическая микроскопия экспериментального изделия из ГЭМА представляла определенные трудности. Линза, изготовленная из гидрофильного материала (ГЭМА) смещалась относительно датчика при проведении измерения, что потребовало 3-х кратное сканирование и вычисление среднего значения необходимых параметров.

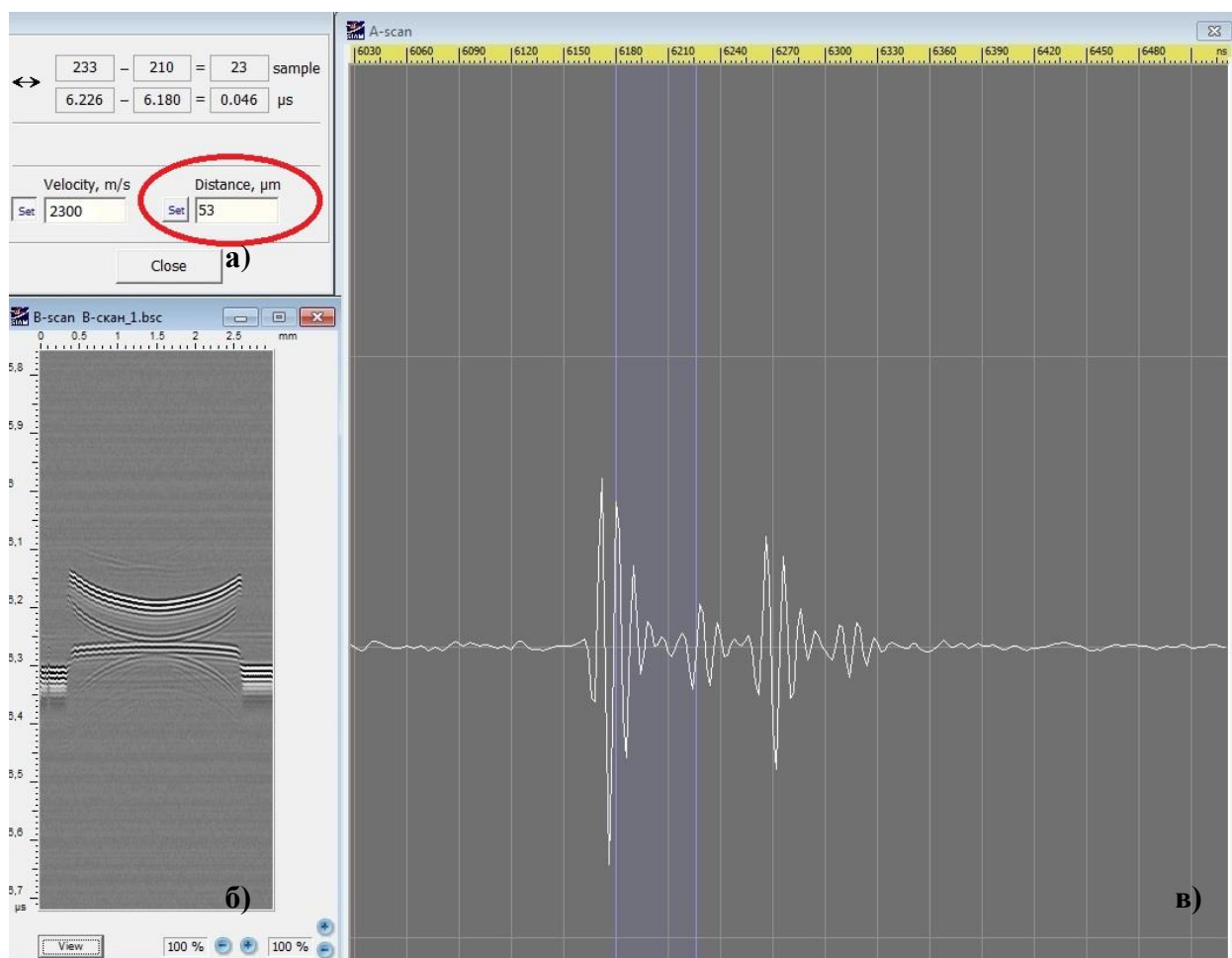
Согласно расчетам акустического микроскопа SIAM, скорость распространения звуковых волн через экспериментальное изделие, изготовленное из полимерного материала на основе ГЭМА, составила 1516 м/с. Толщина ИКЛ в центральной зоне составила 58 мкм (рисунок 11).



а) толщина ИКЛ в центральной зоне, вычисленная на основании осциллограммы (указано); б) В-скан образца, проходящий через центр линзы; в) осциллограмма в центральной части объекта

Рисунок 11 Акустомикроскопическое исследование ИКЛ из ГЭМА

Согласно расчетам акустического микроскопа SIAM, скорость распространения звуковых волн через экспериментальное изделие, изготовленное из полимерного материала на основе ОУМА, составила 2300 м/с. Толщина ИКЛ в центральной зоне составила 53 мкм (рисунок 12).



а) толщина ИКЛ в центральной зоне, вычисленная на основании осциллограммы (указано); б) В-скан образца, проходящий через центр линзы; в) осциллограмма в центральной части объекта.

Рисунок 12 Акустомикроскопическое исследование ИКЛ из ОУМА

Следовательно, толщина изготовленного экспериментального изделия из полимерного материала на основе ГЭМА была на 16% больше, а на основе ОУМА на 6% больше, чем требовалось в техническом задании. Однако, 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 использовать полученные образцы.

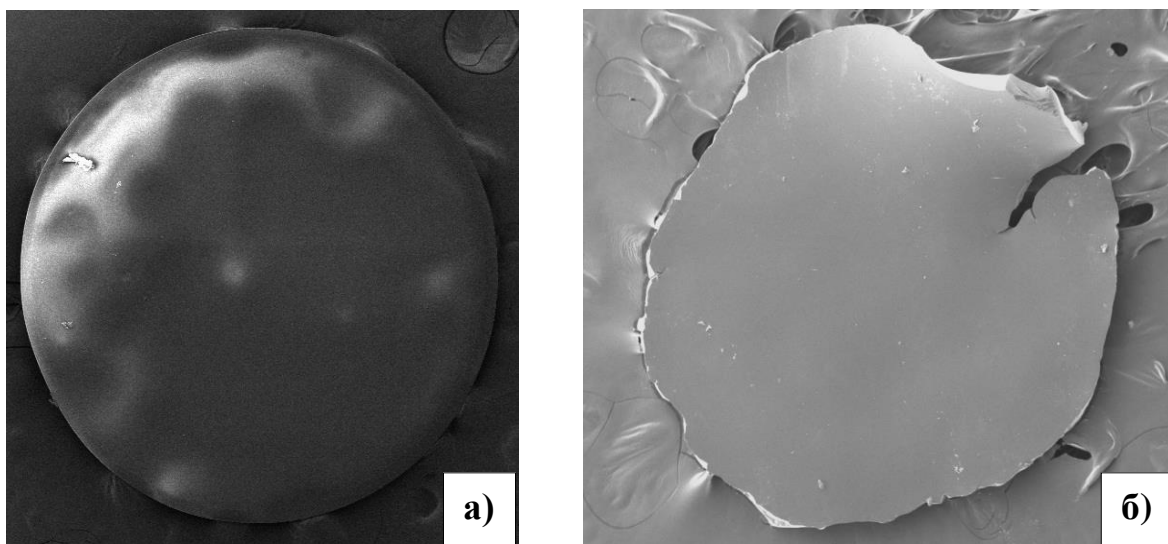
4.2.1.2. Результаты электронно-микроскопического исследования

При проведении микроскопии определяли соответствие полученных экспериментальных образцов ИКЛ требованиям технического задания (см. 2.2.), с последующим принятием решения о пригодности их для использования в экспериментальном исследовании (Таблица 11).

Таблица 11 – Основные параметры экспериментальных изделий, изготовленных из исследуемых полимерных материалов.

Основа полимерного материала	ГЭМА	ОУМА
Форма изделия	округлая	круглая
Характер поверхности	гладкая	гладкая/ятрогенные неровности
Диаметр	2 мм	2 мм
Форма края	неровная, с зазубринами	ровная, без видимых зазубрин
Технология изготовления	«точение»	«фотополимеризация»

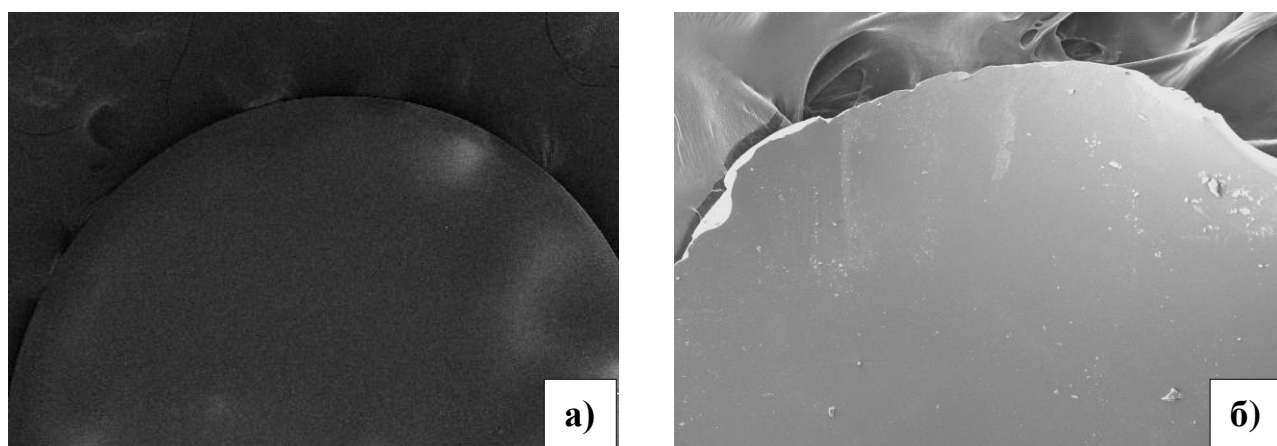
В начале сканирования интактного изделия, изготовленного из ОУМА, определялась гладкая форма поверхности, однако, при многократном прохождении электронного зонда через анализируемый участок линзы, формировались неровности поверхности (рисунок 13 а). СЭМ изделия, изготовленного из ГЭМА, не привела к формированию аналогичных изменений поверхности (рисунок 13 б). При фиксации эластичной линзы малого диаметра к поверхности предметного столика целостность ее была нарушена, дефект несколько увеличился в процессе напыления золотом в условиях вакуума, однако данное обстоятельство не помешало оценить основные параметры изделия.



а) ИКЛ, из ОУМА, круглой формы, в центральной части поверхность линзы гладкая, на периферии – неровности; б) ИКЛ, из ГЭМА, округлой формы, на 2 часах – ятрогенное нарушение целостности изделия

Рисунок 13 Электронограммы интактных экспериментальных изделий,
увеличение x150

При СЭМ ИКЛ, изготовленной из полимерного материала на основе ОУМА, визуализировался ровный край изделия, зазубрины не определялись (рисунок 14 а). При сканировании ИКЛ из ГЭМА отмечалась неровная форма ее края, наличие зазубрин (рисунок 14 б).



а) ИКЛ, изготовленная из ОУМА; б) ИКЛ, изготовленная из ГЭМА

Рисунок 14 Электронограммы интактных экспериментальных образцов,
увеличение x400

По результатам СЭМ экспериментальные образцы из ОУМА превосходили по качеству обработки края ИКЛ из ГЭМА. Однако, 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*.

4.2.2. Результаты изучения реакции ткани глаза экспериментального животного на имплантацию разработанных ИКЛ

Экспериментально-морфологическое исследование *in vivo* включало 12 животных, которых после хирургического вмешательства наблюдали в течение 3 месяцев, далее часть животных (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 их из эксперимента.

Стандартное течение послеоперационного периода после имплантации ИКЛ

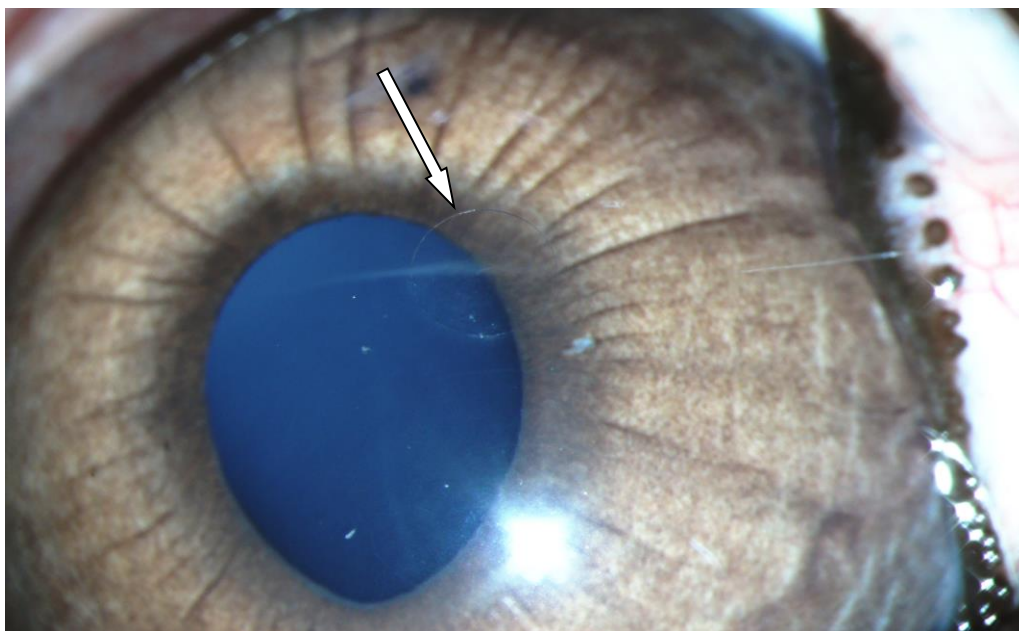
При *биомикроскопическом исследовании* в послеоперационном периоде на сроках наблюдения 1-е, 3-и и 7-е сутки в опытных и контрольной группах отмечалась умеренная поверхностная инъекция сосудов конъюнктивы, постепенно исчезающая к 14-м суткам, которая расценивалась нами как ответная реакция ткани роговицы экспериментального животного на хирургическую травму (Таблица 12).

Таблица 12 – Результаты биомикроскопического исследования переднего отрезка глаза экспериментальных животных

№	Глаз/группа	1 сут	3 сут	7 сут	14 сут	1 мес	3 мес	5 мес
1	OD (1 группа)	+++ ¹	++ ²	++	- ⁴	-	-	/ ⁵
	OS (3 группа)	+++	++	+ ³	-	-	-	/
2	OD (1 группа)	+++	+++	++	++	помутнение стромы	протрузия ИКЛ	/
	OS (3 группа)	+++	++	+	-	-	-	/
3	OD (1 группа)	+++	++	+	-	-	-	/
	OS (3 группа)	+++	++	+	-	-	-	/
4	OD (1 группа)	+++	++	++	++	помутнение стромы	протрузия ИКЛ	/
	OS (3 группа)	+++	+++	+	+	-	-	/
5	OD (1 группа)	+++	+++	++	-	-	-	-
	OS (3 группа)	+++	++	+	-	-	-	-
6	OD (1 группа)	+++	++	+	-	-	-	-
	OS (3 группа)	+++	++	+	-	-	-	-
7	OD (2 группа)	+++	+++	++	++	децентрация ИКЛ	-	/
	OS (3 группа)	+++	++	++	+	-	-	/
8	OD (2 группа)	+++	+++	++	+	помутнение стромы	протрузия ИКЛ	/
	OS (3 группа)	+++	++	+	-	-	-	/
9	OD (2 группа)	+++	++	+	-	-	-	/
	OS (3 группа)	+++	++	+	-	-	-	/
10	OD (2 группа)	+++	++	+	-	-	-	/
	OS (3 группа)	+++	+++	++	-	-	-	/
11	OD (2 группа)	+++	++	+	-	-	-	-
	OS (3 группа)	+++	++	+	-	-	-	-
12	OD (2 группа)	+++	++	++	++	-	-	-
	OS (3 группа)	+++	+++	++	+	-	-	-

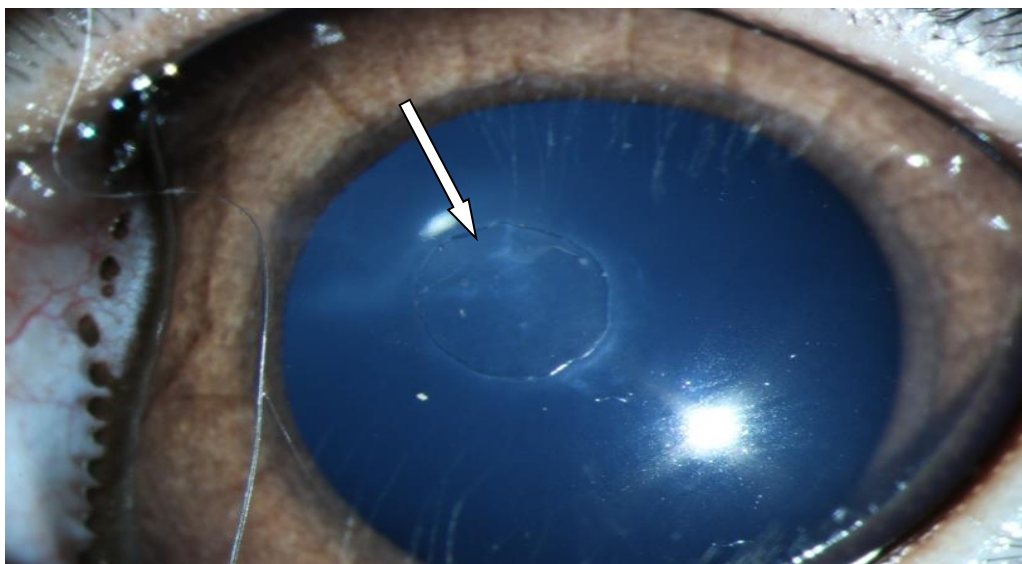
¹ - выраженная инъекция сосудов конъюнктивы, ² - умеренная инъекция сосудов конъюнктивы, ³ - незначительная инъекция сосудов конъюнктивы, ⁴ - инъекция сосудов конъюнктивы отсутствует, ⁵ – животное выведено из эксперимента, биомикроскопическое исследование не проводилось.

В опытных группах в строме роговицы визуализировался имплант. Положение его в роговичном кармане было стабильным на 4-х глазах из 6-ти в группе 1 (ГЭМА) и 4-х глазах из 6-ти в группе 2 (ОУМА) к 3-му месяцу наблюдения. При этом роговица вокруг ИКЛ была прозрачной, видимых дефектов передних отделов стромы и эпителия над линзой не определялось. Случаев неоваскуляризации или воспалительной реакции обнаружено не было. При биомикроскопическом исследовании грубая соединительнотканная капсула вокруг импланта не визуализировалась (рисунок 15, 16).



Роговица прозрачная. Воспалительная реакция отсутствует. ИКЛ в стромальных слоях роговицы (указана стрелкой)

Рисунок 15 Глаз кролика через 3 месяца после операции (группа 1)



Роговица прозрачная. Воспалительная реакция отсутствует. ИКЛ в стромальных слоях роговицы (указана стрелкой)

Рисунок 16 Глаз кролика через 3 месяца после операции (группа 2)

В контрольной группе к 3-му месяцу наблюдения роговица оставалась прозрачной, видимых дефектов передних отделов стромы и эпителия над линзой не определялось. Случаев васкуляризации или воспалительной реакции обнаружено не было. Основание внутрироговичного кармана (ВРК) в перилимбальной зоне не визуализировалось (рисунок 17).



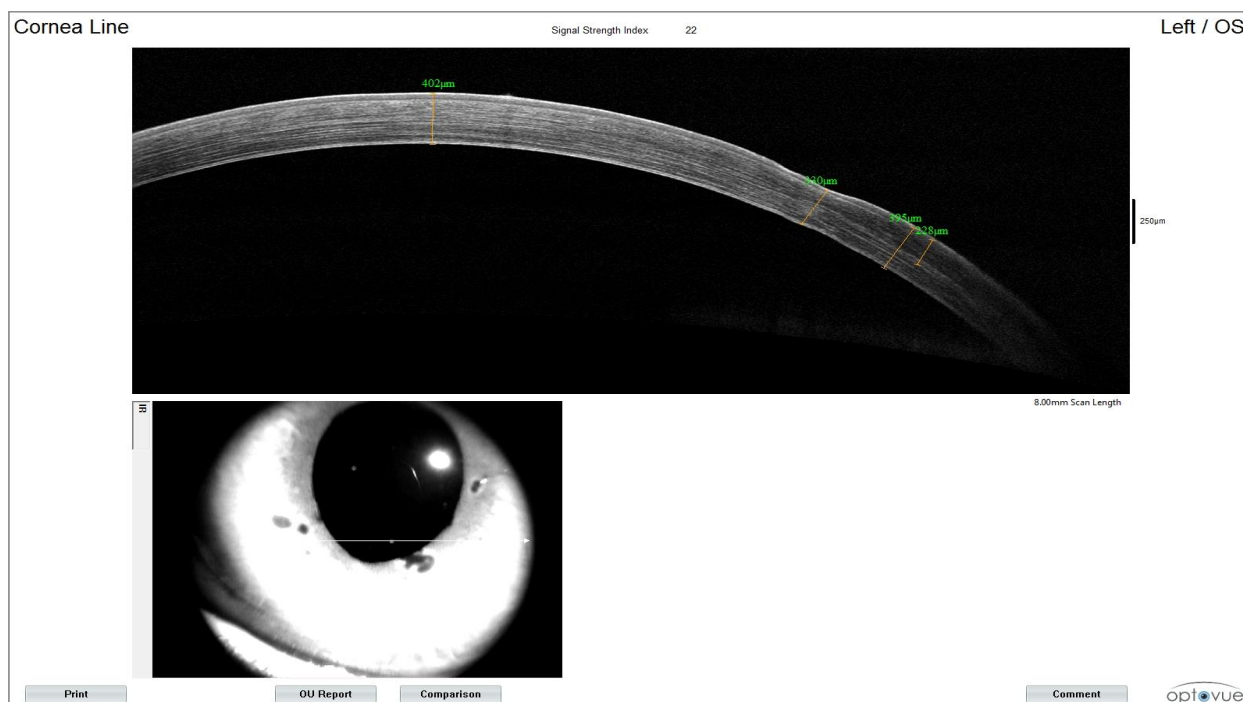
Роговица прозрачная. Воспалительная реакция отсутствует. (Помутнение в хрусталике определялось при дооперационном осмотре)

Рисунок 17 Глаз кролика через 3 месяца после операции (группа 3)

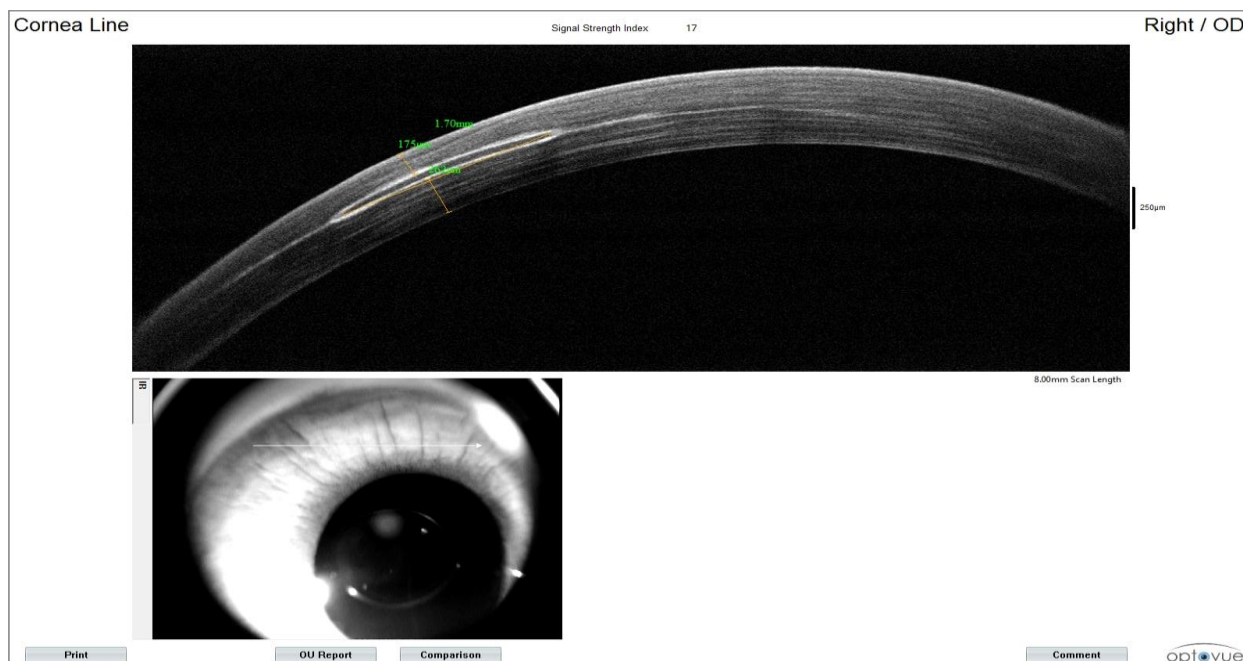
Видимые изменения на глазном дне при *офтальмоскопии в условиях мидриаза* на протяжении всего срока наблюдения в исследуемых группах не визуализировались.

При выполнении *оптической когерентной томографии* в контрольной группе на 14-е сутки и в 1 месяц визуализировалась демаркационная линия в средних слоях стромы, которая расценивалась нами как ход сформированного ранее роговичного кармана (рисунок 18). Однако, при ОКТ на сроке наблюдения 3 месяца признаков хирургического вмешательства обнаружить не удалось.

В группах 1 и 2 на сроках наблюдения 14 суток, 1 и 3 месяца при ОКТ также определялась демаркационная линия, в проекции роговичного кармана, кроме того визуализировалась ИКЛ, равномерно располагающаяся в средних слоях стромы роговицы (на 4-х глазах из 6-ти в группе 1 (ГЭМА) и 4-х глазах из 6-ти в группе 2 (ОУМА)) (рисунок 19).



Визуализируется демаркационная линия. Глубина формирования ВРК – 228 мкм
Рисунок 18 Оптическая когерентная томограмма роговицы кролика через 1 месяц
после хирургического вмешательства (группа 3)



ИКЛ в средних слоях стромы роговицы. Визуализируется ход сформированного ранее ВРК на глубине 175 мкм

Рисунок 19 Оптическая когерентная томограмма роговицы кролика через 3 месяца после имплантации ИКЛ (группа 1)

При измерении толщины роговицы в центральной зоне в опытных и контрольной группах была отмечена тенденция к ее увеличению к 14-м суткам после хирургического вмешательства, в сравнении с дооперационными данными. Однако, на сроке наблюдения 1 месяц, в группе 3 данный показатель возвращался к исходному значению. Наблюдаемое явление может быть связано с купированием отека ткани роговицы, возникшего в ответ на операционную травму. В опытных группах сохранялось увеличение толщины роговицы в проекции имплантированной линзы на сроке наблюдения 3 месяца (Таблица 13).

В группе 1 (ГЭМА) увеличение толщины роговицы в проекции ИКЛ произошло на $28,75 \pm 5,56$ мкм, в группе 2 (ОУМА) на $29,5 \pm 5,80$ мкм к 3-му месяцу после операции, что можно объяснить наличием в строме роговицы импланта (рисунок 20). Согласно результатам ОКТ, глубина, на которой был сформирован роговичный карман, в центральной зоне составила в группе 1 - $179,75 \pm 32,51$ мкм, в группе 2 – $191,25 \pm 17,71$ мкм, в группе 3 – $176,25 \pm 25,99$ мкм.

Таблица 13 – Результаты оптической когерентной томографии переднего отрезка глаза экспериментальных животных

№	Глаз/группа	До операции		14 сут		1 мес		3 мес		5 мес	
		Р	Кл	Р	Кл	Р	Кл	Р	Кл	Р	Кл
1	OD (1 группа)	437	-	494	183	463	175	462	177	выведен из эксперимента	
	OS (3 группа)	445	-	489	194	443	186	445	-	выведен из эксперимента	
2	OD (1 группа)	398	-	450	149	413	101	протрузия		выведен из эксперимента	
	OS (3 группа)	402	-	431	230	405	228	404	-	выведен из эксперимента	
3	OD (1 группа)	460	-	519	177	497	161	497	164	выведен из эксперимента	
	OS (3 группа)	455	-	491	192	451	186	452	-	выведен из эксперимента	
4	OD (1 группа)	494	-	556	153	502	145	протрузия		выведен из эксперимента	
	OS (3 группа)	487	-	534	166	489	154	489	-	выведен из эксперимента	
5	OD (1 группа)	429	-	484	240	452	227	455	226	431	-
	OS (3 группа)	425	-	469	213	425	202	427	-	421	-
6	OD (1 группа)	395	-	467	161	420	156	421	156	394	-
	OS (3 группа)	390	-	433	165	387	159	389	-	392	-
7	OD (2 группа)	428	-	462	201	459	199	децентрация		выведен из эксперимента	
	OS (3 группа)	420	-	458	177	419	163	422	-	выведен из эксперимента	
8	OD (2 группа)	464	-	531	151	464	147	протрузия		выведен из эксперимента	
	OS (3 группа)	472	-	509	155	475	149	475	-	выведен из эксперимента	
9	OD (2 группа)	439	-	495	203	464	196	467	199	выведен из эксперимента	
	OS (3 группа)	421	-	467	194	427	182	422	-	выведен из эксперимента	
10	OD (2 группа)	415	-	470	189	451	171	453	170	выведен из эксперимента	
	OS (3 группа)	402	-	439	152	400	146	403	-	выведен из эксперимента	
11	OD (2 группа)	399	-	437	190	428	183	426	185	402	-
	OS (3 группа)	390	-	434	158	389	152	392	-	390	-
12	OD (2 группа)	512	-	563	219	539	211	537	211	509	-
	OS (3 группа)	540	-	571	214	542	205	545	-	547	-

где Р – толщина роговицы в центральной зоне, в проекции ИКЛ, Кл – глубина, на которой был сформирован роговичный карман



Увеличение толщины роговицы в проекции импланта на 26 мкм. Глубина формирования ВРК – 156 мкм

Рисунок 20 Оптическая когерентная томограмма роговицы кролика через 3 месяца после имплантации ИКЛ (группа 2)

При проведении *прижизненной конфокальной микроскопии* на сроке наблюдения 3 месяца в группе 1 (2 глаза) и группе 2 (2 глаза) визуализировалась псевдокератинизация переднего эпителия. В проекции ИКЛ определялось нарушение оптической плотности в виде гиперрефлексивности и гипоцеллюлярности. В группе 1 (2 глаза) отмечалась неполная прозрачность экстрацеллюлярного матрикса вокруг имплантированной линзы. В строме роговицы в обеих группах визуализировались единичные волокна коллагена, наблюдалась активация кератоцитов. Задний эпителий оставался интактным в исследуемых группах (рисунок 21).

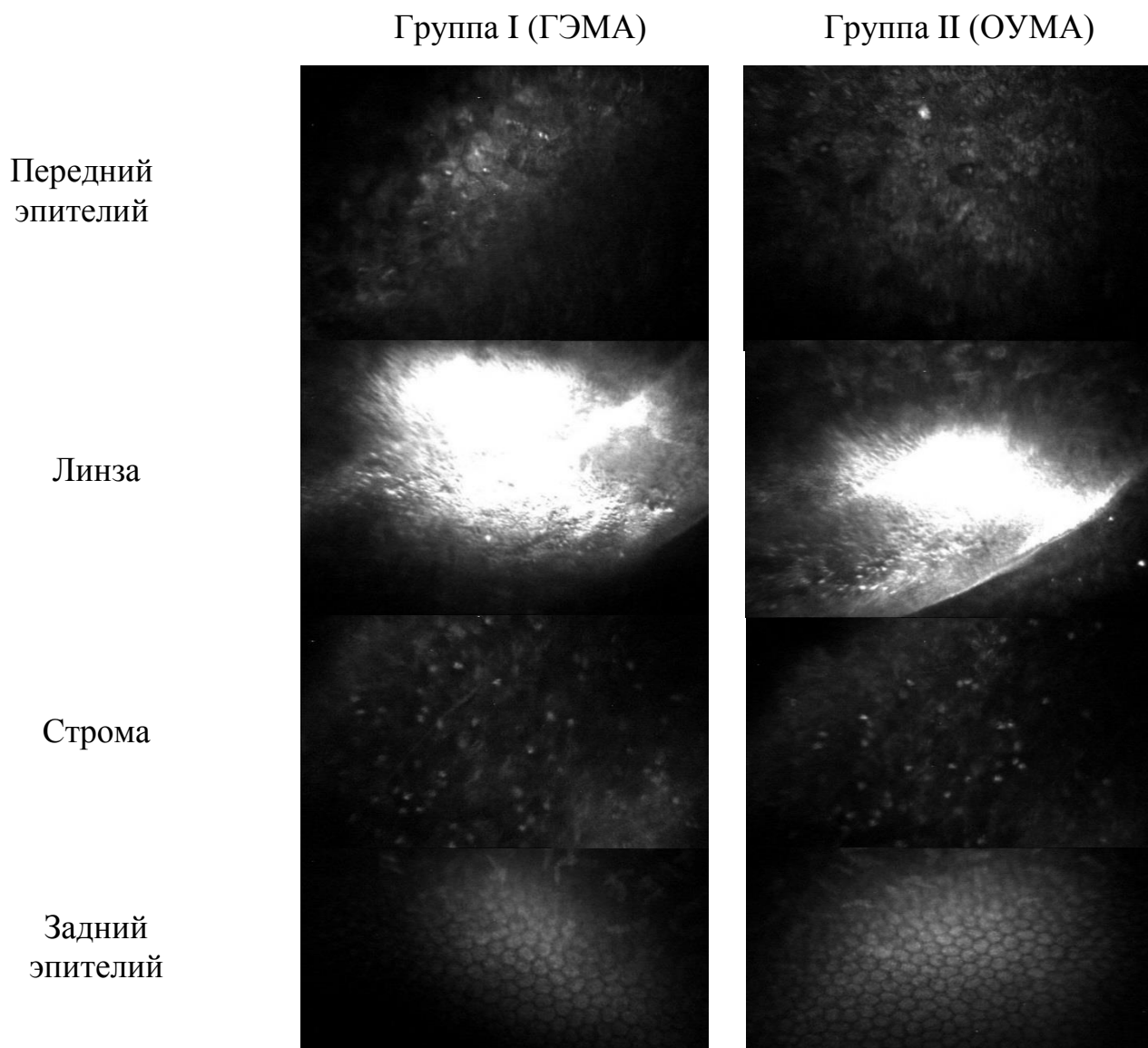


Рисунок 21 Прижизненная конфокальная микроскопия роговицы экспериментальных животных опытных групп. 3 месяца после имплантации ИКЛ

В контрольной группе (4 глаза) на сроке наблюдения 3 месяца так же, как и в основных группах, определялась псевдокератинизация переднего эпителия. В строме роговицы в зоне сформированного ранее ВРК визуализировалась незначительная активация кератоцитов, которую можно расценивать как реакцию ткани роговицы экспериментального животного на хирургическую травму. Задний эпителий оставался интактным (рисунок 22).

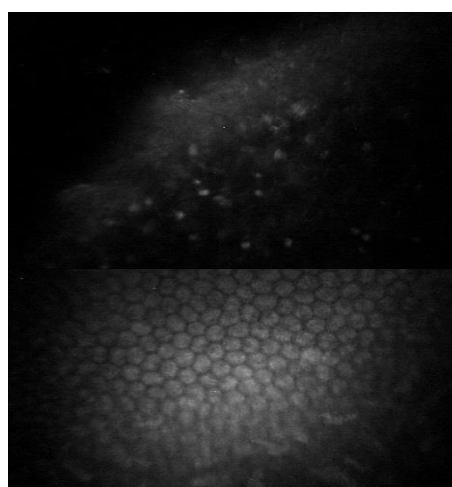
Передний
эпителий



Линза

Линза
отсутствует

Строма

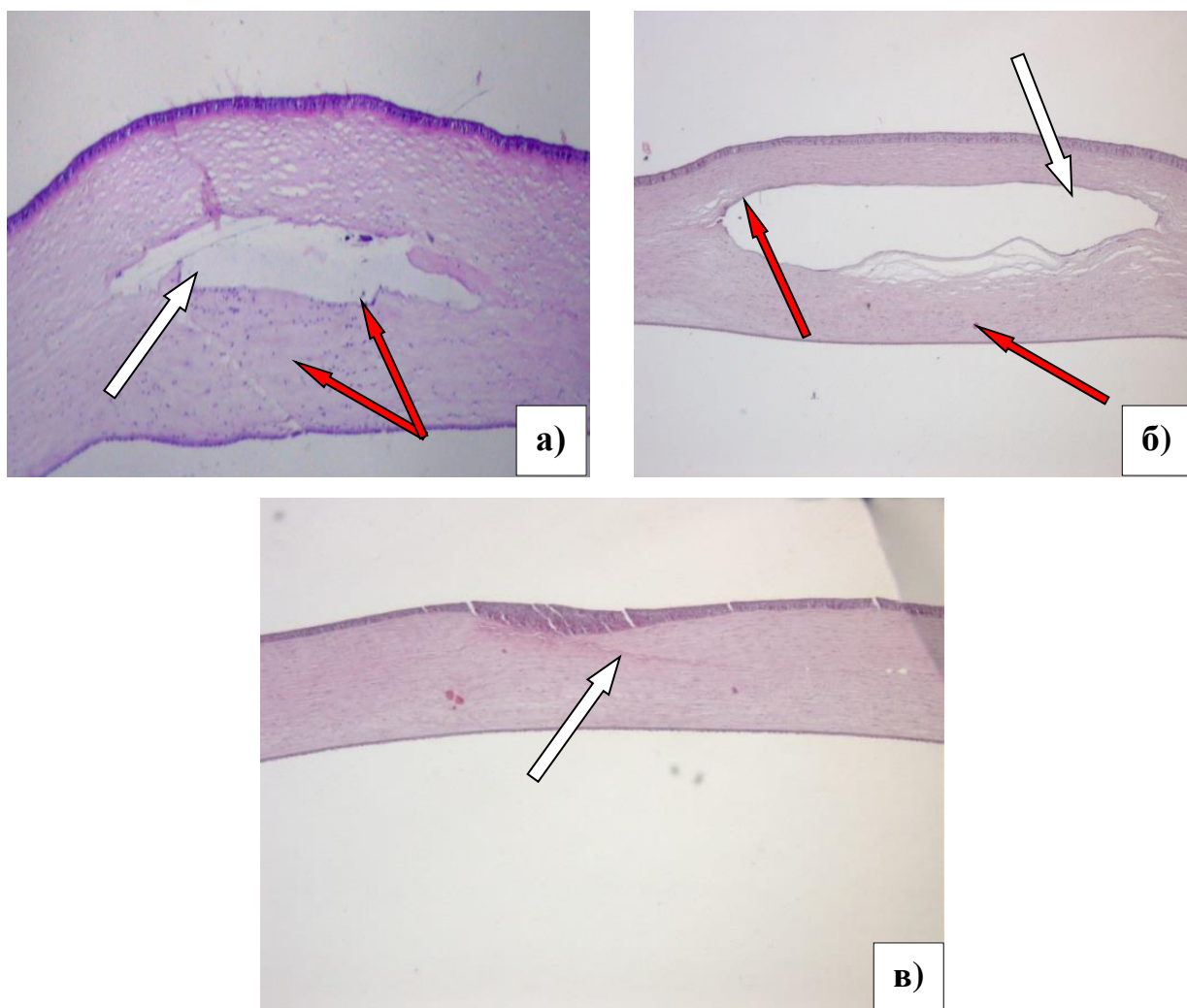


Задний
эпителий

Рисунок 22 Прижизненная конфокальная микроскопия роговицы экспериментальных животных контрольной группы. 3 месяца после хирургического вмешательства

На сроке наблюдения 3 месяца при проведении *световой микроскопии* серии гистологических срезов роговицы в группе 1 (2 глаза) и группе 2 (2 глаза) передний эпителий роговицы визуализировался без видимых изменений в зоне расположения ИКЛ. У основания сформированного ВРК наблюдалось увеличение количества слоев эпителиальных клеток. В средних слоях стромы роговицы определялось ложе ИКЛ, вокруг которого в обеих группах произошла активация клеток стромы роговицы (КСР), предположительно собственных кератоцитов, уплотнение стромы, при этом в группе 1 степень выраженности обнаруженных

морфологических изменений была умеренной, а в группе 2 незначительной. Задний эпителий оставался интактным (рисунок 23 а, б).



а) Группа 1 (ГЭМА) - ложе ИКЛ (указано белой стрелкой), уплотнение стромы вокруг него, умеренная активация КСР (указаны красными стрелками), увеличение x 100; б) Группа 2 (ОУМА) - ложе ИКЛ (указано белой стрелкой), уплотнение стромы вокруг него, незначительная активация КСР (указаны красными стрелками). Увеличение x 50; в) Группа 3 (контрольная) – утолщение эпителия у основания ВРК, определяется зона интерфейса (указана белой стрелкой). Увеличение x 50

Рисунок 23 Гистологическая картина роговицы кролика, окраска Г-Э

В группе 3 (4 глаза) в средних слоях стромы определялась зона интерфейса (рисунок 23 в), идущая от лимба к центру роговицы (расположение

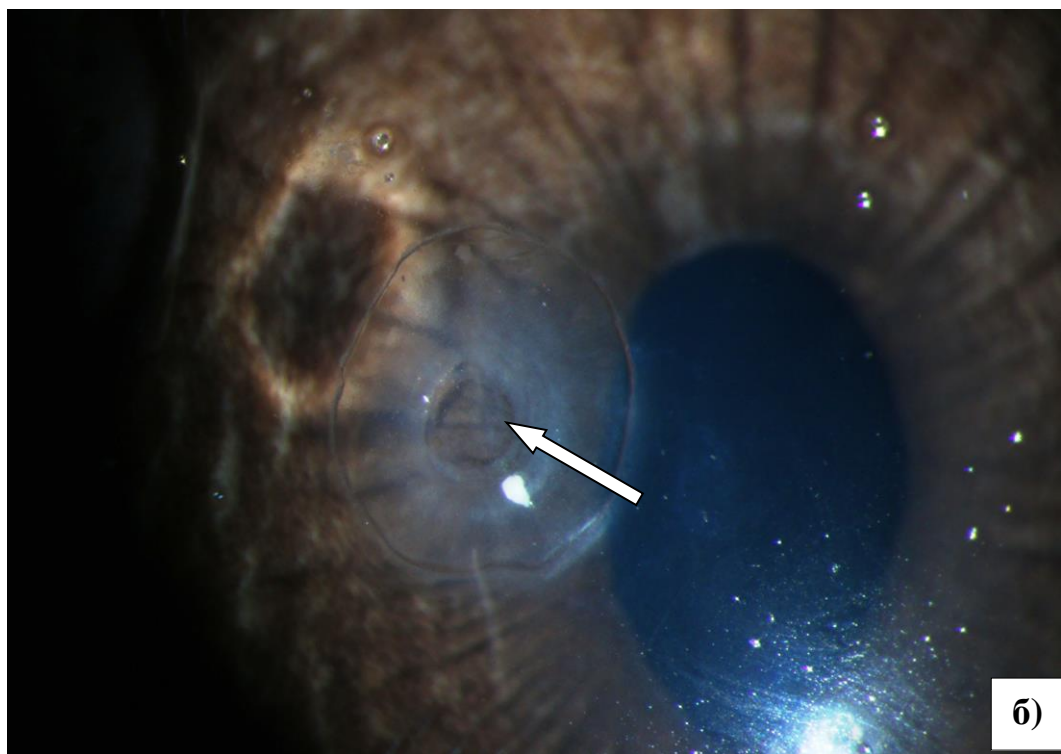
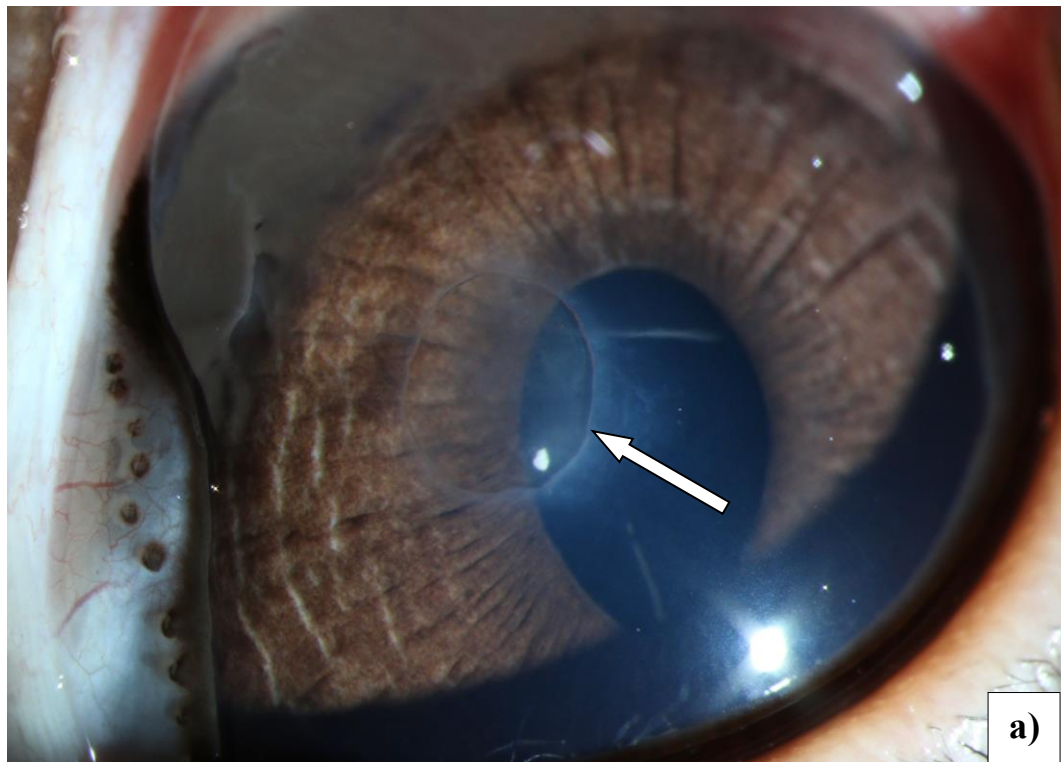
сформированного роговичного кармана) окруженная разряженными волокнами, с утолщением эпителия над ней, другие слои были без видимых изменений (Таблица 14).

Таблица 14 – Гистоморфологические параметры роговицы кроликов в экспериментальных группах, определенные методом световой микроскопии

	Группа 1 (ГЭМА)	Группа 2 (ОУМА)	Группа 3 (контроль)
Передний эпителий	увеличение толщины у основания ВРК	увеличение толщины у основания ВРК	увеличение толщины у основания ВРК
Зона хирургического вмешательства	ложе ИКЛ, видимая капсула отсутствует	ложе ИКЛ, видимая капсула отсутствует	визуализируется линия вреза
Строма роговицы	умеренное уплотнение вокруг ложа ИКЛ	незначительное уплотнение вокруг ложа ИКЛ	разряжение по ходу ВРК
КСР	умеренная активация КСР вокруг ложа ИКЛ	незначительная активация КСР вокруг ложа ИКЛ	интактны
Задний эпителий	интактный	интактный	интактный

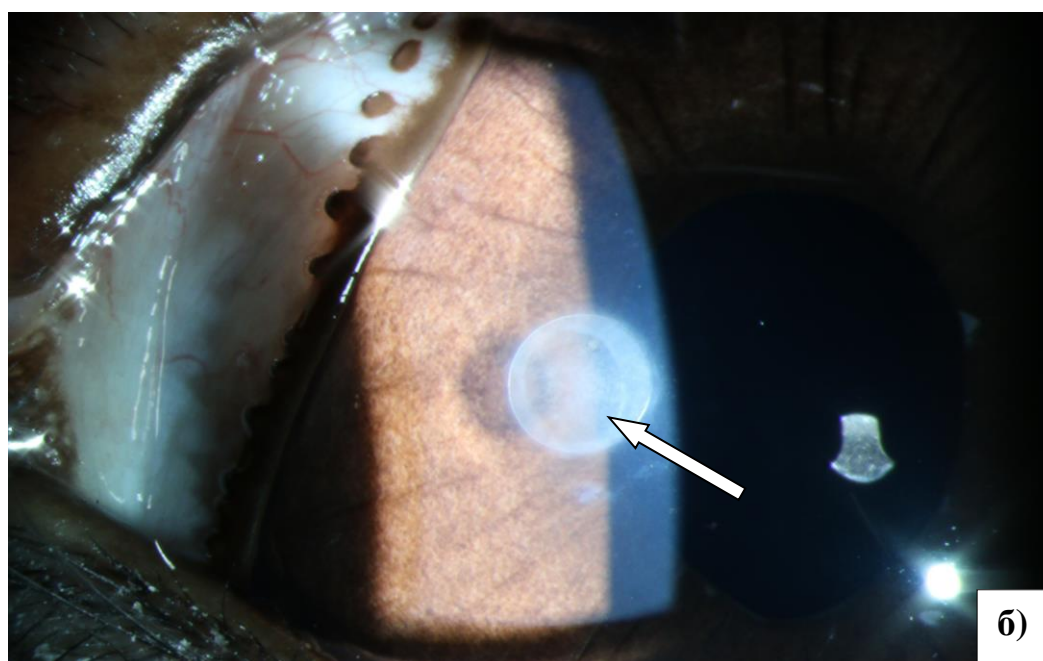
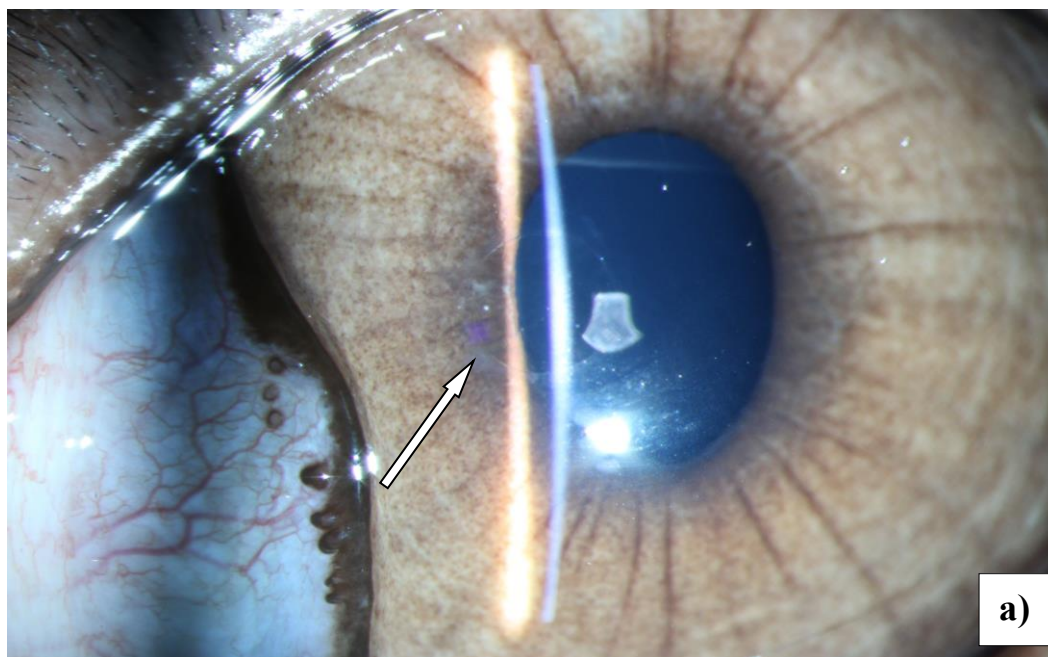
Атипичное течение послеоперационного периода после имплантации ИКЛ

На 30-е сутки наблюдения в группе 1 (ГЭМА) у 2 экспериментальных животных (2 глаза) и в группе 2 (ОУМА) у 1 животного (1 глаз) при биомикроскопии роговицы вокруг имплантированной ИКЛ определялась небольшая зона стромального помутнения, с последующим истончением слоев роговицы, десквамацией эпителия и формированием язвенного дефекта над линзой. Экструзия ИКЛ в конъюнктивальную полость происходила к 3-му месяцу наблюдения, с формированием стромального помутнения (рисунок 24, 25).



а) Срок наблюдения 1 месяц после операции. Помутнение стромы роговицы, вокруг имплантированной ИКЛ (указано стрелкой); б) Срок наблюдения 2 месяца после операции. Над линзой язвенный дефект с утолщенными краями (указан стрелкой)

Рисунок 24 Биомикроскопическая картина глаза кролика (группа 1)



а) Срок наблюдения 1 месяц после операции. Незначительное помутнение стромы роговицы вокруг имплантированной ИКЛ (указано стрелкой). б) Срок наблюдения 2 месяца после операции. Передние слои стромы над линзой истончены, визуализируется язвенный дефект (указан стрелкой)

Рисунок 25 Биомикроскопическая картина глаза кролика (группа 2)

При проведении ОКТ в описанных случаях на 30-е сутки визуализировалось выпячивание ИКЛ в направлении переднего эпителия с истончением подлежащих слоев стромы роговицы (рисунок 26).



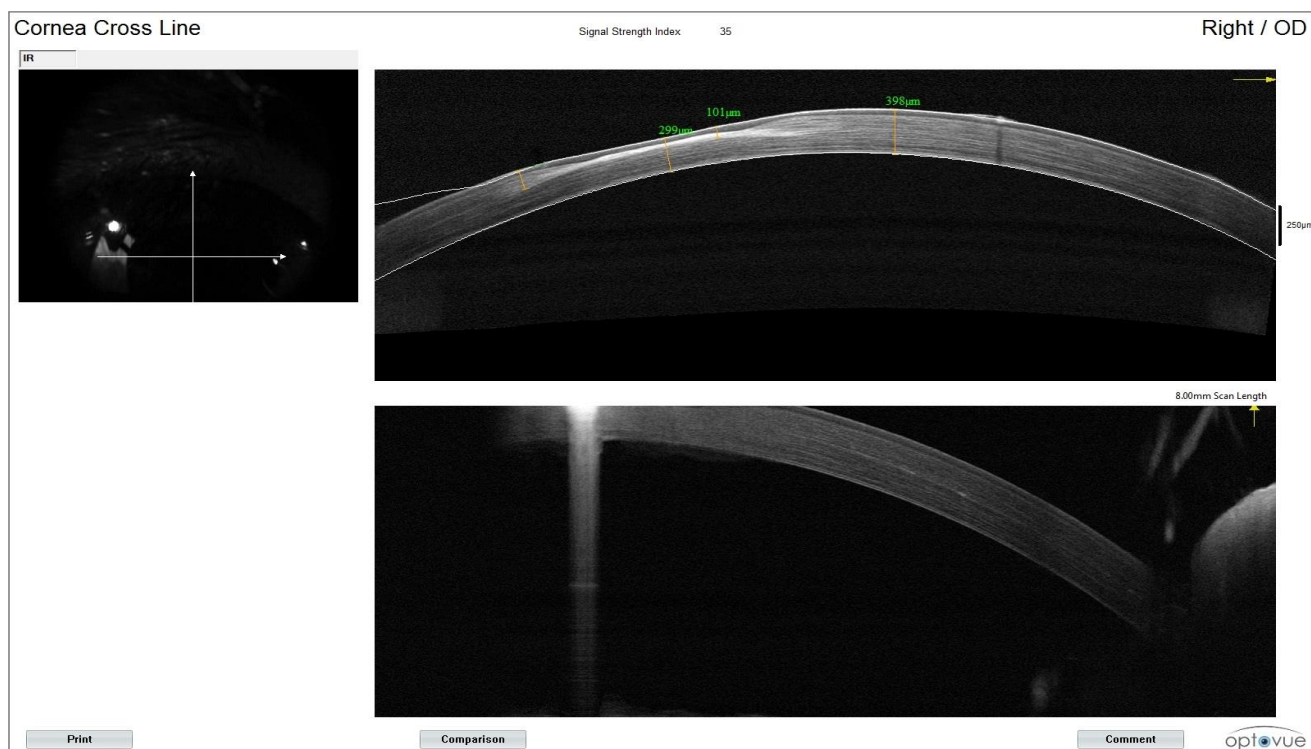
Выпячивание ИКЛ в направлении переднего эпителия. Истончение роговицы над имплантом до 100 мкм. Глубина формирования ВРК – 147 мкм
Рисунок 26 ОКТ роговицы кролика. 1 месяц после имплантации ИКЛ (группа 1)

Ко 2-му месяцу наблюдения наружная стенка ВРК состояла из переднего эпителия, покрывающего ИКЛ, роговица в проекции импланта была резко истончена (рисунок 27).



Истончение роговицы над имплантом. Глубина формирования ВРК – 145 мкм
Рисунок 27 ОКТ роговицы кролика. 3 месяца после имплантации ИКЛ (группа 2)

При ОКТ роговицы на сроке наблюдения 3 месяца после операции имплант не визуализировался, определялось помутнение наружных слоев стромы с утолщением эпителия в проекции ранее располагавшейся ИКЛ (рисунок 28).

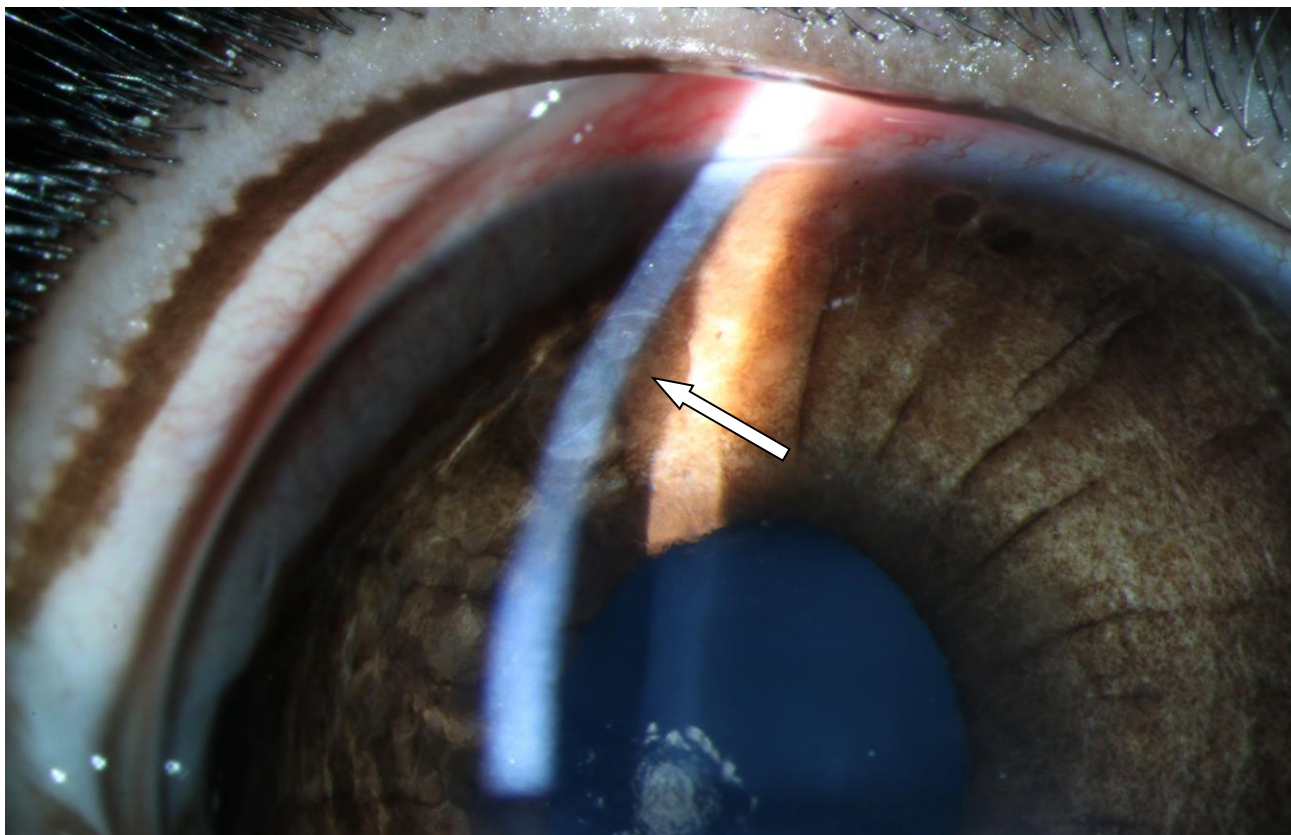


Толщина роговицы в проекции ранее имплантированной ИКЛ 299 мкм
 Рисунок 28 Оптическая когерентная томограмма роговицы кролика через 3
 месяца после хирургического вмешательства (группа 2)

Наблюдаемое нами течение послеоперационного периода в описанных 3-х случаях возможно было связано с имплантацией ИКЛ в поверхностные слои стромы на глубину менее 150 мкм. При этом происходило нарушение питания роговицы над линзой, с последующей потерей ее прозрачности и развитием асептического некроза, что подтверждалось результатами исследования на оптическом когерентном томографе.

На 14-е сутки наблюдения в группе 2 (ОУМА) у 1 экспериментального животного при биомикроскопическом исследовании визуализировалась умеренная инъекция конъюнктивальных сосудов, отек стромы роговицы, ИКЛ

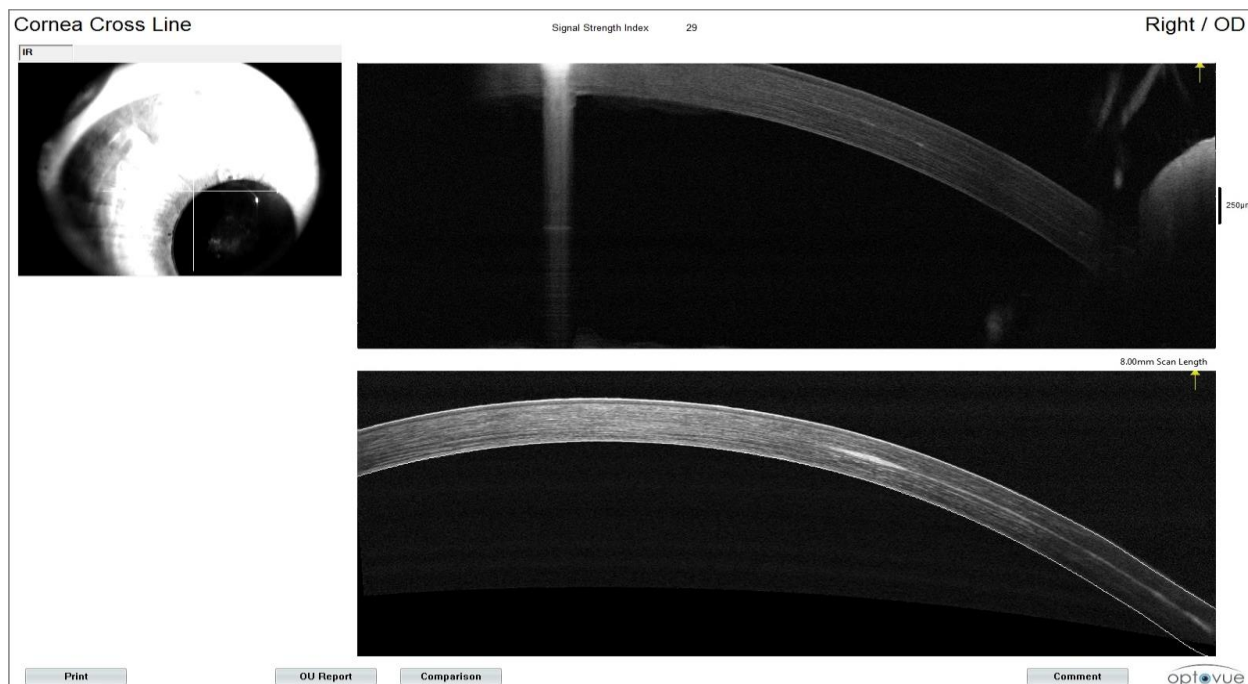
находилась в пределах ВРК, но была децентрирована по направлению к его основанию, предположительно в связи с неполной адгезией в зоне интерфейса ВРК (рисунок 29).



Умеренная конъюнктивальная инъекция, отек стромы роговицы, вокруг импланта. ИКЛ децентрирована по направлению к основанию ВРК (указано стрелкой)

Рисунок 29 Биомикроскопическая картина глаза кролика (группа 2). Срок наблюдения 14 суток после операции

Центрирование ИКЛ не проводилось. На 30-е сутки наблюдения линза в сформированном ВРК при биомикроскопическом исследовании не визуализировалась. При проведении ОКТ определялась демаркационная линия в средних слоях стромы роговицы – ход сформированного ранее ВРК (рисунок 30)



ИКЛ не определяется. Демаркационная линия в средних слоях стромы роговицы
 Рисунок 30 ОКТ роговицы кролика. 1 месяц после хирургического вмешательства
 (группа 2)

Эксплантация ИКЛ

На сроке наблюдения 3 месяца у 4-ех экспериментальных животных, не выведенных из эксперимента (группа 1 – 2 кролика, группа 2 – 2 кролика), проводили эксплантацию ИКЛ, с последующим наблюдением в течение 2 месяцев (рисунок 31).

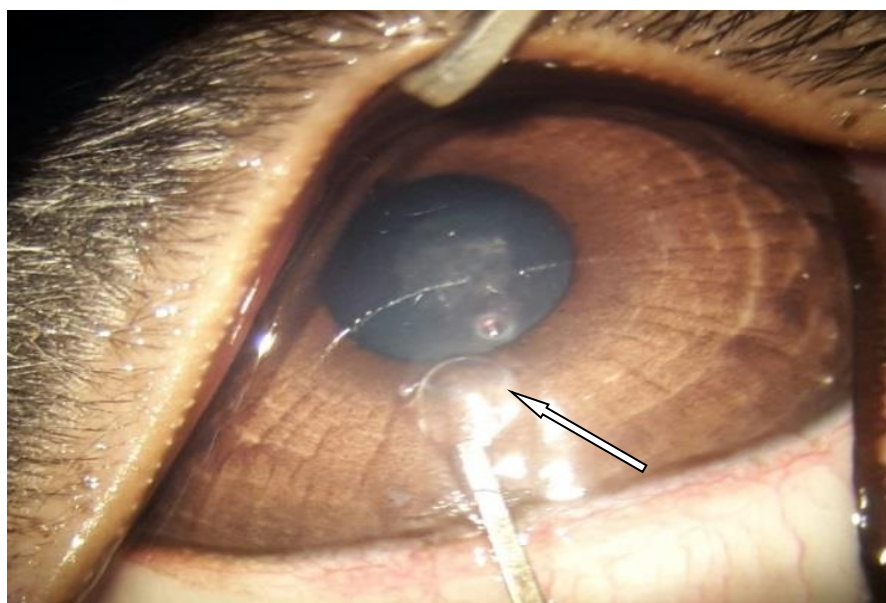
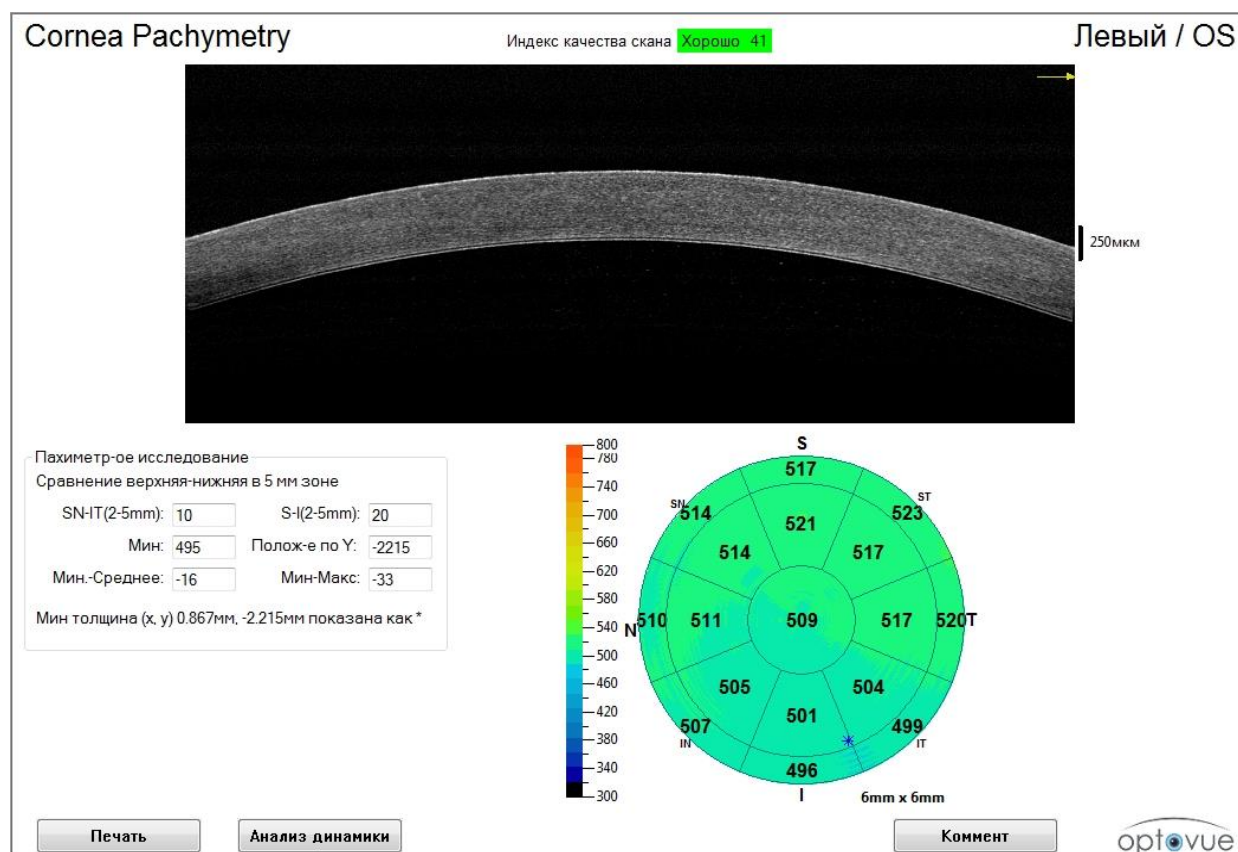


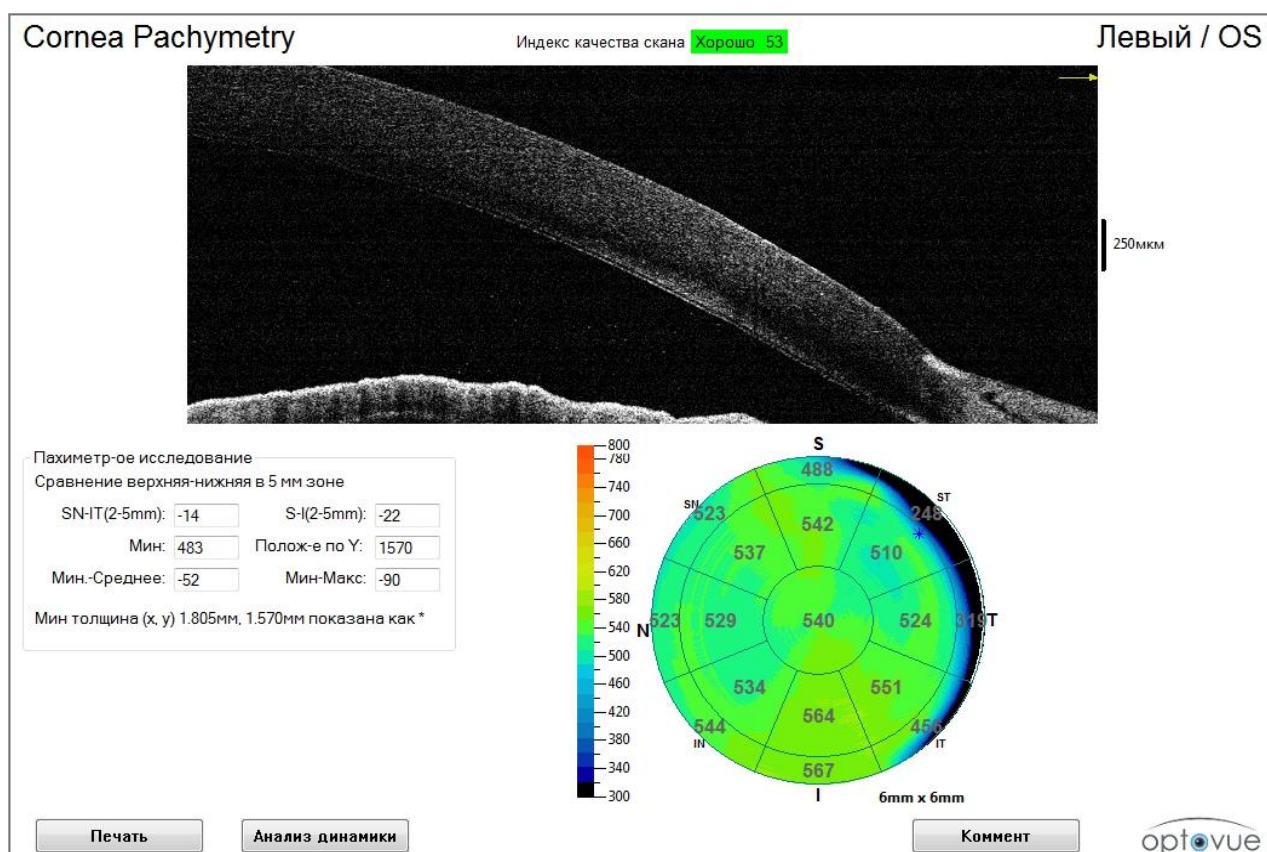
Рисунок 31 Глаз кролика. Операция по эксплантации ИКЛ (указано стрелкой)

При биомикроскопическом исследовании на сроке наблюдения 2 месяца после эксплантации ИКЛ глаз кролика оставался спокойным, ВРК не визуализировался. При выполнении *оптической когерентной томографии* демаркационная линия не определялась, основание ВРК обнаружить также не удалось (рисунок 32, 33).



Ход сформированного ранее ВРК не определяется

Рисунок 32 ОКТ роговицы кролика. 2 месяца после эксплантации ИКЛ (группа 2)



Основание и ход сформированного ранее ВРК не визуализируются
 Рисунок 33 ОКТ роговицы и лимба кролика через 2 месяца после эксплантации
 ИКЛ (группа 1)

При проведении *прижизненной конфокальной микроскопии* на сроке наблюдения 2 месяца после эксплантации ИКЛ в опытных группах (группа 1 – 2 кролика, группа 2 – 2 кролика) обнаруживалась псевдокератинизация эпителия, в проекции ранее эксплантированной линзы произошло образование псевдоцеллюлярной мембраны, визуально более плотной в группе 1 (ГЭМА), чем в группе 2 (ОУМА). В окружении мембраны отмечалось снижение количества кератоцитов и отсутствие иннервации. Средние слои стромы роговицы отличались складчатостью и гипоцеллюлярностью. Задний эпителий был без видимых патологических изменений (рисунок 34).

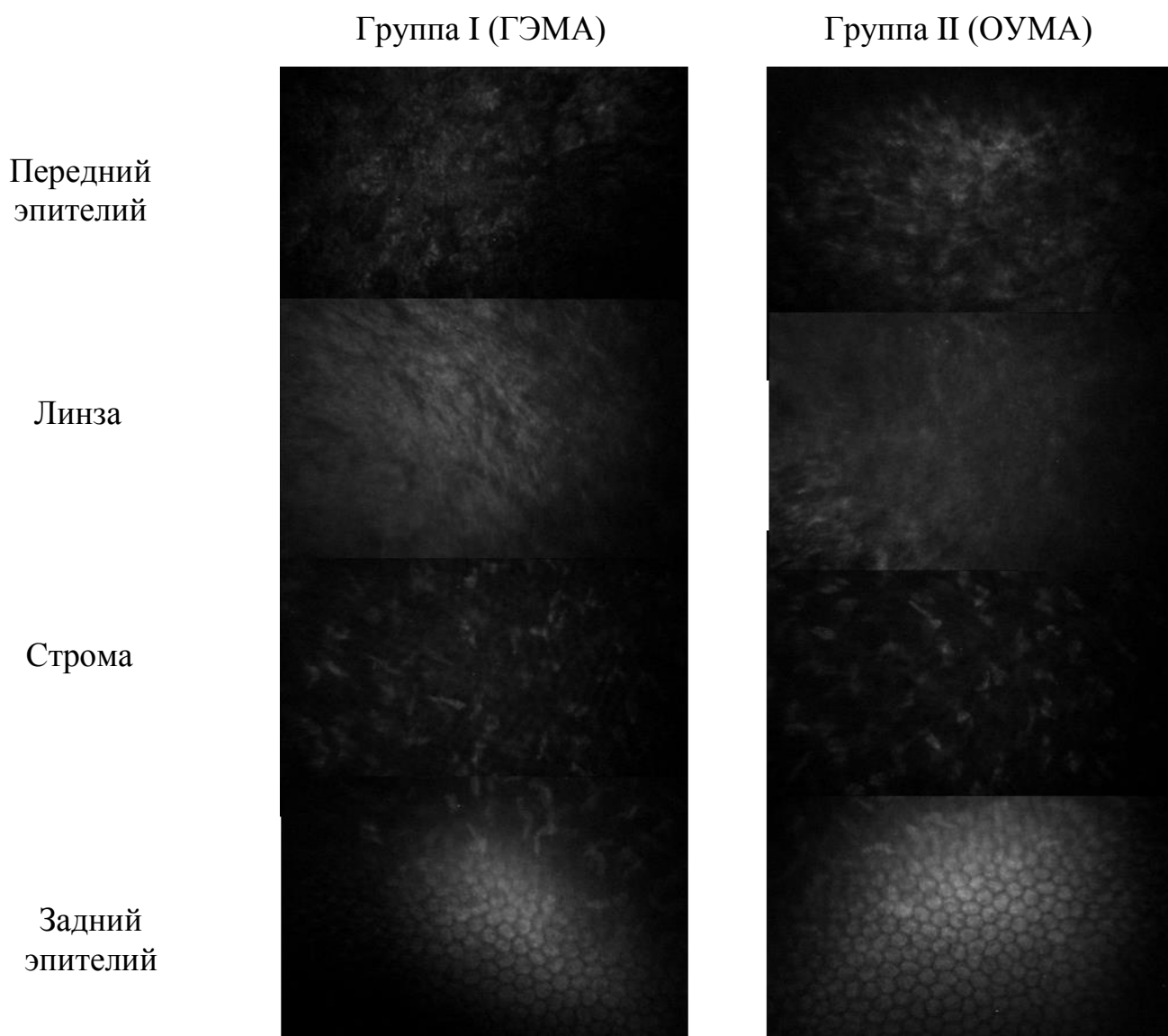
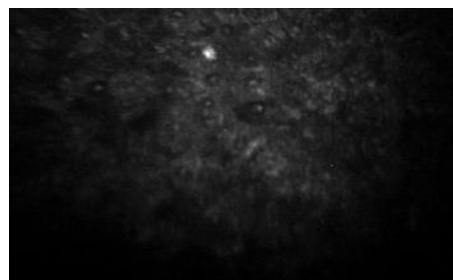


Рисунок 34 Прижизненная конфокальная микроскопия роговицы экспериментальных животных опытных групп. 2 месяца после операции по эксплантации ИКЛ

В контрольной группе (4 кролика) также определялась псевдокератинизация эпителия, как и в опытных группах, которая нами была расценена как вариант физиологической нормы для данного экспериментального животного, в связи с редкой частотой моргания в сравнении с человеком. В средних слоях стромы, в проекции ранее сформированного ВРК, видимых гистоморфологических изменений обнаружить не удалось. Задний эпителий роговой оболочки визуализировался интактным (рисунок 35).

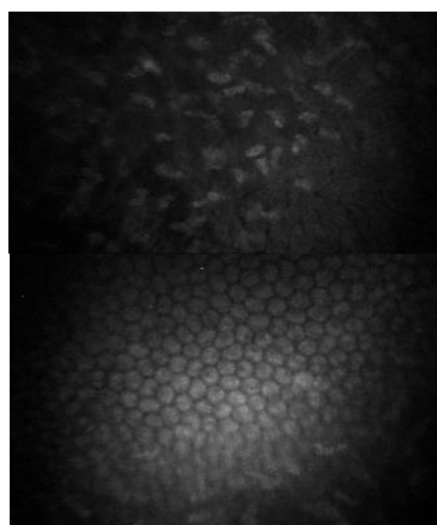
Передний
эпителий



Линза

Линза
отсутствует

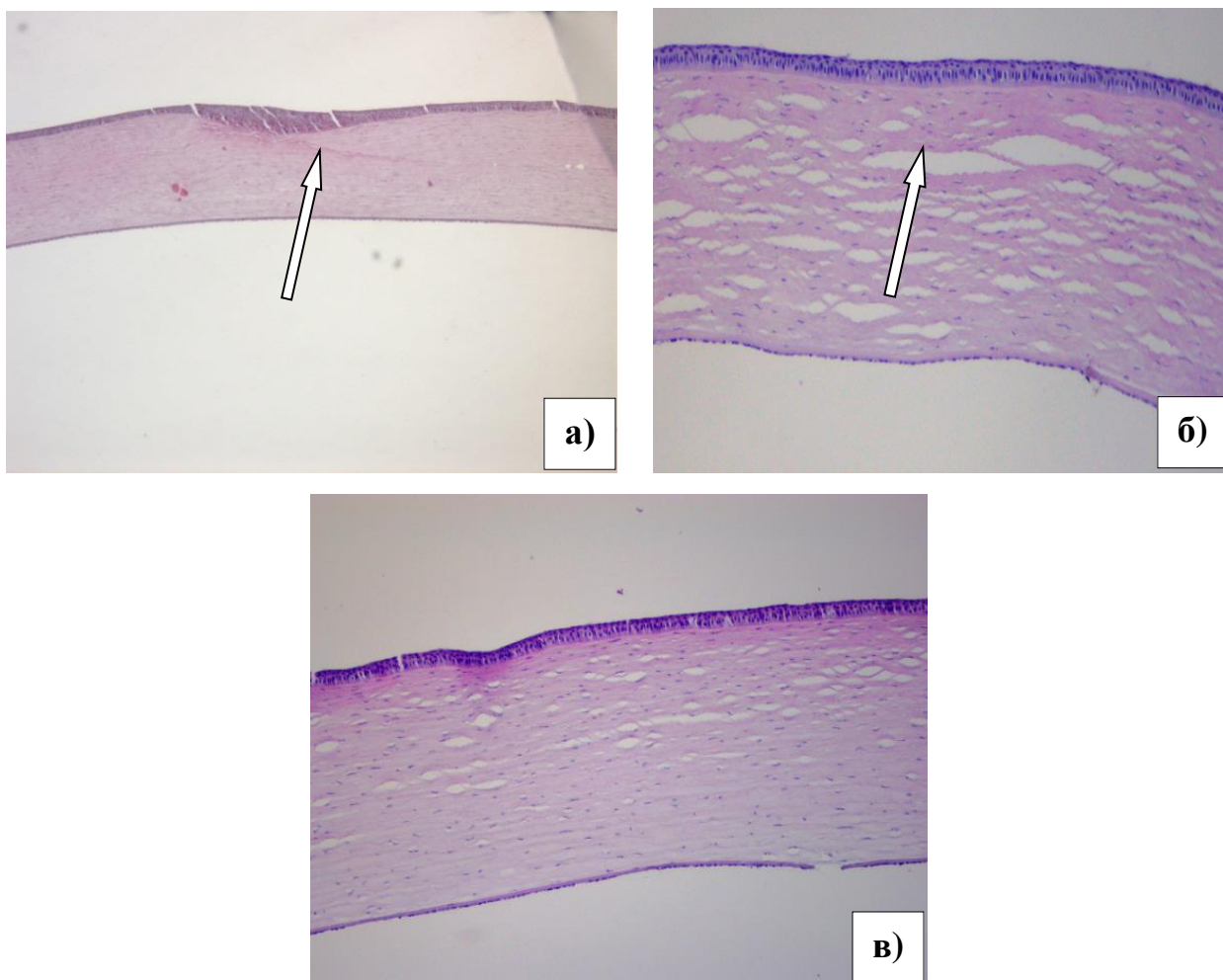
Строма



Задний
эпителий

Рисунок 35 Прижизненная конфокальная микроскопия роговицы экспериментальных животных контрольной группы. 2 месяца после операции по эксплантации ИКЛ

На сроке наблюдения 2 месяца после операции по эксплантации ИКЛ при проведении *световой микроскопии* серии гистологических срезов роговицы в группе 1 (2 глаза) и группе 2 (2 глаза) передний эпителий роговицы был несколько утолщен у основания роговичного кармана, в средних слоях стромы определялась линия разряжения, идущая от лимба к центру роговицы – ход сформированного ранее ВРК, задний эпителий – без видимых патологических изменений. В группе 3 (4 глаза) во всех слоях роговицы без видимых гистоморфологических изменений. Зона интерфейса в слоях стромы не определялась (рисунок 36).



а) Группа 1 (ГЭМА). Визуализируется ход сформированного ранее ВРК (указано стрелкой). Утолщение эпителия в проекции его основания, увеличение $\times 50$, б) Группа 2 (ОУМА). Разрежение стромы в средних слоях – ход сформированного ранее ВРК (указано стрелкой), увеличение $\times 100$, в) Группа 3 (контроль). Слои роговицы без видимых изменений, увеличение $\times 100$

Рисунок 36 Гистологическая картина роговицы кролика, окраска Г-Э

Таким образом, для постановки эксперимента были изготовлены образцы ИКЛ из ГЭМА и ОУМА, соответствие которых техническому заданию было изучено методами акустической микроскопии и СЭМ. С учетом вышеуказанных особенностей (см. 4.2.1.1, 4.2.1.2.) полученные образцы были имплантированы экспериментальным животным.

В результате проведенного экспериментально-морфологического исследования *in vivo* было показано, что разработанные ИКЛ при имплантации не вызвали выраженной воспалительной реакции глаза кролика, визуализируемой биомикроскопически и офтальмоскопически, имели 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).

При поверхностной имплантации (менее 150 мкм) возможно развитие асептического некроза стромы роговицы над линзой с последующей экстррузией ИКЛ к 3 месяцу после операции. При незавершенной адгезии ВРК возможна децентрация линзы.

На сроке наблюдения 2 месяца после эксплантации 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 предопределяет необходимость дальнейшего изучения разработанных ИКЛ на модели роговицы человека и решение 4 задачи.

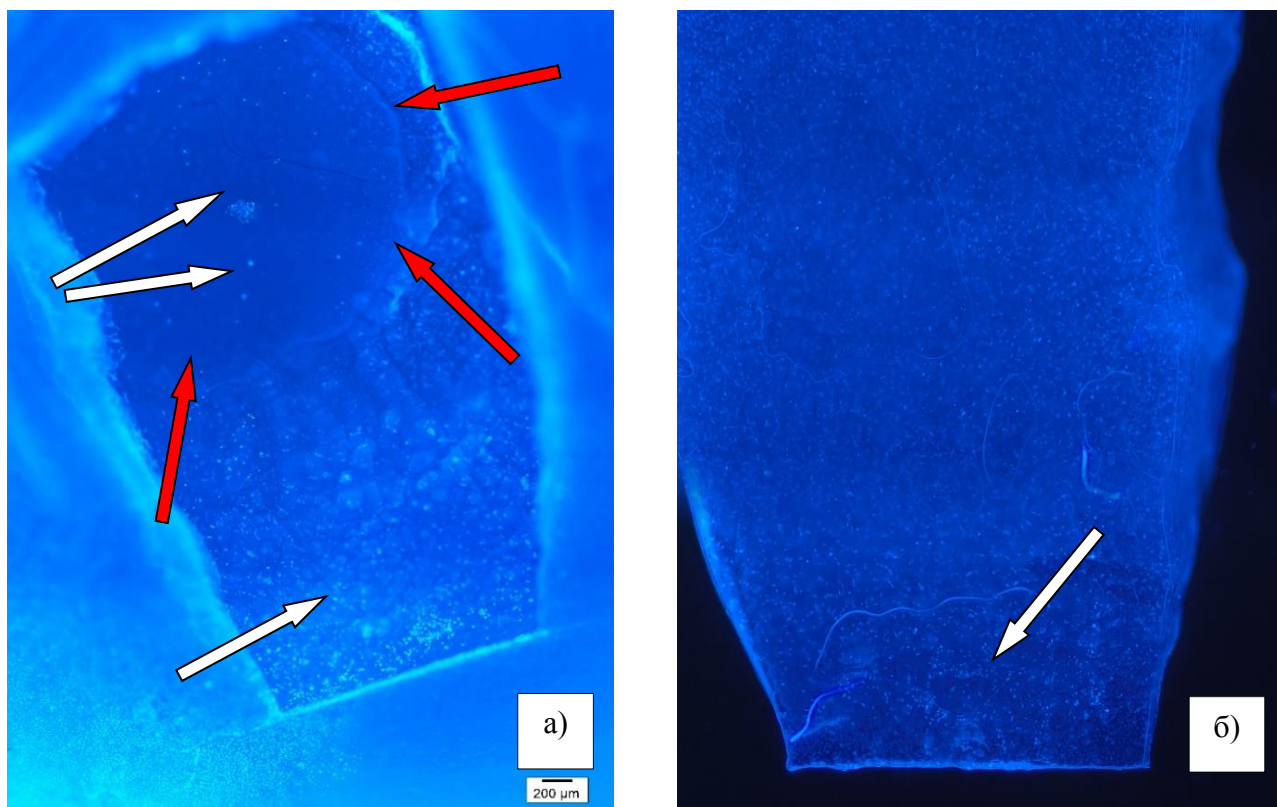
4.3. Результаты экспериментально-морфологического исследования влияния разработанных ИКЛ на роговицу человека

Целью данной части работы явилось изучение в экспериментально-морфологическом исследовании *ex vivo* реакции роговицы донора-трупа на имплантацию ИКЛ, изготовленных из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА.

Для достижения поставленной цели исследования были сформулированы и решены следующие задачи: изучить тканевую реактивность роговицы донора-трупа в ответ на имплантацию разработанных ИКЛ в условиях органного нормотермического культивирования методом флуоресцентной микроскопии, а также изучить тканевую реактивность роговицы донора-трупа в ответ на имплантацию разработанных ИКЛ в условиях органного нормотермического культивирования методом сканирующей электронной микроскопии.

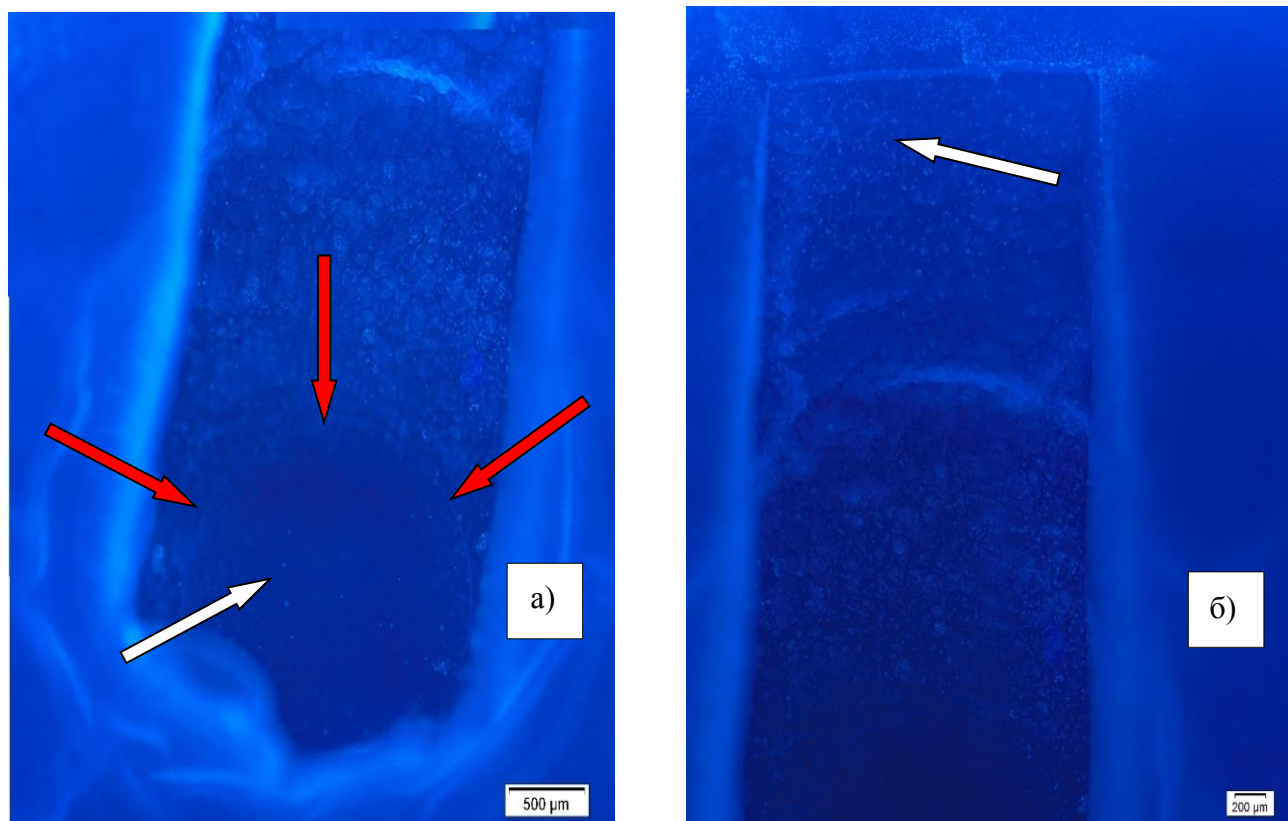
4.3.1. Флуоресцентная микроскопия

При проведении ФМ после окраски Hoechst 33258 в группах ГЭМА, ОУМА и ХК на поверхности «ложа» роговицы и «крышки» определяли скопления клеточных элементов, предположительно КСР (рисунок 37, 38, 39). Наибольшее количество клеток располагалось в проекции основания ВРК. В опытных группах (ГЭМА и ОУМА) скопления КСР на поверхности «ложа» визуально были более плотными, чем в контрольной группе ХК. Кроме того, на поверхности имплантированных ИКЛ обнаруживали единичные клеточные элементы, однако определить значимые различия в плотности адгезированных элементов в группах ГЭМА и ОУМА методом ФМ не представлялось возможным. В группе сравнения ОК на поверхности «ложа» и «крышки» ВРК клеточные элементы не визуализировались (рисунок 40).



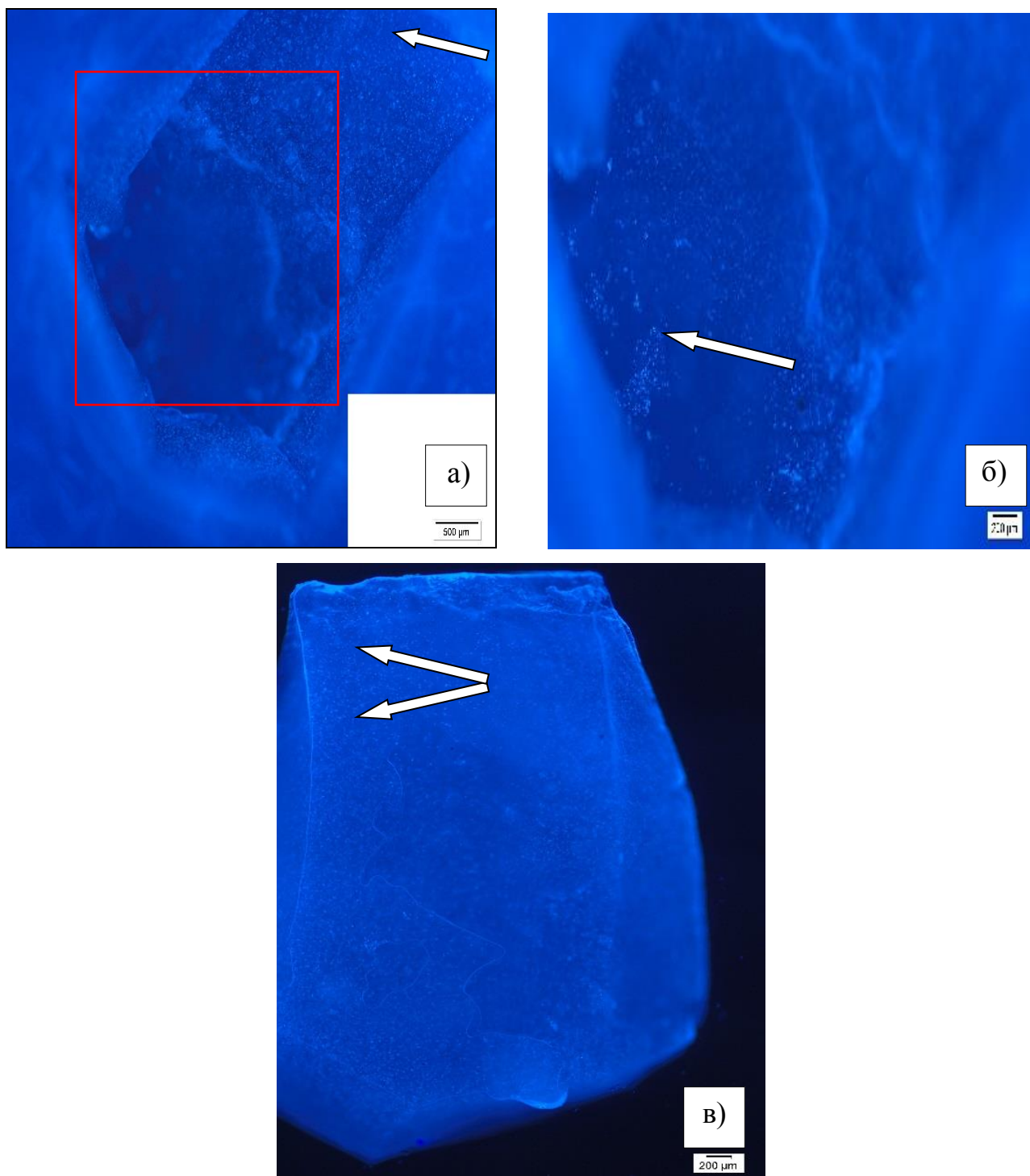
а) «Ложе» роговицы прямоугольной формы. ИКЛ (край отмечен красными стрелками) в «ложе». Скопления клеточных элементов отмечены белыми стрелками; б) Скопление клеточных элементов на внутренней поверхности «крышки» (отмечено стрелкой)

Рисунок 37 Флуоресцентная микроскопия. Группа «ГЭМА». Увеличение x40



а) «Ложе» ВРК прямоугольной формы. ИКЛ (красные стрелки) в «ложе». Клеточные элементы на поверхности имплантированной ИКЛ (белая стрелка); б) Скопления клеточных элементов на поверхности «ложа» роговицы в проекции основания ВРК (отмечено стрелкой)

Рисунок 38 Флуоресцентная микроскопия. Группа «ОУМА». Увеличение x40



а) «Ложе». Слепой конец ВРК (отмечен красным прямоугольником) сформирован глубже, чем его основание (отмечено белой стрелкой, покрыто многочисленными клетками); б) «Ложе». Слепой конец ВРК, отмеченный красным прямоугольником на рис. 5А. Поверхность также покрыта клетками (стрелка); в) Скопления клеточных элементов на поверхности «крышки» (отмечены стрелками)

Рисунок 39 Флуоресцентная микроскопия. Группа «ХК». Увеличение х40



Поверхность «крышки» ВРК. КСР не визуализируются.

Рисунок 40 Флуоресцентная микроскопия. Группа «ХК». Увеличение x40

Сравнение клеточно-тканевых реакций

Таблицы сопряжений, полученные при использовании точного критерия Фишера представлены ниже (Таблица 15, 16 и 17).

Таблица 15 – Сопряжения при проверке первой нулевой гипотезы. В ячейках — количество роговиц

Группа исследования		ХК	ОК	Всего
Условная клеточная реакция на поверхности имплантационного ложа	выраженная	4	0	4
	невыраженная	0	3	3
Всего		4	3	7

Таблица 16 – Сопряжения при проверке второй нулевой гипотезы. В ячейках — количество роговиц

Группа исследования		ГЭМА+ ОУМА	ХК	Всего
Условная клеточная реакция на поверхности имплантационного ложа	выраженная	6	4	10
	невыраженная	0	0	0
Всего		6	4	10

Таблица 17 – Сопряжения при проверке третьей нулевой гипотезы. В ячейках — количества ИКЛ

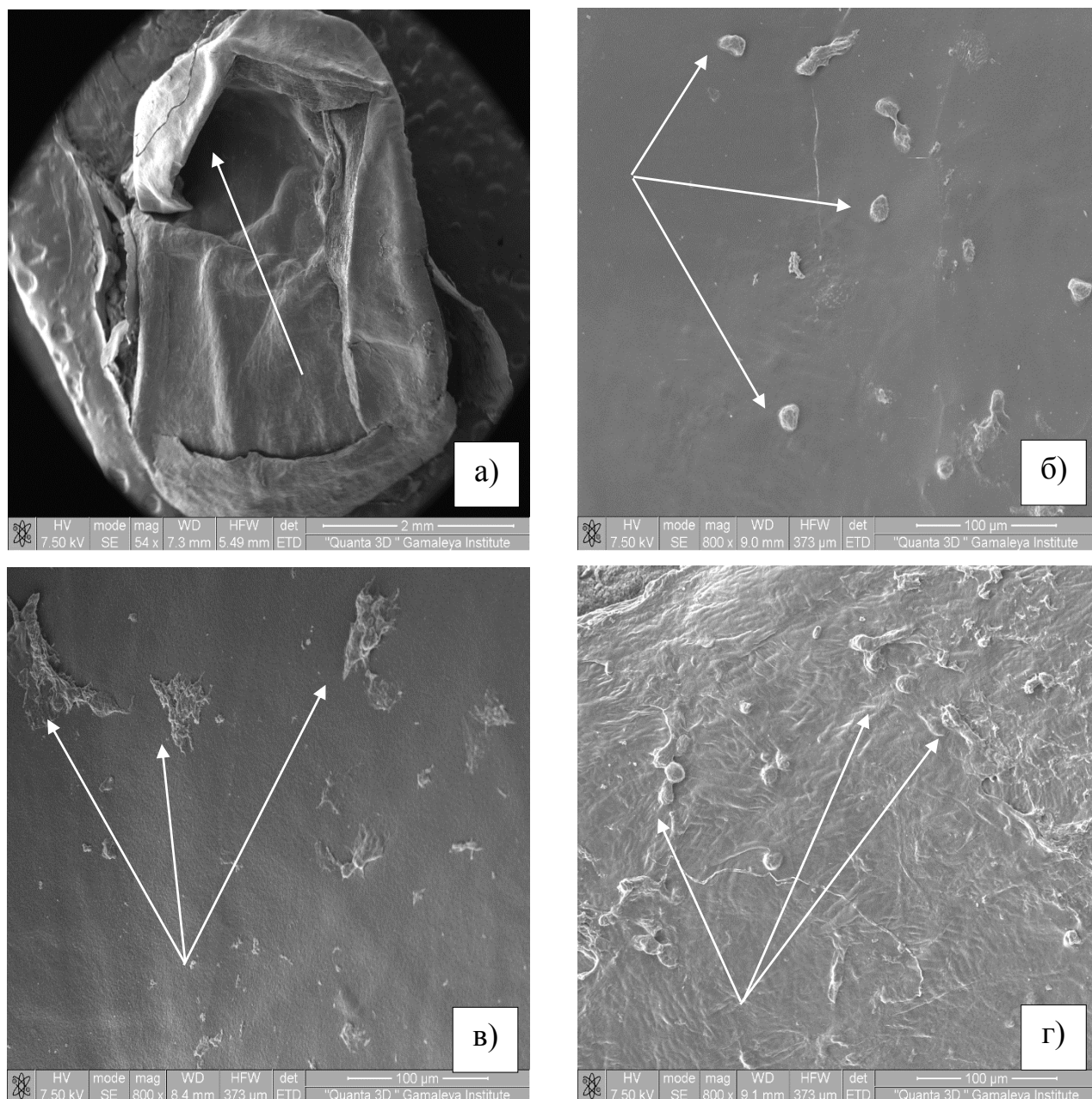
Группа исследования		ГЭМА	ОУМА	Всего
Условная клеточная реакция на поверхности ИКЛ	выраженная	0	0	0
	невыраженная	3	3	6
Всего		3	3	6

Оказалось, что выраженность клеточной реакции в группе “ХК” статистически значимо превышала таковую в группе “ОК” ($p=0,029$, точный критерий Фишера). Однако, не было обнаружено статистически значимых различий между выраженностью клеточной реакции в опытных группах и в группе сравнения “ХК” ($p=1,0$, точный критерий Фишера). Аналогично, не было обнаружено статистически значимых различий при сравнении групп ГЭМА и ОУМА, в связи с чем, можно предположить отсутствие зависимости между активностью клеток и материалом, из которого были изготовлены ИКЛ ($p=1,0$, точный критерий Фишера).

4.3.2. Сканирующая электронная микроскопия

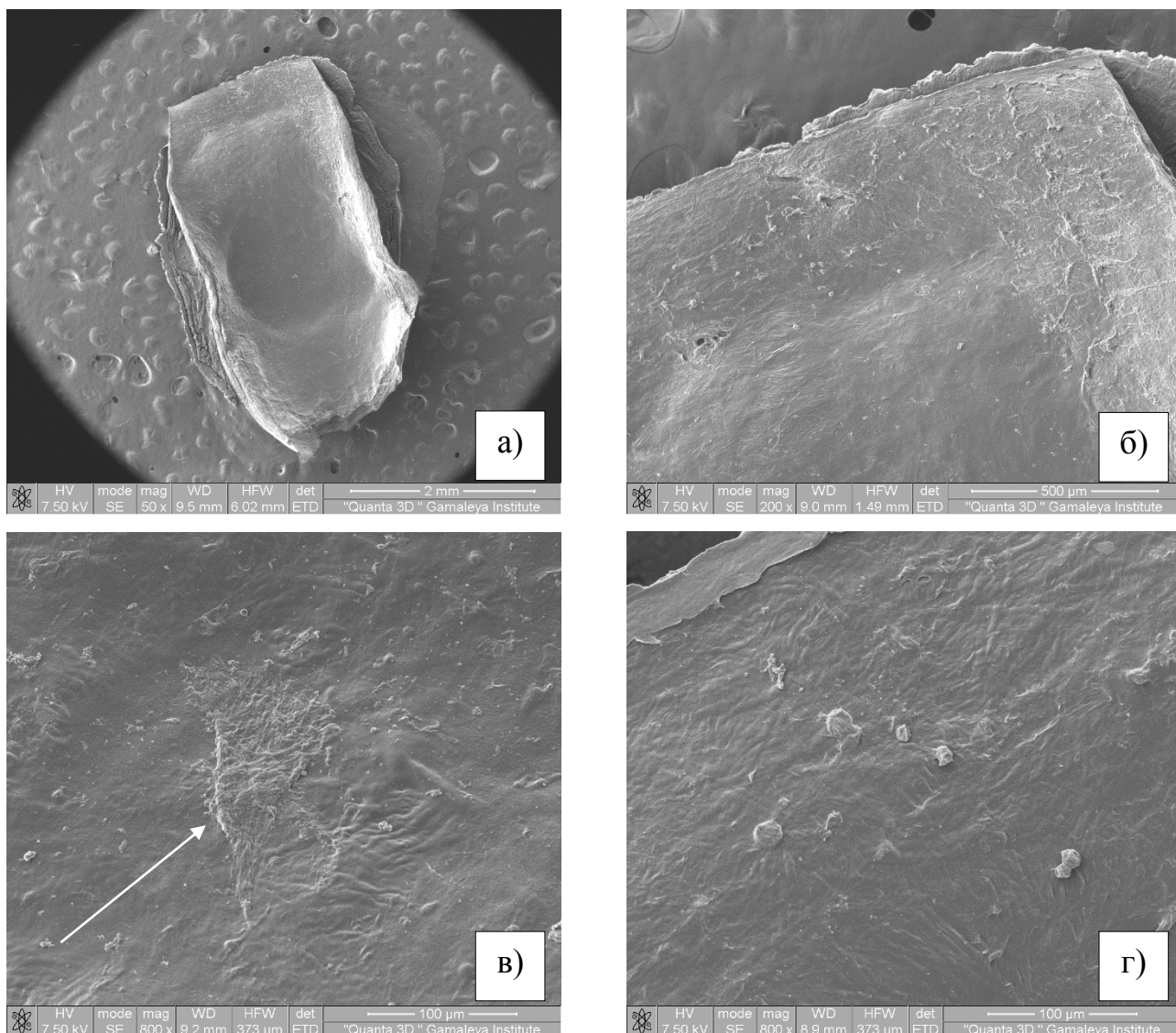
При СЭМ в группах ГЭМА, ОУМА и ХК на поверхности «ложа» роговицы определялись КСР в виде скоплений и отдельных элементов, волокнистые мембраны, по форме напоминающие соединительнотканые волокна, и

волокнисто-клеточные ассоциаты (рисунок 41). На электронограммах «крышки» обнаруживали аналогичные структуры, однако в значительно меньшем количестве, чем на поверхности «ложа» (рисунок 42).



а) Группа «ХК». Общий вид «ложа», ув. х54; б) Группа «ХК». Клеточные элементы (указаны стрелками), ув. х800; в) Группа ОУМА. Волокнистые мембраны (указаны стрелками), ув. х800; г) Группа ГЭМА. Клеточно-волоконные ассоциаты (указаны стрелками), ув. х800

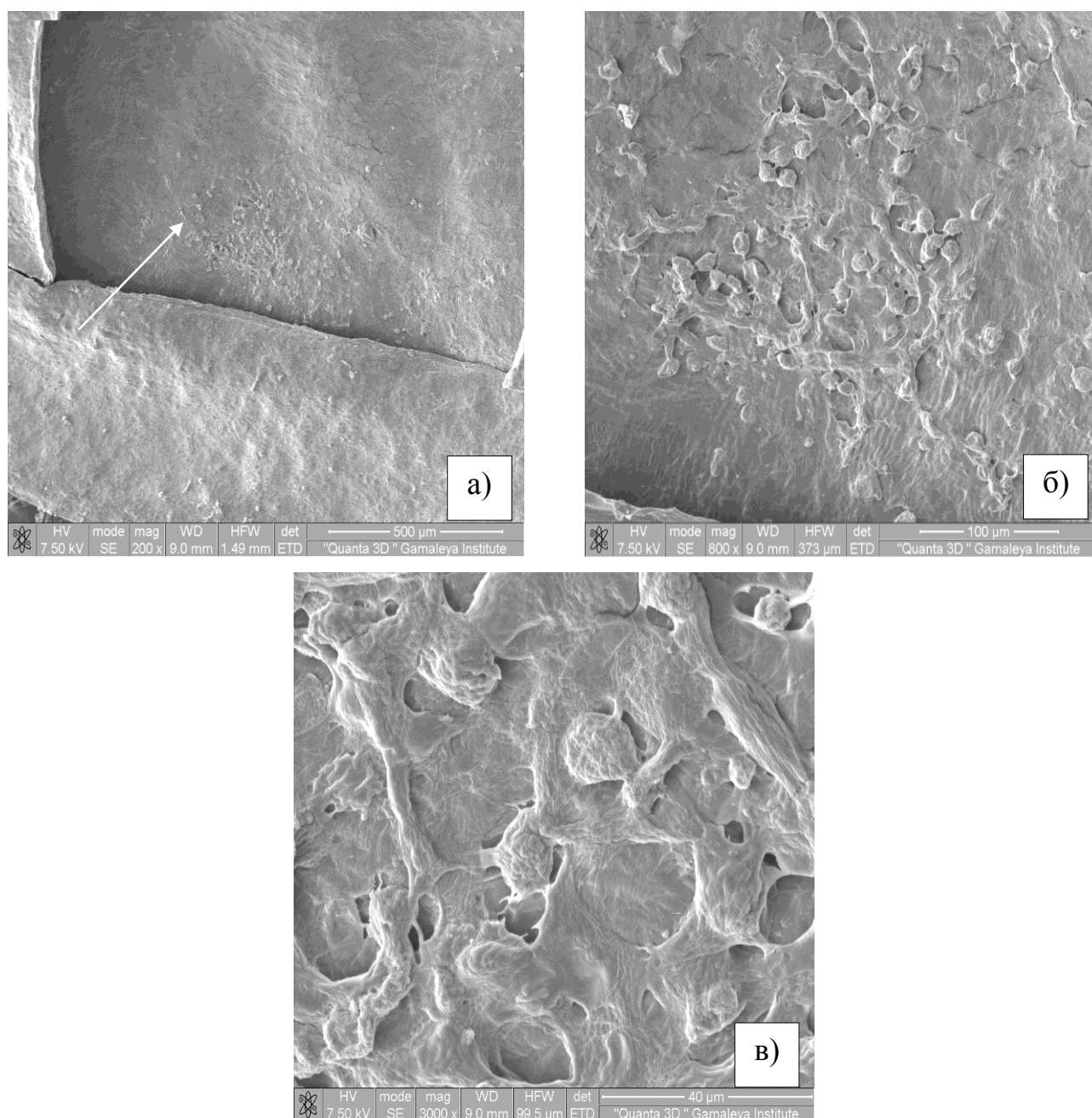
Рисунок 41 СЭМ. «Ложе» ВРК



а) Группа «ГЭМА». Общий вид «крышки», ув. х50; б) Группа ОУМА. Клеточно-волоконистые ассоциаты у основания ВРК, ув. х200; в) Группа «ХК». Волокнистая мембрана (указана стрелкой), ув. х800; г) Группа «ОУМА». Клеточные элементы, ув. х800

Рисунок 42 СЭМ. Поверхности «крышек» ВРК

Наибольшее количество клеток в группах ГЭМА, ОУМА и ХК локализовалось в проекции основания ВРК в виде выпуклых элементов округлой формы (рисунок 43).



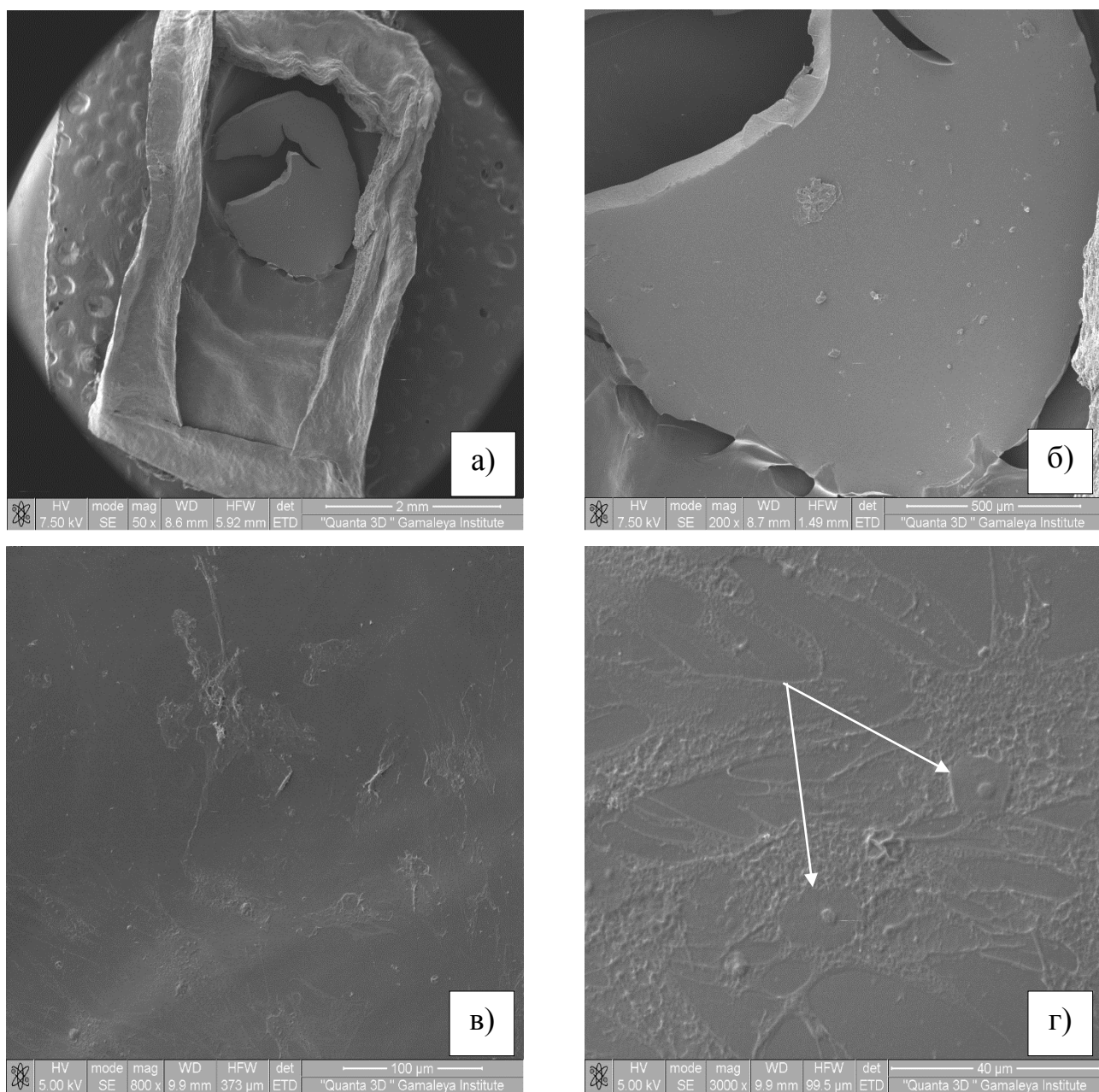
а) Основание ВРК, ув. $\times 200$; б) Волокнисто-клеточные ассоциаты, ув. $\times 800$;

в) Скопление выпуклых клеток округлой формы, ув. $\times 3000$

Рисунок 43 СЭМ. Группа «ГЭМА». Поверхность «ложа» ВРК

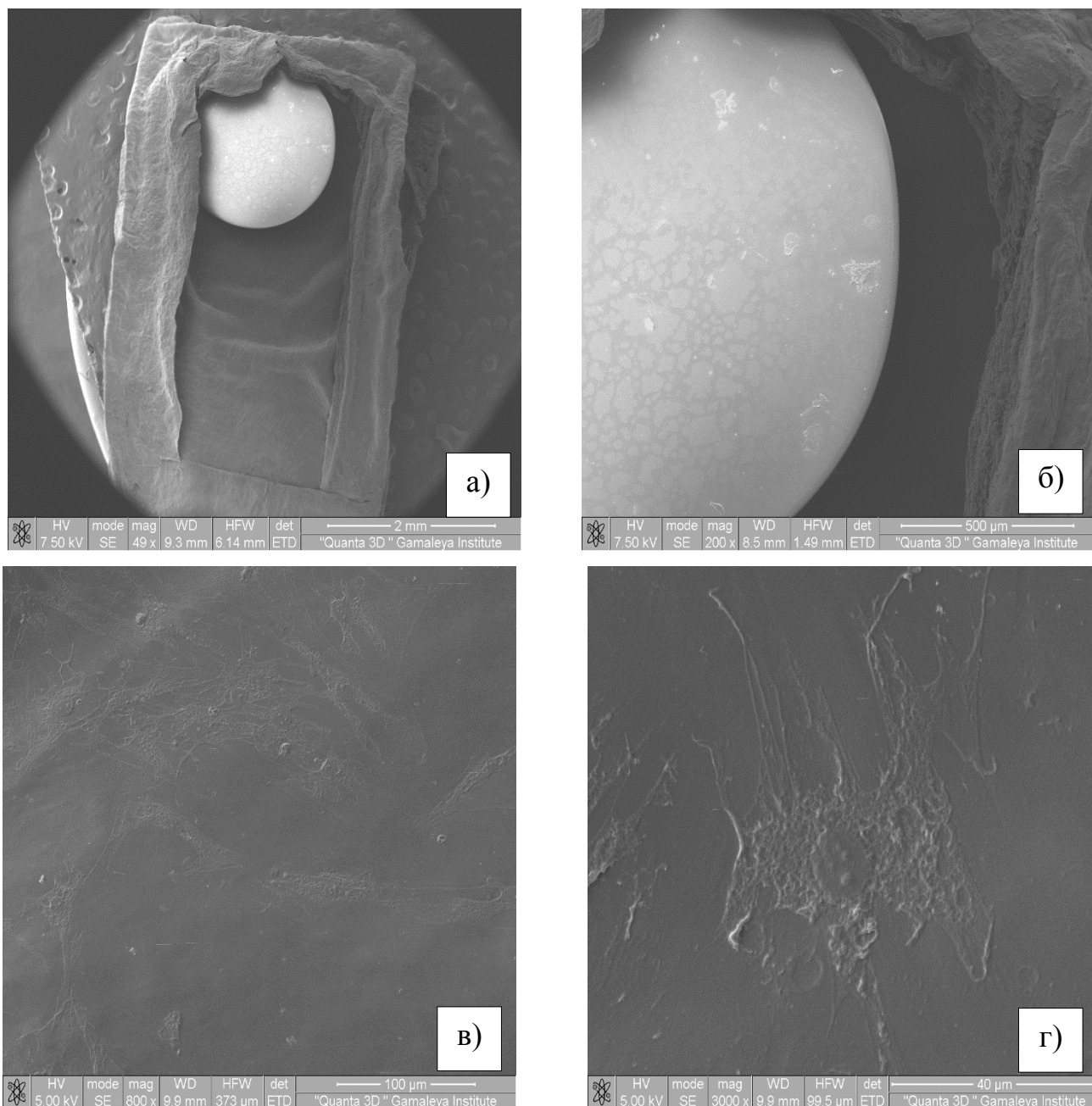
На поверхности имплантированных ИКЛ в опытных группах визуализировались клеточные элементы и немногочисленные волокнистые структуры. Клетки отличались по форме от обнаруженных у основания ВРК — выпуклых и округлых. Адгезировавшие к импланту клетки по форме напоминали фибробласты — уплощенные, с наличием ядер и нескольких отростков (рисунок

44, 45). Значимых визуальных отличий в плотности адгезированных клеток в группах ГЭМА и ОУМА методом СЭМ обнаружить не удалось.



- а) ВРК вскрыт, визуализируется ИКЛ (артифициально повреждена при вскрытии ВРК), ув. х50; б) Адгезировавшие волокнисто-клеточные структуры на поверхности ИКЛ, увеличение х200; в) Скопления клеток, ув. х800; г) Уплотненные клетки с множеством отростков (указаны стрелками), ув. х3000

Рисунок 44 СЭМ. Группа «ГЭМА». Поверхность ИКЛ

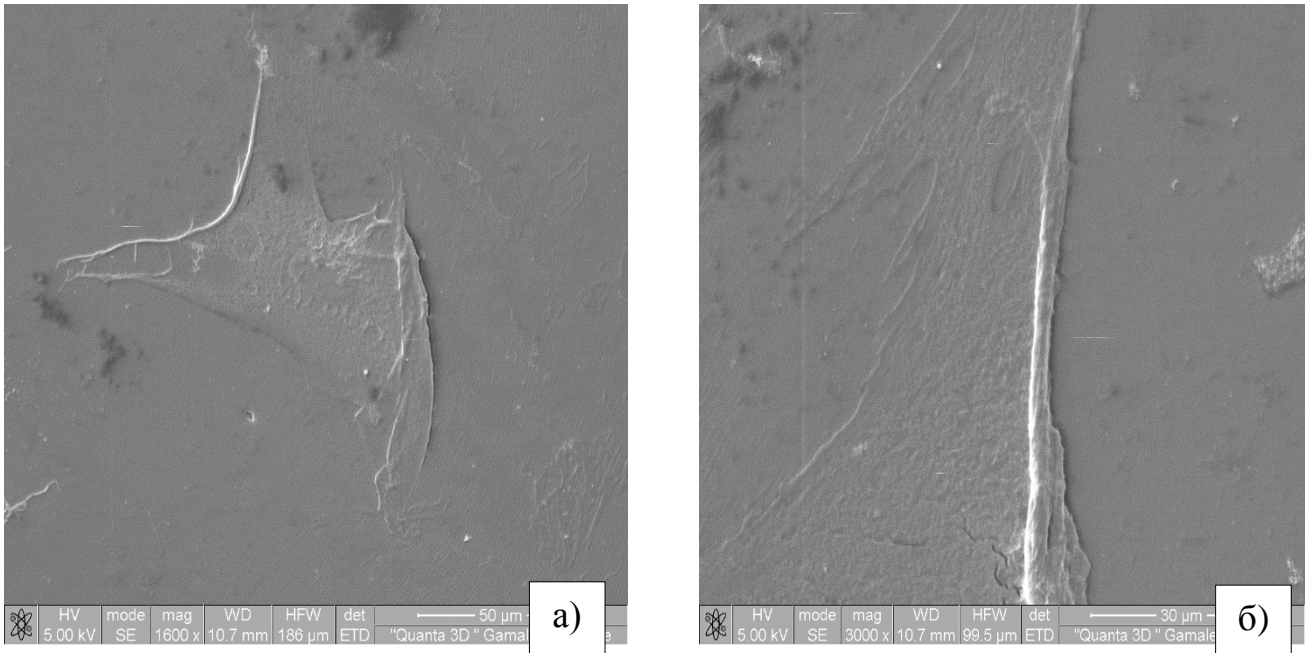


а) ВРК вскрыт, визуализируется ИКЛ, ув. х49; б) Адгезировавшие волокнисто-клеточные структуры на поверхности ИКЛ, ув. х200; в) Скопления клеток, ув. х800; г) Уплощенная клетка, имеющая ядро, несколько ядрышек, с множеством отростков, ув. х3000

Рисунок 45 СЭМ. Группа «ОУМА». Поверхность ИКЛ

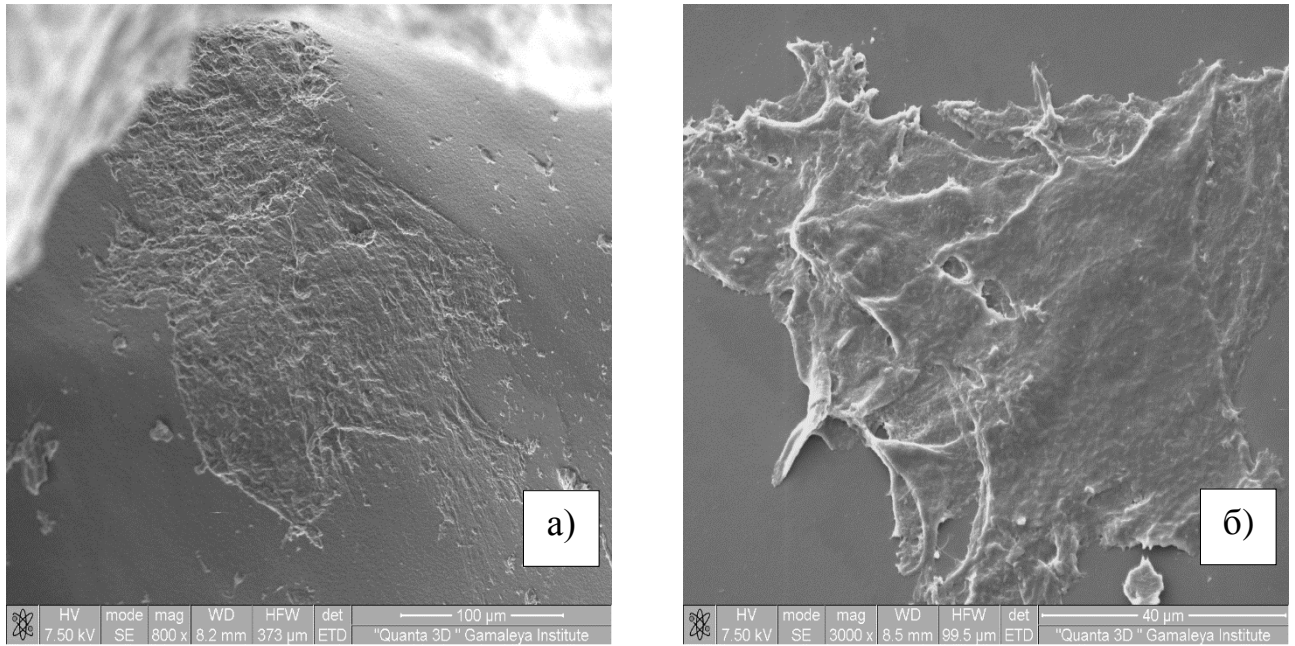
В группе ГЭМА на поверхности имплантированной ИКЛ определялись многочисленные волокнистые мембраны в виде «нежной сеточки», имеющие тенденцию к сворачиванию в «трубочку» (рисунок 46). В группе ОУМА мембраны визуализировались более «грубыми» и «плотными», однако были не

так многочисленны, как в группе ГЭМА (рисунок 47). В ходе исследования формирование грубой соединительнотканной капсулы вокруг импланта в опытных группах отмечено не было.



а) Волокнистая мембрана в виде «нежной сеточки», ув. x1600. б) Сворачивание мембраны в «трубочку», ув. x3000

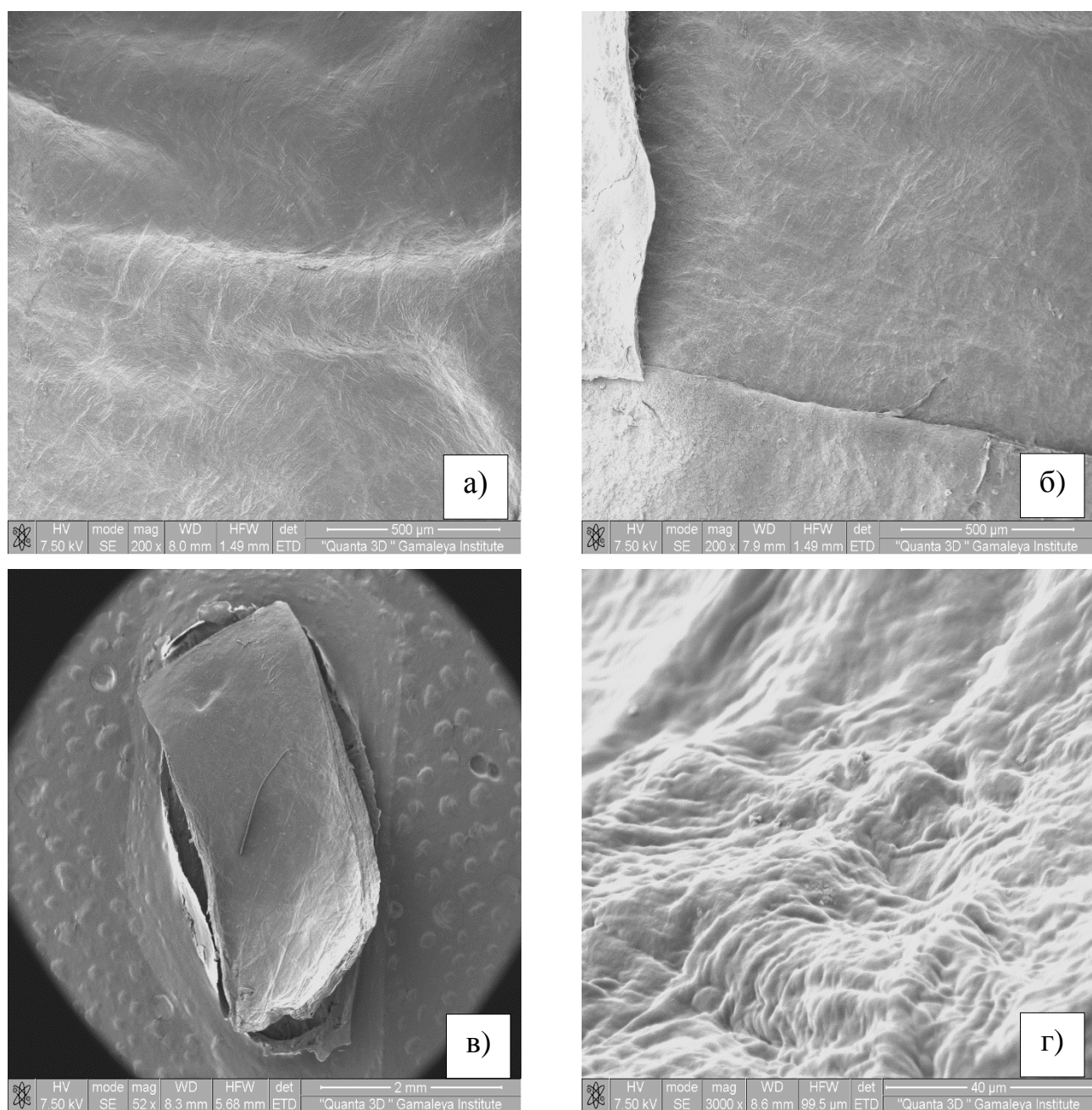
Рисунок 46 СЭМ. Группа «ГЭМА». Поверхность ИКЛ



а) Волокнистая структура в виде «плотной сеточки», ув. x800; б) Волокнистая мембрана, ув. x3000

Рисунок 47 СЭМ. Группа «ОУМА». Поверхность ИКЛ

На электронограммах поверхности «ложа» и «крышки» в группе ОК клеточно-волокнистые структуры не визуализировались (рисунок 48).



а) «Ложе» ВРК, клеточно-волокнистые структуры не визуализируются, увеличение $\times 200$; б) Основание ВРК, увеличение $\times 200$; в) Общий вид «крышки», увеличение $\times 52$; г) Поверхность «крышки» без видимых клеток и волокнистых мембран, увеличение $\times 3000$

Рисунок 48 СЭМ. Группа «ОК». Поверхность вскрытого ВРК

Появление в интерфейсе ВРК клеток после проведения органного культивирования в группах ГЭМА, ОУМА и ХК вероятно было обусловлено реакцией ткани роговицы на хирургическую травму. Наибольшее количество клеток в указанных группах располагалось в проекции основания ВРК, что возможно было обусловлено близостью лимбальной зоны. Отсутствие КСР на поверхности «ложа» и «крышки» в контрольной группе «ОК» было связано с тем, что препараты этой группы фиксировали сразу же по окончании хирургического этапа, исключая возможность клеточной миграции и пролиферации.

Обнаружение клеточных и волокнистых элементов на внутренней поверхности «крышки» в меньшем количестве, чем на «ложе», по всей вероятности, было обусловлено механическим вскрытием ВРК и последующими манипуляциями с тонким слоем ткани в виде передних слоев стромы роговицы.

На поверхности ИКЛ в опытных группах обнаруживались адгезировавшие клеточно-волокнистые элементы, которые, однако не образовывали единого монослоя ни в группе ГЭМА, ни в группе ОУМА, в связи с чем можно предположить наличие у исследуемых полимерных материалов минимальных адгезивных свойств.

При имплантации полимерной ИКЛ с рефракционной целью не должно происходить образования грубой соединительнотканной капсулы, при этом минимальная адгезия клеточно-волокнистых структур на поверхности импланта также является необходимым условием для сохранения оптических свойств роговицы. Согласно результатам проведенного исследования *ex vivo* разработанные линзы не имели тенденции к инкапсуляции. В группе ГЭМА волокнистые мембраны визуально были менее плотными, чем в группе ОУМА, что представляется на наш взгляд важным для имплантации в оптическую зону. Однако, обнаруженные мембраны в виде «нежной сеточки» были многочисленны в группе ГЭМА, в то время как «плотные» волокнистые образования на поверхности ИКЛ из ОУМА были единичны.

Было выявлено статистически значимое влияние процесса органного культивирования на выраженность клеточной реакции на внутренней

поверхности 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 ($p=1,0$).

Таким образом, результаты проведенного экспериментально-морфологического исследования *ex vivo* позволяют заключить, что нахождение разработанных ИКЛ в строме роговиц вызвало клеточно-тканевую реакцию, сопоставимую по уровню с таковой, вызываемой идентичным хирургическим вмешательством, но без имплантации ИКЛ. Изделия из обоих полимерных материалов (ГЭМА и ОУМА) представляются потенциально пригодными для интракорнеальной имплантации и могут быть рекомендованы к дальнейшему изучению в клинических условиях, поскольку являются биологически совместимыми. Однако необходимо создание технологии имплантации разработанных ИКЛ и решение 5-ой задачи диссертационной работы.

4.4. Технология имплантации разработанных ИКЛ

Целью данной части работы явилась разработка технологии имплантации ИКЛ, изготовленных из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА.

Для достижения поставленной цели исследования были сформулированы и решены следующие задачи: разработать оригинальный инструмент для имплантации полимерных ИКЛ из ГЭМА и ОУМА и оптимизировать технологию имплантации ИКЛ для хирургической коррекции пресбиопии.

4.4.1. Разработка оригинального инструмента

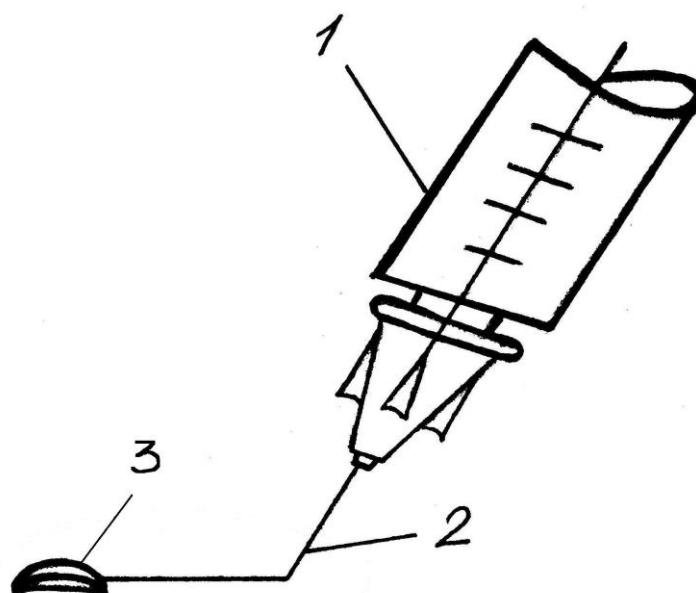
Разработка инструмента для доставки линзы на роговичное ложе представляла определенные трудности, так как необходимо было учитывать возможные ограниченные движения рабочей части инструмента в пределах ВРК.

ИКЛ должны располагаться в наиболее тонкой центральной зоне прозрачной роговой оболочки с рефракционной целью, что обуславливает важность прецизионной точности при центрировании линзы относительно оптической оси. Хирург при имплантации ИКЛ для коррекции пресбиопии неизбежно сталкивается со сложностью манипуляций с эластичным изделием малого диаметра.

Известен инструмент для имплантации интраокулярной рефракционной линзы в переднюю и заднюю камеры глаза по патенту РФ на изобретение № 2242956. Инструмент состоит из рукоятки и канюли, которая в свою очередь соединена с рукояткой и имеет дистальную часть, отходящую от рукоятки инструмента. Канюля плавно соединена с вакуумным источником и интраоперационно служит резервуаром для жидкости. Дистальная часть канюли служит для придания линзе сложенной формы для интраокулярной имплантации. Дистальная часть содержит отверстия, необходимые как для обеспечения вакуума для удержания линзы в сложенной форме на первом этапе операции, так и для выхода из них жидкости для расправления линзы на втором этапе операции.

Данное изобретение было использовано в качестве прототипа для создания оригинального инструмента для имплантации разработанных ИКЛ для коррекции пресбиопии, при этом были учтены недостатки прототипа. Среди них: потенциальная возможность деформации импланта из низкоэластичного материала, формирования микроскладок ИКЛ при расправлении на втором этапе операции из-за ограниченного пространства во ВРК, что может повлечь за собой снижение зрительной удовлетворенности пациентов. Учитывая предполагаемые сложности имплантации, предпочтительным представляется инструмент, не требующий придание ИКЛ сложенной формы.

Разработанный оригинальный инструмент для имплантации ИКЛ, согласно патенту на изобретение № 2015109249, состоит из рукоятки и канюли, соединенных между собой (рисунок 49), концевая часть канюли представлена рабочей частью, выполненной из биологически инертного материала (рисунок 50).

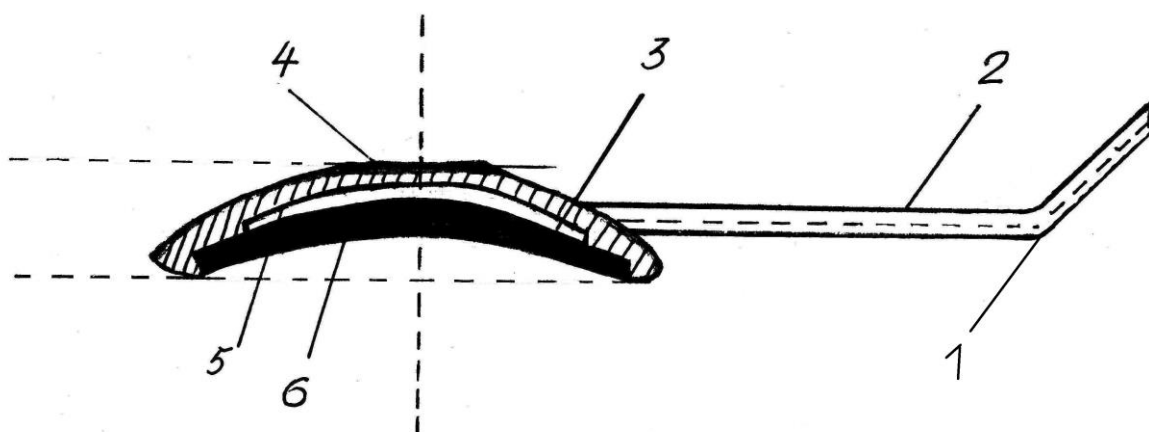


1 – рукоятка; 2 – канюля; 3 – рабочая часть инструмента

Рисунок 49 Инструмент для имплантации ИКЛ. Общий вид

Рабочая часть инструмента имеет переднюю и заднюю поверхность, при этом передняя поверхность выпуклой формы, а задняя вогнутой, конгруэнтной передней поверхности ИКЛ. 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° полый 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 – изгиб канюли; 2 – канюля; 3 – рабочая часть инструмента; 4 – передняя поверхность рабочей части; 5 – задняя поверхность рабочей части; 6 – ИКЛ

Рисунок 50 Рабочая часть инструмента для имплантации ИКЛ, в разрезе

Работа инструмента заключается в том, что ИКЛ размещается на задней поверхности рабочей части. С помощью рукоятки, выполненной в виде шприца, создается вакуум, необходимый для фиксации ИКЛ в заданном положении. Рабочая часть вместе с канюлей до места ее изгиба вводится в сформированный ВРК таким образом, чтобы поперечная ось рабочей части совместилась со зрительной осью глаза пациента. При снятии вакуума ИКЛ отсоединяется от задней поверхности рабочей части. После снятия вакуума из рукоятки через канюлю и рабочую часть в ВРК подается физиологический раствор для дополнительного расправления ИКЛ. Рабочая часть вместе с канюлей удаляется из операционного поля.

Разработанный оригинальный инструмент был использован для оптимизации технологии имплантации ИКЛ⁹.

⁹ Разработка оригинального инструмента проводилась совместно с ЭТП «МГ» - филиалом ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова» Минздрава России, при поддержке Латыпова И. А.

4.4.2. Оптимизация технологии имплантации ИКЛ

При имплантации ИКЛ формируется роговичный клапан или ВРК с помощью энергии фемтосекундного лазера или микрокератомом, после чего, используя различные инструменты, хирург располагает имплант на роговичном ложе. В том случае, когда у пациента ранее была выполнена операция ЛАЗИК, возможно проведение лифтинга клапана, размещение линзы по оптической оси, с последующим укладыванием клапана [225]. При формировании имплантационного ложа для ИКЛ повреждается значительное количество нервных волокон в строме, что может приводить в послеоперационном периоде к появлению симптомов синдрома сухого глаза [175, 241]. Однако, частота возникновения и выраженность жалоб при имплантации линзы в роговичный карман меньше, по сравнению с применением клапанной технологии [161, 252]. В тоже время, согласно проведенному математическому моделированию (см. 3.1.), при использовании роговичного кармана в качестве имплантационного ложа послеоперационный рефракционный эффект является более прогнозируемым. В связи с чем, формирование ВРК для ИКЛ с целью коррекции пресбиопии представляется более перспективным.

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 (см. 4.4.2.);
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.

Таким образом, при решении 5 задачи диссертационной работы, разработан оригинальный инструмент для имплантации полимерных ИКЛ, при этом были учтены технические сложности, с которыми может столкнуться хирург, среди них ограниченные движения рабочей части инструмента в пределах ВРК, сложность манипуляций с эластичным изделием малого диаметра. Оптимизированная технология имплантации ИКЛ проста в выполнении и может быть применена на сегодняшний день на любой фемтолазерной установке, что расширяет возможности использования интракорнеальной имплантации линз в коррекции пресбиопии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Старение человеческой популяции приводит к ежегодному росту распространенности пресбиопии в мире [138]. Имплантация интракорнеальных линз (ИКЛ) является динамично развивающимся направлением в хирургической коррекции пресбиопии, обретающим все большую популярность у офтальмохирургов [106]. На сегодняшний день зарегистрированных на территории Российской Федерации и разрешенных к использованию в клинической практике ИКЛ не существует. Таким образом, актуальной представляется их разработка и изготовление.

В целом, все имплантируемые материалы так или иначе взаимодействуют с тканью имплантационного ложа. В зависимости от типа взаимодействия, выделяют материалы: **токсичные** (материал вызывает гибель клеток в зоне имплантации), **инертные** (вокруг материала образуется волокнистая непрлегающая ткань), **биоактивные** (возникает прилегающая межповерхностная связь материала и ткани, инкапсуляция минимальна), **биорезорбируемые** (материал по мере растворения замещается тканью организма хозяина, продукты растворения должны быть нетоксичны). Все перечисленные типы материалов, кроме токсичных, считаются биосовместимыми [76]. Тем не менее, в соответствии с изложенной классификацией и клиническими требованиями, материал интракорнеальной линзы не должен быть ни токсичным, ни биорезорбируемым и не должен инкапсулироваться, иными словами, должен находиться в строме роговицы сколь угодно долго без провокации помутнения и расплавления последней, сохраняя изначально заданную форму и оптические свойства [16].

Среди доступных эластичных материалов, имеющих положительный опыт применения в офтальмохирургии (ИОЛ, внутрикапсульные кольца и др.), в данной работе были выбраны два полимера, обладающие высокой эластичностью и оптической прозрачностью - на основе гидроксипропилметакрилата (ГЭМА) и

олигоуретанметакрилата (ОУМА) [43,44]. Данные материалы представляются потенциально пригодными для создания ИКЛ, что требует доклинического исследования их биологической совместимости с тканью роговицы.

В связи с необходимостью разработки отечественных ИКЛ для коррекции пресбиопии была сформулирована цель настоящего исследования – экспериментально-морфологическое обоснование возможности имплантации интракорнеальных линз, изготовленных из полимерных материалов на основе гидроксиэтилметакрилата (ГЭМА) и олигоуретанметакрилата (ОУМА).

Для достижения поставленной цели работа была разделена на 5 этапов соответствующих задачам исследования, которые включали в себя расчет геометрических параметров ИКЛ, изготовленных из ГЭМА и ОУМА, на основе изучения физических аспектов, математического моделирования процессов взаимодействия внутрироговичного импланта и ткани роговицы; изучение клеточной реакции на различные материалы, потенциально пригодные для изготовления ИКЛ (ГЭМА, ОУМА) на основании двухмерного клеточного культивирования *in vitro*; изучение влияния разработанных ИКЛ, на структуры переднего отрезка глаза экспериментального животного в экспериментально-морфологическом исследовании *in vivo*; изучение реакции роговицы донора-трупа на имплантацию разработанных ИКЛ в экспериментально-морфологическом исследовании *ex vivo*; разработку технологии имплантации ИКЛ, изготовленных из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА.

Первым этапом работы явилось математическое моделирование, 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 облепанием

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.

Была выведена формула для расчета радиуса кривизны передней поверхности ИКЛ, что сделало возможным индивидуализированный подход к хирургическому вмешательству:

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

где R – искомый радиус кривизны передней поверхности ИКЛ (мм), $N_{\text{рогов}}$ – показатель преломления стромы роговицы – 1,376, $N_{\text{матер}}$ – 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).

Были рассчитаны геометрические параметры ИКЛ из полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА, с учетом особенностей строения роговицы человека, что предопределило необходимость доклинического изучения разработанных ИКЛ и решение последующих задач диссертационной работы.

Была проведена серия экспериментально-морфологических исследований, при этом биосовместимость полимерных материалов на основе ГЭМА и ОУМА изучена на нескольких экспериментальных моделях: культура клеток стромы роговицы (*in vitro*), глаза экспериментальных животных (*in vivo*) и глазные яблоки доноров-трупов (*ex vivo*).

Второй этап работы – экспериментально-морфологическое исследование *in vitro*. Для постановки эксперимента были изготовлены образцы материалов в

форме «шайб» высотой 0,5 мм и диаметром 10 мм. Геометрические параметры их 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.

При проведении 2D культивирования клеток стромы роговицы человека в присутствии опытных образцов различных полимеров (ГЭМА, ОУМА и ПММА) подсчитывали количество клеток в контрольные сроки с последующим построением графиков, отражающих динамику количества клеток. На основании полученных данных делали вывод о биосовместимости и адгезивных свойствах исследуемых материалов.

В каждой из экспериментальных групп отмечалась тенденция к планомерному увеличению количества клеток с 1-х к 6-ым суткам наблюдения, 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), что является предпочтительным для интракорнеальной имплантации в оптической зоне. При сравнении полученных результатов на 6-е сутки - клетки в присутствии материала ГЭМА проявили достоверно меньшую тенденцию к пролиферации, чем в присутствии ОУМА ($p < 0,001$). Однако различия числовых значений оказались статистически достоверными не во всех сроках наблюдения. Полученные результаты подтвердили потенциальную пригодность исследуемых материалов для интракорнеальной имплантации, однако требовалось их дальнейшее изучение в условиях *in vivo*.

Полученные в ходе второго этапа работы результаты согласуются с данными литературы: исследуемые материалы не являются токсичными, биосовместимость их с тканью роговицы выше, чем у давно используемого инертного материала на основе ПММА [43, 44, 103, 157].

Третий этап – эксперимент *in vivo*, для постановки которого потребовалось изготовление производителями экспериментальных изделий из полимеров на основе ГЭМА (ООО «Научно-экспериментальное производство МГ» г. Москва) и на основе ОУМА (ООО «Репер-НН», г. Нижний Новгород). Согласно техническому заданию, полученные изделия должны обладать следующими параметрами: оптически прозрачные ИКЛ с гладкой поверхностью, с толщиной в центральной зоне 50 мкм и диаметром 2 мм. Данные параметры были определены эмпирически. Полученные от производителей экспериментальные изделия изучались методами акустической микроскопии и СЭМ на предмет соответствия техническому заданию.

По результатам акустомикроскопического исследования толщина изготовленного экспериментального изделия из полимерного материала на основе ГЭМА оказалась больше на 16% больше, а на основе ОУМА на 6% больше, 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. Однако, 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 животных, которых после хирургического вмешательства наблюдали в течение 3 месяцев, далее часть животных (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 их из эксперимента. Было проведено биомикроскопическое исследование, офтальмоскопия в условиях мидриаза, ОКТ, прижизненная конфокальная микроскопия, световая микроскопия.

В ходе проведенного исследования было показано, что разработанные ИКЛ при имплантации не вызвали выраженной воспалительной реакции глаза кролика, визуализируемой биомикроскопически и офтальмоскопически, имели 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).

При поверхностной имплантации (менее 150 мкм) возможно развитие асептического некроза стромы роговицы над линзой с последующей экструзией ее к 3 месяцу после операции. При незавершенной адгезии ВРК возможна децентрация ИКЛ.

На сроке наблюдения 2 месяца после эксплантации 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.

Разработке ИКЛ для коррекции пресбиопии посвящен ряд экспериментальных работ. Kim E. (2013) изучил ИКЛ из гидрофильного полимерного материала (гидрогель) с оптической силой +3,60 дптр, толщиной в центре 29 мкм, диаметром 5 мм на модели глаза животного [160]. Была доказана биосовместимость линзы, при имплантации произошло увеличение толщины

роговицы в ее проекции в среднем на 14 мкм (роговичный клапан 120 мкм, группа 1), на 22 мкм (роговичный клапан 160 мкм, группа 2). Согласно данным кератотопографии, автор отмечает уменьшение радиуса кривизны передней поверхности роговицы на 0,44 мм (группа 1) и 0,40 мм (группа 2), однако полученные данные оказались статистически недостоверными, что мы связываем со сложностью получения у животных повторяемых снимков кератотопограммы.

Sweeney D.F. (2008 г.) и соавторы изучили биосовместимость ИКЛ из полимерного материала на основе перфторэтилена, изготавливаемых методом фотополимеризации [230]. Исследования проводились на моделях глаза кролика, кошки и свиньи, при имплантации не отмечалось развития выраженной воспалительной реакции, имплант оставался прозрачным, однако вокруг него обнаружили отложения непрозрачных депозитов, которые, согласно авторам, возможно являлись дегенеративно измененными КРС в ответ на имплантацию [122, 230, 248].

Результаты, полученные в ходе третьего этапа работы, не противоречили литературным данным по исследованию биосовместимости полимерных материалов, что предопределило необходимость дальнейшего изучения разработанных ИКЛ (ГЭМА, ОУМА) на модели роговицы человека.

Четвертый этап – экспериментально-морфологическое исследование *ex vivo*, для постановки которого потребовалось изготовление производителями изделий из исследуемых полимеров, геометрические параметры которых были рассчитаны в ходе выполнения первого этапа работы.

В эксперимент вошло 13 роговиц донора-трупа, в 6 из которых были имплантированы разработанные ИКЛ. Роговицы культивировали в течение 3 месяцев, затем оценивали выраженность тканевой реакции по степени покрытия поверхностей клеточными элементами методами флуоресцентной микроскопии и сканирующей электронной микроскопии.

По окончании исследования на поверхности ИКЛ в опытных группах обнаруживались адгезировавшие клеточно-волоконистые элементы, которые,

однако не образовывали единого монослоя ни в группе ГЭМА, ни в группе ОУМА, в связи с чем можно предположить наличие у исследуемых полимерных материалов минимальных адгезивных свойств. Разработанные линзы не имели тенденции к инкапсуляции. В группе ГЭМА волокнистые мембраны визуально были менее плотными, чем в группе ОУМА, что представляется на наш взгляд важным для имплантации в оптическую зону. Однако, обнаруженные мембраны в виде «нежной сеточки» были многочисленны в группе ГЭМА, в то время как «плотные» волокнистые образования на поверхности ИКЛ из ОУМА были единичны.

Было выявлено статистически значимое влияние процесса органного культивирования на выраженность клеточной реакции на внутренней поверхности 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 ($p=1,0$).

Нахождение разработанных ИКЛ в строме роговиц вызвало клеточно-тканевую реакцию, сопоставимую по уровню с таковой, вызываемой идентичным хирургическим вмешательством, но без имплантации ИКЛ. Изделия из обоих полимерных материалов (ГЭМА и ОУМА) представляются потенциально пригодными для интракорнеальной имплантации и могут быть рекомендованы к дальнейшему изучению в клинических условиях, поскольку являются биологически совместимыми.

Впервые для изучения биосовместимости полимерных материалов, потенциально пригодных для интракорнеальной имплантации, в нашей работе была выбрана модель органной культуры роговицы человека. Длительное время в офтальмологии использовали глаза животных в качестве экспериментальной модели [71, 108]. Однако, в настоящее время наблюдается тенденция к увеличению количества исследований в условиях *in vitro* и *ex vivo* [74, 100, 156]. Данное явление можно связать с тем, что клеточные и органные культуры

представляются более стандартизованными, т.е. обладающими значительно меньшей вариабельностью параметров между отдельными экспериментальными объектами [208].

Согласно результатам проведенных исследований *in vitro* и *ex vivo* биосовместимость разработанных ИКЛ на основе ГЭМА была выше, чем у ИКЛ на основе ОУМА. Однако, в эксперименте *in vivo* фибропластическая реакция была более выраженная при имплантации ИКЛ из ГЭМА. Полученные результаты согласуются с литературными данными (патент РФ № 2288494), согласно которым полимеры с гидрофильными свойствами, должны обладать большей биологической совместимостью (ГЭМА), по сравнению с гидрофобными материалами (ОУМА). Однако необходимость механической обработки поверхностей ИКЛ из ГЭМА в негидратированном состоянии обуславливает невозможность изготовления изделия сопоставимого по качеству поверхностей с ИКЛ из ОУМА, что требует усовершенствования технологии производства.

Создание технологии имплантации ИКЛ явилось пятым завершающим этапом диссертационной работы. На сегодняшний день для доставки современных ИКЛ на роговичное ложе существуют различные инструменты, индивидуальные для каждой модели линз (патенты US № 20060004381A1, US № 006596000B2, US № 007207998B2, WO 134077A1). Механизм их действия основан на введении рабочей части в оптическую зону роговицы, с последующим позиционированием ИКЛ путем подачи потока жидкости, воздуха или механически с помощью плунжера. 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. Рабочая часть инструмента имеет переднюю и заднюю поверхность,

при этом передняя поверхность выпуклой формы, а задняя вогнутой, конгруэнтной передней поверхности ИКЛ. 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° полый 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.

Оригинальный инструмент использовали в оптимизированной технологии имплантации ИКЛ для коррекции пресбиопии. **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;

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 использования интракорнеальной имплантации линз в коррекции пресбиопии.

Таким образом, с учетом результатов математического моделирования разработаны ИКЛ, изготовленные из полимерных материалов на основе ГЭМА

или ОУМА, предназначенные для хирургической коррекции пресбиопии. На основании экспериментально-морфологических исследований доказана их нетоксичность, низкая адгезивная способность КСР в присутствии образцов данных материалов, при имплантации ИКЛ не вызывают выраженной воспалительной реакции глаза экспериментального животного, фибропластическая реакция на нахождение импланта в строме роговицы донора трупа незначительна и проявляется в формировании биомикроскопически не визуализируемой псевдоцеллюлярной мембраны.

Биологическая совместимость полимера на основе ГЭМА, в проведенных экспериментах *in vitro* и *ex vivo*, ожидаемо оказалась несколько выше, чем у материала ОУМА, так как материал обладает гидрофильными свойствами. Однако ИКЛ из ОУМА отличались большим соответствием техническому заданию на изготовление изделий, в эксперименте *in vivo* клеточно-тканевая реакция на ИКЛ из ОУМА была менее выражена, что подтвердило их большую инертность. Необходимость механической обработки поверхностей ИКЛ из ГЭМА в негидратированном состоянии обуславливает невозможность изготовления изделия сопоставимого по качеству поверхностей с ИКЛ из ОУМА, что требует усовершенствования технологии производства.

Оптимизирована технология доставки разработанных ИКЛ на роговичное ложе с использованием оригинального инструмента, который должен обеспечить прецизионную работу с эластичным изделием малого диаметра.

Проведенное доклиническое исследование ИКЛ подтверждает их высокую биосовместимость, разработанные изделия могут быть рекомендованы к дальнейшему изучению в клинических условиях.

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.

ОСНОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ВРК – внутрироговичный карман

Г-Э – гематоксилин-эозин

ГЭМА – гидроксиэтилметакрилат

ГЯДТ – глазное яблоко донора-трупа

дптр – диоптрия

ЗОА – запас относительной аккомодации

ИКЛ – интракорнеальная линза

ИОЛ – интраокулярная линза

КСР – клетки стромы роговицы

ЛАЗИК – лазерный кератомилез in Situ

МКЛ – мягкие контактные линзы

мкм – микрометр

ОАА – объем абсолютной аккомодации

ОУМА – олигоуретанметакрилат

ОКТ – оптическая когерентная томография

ОК – острый контроль

ПММА – полиметилметакрилат

РСД – роговично-склеральный диск

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

УБМ – ультразвуковая биомикроскопия

ФМ – флуоресцентная микроскопия

ХК – хронический контроль

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Аветисов Э. С., Аветисов С. Э. Возрастные особенности аккомодации и рефракции В кн.: Глазные болезни под ред. Копаевой В. Г. – М., Медицина. – 2002. – С. 102-107
2. Аветисов С.Э., Егорова Г.Б., Бородина Н.В. Возрастная недостаточность аккомодации (пресбиопия): терминология, теории возникновения, принципы коррекции Вестник офтальмологии 2004. -N 5. -С.51-54
3. Аветисов С. Э., Егорова Г. Б., Бородина Н. В. Коррекция пресбиопии контактными линзами сложных конструкций // Глаз. – 2004. - №2. – С. 2-6
4. Аксенова Е. Б., Ретунских Л. Я. Методы коррекции пресбиопии контактными линзами // Современная оптометрия. 2011. № 6. С. 39-41
5. Анисимов С.И., Семёнов С.В., Новак И.В., Сивцева В.В. Отдалённые результаты лазерной коррекции пресбиопии методом Супракор. Современные технологии в офтальмологии. – М.: Офтальмология, 2013 – с. 201-204.
6. Балашевич Л. И. Хирургическая коррекция аномалий рефракции и аккомодации – СПб. СПбМАПО. 2009. – с. 296
7. Бианчи К. Пресбиопия и рефракция: коррекция пресбиопии в клинической практике// Оптометрия. — 2011. — №3. — С. 28
8. Беликова Е. И. Технология хирургической реабилитации пациентов с пресбиопией дисс...докт. мед. наук. – Москва, 2013. – 235 с.
9. Беликова Е.И., Антонюк С.В., Бугаенко И.А. Сравнительные результаты хирургической коррекции пресбиопии с использованием мультифокальных и аккомодирующих интраокулярных линз. // Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии –2010: сб. науч. ст. – М., 2010. – С. 31-36
10. Беляев В. С. Операция на роговой оболочке и склере. – М.: Медицина. – 1984. – С. 144

11. Блаватская Е. Д. Рефракционная кератопластика. – Ереван: Айастан, 1973. – 190 с.ф
12. Блаватская Е. Д. Применение интраламеллярной гомокератопластики с целью ослабления рефракции глаза // Труды Ереванского ГИДУВ. – В III, 1967. - С. 423-446
13. Борзенко С.А. Медико-технологические и методологические основы эффективной деятельности глазных тканевых банков России в обеспечении операций по сквозной трансплантации роговицы: – дис . д-ра мед. наук. – Москва, 2008. – 306 с.
14. Бочкарева А.А., Сулягина О.В., Болдырева Л.В., Бастриков Н.И. Инволюционные изменения в структурах, образующих заднюю камеру, их роль в возникновении патологических процессов. Тезисы 1-ой научной конференции "Старение и глаз". М., 1976. - С.11-12.
15. Витт В. В. Строение зрительной системы человека – Одесса: Астропринт – 2003. 655с.
16. Верзин А. А. Интраламеллярная кератопластика биополимерной линзой для лечения буллезной кератопатии и коррекции афакии (клинико-экспериментальное исследование): Дис. ... канд. мед. наук. – М., 2002. –192 с
17. Груша О. В. Экспериментальное и клиническое исследование операций кератомилеза и кератофакии: Автореф. дисс. ...докт. мед. наук. – М., 1974.
18. Гурбанов Р. С. Интрастромальная кератопластика в коррекции миопии и миопического астигматизма при кератоконусе: Дис. ... канд. мед. наук. – М., 2010. – 151 с
19. Дашевский А.И. Новые данные об оптической системе глаза и ее возрастных изменениях. В кн.: Проблемы физиологической оптики. М. — JL, 1958, с.- 12, 336-344.
20. Дога А.В., Качалина Г.Ф., Мовшев В.Г. и др. Способ хирургической коррекции пресбиопии в сочетании с простым гиперметропическим

астигматизмом с сохранением асферичности поверхности роговицы – Патент на изобретение RU № 2526476 А61F от 13.02.2013

21. Дога А.В., Семенов А.Д., Мушкова Н.А., Майчук Н.В., Кондакова О.И. Тактика коррекции индуцированных рефракционных нарушений после различных методов термokerатопластики // Офтальмохирургия. -2011-№2- С. 6-11
22. Душин Н.В. Клиническое изучение возможностей межслойной пересадки роговой оболочки// Дисс...док.мед.наук М., 1990; 304.
23. Животовский Д. С. Применение внутрироговичных пластмассовых линз в эксперименте и клинике // Вестник офтальмологии – 1972. - № 2. - С. 38-45
24. Ивашина А.И., Косточкина М.В. Физиология зрения вблизи при артификации// Экспериментальная и клиническая офтальмохирургия (интраокулярная коррекция): Сб. науч. тр.- М., 1979.- С.127-133
25. Измайлова С.Б. Медико-технологическая система хирургического лечения прогрессирующих кератэктазий различного генеза: Дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2014
26. Иомдина Е.Н. Механические свойства тканей глаза человека. Современные проблемы биомеханики, вып. 11. Изд-во МГУ, 2006, с. 183-200.
27. Иомдина Е.Н., Кошиц И.Н. Актуальные проблемы биомеханики глаза. В сб.: Биомеханика глаза. — М., 2002, с. 3-6.
28. Карамян А.А. Мультифокальные интраокулярные линзы, современные аспекты коррекции афакии: Дис. . .д-ра мед. наук. М., 1993
29. Катаргина Л. А. Аккомодация: Руководство для врачей. – М.: Апрель, 2012. – 136 с.
30. Киваев А. А., Шапиро Е. И. Контактная коррекция зрения. – М.: Изд-во ЛДМ Сервис, 2000. – С. 224
31. Кокин С. А. Клинико-функциональная оценка оптимизированного метода достижения прогнозируемой анизометропии при коррекции афакии монофокальными интраокулярными линзами// Дис. ... канд. мед. наук. - М., 2015. -123 с.

32. Копаева В.Г. Глазные болезни. М.: Медицина, 2002. 560 с.
33. Корнюшина Т.А. Физиологические механизмы развития зрительного утомления и перенапряжения и меры их профилактики. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1999. 46 с
34. Костенев С.В., Черных В.В Исследование биомеханических и анатомо-топографических особенностей роговицы после фемтосекундной лазерной интрастромальной коррекции пресбиопии (INTRACOR) М: Офтальмохирургия, 2012. -N 3. -С.17-21
35. Краснов М. М., Орлова Е. А. Первый опыт имплантации искусственной роговицы (аллопластическое кератопротезирование) // Вестник офтальмологии. - 1967. - № 6. - С.11-16
36. Крушельницкий А.В. Новая теория аккомодации. Офтальмол. ж-л. 2004. - №4, С. 54-57
37. Лещенко И. А. Практическое руководство по подбору мягких контактных линз. СПб.: РА «Веко», 2010. 224 с
38. Малюгин Б. Э., Антонян С. А. Механизмы аккомодации: исторические аспекты и современные представления. Новое в офтальмологии 2005. -N 4.- С.45-51
39. Малюгин Б.Э., Багров С.Н., Новиков С.В., Узунян Д.Г., Радованович Л.В. Хирургическое лечение пресбиопии методом супрацилиарной склеротомии // Федоровские чтения 2002: Материалы II научно-практической конференции. - М - 2002 - С. 236-238
40. Марченко И.Ю., Степанова Л.В., Сычев Г.М. Изменение основных параметров глаза человека при аккомодации. В сб.: Биомеханика глаза. М., 2005.-с. 58-60
41. Майчук Ю.Ф. К микроскопической анатомии соединительнотканного скелета цилиарной мышцы. Дисс... канд. мед. наук. -М.-1973.
42. Минеева Л. А. Инволюционные изменения аккомодационного аппарата глаза и их клинические проявления: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2007. - С.

43. Мороз З.И., Леонтьева Г.Д., Новиков С.В., Гурбанов Р.С. Рефракционные результаты имплантации интрастромальных роговичных сегментов на основе гидрогеля у пациентов с кератоконусом // Офтальмохирургия. — 2009. — № 1. — С. 14-17
44. Морозова Т.А. Интраокулярная коррекция афакии мультифокальной линзой с градиентной оптикой. Клинико-теоретическое исследование: Дис. канд. мед. наук. — М., 2006
45. Морхат И. В. Интраламеллярная кератопластика. – Минск, 1980. – 110 с
46. Мушкова И.А. Инфракрасная лазерная кератопластика в коррекции гиперметропии, гиперметропического и смешанного астигматизма: Дис. ...д-ра мед. наук. – М., 2011. – 240 с.
47. Проскурина О.В. Пресбиопия: современный подход к очковой коррекции Российский офтальмологический журнал. 2009. Т. 2. № 2. С. 52-55
48. Проскурина О.В. Пресбиопия: современный подход к очковой коррекции. Часть 3. Определение и обозначение расстояния между оптическими центрами коррегирующих линз в пресбиопических очках Российский офтальмологический журнал. 2010. Т. 3. № 2. С. 49-52.
49. Радзиховский Б. Л. Старческая дальновзоркость. – СПб.: Медицина, 1965. – С. 159
50. Розанова О. И., Щуко А. Г. Пресбиопия. М.: Офтальмология, 2015 – 154 с.
51. Розанова О. И. [и др.] Закономерности структурно-функциональных изменений глаза при развитии пресбиопии // Вестник офтальмологии. - 2011. - №3. - С. 17-20.
52. Розенблюм Ю.З. Коррекция пресбиопии // Веко. 1997. - № 8. - С. 6-12
53. Розенблюм Ю.З. Оптометрия. – Спб.: Гиппократ, 1996. – 272 с.
54. Светлова О.В., Кошиц И.Н. Современные биомеханические представления о теории аккомодации Гельмгольца. В сб.: Биомеханика глаза. — М., 2001. — с. 142-160.

55. Селиверстова Н.Н. Патогенетическое обоснование принципов лечения пресбиопии у пациентов с миопической рефракцией дисс...канд. мед. наук. – Иркутск, 2014. – 132 с.
56. Сергиенко Н. М., Лаврик Н. С., Устименко В. Л. Меридианальная клинокератопластика при близорукости // Офтальмологический журнал. – 1986. - №3. – С. 155-157.
57. Сергиенко М.М., Пишель А.Я. Кажущаяся аккомодация при артификации // Вестн. офтальмологии. - 1988.- № 5.-С.23-25
58. Страхов В.В. Проблемы аккомодации глаза. Ярославль: ЯГМА, 2004-С.32
59. Страхов В.В., Минеева Л.А., Бузыкин М.А. К вопросу о биомеханизме инволюционных изменений аккомодации глаза человека. В кн. Биомеханика глаза. Сб. трудов конференции. М.; 2007: 49–54.
60. Сорокин А.С., Кишкин Ю.И., Семенов А.Д., Пахомова А.Л. Отдаленные результаты эксимерлазерных операций «ПресбиЛАЗИК» Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии – 2012: Сб. науч. статей / ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза». – М., 2012.–246-249
61. Тарутта Е.П., Филинова О.Б., Тарасова Н.А., Кварацхелия Н.Г. Объективная аккомодометрия при различной клинической рефракции. Медицинская технология. 2011. 22 с.
62. Тахтаев Ю. В. Интраокулярная коррекция аметропий и пресбиопии // дис. ... д-ра. мед. наук. – СПб., 2008. – С. 290
63. Тахтаев Ю.В., Балашевич Л.И. Хирургическая коррекция гиперметропии и пресбиопии рефракционно-дифракционными псевдоаккомодирующими интраокулярными линзами AcrySof Restor // Офтальмохирургия. — 2005 . — № 3, стр. 12-15
64. Тахчиди Х.П., Егорова Э.В., Узунян Д.Г. Ультразвуковая биомикроскопия в диагностике патологии переднего сегмента глаза - М.: Издательский центр «Микрохирургия глаза», 2007. -128 с.

65. Тахчиди Х. П., Малюгин Б.Э, Морозова Т. А. Мультифокальные ИОЛ: патентный поиск и классификация // Новое в офтальмологии. – 2004. - №4. – С. 31-39
66. Темиров Н.Э. Сравнительная оценка результатов бинокулярной имплантации различных типов современных интраокулярных линз. // Новое в офтальмологии: Приложение. -2010.-№2.-С.17-19
67. Темиров Н. Э., Корхов А. П. Рефракционная кольцевидная тоннельная кератопластика в коррекции миопии высокой степени // Вестник офтальмологии. - 1991. - № 3. - С. 23-31
68. Уиттакер Г.– Мультифокальные контактные линзы для всех стадий пресбиопии / Глаз. – 2003. – №3. – С.2-3
69. Ульянов А.Н. Первый опыт использования аккомодационной ИОЛ Crystalens HD 500 // Междунар. научно-практ. конф. «Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии», 10-я: Сб. науч.ст. – М.,2009. -С.207-210
70. Ульданов Г. А., Шустеров Ю. А., Робман Л. Д. Исходы циркулярной тоннельной кератопластики // Вестник офтальмологии. - 1991. - № 3. - С. 23-31.
71. Фёдоров С. Н., Захаров В. Д. Операции кератомилёза и кератофакии // Вестник офтальмологии. – 1971. - №2. – С. 23-27
72. Федоров С. Н., Ивашина А.И., Яновская Н.П., Карамян А.А. Клинико-функциональные исследования моновизуальной интраокулярной коррекции двусторонней афакии // Офтальмохирургия – 2000. - № 2,- С.17-23
73. Феодосьев В.И. Соппротивление материалов: М.: 1999. - 592 с.
74. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток. Практическое руководство: Пер. с англ. - М.: Бином. – 2010. - 691 с.
75. Фролов М. А. Межслойная кератопластика в коррекции миопии и миопического астигматизма // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 1992. – 25 с.

76. Хенч Л., Джонс Д. Биоматериалы, искусственные органы и инжинеринг тканей. – М.: Техносфера, 2007
77. Чупров А.Д., Замиров А.А., Плотникова Ю.А. О некоторых особенностях оптической системы артификачных глаз и возможных механизмах псевдофакической аккомодации // Офтальмохирургия- 1998. №2. – С.26-30
78. Шершевская О.И., Старков Г.Л., Шершевская С.Ф. Старение глаза. М.: Медицина, 1970. С. 18-47
79. Шилкин Г.А., Шилкин А.Г., Бессарабов А.Н. Биомеханическое обеспечение зрения вдаль и вблизи у человека // Биомеханика глаза – 2004. Сб. тр. конф. М., 2004. С. 45-54
80. Щуко А.Г., Селиверстова Н.Н., Рогожникова Е.А., Розанова О.И. Преимущества и недостатки мультифокальной контактной коррекции пресбиопии у лиц с миопической рефракцией. Офтальмология. 2013;10(2):31-34
81. Эскина Э.Н., Т. Manjago, И.В. Шкуренко, П.О. Рыбаков, В.А. Паршина, М.А. Степанова Опыт выполнения операций PRESBYLASIK на эксимер-лазерной установке SCHWIND AMARIS // Практическая медицина — 2012. — Т.1, N 4(59). — С.55-58
82. Яновская Н.П. Моновизуальная интраокулярная коррекция двусторонней афакии // Дис. ... канд. мед. наук. - М., 1999. -161 с.
83. Ackerman R., Kunert K.S., Kammell R., et al. Femtosecond laser treatment of the crystalline lens: a 1-year study of possible cataractogenesis in minipigs. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2011;249:1567–73
84. Alió J.L., Abbouda A., Huseynli S. Removability of a small aperture intracorneal inlay for presbyopia correction // J. Refract. Surg. – 2013. - Vol.29. - № 8 – P. 550-556
85. Alió JL, Montalbán R, Peña-García P, Soria FA, Vega-Estrada A. Visual outcomes of a trifocal aspheric diffractive intraocular lens with microincision cataract surgery. J Refract Surg. 2013;29(11):756-761

86. Alió J.L., Schimchak P., Negri H.P., Montes-Mico R. Crystalline lens optical dysfunction through ageing. *Ophthalmology* 2005; 112:2022-29
87. Arlt E., Krall E., Moussa S., Grabner G., Dexl A. Implantable inlay devices for presbyopia: the evidence to date – *Clinical ophthalmology* - 2015 Jan 14;9:129-37
88. Asbell PA, Maloney RK, Davidorf J, et al. Conductive Keratoplasty for the correction of hyperopia. Conductive Keratoplasty Study Group. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2001;99:79–84;discussion 84–7
89. Atchison D.A. Accommodation and presbyopia. *Ophthalmic Physiol Opt* 1995;15(4):255-72
90. Ayoubi M.G., Leccisotti A., Goodall E.A., McGilligan V.E. & Moore T.B. Femtosecond laser in situ keratomileusis versus conductive keratoplasty to obtain monovision in patients with emmetropic presbyopia. *J Cataract Refract Surg* 2010; 36: 997–1002
91. Baily C., Kohnen T., O'Keefe M. Preloaded refractive-addition corneal inlay to compensate for presbyopia implanted using a femtosecond laser: one-year visual outcomes and safety – *Journal of Cataract and Refractive Surgery* Vol. 40 (8) - 2014, P. 1341–1348 (Icolens inlay)
92. Bacskulin A., Gast R., Bergmann U., et al. Ultrasound biomicroscopy imaging of accommodative configuration changes in the presbyopic ciliary body. *Ophthalmologie* 1996;93:199–203
93. Barraquer J.I. Modifications of refraction by means of intracorneal inclusion // *Int. Ophthalmol. Clin.* – 1966. – Vol. 6. – P. 53-78
94. Barraquer J.I. Queratoplasia refractiva, estudios e informaciones // *Oftalmologicas.* - 1949. – Vol. 2. - P. 10-30
95. Benjamin W.J. Comparing Multifocals and Monovision Contact Lens Spectrum 2007; Vol. 22 – P. 33-39
96. Bennett E.S. Contact lens correction of presbyopia. *Clin Exp Optom* 2008;91(3):265-78

97. Blum M., Kunert K., Nolte S., et al. Presbyopia treatment using a femtosecond laser. *Ophthalmologie* 2006; 103:1014–19
98. Bouzoukis D.I., Kymionis G.D., Limnopoulou A.N., Kounis G.A., Pallikaris I.G. Femtosecond laser-assisted corneal pocket creation using a mask for inlay implantation // *J. Refract. Surg.* – 2011. - Vol.27. - № 11 – P. 818-820
99. Brown N. The change in shape and internal form of the lens of the eye on accommodation. *Exp Eye Res* 1973; 15:441-59
100. Brunette I., Nelson L.R., Bourne W.M. A system for long-term corneal perfusion. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1989;30:1813–1822
101. Callina T., Reynolds T.P. Traditional methods for the treatment of presbyopia: spectacles, contact lenses, bifocal contact lenses. *Ophthalmol Clin North Am* 2006;19(1):25-33
102. Campbell H., Doughty M.J., Heron G., Ackerley R.G. Influence of chronic alcohol abuse and ensuing forced abstinence on static subjective accommodation function in humans. *Ophthalmic Physiol Opt* 2001;21(3):197-205
103. Chan G.N., Hughes T.C., McLean K.M., McFarland G, Nguyen X.N., Wilkie J.S., Johnson G. Approaches to improving the biocompatibility of porous perfluoropolyethers. *Biomaterials* 2006: 27; 1287
104. Chang D.E. Prospective functional and clinical comparison of bilateral ReZoom and ReSTOR intraocular lenses in patients 70 years or younger. // *J. Cataract Refract Surg.* - 2008.-Vol.34- P.934-941
105. Charman W.N. Developments in the correction of presbyopia I: spectacle and contact lenses *Ophthalmic and Physiological Optic* 2014; 34: 8–29
106. Charman W.N. Developments in the correction of presbyopia II: surgical approaches *Ophthalmic and Physiological Optic* 2014; 34: 1-30
107. Chayet A, Barragan Garza E. Combined hydrogel inlay and laser in situ keratomileusis to compensate for presbyopia in hyperopic patients: one-year safety and efficacy. *J Cataract Refract Surg.* 2013; 39(11):1713–1721
108. Choyce D.P. The correction of the refractive errors with polysulfone corneal inlays // *Trans. Ophthalmol. Soc.* – 1985. – Vol. 104. – P. 332-342

109. Coates W.R. Amplitudes of accommodation in South Africa. *Br J Physiol Opt.* 1955 Apr;12(2):76-81
110. Croft M.A., Glasser A., Kaufman P.L. Accommodation and presbyopia. *Int Ophthalmol Clin.* 2001 Spring; 41(2):33-46.
111. Dexl A.K., Jell G., Strohmaier C., Seyeddain O., Riha W., Rückl T., Bachernegg A., Grabner G. Long-term outcomes after monocular corneal inlay implantation for the surgical compensation of presbyopia. *J Cataract Refract Surg.* 2015 Mar;41(3):566-75
112. Donders F.C.: On the anomalies of accommodation and refraction of the eye. London: New Sydenham Society, 1864 – 668 p.
113. Douali M.G. & Silver J.D. Self-optimised vision correction with adaptive spectacle lenses in developing countries. *Ophthalmic Physiol Opt* 2004; 24: 234-241
114. Duane A. Normal values of the accommodation at all ages. *Journal American Medicine Association* 1912; 59: 1010-3
115. Duane A. Studies in monocular and binocular accommodation with their clinical applications. *American Journal of Ophthalmology* 1922;5:867-77
116. Dubbelman M., Van der Heijde G.L., Weeber H.A., Vrensen G.F. Changes in the internal structure of the human crystalline lens with age and accommodation. *Vision Research.* 2003 Oct;43(22):2363-75
117. Duignan E.S., Farrell S., Treacy M.P., Fulcher T., O'Brien P., Power W., Murphy C.C. Corneal inlay implantation complicated by infectious keratitis. *Br J Ophthalmol.* 2016 Feb;100(2):269-73
118. Duke-Elder S. Adjustments to the optical system: accommodation. In: Duke-Elder S, eds. *System of Ophthalmology: Ophthalmic Optics and Refraction*, St. Louis: C.V. Mosby, 1970; Vol.V, Chap. IV
119. El Danasoury A.M., Gamaly T.O., Hantera M. Multizone LASIK with peripheral near zone for correction of presbyopia in myopic and hyperopic eyes: 1-year results. *J Refract Surg.* 2009; 25(3):296-305

120. Eskridge J.B. Review of ciliary muscle effort in presbyopia. *Am J Optom Physiol Opt.* 1984 Feb;61(2):133-8
121. Evans B.W. Monovision. *Ophthalmic Physiol Opt* 2007; 27: 417–439
122. Evans M.M., Xie R.Z., Fabbri M., Madigan M.C., Chaouk H., Beumer G.J., Meijjs G.F., Griesser H., Steele J.G., Sweeney D.F. Epithelialization of a novel polymer in the feline cornea—A preliminary study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41: 1674–1680
123. Farnsworth P.N., Shyne S.E. Anterior zonular shifts with age. *Experimental Eye Research* 1979;28:291-97
124. Feinberg M. The problem of anticholinergic adverse effects in older patients. *Drugs and Ageing* 1993;3(4):335-48
125. Fernandes P.R, Neves H.I, Lopes-Ferreira D.P, Jorge J.M, González-Meijome J.M. Adaptation to multifocal and monovision contact lens correction. *Optom Vis Sci* 2013;90(3):228-35
126. Fincham E.F. The mechanism of accommodation. *Br J Ophthalmol* 1937;8(Suppl): 5-80
127. Fincham E.F. The proportion of ciliary muscular force required for accommodation. *J Physiol.* 1955 Apr 28;128(1):99-112
128. Fisher R.F. Elastic constants of the human lens. *J Physiol* 1971;212:147-80
129. Fisher R.F. Presbyopia and the changes with age in the human crystalline lens. *J Physiology* 1973;228:765-79
130. Fischer R.F. The force of contraction of the human ciliary muscle during accommodation. *J Physiol* 1977; 270:51-74.
131. Fonda G. Visual aids for subnormal vision // *Trans. Amer. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol.* – 1966. - Vol. 70. - №3. – P. 358-369
132. Garza E.B., Gomez S., Chayet A., et al. One-year safety and efficacy results of a hydrogel inlay to improve near vision in patients with emmetropic presbyopia. *J Refract Surg* 2013;29:166–72
133. Gil-Cazorla R., Shah S., Naroo S.A. A review of the surgical options for the correction of presbyopia *Br J. Ophthalmol* 2016;100: 62–70

134. Gilmartin B. The aetiology of presbyopia: a summary of the role of lenticular and extralenticular structures - *Ophthalmic Physiol Opt.* 1995 Sep;15(5):431-7
135. Gispets J., Arjona M., Pujol J., Vilaseca M., Cardona G. Task orientated visual satisfaction and wearing success with two different simultaneous vision multifocal soft contact lenses. *J Optom* 2011;4:76-84
136. Glasser A., Kaufman P.L. The mechanism of accommodation in primates. *Ophthalmology* 1999; 106:863-72
137. Glasser A., Campbell M.C. Biometric, optical and physical changes in the isolated human crystalline lens with age in relation to presbyopia. *Vision Res.* 1999 Jun;39(11):1991-2015
138. Goertz A., Stewart W., Burns W., Stewart J., Nelson L. Review of the impact of presbyopia on quality of life in the developing and developed world - *Acta Ophthalmol.* 2014; 92: 497–500
139. Guedj T, Danan A, Lebuissou DA. In-vivo architectural analysis of intrastromal incisions after INTRACOR surgery using Fourier-domain OCT and Scheimpflug imaging. *J Emmetropia.* 2011;2(2):85-91
140. Guilbert E., Saad A., Gatinel D. AcuTarget measurements: repeatability and comparison to OPD-Scan III. *J Refract Surg.* 2014 Mar;30(3):180-5
141. Handelman G.H., Koretz J.F. A mathematical representation of lens accommodation. *Vision Res* 1982; 22:924-7.
142. Harper D.G. The history of presbyopia // *Scope.* – 2010 – Vol. 14, №1. – P. 1-3
143. Harris M., Scheedy J.E., Gan C.M. Vision and task performance with monovision and diffractive bifocal lenses. *Optom Vis Sci* 1992;69:609-14
144. Helmholtz von H. The accommodation of the eyes. *Alb Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1855;1:1-70
145. Helmholtz H. *Physiological Optics.* New York: Dover, 1962; Vol.I, 143-172,375-415
146. Hickenbotham A., Roorda A., Steinmaus C., Glasser A. Meta-analysis of sex differences in presbyopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(6):3215-20

147. Hipsley A.M. VisioDynamic Theory: a biomechanical model for the aging ocular organ // Jaypee Brothers. — 2003.
148. Hipsley A.M., Dementiev D., Blaylock J. Scleral decompression may restore accommodation in presbyopic eyes // Ocular surgery news. — 2006. — Vol. 24. - N. 14.-P. 31-3
149. Holden B.A., Fricke T.R., Ho S.M. Global vision impairment due to uncorrected presbyopia. Archives of Ophthalmology. 2008 Dec; 126(12):1731-925
150. Holzer MP, Knorz MC, Tomalla M, Neuhann TM, Auffarth GU. Intrastromal femtosecond laser presbyopia correction: 1-year results of a multicenter study. J Refract Surg. 2012;28(3):182-188
151. Huber C. Myopic astigmatism as a substitute for accommodation in pseudophakia. Doc Ophthalmol 1981; 52: 123–178
152. Hunter H. Jr., Shipp M.A study of racial differences in age of onset and progression of presbyopia. Journal of American Optometry Association 1997;68:171-7
153. Jackson W.B., Tuan K.M., Mintsoulis G. Aspheric wavefront-guided LASIK to treat hyperopic presbyopia: 12-month results with the VISX platform. J Refract Surg. 2011; 27(7):519-529
154. Jain I., Ram J., Gupta A. Early onset of presbyopia. Am J Optom & Physiol Optics 1982;59(12):1002-4
155. Jain S., Arora I., Azar D.T. Success of monovision in presbyopes: review of the literature and potential applications to refractive surgery. Surv Ophthalmol. 1996; 40(6):491-499
156. Janin-Manificat H., Rovère M.R., Galiacy S.D., Malecaze F., Hulmes D.J., Moali C., Damour O. Development of ex vivo organ culture models to mimic human corneal scarring. Mol Vis. 2012;18:2896-908
157. Johnson G., Meijs G.F., Laycock B.G., Griffith M.G., Chaouk H., Steele J.G. Cell interactions with perfluoropolyether-based network copolymers. J Biomater Sci Polym Ed. 1999; 10(2):217-33

158. Kallinikos P., Santodomingo-Rubido J. & Painis S. Correction of presbyopia with contact lenses. In: *Presbyopia: Origins, Effects and Treatment* (Palikaris I, Plainis S & Charman WN, editors), Slack: Thorofare, NJ, 2012; Ch 14, 127–137
159. Keates R., Martines E., Tennen D.G., Reich C. Small-diameter corneal inlay in presbyopic or pseudophakic patients. *J Cataract Refract Surg.* 1995 Sep;21(5):519-21
160. Kim E., Ehrmann K., Choo J., Franz S., Moilanen J. The effect of inlay implantation on corneal thickness and radius of curvature in rabbit eyes. *Cornea.* 2013 May;32(5):106-12
161. Kobashi H., Kamiya K., Shimizu K. Dry Eye After Small Incision Lenticule Extraction and Femtosecond Laser-Assisted LASIK: Meta-Analysis *Cornea.* 2017 Jan;36(1):85-91
162. Koch DD, Kohnen T, Anderson JA et al. Histological changes and wound healing response following 10-pulse noncontact Holmium:YAG laser thermal keratoplasty. *J Refract Surg* 1996; 12: 621–634
163. Koke M.P. Mechanism of Accommodation. *Arch Ophthalmol* 1942;27(5):950-68
164. Krag S., Andreassen T.T. Biomechanical characteristics of the human anterior lens capsule in relation to age. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003; 38:357-363
165. Krueger R.R., Sun X.K. Novel approaches to correction of presbyopia with laser modification of the crystalline lens. *J Refract Surg* 1998;14:136–9
166. Lane S.L., Lindstrom R.L., Cameron J.D., Thomas R.H., Mindrup E.A., Waring G.O., McCarey B.E., Binder P.S. Polysulfone corneal lenses // *Journal of cataract and refractive surgery.* – 1986. – Vol. 12(1). – P. 50-60
167. Langenbacher A, Huber S, Nguyen NX, et al. Measurement of accommodation after implantation of an accommodating posterior chamber intraocular lens. *J Cataract Refract Surg* 2003;29:677–85
168. Levin V.M., Petronyuk Y.S., Morokov E.S., Bellucci S., Kuzhir P.P. What does see the impulse acoustic microscopy inside nanocomposites? *Physics Procedia.* 2015.70. PP. 703–706

169. Li G., Valley P., Ayras P., Mathine D.L., Honkanen S. & Peyghambarian N. High-efficiency switchable flat diffractive ophthalmic lens with three-layer electrode pattern and two-layer via structures. *Applied Phys Lett* 2007; 90: 111105
170. Limnopoulou A.N., Bouzoukis D.I., Kymionis G.D., et al. Visual outcomes and safety of a refractive corneal inlay for presbyopia using femtosecond laser. *J Refract Surg* 2013;29:12–18
171. Lu Q., Congdon N., He X., Murthy G.V., Yang A., He W. Quality of life and near vision impairment due to functional presbyopia among rural Chinese adults. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Jun 13;52(7):4118-23
172. Lutjen-Drecoll E., Tamm M.D., Kaufman P.L. Age-related loss of morphologic responses to pilocarpine in rhesus monkey ciliary muscle. *Arch Ophthalmol* 1988;106:1591-8
173. Malyugin B., Antonian S. The long-term results of collagen T-implants for scleral presbyopia reversal surgery // Congress of the ESCRS, 23-rd: Abstracts. – Lisbon, 2005. – P. 181-182
174. Mantry S. & Shah S. Surgical management of presbyopia. *Cont Lens Anterior Eye* 2004; 27: 171–175
175. Maychuk D.Y. Prevalence and severity of dry eye in candidates for laser in situ keratomileusis for myopia in Russia *J Cataract Refract Surg.* 2016 Mar;42(3):427-34
176. . Manzanera S., Prieto P.M., Benito A., Tabernero J., Artal P. Location of achromatizing pupil position and first Purkinje reflection in a normal population. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2015 Jan 22; 56(2):962-6
177. Martin H., Guthoff R., Terwee T., Schmitz K.P. Comparison of the accommodation theories of Coleman and of Helmholtz by finite element simulations. *Vision Res* 2005;45(22):2910-15
178. Mathews S. Scleral expansion surgery does not restore accommodation in human presbyopia. *Ophthalmology.* 1999;106(5):873-877

179. McCarey B.E., Andrews D.T. Refractive keratoplasty with intrastromal hydrogel lenticular implants // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1991. – Vol. 21. P. 107-115
180. McDonnell P.J., Lee P., Spritzer K., Lindblad A.S., Hays R.D. Associations of presbyopia with vision-targeted health-related quality of life. Arch. Ophthalmol. 2003; 121: 1577-1581
181. McLeod SD. Optical principles, biomechanics, and initial clinical performance of a dual-optic accommodating intraocular lens (an American Ophthalmological Society thesis). Trans Am Ophthalmol Soc 2006;104:437–52
182. Meister D.J., Fisher S.W. Progress in the spectacle correction of presbyopia. Part 1: Design and development of progressive lenses. Clin Exp Optom. 2008 May;91(3):240-50
183. Meister D.J., Fisher S.W. Progress in the spectacle correction of presbyopia. Part 2: Modern progressive lens technologies. Clin Exp Optom. 2008 May;91(3):251-64
184. Menassa N., Fitting A., Auffarth G.U., Holzer M.P. Visual outcomes and corneal changes after intrastromal femtosecond laser correction of presbyopia. J Cataract Refract Surg. 2012;38(5):765-773
185. Mesci C, Erbil HH, Olgun A, et al. Visual performances with monofocal, accommodating, and multifocal intraocular lenses in patients with unilateral cataract. Am J Ophthalmol 2010;150:609–18
186. Miranda M.N. The geographic factor in the onset of presbyopia. Trans Am Ophthalmol Soc 1979;77:603-21
187. Miranda D., Krueger R.R. Monovision laser in situ keratomileusis for pre-presbyopic and presbyopic patients. J Refract Surg 2004:325–8
188. Moreira H., Garbus J.J., Fasano A., Lee M., Clapham T.N. & McDonnell P.J. Multifocal corneal topographic changes with excimer laser PRK. Arch Ophthalmol 1992; 110: 994–999
189. Morgan P.B, Efron N., Woods C.A, The international contact lens prescribing survey consortium. An international survey of contact lens prescribing for presbyopia. Clin Exp Optom 2011;94(1):87-92

190. Nakazawa N. & Ohtsuki K. Apparent accommodation in pseudophakic eyes after implantation of posterior chamber intraocular lenses. *Am J Ophthalmol* 1983; 96: 435–438
191. Nichols J.J. Annual report. Contact Lenses 2011 // *Contact Lens Spectrum*. 2012. № 1. P. 12-16
192. Nirmalan P.K., Krishnaiah S., Shamanna B.R, Rao G.N, Thomas R. A population-based assessment of presbyopia in the state of Andhra Pradesh, south India: the Andhra Pradesh Eye Disease Study Investigative Ophthalmology and Visual Science. 2006 Jun;47(6):2324-8
193. Nishi T., Nawa Y., Ueda T., Masuda K., Taketani F. & Hara Y. Effect of total higher-order aberrations on accommodation in pseudophakic eyes. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32:1643–1649
194. Ossma I.L., Galvis A., Vargas L.G., et al. Synchrony dual-optic accommodating intraocular lens—Part 2: pilot clinical evaluation. *J Cataract Refract Surg* 2007;3347–52
195. Patel I., West S.K. Presbyopia: prevalence, impact, and interventions. *Community Eye Health*. 2007 Sep;20(63):40-1
196. Pau H., Kranz J. The increasing sclerosis of the human lens with age and its relevance to accommodation and presbyopia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1991;229:294-6
197. Pepose J.S., Qazi M.A., Davies J., Doane J.F., Loden J.C., Sivalingham V., Mahmoud A.M. Visual performance of patients with bilateral vs combination Crystalens, ReZoom, and ReSTOR intraocular lens implants. *Am J Ophthalmol*. 2007 Sep;144(3):347-357
198. Petronyuk, Y.S., Morokov, E.S., Levin, V.M. Methods of pulsed acoustic microscopy in industrial diagnostics. *Bulletin of the Russian Academy of Sciences: Physics*. Volume 79, Issue 10, 1 October 2015, Pages 1268-1273
199. Pinelli R., Ortiz D., Simonetto A., Bacchi C., Sala E., Alio J.L. Correction of presbyopia in hyperopia with a center-distance, paracentral-near technique using the Technolas 217z platform. *J Refract Surg*. 2008; 24(5):494-500

200. Plainis S., Ntzilepsi G., Atchison D.A. & Charman W.N. Through-focus performance with multifocal contact lenses: effect of binocularity, pupil diameter and inherent optical aberrations. *Ophthalmic Physiol Opt* 2013; 13: 42–50
201. Pointer J.S. The presbyopic add, II. Age related trend and a gender difference. *Ophthalmic Physiol Opt* 1995; 15:241-48
202. Pointer J.S. Overview of clinical aspects. In: *Presbyopia: Origins, Effects and Treatment* (Palikaris I, Plainis S & Charman WN, editors), Slack: Thorofare, NJ, 2012; Ch 2, pp. 11–20
203. Prokhorov V.M., Ovsyannikov D., Levin V.M., Morokov E.S. Acoustic microscopy characterisation of nanostructured carbon-ceramic composites. *Testing and Measurement: Techniques and Applications – Chan (Ed.)*. 2015. Taylor & Francis Group, London. P. 65-68
204. Qazi M.A., Pepose J.S., Shuster J.J. Implantation of sclera expansion band segments for the treatment of presbyopia. *Am J Ophthalmol*. 2002; 134(6):808-815
205. Rawicz A.H. & Mikhaileiko I. Modeling a variable-focus liquid-filled optical lens. *Appl Opt* 1996; 35: 1587–1589
206. Ren H., Fox D.W., Wu B. & Wu S-T. Liquid crystal lens with large focal length tunability and low operating voltage. *Opt Express* 2007; 15: 11328–11335
207. Ren H. & Wu S-T. Adaptive liquid crystal lens with large focal length tunability. *Opt Express* 2006; 14: 11292–11298
208. Richard NR, Anderson JA, Weiss JL, Binder PS. Air/liquid corneal organ culture: a light microscopic study. *Curr Eye Res*. 1991;10:739–749
209. Richdale K., Mitchell G.L., Zadnik K. Comparison of multifocal and monovision soft contact lens corrections in patients with low-astigmatic presbyopia. *Optom Vis Sci* 2006;83(5):266-73
210. Ruiz LA, Cepeda LM, Fuentes VC. Intrastromal correction of presbyopia using a femtosecond laser system. *J Refract Surg* 2009;25:847–54
211. Saad A., Grise-Dulac A., Gatinel D. Bilateral loss in the quality of vision associated with anterior corneal protrusion after hyperopic LASIK followed by

- intrastromal femtolaser-assisted incisions. *J Cataract Refract Surg* 2010;36:1994–8
212. Santhiago M.R., Barbosa F.L., Agrawal V., Binder P.S., Christie B., Wilson S.E. Short-term cell death and inflammation after intracorneal inlay implantation in rabbits. *J Refract Surg.* 2012;28(2):144–149
213. Schachar R.A., Anderson D.A. The mechanism of ciliary muscle function. *Ann Ophthalmol* 1995; 27:126-32
214. Schachar R.A., Cudmore D.P., Black T.D. Experimental support for Schachar's hypothesis of accommodation. *Ann Ophthalmol* 1993; 25:404-9
215. Schachar R.A., Fygenon D.K. Topographical changes of biconvex objects during equatorial traction: An analogy for accommodation of the human lens. *British Journal of Ophthalmology* 2007;91:1698
216. Schor C. & Erickson P. Patterns of binocular suppression and accommodation in monovision. *Am J Optom Physiol Opt* 1988; 65: 853–861
217. Schumacher S., Oberheide U., Fromm M., et al. Femtosecond laser induced flexibility change of human donor lenses. *Vision Res* 2009;49:1853–9
218. Seyeddain O., Bacherneegg A., Riha W., et al. Femtosecond laser-assisted small-aperture corneal inlay implantation for corneal compensation of presbyopia: two-year follow-up. *J Cataract Refract Surg.* 2013; 39(2):234–241
219. Sheedy J.A., Campbell C., King-Smith E. & Hayes J.R. Progressive powered lenses: the Minkwitz theorem. *Optom Vis Sci* 2005; 82: 916–924
220. Singh G., Chalfin S. A complication of scleral expansion surgery for treatment of presbyopia. *Am J Ophthalmol.* 2000 - Oct; 130(4):521-3
221. Sivardeen A., Laughton D., Wolffsohn J. Investigating the utility of clinical assessments to predict success with presbyopic contact lens correction *Cont Lens Anterior Eye.* 2016 Oct;39(5):322-30
222. Soni P.S., Patel R., Carlson R.S. Is binocular contrast sensitivity at distance compromised with multifocal soft contact lenses used to correct presbyopia? *Optometry and Vision Science* 2003;80(7):505-14

223. Stahl J.E. Conductive keratoplasty for presbyopia: 1-year results. *J Refract Surg* 2006; 22: 137–144
224. Stevens M.A., Bergmanson J.G. Does sunlight cause premature ageing of the crystalline lens? *Journal of American Optometry Association* 1989;60:660-3
225. Stojanovic N.R., Panagopoulou S.I., Pallikaris I. G. Cataract Surgery with a Refractive Corneal Inlay in Place - - Case Reports in Ophthalmological Medicine - Volume 2015 (2015), Article ID 230801, 4 pages - 2 June 2015
226. Strenk S.A., Semmlow JL, Strenk LM. Age-related changes in human ciliary muscle and lens: a magnetic resonance imaging study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(6):1162-9
227. Strenk S.A., Strenk LM, Guo S. Magnetic resonance imaging of aging, accommodating, phakic, and pseudophakic ciliary muscle diameters. *Journal of Cataract and Refractive Surgery* 2006;32:1792-98
228. Sullivan C.M., Fowler C.W. Progressive addition and variable focus lenses: a review. *Ophthalmic Physiol Opt* 1988; 8:402–414
229. Swartz T.S, Rocha K.M, Jackson M., Ma D.H, Goldberg D., Hipsley A. Restoration of accommodation: new perspectives. *Arq Bras Oftalmol.* 2014 Jan-Feb;77(1):5-7
230. Sweeney D.F., Vannas A., Hughes T.C., Evans M.D., et. al.. Synthetic corneal inlays *Clin Exp Optom.* 2008 Jan;91(1):56-66
231. Swinger C.A. Comparison of results obtained with keratophakia, hypermetropic keratomileusis, intraocular lens implantation, and extended-wear contact lenses. *Intern.Ophthalmol.Clin.* 1983; 23(3): 59-74
232. Texier F.L., Lenne W., Mercer J.L. Generalisation of the Tscherning theory: optimization of aspheric ophthalmic lenses. *Ophthalmic Physiol Opt* 1987;7(1):63-72
233. Timmis M.A., Johnson L., Elliott D.B. & Buckley J.G. Use of single-vision distance spectacles improves landing control during step descent in well-adapted multifocal lens-wearers. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51: 3903–3908

234. Tomita M, Kanamori T, Waring GO IV, et al. Simultaneous corneal inlay implantation and laser in situ keratomileusis for presbyopia in patients with hyperopia, myopia, or emmetropia: six-month results. *J Cataract Refract Surg* 2012;38:495–506
235. Ueda K., Inagaki Y. Contrast visual acuity with bifocal contact lenses. *Eye Contact Lens* 2007;33(2):98-102
236. Valley P., Mathine D.L., Dodge M.R., Schwiegerling J., Peymn G. & Peyghambarian N. Tunable-focus flat liquid-crystal diffractive lens. *Opt Lett* 2010; 35: 336–338
237. Venter J.A., Pelouskova M., Collins B.M., Schallhorn S.C., Hannan S.J. Visual outcomes and patient satisfaction in 9366 eyes using a refractive segmented multifocal intraocular lens. *J Cataract Refract Surg*. 2013;39(10):1477-1484
238. Vilupuru S., Lin L., Pepose J.S Comparison of Contrast Sensitivity and Through Focus in Small-Aperture Inlay, Accommodating Intraocular Lens, or Multifocal Intraocular Lens Subjects. - *American Journal of Ophthalmology* - 2015 Jul;160(1):150-162
239. Wallace R.B. Multifocal vision after cataract surgery. *Curr Opin Ophthalmol* 1998; 9: 66–70
240. Waring G.O. & Berry D.E. Advances in the surgical correction of presbyopia. *Int Ophthalmol Clin* 2013; 53: 129–152
241. Waring G.O., Klyce S.D. Corneal inlays for the treatment of presbyopia. *Int. Ophthalmol. Clin.* 2011;51:51–62
242. Weale R.A. Epidemiology of refractive errors and presbyopia. *Survey of Ophthalmology* 2003;48(5):515-43
243. Weale R.A. *The Senescence of Human Vision*. Oxford: Oxford University Press, 1992. P. 59-61.
244. Weale R.A. Why we need reading-glasses before a zimmer-frame - *Vision Reseach*. 2000;40(17):2233-40
245. Westcott M.C., Ward M., Mitchell S.M. Failure of accommodation in patients with HIV infection. *Eye* 2001;15:474-78

246. Werner L., Trindade F., Pereira F., Werner L. Physiology of Accommodation and Presbyopia ARQ. BRAS. OFTALMOL. dec. 63(6), 2000 : 503-509
247. Woods R.L., Saunders J.E. & Port M.A. Concentric-design rigid bifocal lenses. Part I: optical performance. J Brit Contact Lens Ass 1993; 16: 25–36
248. Xie R.Z., Evans M., Borjaski B., Hughes T.C., et al. Two-year preclinical testing of perfluoropolyether polymer as a corneal inlay. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006; 47: 574–581
249. Yilmaz OF, Alagöz N, Pekel G, et al. Intracorneal inlay to correct presbyopia: Long-term results. J Cataract Refract Surg. 2011;37(7): 1275–1281
250. Young G., Grey C.P., Papas E.B. Simultaneous vision bifocal contact lenses. A comparative assessment of the in vitro optical performance. Optom Vis Sci 1990;67:339-45
251. Yoo A., Kim J.Y., Kim M.J., Tchah H. Hydrogel Inlay for Presbyopia: Objective and Subjective Visual Outcomes – J. Refract Surg. 2015 Jul; 31(7):454-60.
252. Zhang Y, Shen Q, Jia Y, Zhou D, Zhou J. Clinical Outcomes of SMILE and FS-LASIK Used to Treat Myopia: A Meta-analysis Journal Refractive Surg. 2016 Apr;32(4):256-65