

БОЛЕЗНИ ХИРУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

НОВЫЕ МЕДИЦИНСКИЕ ИЗДЕЛИЯ В ФОТОТЕРАПИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ РОГОВИЦЫ

Г.А. Дроздова

Кафедра общей патологии и патологической физиологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Макляя, 6, Москва, Россия, 117198

**М.М. Бикбов, А.Р. Халимов, Г.М. Казакбаева,
С.В. Харитонов, Т.А. Халимов**

Уфимский НИИ глазных болезней АН РБ
ул. Пушкина, 90, Уфа, Россия, 450008

Представлены сведения о разработанных в Уфимском НИИ глазных болезней новых медицинских изделиях для ультрафиолетового кросслинкинга коллагена роговицы и результаты их клинического применения.

Ключевые слова: кератоконус, кросслинкинг.

В последнее десятилетие во всем мире отмечается значительный рост корнеопатологии, сопровождающейся деструктивными изменениями в составе коллагена роговицы, что связывают с ухудшением экологии, интенсификацией глазной хирургии, травмами глаза, а также увеличившимся числом офтальмоинфекций [2]. В результате влияния комплекса патогенетических факторов происходит прогрессирующая деградация коллагеновой структуры роговицы и снижение ее прочностно-механических свойств. При этом наблюдается, как правило, двустороннее поражение и быстро прогрессирующее снижение остроты зрения, причем у лиц молодого, трудоспособного возраста.

К числу таких заболеваний можно отнести различные формы эктазии роговицы, в т.ч. эпителиально-эндотелиальную дистрофию.

Кератоктазии характеризуются прогрессирующим истончением и изменением кривизны центральной и нижней части роговой оболочки глаза, ослаблением прочности роговичных пластин, что ведет к формированию конусовидной формы роговицы, смещению ее вершины и неправильному астигматизму [2]. К первичным видам эктазий относятся кератоконус, кератоглобус, пеллюцидная краевая

дегенерация роговицы. Становится все более актуальным вопрос распространения ятрогенной кератоктазии, доля которой возрастает пропорционально росту числа эксимерлазерной коррекции аметропий. Впервые сведения о возникновении вторичной эктазии роговицы после рефракционных вмешательств были представлены в 1998 г. [1], частота ее возникновения колеблется от 0,04 до 0,6% [6].

В последнее время так называемый «инжиниринг тканей», основанный на процессах фотополимеризации, стали использовать для лечения широкого спектра заболеваний. В частности, с целью укрепления роговой оболочки глаза при хронических дегенеративных процессах успешно применяется ультрафиолетовый (УФ) кросслинкинг роговичного коллагена (Corneal Collagen Crosslinking, UV Crosslinking), основанный на УФ облучении роговицы длиной волны 370 нм в присутствии светочувствительного рибофлавина [10]. Кросслинкинг (перекрестное связывание, или «сшивание») коллагеновых фибрилл способствует биомеханической стабилизации роговицы посредством увеличения числа интра- и межфибрилярных ковалентных связей, возникающих в результате иницируемых ультрафиолетовым излучением фотохимических реакций при участии активных форм кислорода [5; 8; 10].

Диапазон длин волн УФ излучения делят на три части: 315—400 нм — УФ-А; 280—315 нм — УФ-В; 100—280 нм — УФ-С. Наиболее выраженное действие на роговицу оказывает коротковолновая часть света, а именно ультрафиолетовое излучение, избыточное и продолжительное воздействие которого на незащищенный орган зрения может стать причиной развития катаракты и патологии макулярной области сетчатки.

В качестве фотосенсибилизатора при проведении кросслинкинга, прежде всего в силу своей безопасности, был предложен рибофлавин — витамин В₂ [8]. Основная роль, которая отводится рибофлавиону при перекрестном сшивании коллагена, определяется его способностью, за счет наличия хромофорных группировок, повышать чувствительность тканей роговицы к действию ультрафиолетового излучения и индуцировать химические взаимодействия, а также оказывать протективное действие на состояние внутриглазных структур. Рибофлавин имеет два максимума абсорбции света — 370 и 430 нм и при облучении поглощает УФ-излучение заданной длины волны. Для воздействия на роговицу выбрано ультрафиолетовое излучение с $\lambda = 370$ нм, это связано с более высокой энергией кванта данной длины волны и значительно большей способностью к сшиванию коллагена.

Рибофлавин, поглощая ультрафиолетовое излучение, переходит в возбужденное состояние — сначала в синглетный рибофлавин-радикал, в последующем — в триплетный рибофлавин-радикал. Последний, взаимодействуя с молекулярный кислородом, образует его активные формы — триплетный и синглетный кислород. Имеются сведения, что УФ-А облучение рибофлавина при 365 нм приводит также к образованию супероксидного анион-радикала и перекиси водорода, при этом циклическая часть витамина В₂ разрушается с образованием 3-метоксисалициловой кислоты [7].

Следует отметить, что поглощение ультрафиолетового излучения стромой роговицы в присутствии рибофлавина составляет около 30%, в то время как в сочетании с другими фотомедиаторами — 30—95% [9].

Опытным путем доказано, что выбранные параметры ультрафиолетового облучения (3 мВт/см² продолжительностью 30 минут) в присутствии рибофлавина приводят к абсорбции около 90—95% энергии излучения, в том числе в роговице на глубине до 200 мкм — 65%, от 200 до 400 мкм — лишь 25—30% энергии, т.е. структурные изменения в составе коллагена происходят в основном в верхних слоях роговицы [4].

Еще одним доказательством безопасности кросслинкинга служит тот факт, что при выполнении процедуры источник облучения размещают примерно на расстоянии 1—2 см от поверхности роговицы, и вследствие рассеяния света УФ-излучение не повреждает глублежащие структуры (эндотелий роговицы, хрусталик и сетчатка), т.е. происходит проникновение незначительной части энергии излучения, недостаточной для лучевого повреждения тканей глаза [5].

Стандартный метод кросслинкинга состоит из трех этапов: первый — дезэпителизация роговицы глаза, второй — насыщение стромы роговицы раствором 0,1% рибофлавина в течение 15 минут и третий — ультрафиолетовое облучение роговицы длиной волны 370 нм продолжительностью 30 минут с одновременными инстилляциями рибофлавина. Состоятельность насыщения роговицы рибофлавином контролируется при биомикроскопии с кобальтовым (синим) светофильтром.

Дезэпителизация роговицы нужна по двум причинам: во-первых, эпителий имеет низкую проницаемость для рибофлавина; во-вторых, эпителий сам по себе активно поглощает УФ-излучение и существенно снижает его проникновение в строму. Для выполнения дезэпителизации проводят местную анестезию роговицы, затем шпателем удаляют эпителий над проекцией эктазированной участка, ориентируясь на данные кератотопографии. Поскольку эпителий роговицы имеет высокую регенеративную способность, то его полное восстановление наступает через 2—4 суток после процедуры.

В стандартном протоколе для кросслинкинга изначально использовали 0,1% водный раствор рибофлавина [10], а в последние годы — 0,1% раствор рибофлавина с декстраном [3]. Введение полимера в состав офтальмологического раствора существенно повышает его вязкость и способствует образованию стабильной прекорнеальной пленки, обеспечивая требуемый пролонгированный контакт фоточувствительного рибофлавина с роговицей, что позволяет в 4—6 раз сократить число инстилляций. Кроме этого, декстран обладает противоотечными и дезинтоксикационными свойствами.

Ранее было установлено, что сокращение продолжительности облучения при увеличении мощности УФ-излучения не позволяет получить аналогичную степень кросслинкинга, поскольку ткань роговицы проявляет биохимическую активность, направленную против действия свободных радикалов. При этом повышение концентрации рибофлавина в роговице обратно пропорционально степени связывания фибрилл коллагена. Тем не менее, до настоящего времени ведутся активные по-

иски, направленные на изменение концентрации фотосенсибилизатора, продолжительности и мощности облучения.

Несмотря на достижения современной офтальмологии в исследовании факторов, способствующих развитию дегенерации роговицы, их эпидемиологии, клиники, хирургических методов лечения и реабилитации, поиск и разработка патогенетически ориентированных способов лечения на основе применения новых медицинских изделий остаются актуальными.

Материалы и методы. В клинические наблюдения включены 107 пациентов (116 глаз) с диагнозом кератоконус I—III степени (классификация по Amsler) и пеллюцидная краевая дегенерация роговицы, которым был проведен ультрафиолетовый кросслинкинг роговичного коллагена по стандартной методике.

Процедура кросслинкинга выполнялась в условиях операционной. Под местной анестезией (раствор 0,4% оксибупрокаина, «Инокаин») производили деэпителизацию роговицы диаметром около 7 мм, обеспечивающую диффузию фотосенсибилизатора и насыщение стромы. В течение 15—20 минут проводили инстилляцию раствора «Декстралинк», содержащего 0,1% рибофлавин-моноклеотид и 20% декстран с молекулярной массой 450—550 kDa на изотонической основе (Уф НИИ ГБ, регистрационное удостоверение № ФСР2010/09071) (рис. 1).



Рис. 1. Корнеопротектор «Декстралинк»

Раствор обеспечивает длительный контакт действующего вещества с оболочкой глаза, за счет вязкого полимера, входящего в его состав. «Декстралинк» снижает интенсивность ультрафиолетового излучения, защищает эндотелий и чувствительные внутриглазные структуры, положительно влияет на структурную сохранность кератоцитов, ускоряет регенераторные процессы в роговице и заживление ран.

Состоятельность насыщения стромы роговицы оценивалось наличием флуоресценции (зеленое свечение) во влаге передней камеры глаза при биомикроскопическом исследовании с кобальтовым светофильтром.

Облучение роговицы производилось с использованием устройства «УФалинк» (Уф НИИ ГБ, регистрационное удостоверение № ФСР2009/05489) (рис. 2).

В аппарате «УФалинк» используется оптическая система, образующая однородный, сходящийся световой пучок, обеспечивающий коррекцию аберраций и отражений на поверхности роговицы.



Рис. 2. Устройство для ультрафиолетового облучения роговицы глаза «УФалинк»

Излучатель позволяет формировать поток ультрафиолетового света в нужном фокусном диапазоне, при этом зона облучения регулируется диафрагмой, а изображение операционного поля передается на сенсорный монитор блока управления, оснащенного откалиброванной системой наведения на объект. Отметим, что сходящийся световой поток, генерируемый излучателем «УФалинк», проникая через оптическую систему глаза, рассеивается и соответственно «ослабевает», что обеспечивает дополнительную безопасность сетчатки и позволяет избегать образования локальных зон неравномерного облучения на поверхности роговицы.

Для процедуры использовали следующие параметры УФ воздействия: длина волны 370 нм, мощность 3 мВт/см², сила тока 11 мА, продолжительность 30 минут. Интенсивность ультрафиолетового излучения контролировалась с помощью «УФ-тестера». Одновременно с облучением выполняли инстилляцию средства «Декстралинк». В послеоперационном периоде проводилась местная антибактериальная и дегидратационная терапия.

Применялись традиционные офтальмологические методы исследования: визиометрия, биомикроскопия, рефрактометрия, кератотопография; дополнительно: конфокальная биомикроскопия (HRT-III, Heidelberg, Германия), оптикокогерентная томография (Vizante-ОСТ, CarlZeiss, США).

Срок наблюдений — 4 года.

Результаты и обсуждение. В разделе представлены сведения об использовании методики ультрафиолетового кросслинкинга роговицы, которая успешно применяется в Уфимском НИИ глазных болезней более 5 лет, на основе применения разработанных новых медицинских изделий — корнеопротектора «Декстралинк», устройства для перекрестного связывания коллагена роговицы «УФалинк».

Преломляющая сила роговицы до процедуры составила $53,49 \pm 0,29$ D, величина роговичного астигматизма — $5,25 \pm 0,22$ D, радиус кривизны роговицы — $6,49 \pm 0,11$ мм, острота зрения без коррекции — $0,28 \pm 0,18$ D, с очковой коррекцией — $0,44 \pm 0,14$ D.

В первую неделю после процедуры наблюдали снижение некорригированной остроты зрения с $0,28 \pm 0,07$ до $0,10 \pm 0,05$, что было обусловлено псевдохейзом в результате возникновения лакунарного отека, вызванного гибелью кератоцитов. По данным биомикроскопии процесс эпителизации полностью завершился на 4 сутки.

Через 3 месяца, по мере восстановления прозрачности роговицы, острота зрения достигла дооперационного уровня, одновременно с этим было отмечено, что пациенты лучше стали переносить жесткие газопроницаемые контактные линзы. К 6 месяцу после операции установлено увеличение корригированной остроты зрения с $0,52 \pm 0,09$ до $0,63 \pm 0,05$.

Преломляющая сила роговицы уменьшилась до $49,41 \pm 1,69$ D, после исчезновения псевдохейза данный показатель возрос до $51,00 \pm 0,34$ D и оставался стабильным в течение года. В дальнейшем (через 4 года) наблюдался регресс преломляющей силы роговицы на $2,05$ D у 75% пациентов (83 случая), отмечено снижение роговичного астигматизма до $3,2 \pm 0,27$ D, увеличение радиуса кривизны до $6,85 \pm 0,15$ мм, острота зрения без коррекции составила $0,32 \pm 0,29$ D, с очковой коррекцией — $0,52 \pm 0,23$ D.

При проведении конфокальной микроскопии с использованием роговичной насадки лазерного сканирующего томографа HRT-III, через месяц после УФ кросслинкинга, в передних слоях стромы определялась невыраженная деградация кератоцитов, которая регистрировалась в виде высокоотражательной сетчатой структуры, при этом средние и задние слои стромы оставались без изменений. Через 1,5 года наблюдений после процедуры в передних слоях стромы наблюдались единичные активированные кератоциты, визуализировалась складчатость, обусловленная эффектом «стягивания».

При исследовании пахиметрических карт по данным оптикокогерентной томографии в течение месяца после процедуры было обнаружено некоторое увеличение толщины роговицы в зоне облучения — от 5 до 17 мкм. В дальнейшем в течение 3 месяцев происходило постепенное снижение ее толщины в среднем на $28,02 \pm 0,14$ мкм. За указанный период, кроме улучшения остроты зрения наблюдаемой после УФ кросслинкинга, у пациентов отмечалась стабилизация неуклонно прогрессирующего патологического процесса эктазированной роговицы.

Таким образом, ультрафиолетовый кросслинкинг роговичного коллагена для лечения начальных стадий кератоконуса с использованием новых медицинских изделий — устройства «УФалинк» и корнеопротектора «Декстралинк» является малоинвазивным, эффективным методом, позволяющим добиться улучшения биометрических показателей роговицы за счет ее биомеханической стабилизации, достичь хороших оптических результатов и замедлить прогрессирование заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Бикбов М.М., Бикбова Г.М. Эктазии роговицы. М.: Изд-во «Офтальмология», 2011.
- [2] Каспарова Е.А. Ранняя диагностика, лазерное и хирургическое лечение кератоконуса: автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. М., 2003.

- [3] Hafezi F., Mrochen M., Iseli H.P. et al. Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas // *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2009. Vol. 35(4). P. 621—624.
- [4] Schilde T., Kohlhaas M., Spoerl E. et al. Enzymatic evidence of the depth dependence of stiffening on riboflavin/UVA treated corneas // *Ophthalmologie*. 2008. Vol. 105. P. 165—169.
- [5] Kohlhaas M. Kollagen-Crosslinking mit Riboflavin und UVA-Licht beim Keratokonus // *Ophthalmologie*. 2008. Vol. 105. P. 785—793.
- [6] Rad A.S., Jabbarvand M., Saifi N. Progressive keratoectasia after laser in situ keratomileusis // *J. Refract Surg*. 2004. Vol. 20(5). P. 718—722.
- [7] Ramu A., Mehta M.M., Liu J. et al. The riboflavin-mediated photooxidation of doxorubicin // *Cancer Chemometr. Pharmacol*. 2000. Vol. 46 (6). P. 449—458.
- [8] Spoerl E., Mrochen M., Sliney D. et al. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea // *Cornea*. 2007. Vol. 26. P. 385—389.
- [9] Spoerl E., Seiler T. Techniques for stiffening the cornea // *J. of Refractive Surgery*. 1999. Vol. 15(6). P. 711—713.
- [10] Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-A-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus // *Am. J. Ophthalmol*. 2003. Vol. 135(5). P. 620—627.

NEW MEDICAL DEVICES FOR PHOTOTHERAPY OF CORNEAL DISEASES

G.A. Drozdova

Department of general pathology and pathophysiology
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maclaya str., 8, Moscow, Russia, 117198
e-mail: g-drozdova@yandex.ru

**M.M. Bikbov, A.R. Khalimov, G.M. Kazakbaeva,
S.V. Kharitonov, T.A. Khalimov**

Ufa eye research institute
Pushkin str., 90, Ufa, Russia, 450008
e-mail: eye@anrb.ru

Results of clinical trial and information about new developed medical devices for UV corneal collagen cross-linking at Ufa eye research institute are given.

Key words: keratoconus, cross-linking.

REFERENCES

- [1] Bikbov M.M., Bikbova G.M. *Cornea ectasia*. Moscow: Publishing house «Ophthalmology», 2011. (In Russian).
- [2] Kasparova E.A. *Early diagnostics, laser and surgical treatment of a keratokonus*. Doctor's thesis. Moscow, 2003. (In Russian).
- [3] Hafezi F., Mrochen M., Iseli H.P. et al. Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, 2009, vol. 35(4), pp. 621—624.

- [4] Schilde T., Kohlhaas M., Spoerl E. et al. Enzymatic evidence of the depth dependence of stiffening on riboflavin/UVA treated corneas. *Ophthalmologie*, 2008, vol. 105, pp. 165—169.
- [5] Kohlhaas M. Kollagen-Crosslinking mit Riboflavin und UVA-Licht beim Keratokonus. *Ophthalmologie*, 2008, vol. 105, pp. 785—793.
- [6] Rad A.S., Jabbarvand M., Saifi N. Progressive keratoectasia after laser in situ keratomileusis. *J. Refract Surg.*, 2004, vol. 20(5), pp. 718—722.
- [7] Ramu A., Mehta M.M., Liu J. et al. The riboflavin-mediated photooxidation of doxorubicin. *Cancer Chemometr. Pharmacol.*, 2000, vol. 46 (6), pp. 449—458.
- [8] Spoerl E., Mrochen M., Sliney D. et al. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea. *Cornea*, 2007, vol. 26, pp. 385—389.
- [9] Spoerl E., Seiler T. Techniques for stiffening the cornea. *J. of Refractive Surgery*, 1999, vol. 15(6), pp. 711—713.
- [10] Wollensak G., Spoerl E., Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-A-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am. J. Ophthalmol.*, 2003, vol. 135(5), pp. 620—627.