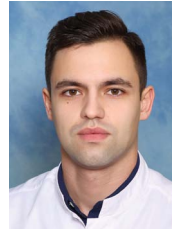


## Экспериментальное обоснование применения эксимерного лазера для заготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики

А.Н. Паштаев<sup>1</sup>Н.П. Паштаев<sup>2</sup>К.И. Катманов<sup>2</sup>Б.Э. Малюгин<sup>1</sup>

Н.А. Поздеева<sup>2</sup>, И.В. Мухина<sup>3,4</sup>, С.Б. Измайлова<sup>1</sup>, С.А. Коротченко<sup>3</sup>, С.С. Алиева<sup>1</sup>, К.Н. Кузьмичев<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Бескудниковский бульвар, 59а, Москва, 127486, Российская Федерация

<sup>2</sup> Чебоксарский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
просп. Тракторостроителей, 10, Чебоксары, 428028, Российская Федерация

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации  
пл. Минина и Пожарского, 10/1, Нижний Новгород, 603005, Российская Федерация

<sup>4</sup> Институт биологии и биомедицины  
просп. Гагарина 23, корп. 1, Нижний Новгород, 603022, Российская Федерация

### РЕЗЮМЕ

Офтальмология. 2020;17(2):202–208

**Цель:** экспериментально обосновать применение эксимерного лазера при формировании ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики. **Материал и методы.** Методом атомно-силовой микроскопии исследовали 10 образцов трансплантата. Контрольная группа — 5 роговичных лоскутов, полученных с помощью механического микрокератома. Основная группа — 5 роговичных дисков, полученных тем же способом и подвергнутых дальнейшей фотоабляции поверхности с помощью эксимерного лазера на глубину 50 мкм. Для количественной оценки состояния эндотелия использовали 10 донорских роговиц (5 пар) с жизнеспособным эндотелием, законсервированных в среде Борзенка — Мороз. Изучены 2 группы по 5 роговиц в каждой. Основная группа — ультратонкие трансплантаты, полученные методом последовательного применения механического микрокератома и эксимерного лазера. Контрольная группа (из парных глаз тех же доноров) — ультратонкие трансплантаты, подготовленные по методике двух срезов микрокератомом. Распознавание живых и мертвых эндотелиоцитов проводили с помощью «витальных» флуоресцентных красителей Calcein Violet 450 и Propidium Iodide. **Результаты.** Параметр RMS (значение среднеквадратичной шероховатости поверхности) трансплантата, изготовленного с применением эксимерного лазера, составил  $24,17 \pm 12,4$  мкм, с помощью микрокератома —  $22,3 \pm 18,3$  мкм. Статистический анализ не выявил достоверных различий между значениями RMS в указанных группах ( $p > 0,05$ ). Процент гибели эндотелиальных клеток (ЭК) при последовательном использовании микрокератома и эксимерного лазера составил  $10,35 \pm 5,84$  %. Гибель ЭК в контрольной группе, в которой ультратонкий трансплантат получали при помощи двух резов микрокератомом, была равна  $8,06 \pm 1,31$  % ( $p > 0,05$ ). **Выводы.** Исследование продемонстрировало, что поверхность, подготовленная с применением эксимерного лазера, сопоставима по шероховатости (RMS) с таковой, полученной с помощью микрокератома, что говорит о высоких оптических качествах трансплантата. Потеря ЭК на ультратонких трансплантатах, заготовленных с применением эксимерного лазера, была сопоставима с таковой на трансплантатах, заготовленных с помощью микрокератома. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения трансплантатов нового типа для задней послойной кератопластики.

**Ключевые слова:** трансплантация эндотелия, эксимерный лазер, ультратонкий трансплантат, задняя послойная кератопластика, витальные красители, атомно-силовая микроскопия

**Для цитирования:** Паштаев А.Н., Паштаев Н.П., Поздеева Н.А., Мухина И.В., Измайлова С.Б., Коротченко С.А., Катманов К.И., Алиева С.С., Кузьмичев К.Н., Малюгин Б.Э. Экспериментальное обоснование применения эксимерного лазера для заготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики. *Офтальмология*. 2020;17(2):202–208. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2020-2-202-208>

**Прозрачность финансовой деятельности:** Никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах

#### Конфликт интересов отсутствует

Исследование проведено за счет средств Чебоксарского филиала ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова».



# Experimental Rationale for Using an Excimer Laser for Preparation of Ultrathin Graft for Posterior Lamellar Keratoplasty

A.N. Pashtaev<sup>1</sup>, N.P. Pashtaev<sup>2</sup>, N.A. Pozdeyeva<sup>2</sup>, I.V. Mukhina<sup>3,4</sup>, S.B. Izmailova<sup>1</sup>, S.A. Korotchenko<sup>3</sup>, H.I. Hatmakov<sup>2</sup>, S.S. Alieva<sup>1</sup>, H.N. Kuzmichev<sup>1</sup>, B.E. Malyugin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Beskudnikovskiy blvd, 59A, Moscow, 127486, Russian Federation

<sup>2</sup>Cheboksary branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Ave. Tractor builders, 10, Cheboksary, 428028, Russian Federation

<sup>3</sup>Privolzhsky Research Medical University  
Minin&Pozharsky sq. 10/1, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation

<sup>4</sup>Institute of Biology and Biomedicine  
Gagarina ave., 23/1, Nizhny Novgorod, 603022, Russian Federation

## ABSTRACT

Ophthalmology in Russia. 2020;17(2):202–208

**Purpose.** To rationale experimentally the use of an excimer laser for forming an ultrathin transplant for posterior lamellar keratoplasty. **Materials and methods.** Atomic force microscopy was used for examination of 10 samples. Control group was 5 corneal flaps obtained by mechanical microkeratome (Moria SLH-2, France). Main group — 5 corneal flaps, obtained by microkeratome and underwent photoablation by “Microscan 500” (Optosystems, Troick, RF) excimer laser at 50  $\mu\text{m}$  depth. For quantification of endothelial loss 10 donor corneas (5 pairs) with viable endothelium, preserved in Borzenok—Moroz media, were used. Two groups were formed: main — 5 ultrathin transplants obtained by consistent application of microkeratome and excimer laser, control (from the paired eyes of same donors) — ultrathin transplants prepared by two cuts of microkeratome. Detection of live and dead endothelial cells (EC) was provided by Calcein Violet 450 and Propidium Iodide “vital” fluorescent dyes. Nonparametric Mann—Whitney test was used for statistical analysis. Coefficient of reliability ( $p < 0.05$ ) was considered to be significant. **Results.** RMS (roughnessmean square) of the transplant, prepared by excimer laser was —  $24.17 \pm 12.4 \mu\text{m}$ , and RMS of the transplant prepared by microkeratome —  $22.3 \pm 18.3 \mu\text{m}$ . Statistical analysis did not reveal significant differences in RMS values in the mentioned groups ( $p > 0.05$ ). EC death in excimer laser group was  $10.35 \pm 5.84 \%$ . EC death in microkeratome group —  $8.06 \pm 1.31 \%$ . No statistically reliable difference of EC death was revealed in the 2 groups ( $p > 0.05$ ). **Conclusions.** The investigation has showed identical RMS values in the examined groups, representing high optical qualities of the transplant prepared by excimer laser. EC loss was also comparable in 2 groups. The received results indicate considerable potential of excimer laser transplants for posterior lamellar keratoplasty.

**Keywords:** DSAEK, excimer laser, ultrathin transplant, posterior lamellar keratoplasty, vital dyes, atomic force microscopy

**For citation:** Pashtaev A.N., Pashtaev N.P., Pozdeyeva N.A., Mukhina I.V., Izmailova S.B., Korotchenko S.A., Hatmakov H.I., Alieva S.S., Kuzmichev H.N., Malyugin B.E. Experimental Rationale for Using an Excimer Laser for Preparation of Ultrathin Graft for Posterior Lamellar Keratoplasty. *Ophthalmology in Russia*. 2020;17(2):202–208. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2020-2-202-208>

**Financial Disclosure:** No author has a financial or property interest in any material or method mentioned

**There is no conflict of interests**

## ВВЕДЕНИЕ

Задняя послойная кератопластика (ЗПК) — относительно новая хирургическая техника, при которой пациентам с недостаточностью заднего эпителия роговицы различного генеза пересаживают донорский эндотелий. ЗПК имеет ряд преимуществ перед сквозной кератопластикой (СКП) [1].

Многочисленные преимущества ЗПК перед СКП включают: отсутствие осложнений, связанных с операцией по типу «открытое небо» и с наложением швов, лучшие рефракционные результаты и более быструю реабилитацию [2].

Наряду с достоинствами, которыми обладает методика ЗПК, не всегда удается добиться высоких показателей остроты зрения, что связано с наличием субэпителиальных и стромальных изменений, плохо предсказуемой

толщиной и неравномерностью трансплантата, индуцированным астигматизмом, гиперметропическим сдвигом рефракции [3].

Потребность в высоком качестве поверхности трансплантата и расширение навыков работы с более тонкими тканями объясняют продолжающийся поиск надежных методов заготовки трансплантата для ЗПК.

В настоящее время трансплантат, состоящий из задней стромы роговицы, десцеметовой мембраны и эндотелия, изготавливается с помощью различных методик с использованием микрокератома, фемтосекундного лазера, эксимерного лазера или комбинации этих устройств [4].

Ранее было показано, что при заготовке трансплантата с применением фемтосекундного лазера с эндотелиальной стороны ключевым моментом является величина применяемой энергии. Были получены данные,

согласно которым при использовании энергии импульса, равной 1,0 мкДж, имелись минимальные складки и неровности поверхности, а при энергии импульса в диапазоне 1,0–1,4 мкДж происходило увеличение неровности поверхности, образование кавитационных пузырьков, продольных параллельных углублений, отражающих, вероятно, траекторию лазерного луча при выполнении лазерной абляции ткани. Применение высокой энергии импульса, равной 1,8 мкДж, приводило к выраженным стромальным повреждениям. Таким образом, увеличение энергии импульса вызывало реорганизацию слоев стромального коллагена и нарушение деликатной геометрии ткани роговицы с возможными негативными последствиями для проникновения светового луча [5].

Применение микрокератома также позволяет получать ультратонкие трансплантаты, однако сложно точно предсказать его итоговую толщину, что может негативно отразиться на остроте зрения, кроме того, достаточно высок риск перфорации трансплантата [4].

Обращает на себя внимание факт, что эксимерный лазер дает возможность создавать трансплантаты предсказуемой толщины, при этом без значительного влияния на качество эндотелиального слоя [6].

Исследования показывают, что применение комбинированной фемтосекундной лазерной диссекции ламеллярной ткани с фотоабляцией поверхности с помощью эксимерного лазера позволяет получать роговичный трансплантат с более гладким высококачественным интерфейсом по сравнению с использованием механического микрокератома, двойного и однократного среза фемтосекундным лазером [6].

Последовательное применение механического микрокератома и эксимерного лазера является актуальной альтернативной методикой формирования ультратонкого трансплантата для ЗПК без риска его перфорации.

Оценивая качество ультратонкого трансплантата, полученного тем или иным способом, важно учитывать не только равномерность поверхности среза, но и потерю эндотелиальных клеток (ЭК). Помимо этого, любое оперативное вмешательство влечет за собой дополнительную потерю ЭК, поэтому их подсчет включают в каждое исследование для определения эффективности хирургической методики [7].

Окрашивание клеток заднего эпителия роговицы — это наиболее часто используемый метод, применяемый как для определения количества клеток, так и для оценки их формы, размера и жизнеспособности, а также целостности эндотелиального слоя [8].

**Цель исследования** состояла в проведении экспериментального обоснования применения эксимерного лазера для формирования ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики.

В задачи исследования входило методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) оценить качество поверхности ультратонкого трансплантата, изготовленного с применением эксимерного лазера, в сравнительном аспекте

с «классической» методикой кератотомии для задней послойной кератопластики. С помощью витальных красителей изучить потерю ЭК при получении ультратонкого трансплантата с применением микрокератома и эксимерного лазера в сравнительном аспекте с методикой двух срезов микрокератомом.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Методом атомно-силовой микроскопии исследовали 10 образцов. Контрольную группу составили 5 роговичных лоскутов, полученных в ходе формирования ультратонкого трансплантата для задней автоматизированной послойной кератопластики с помощью механического микрокератома (Moria SLK-2, Франция). Сканировали поверхность, конгруэнтную поверхности трансплантата. В основную группу было включено 5 роговичных дисков, полученных тем же способом и подвергнутых дальнейшей фотоабляции поверхности с помощью эксимерного лазера «Микроскан 500» («Оптосистемы», Троицк, РФ) на глубину 50 мкм.

Образцы первой и второй групп помещали в 10 % формалин. Непосредственно перед исследованием их подвергали сушке в эксикаторе по стандартной методике. Технические аспекты атомно-силовой микроскопии были следующими: атомно-силовой микроскоп Certus V (NanoScanTechnologies, Россия), образцы анализировали в контактном режиме в воздушной среде.

При микроскопии использовали зонды для контактной атомно-силовой микроскопии MSCT-AUNM (Veeco, США) с жесткостью балки 0,01 Н/м и радиусом кривизны зонда 10 нм. Количественный морфометрический анализ проводили с использованием штатного программного обеспечения микроскопа.

Перед расчетом среднеквадратичной шероховатости поверхности (RMS) полученные изображения программными средствами распрямляли по осям x, y. При этом для каждого образца анализировали не менее 5 изображений площадью по 400 мкм<sup>2</sup> (20×20 мкм).

Для статистической обработки данных использовали штатное программное обеспечение микроскопа. Расчеты статистической значимости различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна — Уитни. Коэффициент достоверности  $p < 0,05$  считали значимым.

Для проведения эксперимента по оценке состояния ЭК использовали 10 донорских человеческих кадаверных корнеосклеральных дисков с жизнеспособным эндотелием, консервированных в среде Борзенка — Мороз. Сформировали 2 группы по 5 роговиц в каждой группе. В первую (основную) группу вошло 5 донорских роговиц, из которых выкроили ультратонкие трансплантаты методом последовательного применения микрокератома и эксимерного лазера. Вторая (контрольная) группа состояла из 5 донорских роговиц, полученных от парных глаз тех же доноров, из которых сформировали ультратонкие трансплантаты при помощи «классической»

методики», то есть благодаря двукратному использованию механического кератома. Ультратонким считали трансплантат, который обладал толщиной менее или равной 130 мкм в центральной зоне.

В первой группе донорский трансплантат, законсервированный в среде Борзенка — Мороз, формировали по методике, состоящей из двух этапов. Первым этапом корнеосклеральный диск монтировали на искусственную переднюю камеру, подключенную к инфузионной системе, внутри которой создавали давление 60 см водн. ст., выполняли ОКТ пахиметрию, затем проводили один срез механическим микрокератомом Moria SLK 2 с турбиной продольного типа и головками калибра 400 или 450 мкм. Допустимо также выполнение двух срезов головкой 200 мкм. После этого выполнили повторную ОКТ пахиметрию в центральной и периферической зоне трансплантата. Второй этап представлял собой дозированную эксимерлазерную абляцию с использованием эксимерного лазера «Микроскан» 500 Гц. Глубину абляции в центральной и периферической зоне трансплантата вводили в программу «сложная ФТК»: от 30 до 150 мкм в центральной зоне и от 50 до 200 мкм — в периферической. Процесс абляции происходил одновременно в центральной зоне и на периферии. Остаточная толщина трансплантата в центральной зоне программировалась равной 130 мкм. Итоговая толщина трансплантатов находилась в диапазоне от 120 до 130 мкм в центральной зоне. Не было зафиксировано ни одного случая отбраковки донорского материала.

После выполнения абляции пробойником (Barron, USA) выкраивали центральный роговичный диск диаметром 8,0 мм и проводили оценку жизнеспособности клеток заднего эпителия.

Во вторую группу вошли трансплантаты, заготовленные по методике двух срезов микрокератомом. Донорский трансплантат, законсервированный в среде Борзенка — Мороз, монтировали на искусственную переднюю камеру, подключенную к инфузионной системе, внутри которой создавали давление 50–60 см водн. ст. Выполняли ОКТ пахиметрию, затем проводили первый срез механическим микрокератомом Moria SLK 2 с турбиной продольного типа и головкой калибра 300, 400 или 450 мкм, после этого выполняли повторную ОКТ пахиметрию. Далее проводили второй срез кератомом с головкой 200 или 130 мкм. Ультратонким считали трансплантат толщиной в центре 130 мкм или менее, затем пробойником (Barron, USA) выкраивали центральный роговичный диск диаметром 8,0 мм и проводили оценку жизнеспособности клеток заднего эпителия.

Далее выполняли окрашивание эндотелия трансплантата флуоресцентными красителями. Для окрашивания клеток использовали Calcein Violet 450 AM ViabilityDye (Thermo Fisher Scientific, 65-0854-39) — мембранно-проницаемый краситель, окрашивающий живые клетки и клетки, находящиеся на ранней стадии апоптоза. При проникновении в клетку внутриклеточные эстеразы расщепляют ацетоксиметильную сложноэфирную

группу, в результате этого образуется мембранно-непроницаемый флуоресцентный краситель Calcein Violet. Мертвые клетки с нарушенными клеточными мембранами не удерживают данный краситель. Мертвые клетки и клетки, находящиеся на поздней стадии апоптоза, визуализировали с помощью красителя Propidium Iodide (Sigma Aldrich, P4170) — флуоресцентного красителя нуклеиновых кислот, окрашивающего ядра погибших клеток. Целостность мембраны живых клеток и клеток на ранней стадии апоптоза исключает их окрашивание данным маркером.

Для визуализации окрашивания использовали инвертированный микроскоп Leica DMIL HC (Leica, Германия). Возбужденные метки красителя Calcein Violet в сочетании с синим фильтром придавали синюю окраску цитоплазме живых клеток и клеток на ранней стадии апоптоза. Возбужденные метки красителя Propidium Iodide в сочетании с красным фильтром придавали красную окраску ядрам мертвых клеток и клеток, находящихся на поздней стадии апоптоза. Выполняли по 5 снимков каждой роговицы: центральная зона и четыре квадранта на периферии (сверху от центра, снизу от центра, справа и слева соответственно). Подсчет живых и мертвых клеток с полученных изображений проводили с применением программы ImageJ. Затем рассчитывали процент мертвых клеток относительно их общего количества.

Расчеты статистической значимости различий проводили с использованием непараметрического критерия Манна — Уитни. Коэффициент достоверности  $p < 0,05$  считали значимым.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Оценка поверхности среза методом атомно-силовой микроскопии

Данные представлены в виде  $M \pm \sigma$ , где  $M$  — среднее арифметическое,  $\sigma$  — стандартное отклонение.

В первой группе (рис. 1), в которой трансплантат был сформирован при помощи кератома и эксимерного лазера «Микроскан» 500 Гц, значение среднеквадратичной шероховатости поверхности (RMS) составило  $24,17 \pm 12,4$  мкм. Во второй группе (рис. 2), в которой глубокий роговичный лоскут был выкроен с помощью микрокератома (Moria SLK-2), значение RMS составило  $22,3 \pm 18,3$  мкм. Статистический анализ не выявил достоверных различий между значениями исследуемого параметра в указанных группах ( $p > 0,05$ ).

Ранее был проведен анализ качества формируемой поверхности трансплантата методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) среди четырех методов: изолированного использования микрокератома, однократного среза фемтосекундным лазером, двукратного среза фемтосекундным лазером, комбинации фемтосекундного и эксимерного лазера. В итоге был сделан вывод о более гладкой поверхности трансплантата, выкроенной с применением комбинированного метода — с помощью фемтосекундного и эксимерного лазера [6].

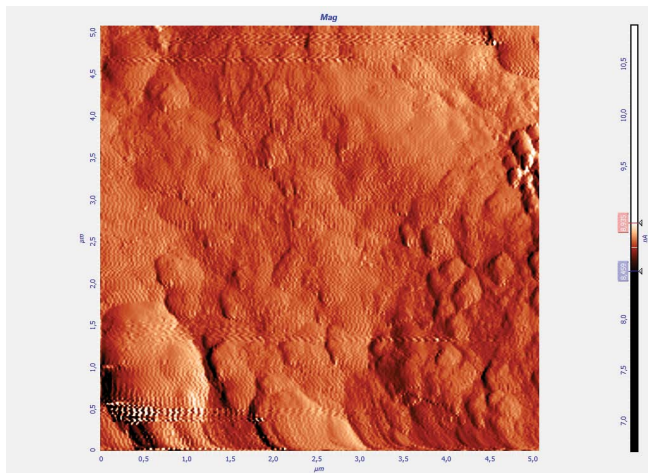


В другом исследовании при сравнении изолированного использования кератома и комбинации кератома с эксимерным лазером в отношении гладкости поверхности трансплантата с применением метод СЭМ было сделано заключение о более высоком качестве поверхности при применении комбинированной методики [11].

Наши данные, полученные с помощью атомно-силовой микроскопии, говорят о сопоставимом, но не превосходящем качестве поверхности трансплантата, сформированного в опытной группе — при помощи кератома и эксимерного лазера, в сравнении с контрольной группой, в которой трансплантат формировали только при помощи кератома.

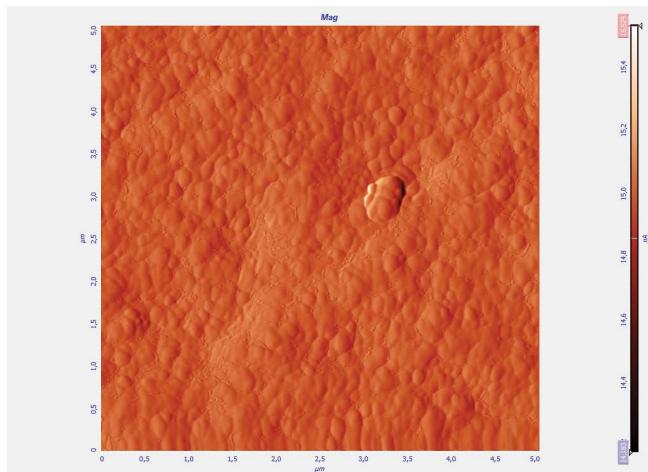
### Потеря эндотелиальных клеток

В первой группе потеря ЭК (рис. 3А–В) при последовательном использовании механического микрокератома и эксимерного лазера составила в среднем  $10,35 \pm 5,84 \%$ .



**Рис. 1.** Изображение поверхности образца первой группы (кератом + эксимерный лазер), полученное методом атомно-силовой микроскопии

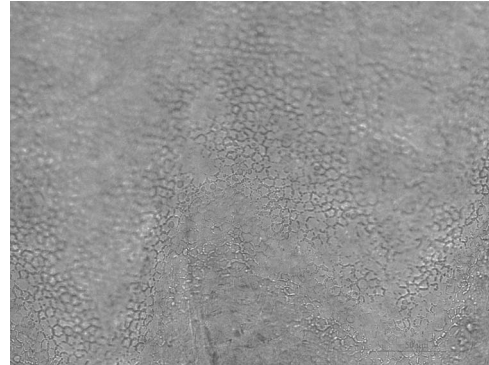
**Fig. 1.** Image sample surface of the first group (keratom + excimer laser) obtained by atomic force microscopy



**Рис. 2.** Изображение поверхности образца второй группы (кератом), полученное методом атомно-силовой микроскопии

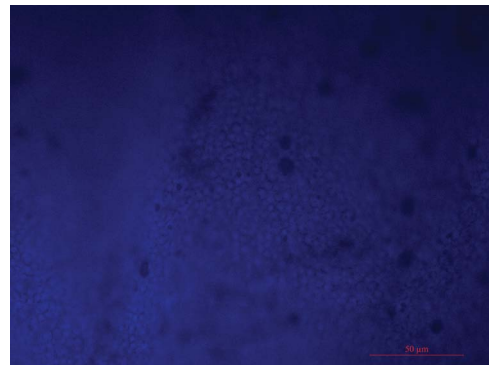
**Fig. 2.** Image sample surface of the of the second group (keratom) obtained by atomic force microscopy

Процент гибели ЭК во второй группе (рис. 4А–В), в которой ультратонкий трансплантат изготавливался при помощи двух срезов микрокератома, был равен в среднем  $8,06 \pm 1,31 \%$ . При сравнении потери клеток в первой и второй группе статистически достоверных различий в гибели эндотелия не выявлено ( $p > 0,05$ ).



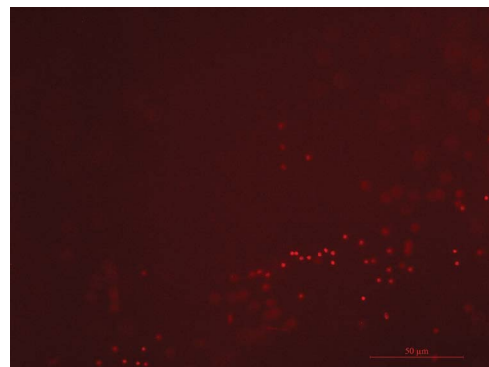
**Рис. 3А.** Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи механического кератома и эксимерного лазера, увеличение  $\times 10$

**Fig. 3A.** Endothelium of graft cut with mechanical keratom and excimer laser, magnification  $\times 10$



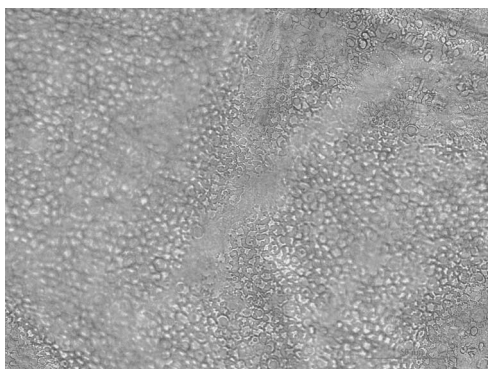
**Рис. 3Б.** Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи механического кератома и эксимерного лазера, живые клетки окрашены синим (Calcein Violet 450 AM), идентичный участок, увеличение  $\times 10$

**Fig. 3B.** Endothelium of graft cut with mechanical keratom and excimer laser, live cells stained blue (Calcein Violet 450 AM), identical site, magnification  $\times 10$



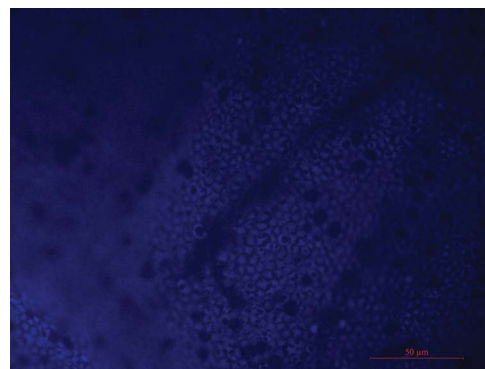
**Рис. 3В.** Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи механического кератома и эксимерного лазера, мертвые клетки окрашены красным (Propidium Iodide), увеличение  $\times 10$

**Fig. 3B.** Endothelium of graft cut with mechanical keratom and excimer laser, dead cells stained red (Propidium Iodide), magnification  $\times 10$



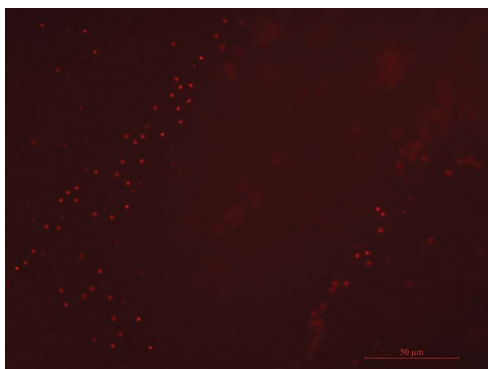
**Рис. 4А.** Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи двух срезов механическим кератомом, увеличение  $\times 10$

**Fig. 4A.** Endothelium of 2-section graft with mechanical keratom, magnification  $\times 10$



**Рис. 4Б.** Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи двух срезов механическим кератомом, живые клетки окрашены синим (Calcein Violet 450 AM), увеличение  $\times 10$

**Fig. 4B.** Endothelium of 2-section graft with mechanical keratom, live cells stained blue (Calcein Violet 450 AM), magnification  $\times 10$



**Рис. 4В.** Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи двух срезов механическим кератомом, мертвые клетки окрашены красным (Propidium Iodide), увеличение  $\times 10$

**Fig. 4B.** The endothelium of 2-section graft with mechanical keratom, dead cells stained red (Propidium Iodide), magnification  $\times 10$

Литературные данные свидетельствуют о том, что процент потери ЭК при получении ультратонкого трансплантата при помощи только микрокератома варьирует от 3,7 [9] до 21 % [10]. В проведенном нами исследовании были получены сопоставимые данные. Представляют интерес и данные относительно потери эндотелиальных клеток при применении комбинированной методики кератом + эксимерный лазер для формирования трансплантата. Эти значения находятся в диапазоне от 1,3 [11] до 3,7 % [12]. Полученные нами результаты несколько превышают указанный интервал значений,

однако сопоставимы с показателями контрольной группы и данными литературы [9, 10].

## ВЫВОДЫ

Проведенное исследование продемонстрировало, что применение эксимерного лазера позволяет получить предсказуемый по толщине ультратонкий трансплантат с гладкой поверхностью, что свидетельствует о его высоких оптических свойствах. Потеря ЭК, ассоциированная с использованием эксимерного лазера и микрокератома, сравнима с таковой при «классической» микрокератомной технике, однако лазерная технология исключает риск перфорации трансплантата. Полученные результаты позволяют говорить о возможности безопасного и прогнозируемого применения эксимерного лазера для заготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики и перспективности применения трансплантатов такого типа в клинической практике.

## УЧАСТИЕ АВТОРОВ:

Паштаев А.Н. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, редактирование;  
 Катмаков К.И. — сбор и обработка материала, написание текста;  
 Алиева С.С. — сбор и обработка материала, написание текста;  
 Кузьмичев К.Н. — сбор и обработка материала, написание текста;  
 Коротченко С.А. — сбор и обработка материала, статистическая обработка;  
 Мухина И.В. — сбор и обработка материала, статистическая обработка;  
 Паштаев Н.П. — сбор и обработка материала, редактирование;  
 Поздеева Н.А. — сбор и обработка материала, статистическая обработка;  
 Малуugin Б.Э. — редактирование;  
 Измайлова С.Б. — редактирование.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Spadea L., Tonti E., Napolitano R. Different graft thicknesses after Descemet stripping endothelial keratoplasty for bullous keratopathy in the two eyes of the same patient. *International Medical Case Reports Journal*. 2019;12:55–59. DOI: 10.2147/imcrj.s192650
- Droutsas K., Petrelli M., Miltakakis D., Andreanos K., Karagianni A., Lazaridis A., Kymionis G. Erratum to Visual Outcomes of Ultrathin-Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty versus Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty. *Journal of Ophthalmology*. 2019;Jan 10:4786431. DOI: 10.1155/2019/4786431
- Feizi S., Javadi M.A. Effect of Donor Graft Thickness on Clinical Outcomes after Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty. *J. Ophthalmic. Vis. Res.* 2019;14(1):18–26. DOI: 10.4103/jovr.jovr\_55\_17
- Cheung A.Y., Hou J.H., Bedard P., Grimes V., Buckman N., Eslani M., Holland E.J. Technique for Preparing Ultrathin and Nanothin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty Tissue. *Cornea*. 2018;37(5):661–666. DOI: 10.1097/ico.0000000000001510
- Rossi M., Mistò R., Gatto C., Garimoldi P., Campanelli M., D'Amato Tóthová J. Protective Effects of Deswelling on Stromal Collagen Denaturation After a Corneal Femtosecond Laser Cut. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2013;54(6):4148–4157. DOI: 10.1167/iovs.12-10818
- Trinh L., Saubaméa B., Auclin F., Denoyer A., Lai-Kuen R., El Hamdaoui M., Baudouin C. Femtosecond and excimer laser-assisted endothelial keratoplasty (FELEK): A new technique of endothelial transplantation. *Journal Français d'Ophthalmologie*. 2014;37(3):211–219. DOI: 10.1016/j.jfo.2013.07.009
- Letko E., Price D.A., Lindoso E.M., Price M.O., Price F.W. Jr. Secondary graft failure and repeat endothelial keratoplasty after Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. *Ophthalmology*. 2011;118(2):310–314. DOI: 10.1016/j.ophtha.2010.06.032
- Wenzel D.A., Kunzmann B.C., Spitzer M.S., Schultheiss M. Staining of endothelial cells does not change the result of cell density. *Cell and Tissue Banking*. 2019;20(2):327–328. DOI: 10.1007/s10561-019-09759-6

9. Chen E.S., Terry M.A., Shamie N., Hoar K.L., Friend D.J. Precut Tissue in Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty. *Ophthalmology*. 2008;115(3):497–502. DOI: 10.1016/j.ophtha.2007.11.032
10. Jardine G.J., Holiman J.D., Galloway J.D., Stoeger C.G., Chamberlain W.D. Eye Bank-Prepared Femtosecond Laser-Assisted Automated Descemet Membrane Endothelial Grafts. *Cornea*. 2015;34(7):838–843. DOI: 10.1097/ico.0000000000000453
11. Cleary C., Liu Y., Tang M., Li Y., Stoeger C., Huang D. Excimer Laser Smoothing of Endothelial Keratoplasty Grafts. *Cornea*. 2012;31(4):431–436. DOI: 10.1097/ico.0b013e31822444a7
12. Thannhäuser C., Palka K., Herbst H., Schroeter J., Pham D. Mikrokratom- und Excimer-Laser-gestützte endotheliale Keratoplastik (MELEK). *Klinische Monatsblätter Für Augenheilkunde*. 2014;231(10):1008–1011. DOI: 10.1055/s-0034-1383094

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Паштаев Алексей Николаевич  
кандидат медицинских наук, научный сотрудник  
Бескудниковский бульвар, 59а, Москва, 127486, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0003-2305-1401>

Чебоксарский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Паштаев Николай Петрович  
доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе  
просп. Тракторостроителей, 10, Чебоксары, 428028, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0001-7941-2996>

Чебоксарский филиал ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Поздеева Надежда Александровна  
доктор медицинских наук, директорпросп. Тракторостроителей, 10, Чебоксары, 428028, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0003-3637-364>

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Институт биологии и биомедицины  
Мухина Ирина Васильевна  
доктор биологических наук, заведующая ЦНИЛ, заведующая кафедрой нормальной физиологии им. Н.Ю. Беленкова, профессор кафедры нейротехнологий  
пл. Минина и Пожарского, 10/1, Нижний Новгород, 603005, Российская Федерация  
просп. Гагарина, 23, корп. 1, Нижний Новгород, 603022, Российская Федерация

ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Измайлова Светлана Борисовна  
доктор медицинских наук, заведующая отделом трансплантационной и оптико-реконструктивной хирургии переднего отрезка глазного яблока  
Бескудниковский бульвар, 59а, Москва, 127486, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0002-3516-1774>

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Коротченко Светлана Александровна  
научный сотрудник отдела молекулярно-клеточных технологий ЦНИЛ  
пл. Минина и Пожарского, 10/1, Нижний Новгород, 603005, Российская Федерация

ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Катмаков Константин Игоревич  
врач-офтальмолог  
просп. Тракторостроителей, 10, Чебоксары, 428028, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0001-5521-3781>

ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Алиева Сабина Сабировна  
аспирант  
Бескудниковский бульвар, 59а, Москва, 127486, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0002-9564-3695>

ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Кузьмичев Константин Николаевич  
аспирант  
Бескудниковский бульвар, 59а, Москва, 127486, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0002-3711-949X>

ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
Малюгин Борис Эдуардович  
доктор медицинских наук, профессор, зам. гендиректора по научной работе  
Бескудниковский бульвар, 59а, Москва, 127486, Российская Федерация  
<https://orcid.org/0000-0001-5666-3493>

## ABOUT THE AUTHORS

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Pashtaev Aleksei N.  
PhD, researcher  
Beskudnikovsky blvd, 59A, Moscow, 127486, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0003-2305-1401>

Cheboksary branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Pashtaev Nikolai P.  
MD, PhD, Professor, deputy director for science  
Tractorostroiteley ave., 10, Cheboksary, 42808, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0001-7941-2996>

Cheboksary branch of the S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Pozdeyeva Nadezhda A.  
MD, PhD, director  
Tractorostroiteley ave., 10, Cheboksary, 42808, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0003-3637-364>

Privolzhsky Research Medical University  
Institute of Biology and Biomedicine  
Mukhina Irina V.  
MD, Professor department of neurotechnology  
Minin&Pozharsky sq., 10/1, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation  
Gagarina ave., 23/1, Nizhny Novgorod, 603022, Russian Federation

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Izmailova Svetlana B.  
PhD, head of transplant surgery department  
Beskudnikovsky blvd, 59A, Moscow, 127486, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-3516-1774>

Privolzhsky Research Medical University  
Korotchenko Svetlana A.  
researcher  
Minin&Pozharsky sq., 10/1, Nizhny Novgorod, 603005, Russian Federation

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Katmakov Konstantin I.  
ophthalmologist  
Beskudnikovsky blvd, 59A, Moscow, 127486, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0001-5521-3781>

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Alieva Sabina S.  
resident  
Beskudnikovsky blvd, 59A, Moscow, 127486, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-9564-3695>

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Kuzmichev Konstantin N.  
resident  
Beskudnikovsky blvd, 59A, Moscow, 127486, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0002-3711-949X>

The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution  
Malyugin Boris E.  
MD, PhD, Professor, deputy director general for science  
Beskudnikovsky blvd, 59A, Moscow, 127486, Russian Federation  
<https://orcid.org/0000-0001-5666-3493>