

КАТМАКОВ КОНСТАНТИН ИГОРЕВИЧ

**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПОДГОТОВКИ УЛЬТРАТОНКОГО ТРАНСПЛАНТАТА
ДЛЯ ЗАДНЕЙ ПОСЛОЙНОЙ КЕРАТОПЛАСТИКИ
СО СТОРОНЫ ЭНДОТЕЛИЯ РОГОВИЦЫ С ПОМОЩЬЮ
ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ФЕМТОЛАЗЕРНОЙ УСТАНОВКИ
МЕГАГЕРЦОВОГО ДИАПАЗОНА**

14.01.07 – глазные болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Диссертационная работа выполнена на базе Чебоксарского филиала Федерального государственного автономного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Паштаев Николай Петрович

доктор медицинских наук, профессор,
заместитель директора по научной работе в
Чебоксарском филиале ФГАУ «НМИЦ
«МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад.
С.Н. Федорова» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Анисимова Светлана Юрьевна

доктор медицинских наук, профессор,
академик РАЕН, генеральный директор
ООО Глазной центр «Восток-Прозрение»

Пашинова Надежда Федоровна

доктор медицинских наук, академик РАЕН,
главный врач московской
офтальмологической клиники «Эксимер»

Ведущая организация:

Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт
глазных болезней»

Защита диссертации состоится «22» марта 2021 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.014.01 при ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, ул. Бескудниковский бульвар, дом 59А.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, ул. Бескудниковский бульвар, дом 59А.

Автореферат разослан «___» _____ 2020 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

Мушкова Ирина Альфредовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

За последние годы задняя автоматизированная послойная кератопластика, задняя послойная кератопластика, а также трансплантация десцеметовой мембраны стали стандартом хирургического лечения пациентов с дисфункцией эндотелия роговицы при отсутствии у них необратимой деструкции фибриллярных элементов стромы (Рикс И.А., Папанян С.С., 2017).

Ведущими способами заготовки трансплантата, состоящего из части задней стромы роговицы, десцеметовой мембраны и эндотелия стали две методики: использование микрокератома и применение фемтосекундного лазера (ФСЛ). Так, в 2006 году Gorovoy M. предложил методику задней автоматизированной послойной кератопластики (ЗАПК), известную в иностранной литературе как Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK) с использованием микрокератома. В период с 2003 по 2007 год разные авторы (Seitz B. и др., 2003; Cheng Y. и др., 2007; Sikder S., Snyder R., 2006) изучали проблему фемтолазерной диссекции стромы роговицы в аспекте кератопластики, внося вклад в развитие методики Femtosecond laser-assisted Descemet's stripping endothelial keratoplasty (FS-DSEK).

По статистическим данным организации Eye Bank Association of America за 2016 год, количество пересадок роговицы, выполненных по технологии DSAEK, составило 43% от общего числа всех трансплантаций. В 2018 году общее количество всех эндотелиальных кератопластик выросло ещё на 4,6%, достигнув более 30 тысяч операций в год.

В России одними из первых, кто провел хирургическое лечение методом задней послойной кератопластики (ЗПК), были Малюгин Б.Э. совместно с Ульяновым А.Н. Вместе с тем результаты применения технологии DSAEK с использованием микрокератома для заготовки трансплантата в лечении эндотелиальной дистрофии различной этиологии (дистрофия роговицы Фукса и псевдофакичная буллезная кератопатия) были опубликованы независимо друг

от друга несколькими коллективами авторов: Малюгин Б.Э. с соавт. в 2013 году и Труфанов С.В. с соавт. также в 2013 году.

Кроме того, в 2013 году Нероев В.В. с соавт. опубликовал краткосрочные результаты использования технологии FS-DSEK с использованием фемтосекундного лазера Ziemer LDV Z6 (Ziemer, Port, Швейцария) для заготовки трансплантата с эндотелиальной стороны в лечении патологии эндотелия роговицы (несостоятельность сквозного трансплантата, дистрофия роговицы Фукса, псевдофакичная буллезная кератопатия).

Методика использования фемтосекундного лазера для заготовки трансплантата имеет ряд преимуществ. Так, оператор получает возможность задавать геометрию и размер трансплантата с высокой точностью и воспроизводимостью. А техника выполнения реза с эндотелиальной стороны, то есть инвертного выкраивания, на небольшую глубину реза 120-150 мкм обеспечивает формирование трансплантата с поверхностью более гладкой, чем при рассечении кератомом. Тогда как высоко прогнозируемая аппланация современных лазерных установок делает процесс безопасным (Liu Y.C., Teo E.P., 2014). Однако в момент аппланации имеется непосредственный контакт с эндотелием, что индуцирует потерю плотности эндотелиальных клеток (Sikder S., Snyder R.W., 2006). Данные литературы свидетельствуют о том, что величина потери эндотелиальных клеток при заготовке ультратонкого трансплантата при помощи кератома варьирует от 3,7 до 21,1% (Chen E.S., 2007; Jardine G.J., 2015).

Для заготовки трансплантата могут быть использованы различные фемтолазерные установки. Ранее уже были описаны предварительные результаты задней послойной кератопластики с использованием высокоэнергетической лазерной установки Alcon Wavelight FS-200 (Германия) (Малюгин Б.Э., Измайлова С.Б., Паштаев А.Н., 2018). Также имеется ряд публикаций, описывающих применение таких лазерных установок, как Carl Zeiss Visumax (Carl Zeiss Meditec, Jena, Германия) и Ziemer LDV Z6, Z8 (Ziemer, Port, Швейцария) для инвертной техники заготовки трансплантата (Hjortdal J., 2012; Liu Y.C., 2014).

В настоящее время использование фемтолазерных технологий отечественного производства недостаточно освещено в литературе. Особенно это касается вопроса, рассматривающего детальное изучение процесса подготовки ультратонкого трансплантата с использованием фемтосекундного лазера российского производства «Фемто Визум» в аспекте морфологических изменений: процента потери эндотелиальных клеток, качество формируемой поверхности. И как следствие, не изучены отдаленные клиничко-функциональные результаты реабилитации пациентов с дистрофией Фукса, псевдофакичной буллезной кератопатией с применением хирургической техники FS-DSEK с использованием ультратонкого трансплантата вышеуказанного типа.

Таким образом, существует необходимость проведения сравнительного анализа морфологических показателей и отдаленных клиничко-функциональных результатов методик заготовки трансплантата с использованием, с одной стороны – фемтосекундного лазера «Фемто Визум», с другой стороны – микрокератома.

Детальное рассмотрение проблемы обеспечит формирование рационального взгляда на современные техники задней послойной кератопластики.

Цель исследования

Разработать и экспериментально-клинически обосновать технологию подготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики со стороны эндотелия роговицы с помощью отечественной фемтолазерной установки мегагерцового диапазона.

Задачи исследования

1. Разработать в эксперименте *ex vivo* хирургический этап подготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики со стороны эндотелия роговицы с помощью отечественной фемтолазерной установки мегагерцового диапазона.

2. Методом атомно-силовой микроскопии оценить качество поверхности ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики, подготовленного со стороны эндотелия роговицы с помощью отечественной фемтолазерной установки мегагерцового диапазона, в сравнительном аспекте с поверхностью ультратонкого трансплантата, подготовленного со стороны эпителия роговицы механическим микрокератомом.

3. Методом флуоресцентной микроскопии с использованием витальных красителей оценить потерю эндотелиальных клеток роговицы при подготовке ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики с помощью фемтосекундного лазера с её эндотелиальной поверхности, в сравнительном аспекте с подготовкой трансплантата механическим микрокератомом.

4. Провести анализ клинико-функциональных результатов лечения пациентов с дистрофией роговицы Фукса и буллезной кератопатией методом задней послойной кератопластики с применением ультратонкого трансплантата, подготовленного с помощью фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с результатами лечения пациентов, прооперированных с использованием трансплантата, подготовленного механическим микрокератомом.

5. Методом денситометрии, используя ротационную Шаймпфлюг-камеру, определить оптическую плотность роговицы реципиента после проведения задней послойной кератопластики с использованием донорского трансплантата, подготовленного с помощью фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с таковой, полученной при использовании трансплантата, подготовленного механическим микрокератомом.

6. На основании результатов оптической когерентной томографии проследить в динамике центральную толщину комплекса «роговица + трансплантат», толщину трансплантата в центре и на периферии для проведения оценки индекса Центр:Периферия (Ц:П) с целью выявления равномерности и симметричности толщины получаемого трансплантата, а также провести анализ ассоциированного с индексом Ц:П гиперметропического сдвига.

Научная новизна

1. Впервые с помощью витальных красителей получены сравнительные данные о величине потери эндотелиальных клеток донорской роговицы при заготовке ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики с её эндотелиальной поверхности с использованием отечественной фемтолазерной установки и механического микрокератома, применяемого по методике двух срезов.

2. Впервые проведена сравнительная оценка динамики дегидратации комплекса «донор-реципиент», итоговой толщины трансплантата и соотношения Центр:Периферия, а также гиперметропического сдвига рефракции на сроке 1 год после фемтолазерной задней послойной кератопластики и задней автоматизированной послойной кератопластики у пациентов с дистрофией Фукса и буллезной кератопатией.

3. Впервые проведен анализ клинико-функциональных результатов лечения пациентов с дистрофией Фукса и буллезной кератопатией методом фемтолазерной задней послойной кератопластики с применением отечественной фемтолазерной установки мегагерцового диапазона в сравнении с результатами задней автоматизированной послойной кератопластики.

4. Впервые методом оптической денситометрии проведен сравнительный анализ состояния роговицы реципиента и трансплантата после фемтолазерной задней послойной кератопластики с применением отечественной фемтолазерной установки мегагерцового диапазона и задней автоматизированной послойной кератопластики.

Практическая значимость

1. Разработанный метод аппланации фемтолазерного интерфейса к заднему эпителию донорской роговицы позволяет поддерживать оптимальное давление внутри искусственной передней камеры глаза при выкраивании ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики и в 100% случаев получить искомый равномерный лоскут предсказуемой толщины без риска его перфорации.

2. Разработанные настройки фемтосекундного лазера «Фемто Визум», применяемые для создания горизонтального среза при формировании ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики: глубина 130 мкм, энергия 0,6 мкДж, расстояние между точками – 5 мкм, между рядами – 5 мкм, позволяют получить равномерный срез, сопоставимый по параметру шероховатости RMS, с таковым, выполненным с помощью механического микрокератома ($p > 0,05$).

3. Разработанный метод фиксации трансплантата аутоплазмой пациента позволяет успешно провести лечение больных с нарушением состоятельности иридо-хрусталиковой диафрагмы, когда невозможно осуществить качественную воздушную или газовую тампонаду передней камеры глаза реципиента (патент РФ № 2694561 от 19.07.2018 г.).

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанная технология подготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики со стороны эндотелия, заключающаяся в применении отечественной фемтолазерной установки, позволяет получить равномерный ультратонкий трансплантат искомой толщины с ровной поверхностью, сопоставимой по шероховатости с поверхностью, полученной с помощью механического микрокератома, и является эффективной и безопасной.

2. Сравнительный анализ клинико-функциональных результатов после задней послойной кератопластики с использованием фемтосекундного лазера и микрокератома показал преимущество фемтосекундного лазера по параметрам индекса Центр:Периферия и величине гиперметропического сдвига.

Внедрение в практику

Результаты исследований и разработанная методика внедрены в практическую деятельность Чебоксарского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России. Результаты и положения работы включены в программу теоретических и

практических занятий на циклах тематического усовершенствования врачей и обучения ординаторов в Чебоксарском филиале ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на Научно-практической конференции «Новые технологии в офтальмологии» (Казань, 2019 г.), на Научно-практической конференции, посвященной дню рождения академика С.Н. Федорова «Новые технологии в офтальмологии» (Чебоксары, 2019 г.), на Научно-практической конференции «Роговица 2020: инновации диагностики, лечения и хирургии» (Москва, 2020 г.).

Публикации

По материалам исследования опубликовано 3 печатные работы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных результатов диссертационных исследований. По теме диссертационной работы получено 2 патента РФ на изобретение № 2689884 от 29.05.2019 г. и № 2694561 от 19.07.2018 г.

Объём и структура диссертации

Диссертация изложена на 132 листах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 22 рисунками и 25 таблицами. Список литературы содержит 117 источников, из них 22 на русском языке и 95 – на иностранных. Работа выполнена на базе катарактального отделения Чебоксарского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России и на базе отдела трансплантационной и оптико-реконструктивной хирургии переднего отрезка глаза ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России, г. Москва.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

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

Экспериментальные исследования

Экспериментальное исследование количественной оценки сохранности эндотелиального слоя при различных видах воздействия

Количественная оценка жизнеспособности эндотелиального слоя роговицы при различных видах воздействия (подготовка трансплантата при помощи фемтосекундного лазера либо микрокератома) проводилась методом прижизненного окрашивания.

Ультратонкие трансплантаты выкраивались с помощью механического микрокератома (Moria LSK-2, Франция) и фемтосекундного лазера «Фемто Визум» (Оптосистемы, Троицк, Россия).

Была сформирована группа 1, включающая 4 пары донорских роговиц, из которых были выкроены трансплантаты, сформированные с эндотелиальной стороны на фемтосекундном лазере. Контролем служили трансплантаты, сформированные микрокератомом из парных роговиц тех же доноров по методике двух резов с эпителиальной стороны.

После выкраивания ультратонких трансплантатов выполняли окрашивание эндотелиального слоя трансплантатов роговицы в чашках Петри флуоресцентными витальными красителями.

Для окрашивания живых клеток использовали Calcein Violet 450 AM Viability Dye (Thermo Fisher Scientific, 65-0854-39) – мембранно-проницаемый краситель с максимумом возбуждения 408 нм и максимумом эмиссии – 450 нм. При проникновении в клетку внутриклеточные эстеразы расщепляют ацетоксиметильную сложноэфирную группу, в результате образуется мембранно-непроницаемый флуоресцентный краситель Calcein Violet. Мертвые клетки с нарушенными клеточными мембранами не удерживают данный краситель.

Мертвые клетки визуализировали с помощью красителя Propidium Iodide (Sigma Aldrich, P4170) – флуоресцентный краситель нуклеиновых кислот с максимумом возбуждения 540 нм и максимумом эмиссии 608 нм. Данный краситель окрашивает ядра погибших клеток. Целостность мембраны живых исключает их окрашивание данным маркером.

Количественная оценка сохранности эндотелиального слоя при различных видах воздействия

Потеря эндотелиальных клеток в трансплантатах, выкраенных при помощи фемтосекундного лазера «Фемто Визум» с эндотелиальной стороны, составила в среднем $12,2 \pm 4,5\%$ (в диапазоне от $6,0 \pm 4,1$ до $15,7 \pm 5,3\%$), в то время как в трансплантатах, полученных при помощи микрокератома из парных глаз тех же доноров, потеря эндотелиальных клеток в среднем равнялась $8,9 \pm 4,3\%$ (в диапазоне от $4,7 \pm 4,2$ до $14,8 \pm 5,1\%$).

Статистический анализ не выявил статистически значимые различия между указанными группами по величине потери эндотелиальных клеток в трансплантатах ($p > 0,05$).

Таким образом, посредством прижизненного окрашивания была дана количественная оценка состояния эндотелиального слоя на ультратонких трансплантатах различного типа. В случае использования фемтосекундного лазера «Фемто Визум» потеря эндотелиальных клеток была на уровне $12,2 \pm 4,5\%$, что соответствует литературным данным при выкраивании трансплантата для ЗПК на других фемтолазерных установках. В свою очередь процент потери эндотелиальных клеток на трансплантатах, выкраенных при помощи микрокератома, был закономерно ниже, чем в группе ФСЛ.

Невысокая потеря эндотелия, продемонстрированная в эксперименте, свидетельствует о возможности клинического применения ультратонких трансплантатов для задней послойной кератопластики, заготовленных с помощью отечественного фемтосекундного лазера мегагерцового диапазона.

Экспериментальное исследование качества формируемой поверхности ультратонкого трансплантата с использованием метода атомно-силовой микроскопии

В эксперименте было взято 5 пар кадаверных корнеосклеральных дисков, всего 10 роговиц с показателем трансплантабельности 3А (по Борзенку С.А., 2008).

Первая группа – 5 кадаверных корнеосклеральных дисков, из которых заготовили ультратонкие роговичные трансплантаты с помощью механического микрокератома Moria LSK-One (Moria, Франция). Корнеосклеральный диск монтировали на искусственную переднюю камеру, подключенную к инфузионной системе, внутри которой создавали давление 50 см вод. ст. Выполняли ОКТ пахиметрию (Optovue, США). Затем использовали механический микрокератом Moria LSK-One (Moria, Франция) с турбиной продольного типа. В зависимости от исходной толщины роговицы во всех случаях применяли методику двух резов с использованием различных головок (450 мкм, 400 мкм, 250 мкм, 200 мкм, 130 мкм). После этого выполняли повторную ОКТ пахиметрию в центральной и периферической зонах трансплантата. Итоговая толщина трансплантатов находилась в диапазоне от 120 до 130 мкм в центральной зоне. Сканировали поверхность, конгруэнтную поверхности трансплантата.

Вторая группа – 5 кадаверных корнеосклеральных дисков из этих же пар, из которых заготовили ультратонкие роговичные трансплантаты с применением ФСЛ «Фемто Визум». Трансплантат отделяли от стромы роговицы шпателем. Сканировали поверхность, конгруэнтную поверхности трансплантата.

Возможности классической оптической микроскопии не безграничны и обусловлены ограничениями в разрешающей способности по причине наличия дифракционного предела.

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: сканирующий зондовый микроскоп Certus V (Nano Scan Technologies, Россия), сканирующая головка Certus. В основном режиме Certus работает как атомно-силовой микроскоп. Образцы подвергались анализу 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.

Изображения программными средствами распрямляли по осям X, Y перед расчетом параметра RMS (среднеквадратичной шероховатости поверхности). При этом в случае каждого из образцов анализировали не менее 5 изображений площадью 400 мкм² (20×20 мкм).

Оценка качества формируемой поверхности ультратонкого трансплантата с использованием метода атомно-силовой микроскопии

Методом атомно-силовой микроскопии было необходимо оценить, насколько велик уровень шероховатости поверхности, получаемой тем или иным способом. Чем меньше уровень шероховатости, тем более гладко сформирована поверхность, тем предпочтительнее трансплантат.

В первой группе, где трансплантат был сформирован при помощи кератома (Moria LSK-One, Франция), значение среднеквадратичной шероховатости поверхности (RMS) составило в среднем $22,3 \pm 18,3$ мкм.

Во второй группе, где ультратонкий трансплантат был выкроен при помощи ФСЛ «Фемто Визум», значение среднеквадратичной шероховатости составило в среднем $18,7 \pm 12,0$ мкм.

Статистический анализ не выявил статистически значимые различия между значениями исследуемого параметра в указанных группах ($p=0,753$).

Таким образом, методом атомно-силовой микроскопии был оценен поверхностный рельеф роговичной ткани, выполняющей роль трансплантатов, вычислены величины шероховатости для ультратонких трансплантатов, заготовленных при помощи микрокератома и фемтосекундного лазера.

Значения параметров среднеквадратичной шероховатости поверхности в 1-й группе (микрokerатом) и во 2-й группе (ФСЛ «Фемто Визум») были на оптимальном уровне и сопоставимы между собой. Это говорит о высоком качестве получаемой поверхности заготовленных различными способами трансплантатов и обуславливает возможность их использования в клинике.

Клинические исследования

Клиническая часть исследования представляет собой анализ клинико-функциональных результатов хирургического лечения 104 пациентов (104 глаз). Операции выполнены для реабилитации пациентов с дистрофией роговицы Фукса и эндотелиально-эпителиальной дистрофией роговицы (псевдофакичной буллезной кератопатией).

Пациенты были разделены на 4 группы на основании выявленной офтальмологической патологии и планируемого вида оперативного лечения.

1А группа – пациенты с катарактой и дистрофией Фукса, которым была выполнена комбинированная одномоментная операция ФЛ-ЗПК с факоэмульсификацией катаракты и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок **(15 пациентов, 15 глаз)**.

1Б группа – пациенты с буллезной кератопатией и артификацией, которым была выполнена изолированная ФЛ-ЗПК **(37 пациентов, 37 глаз)**.

2А группа – пациенты с катарактой и дистрофией Фукса, которым была выполнена комбинированная одномоментная операция ЗАПК с факоэмульсификацией катаракты и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок **(17 пациентов, 17 глаз)**.

2Б группа – пациенты с буллезной кератопатией и артификацией, которым была выполнена изолированная ЗАПК **(35 пациентов, 35 глаз)**.

Средний возраст пациентов составил 70 ± 6 лет. Исследуемые группы были сопоставимы по поло-возрастному составу, среди пациентов преобладали женщины.

Пациенты проходили обследования до операции и в послеоперационном периоде на сроках 1, 3, 6 и 12 месяцев.

Операцию выполняли в два этапа: первый хирургический этап – факоэмульсификация катаракты с имплантацией ИОЛ в капсульный мешок, второй хирургический этап – проведение фемтолазерной задней послойной кератопластики (ФЛ-ЗПК) или автоматизированной задней послойной кератопластики (ЗАПК). В случае ФЛ-ЗПК трансплантат подготавливали со стороны эндотелия с помощью отечественной фемтосекундной лазерной установки «Фемто Визум» (Оптосистемы, Троицк). При проведении методики ЗАПК трансплантат подготавливали со стороны эпителия роговицы. В зависимости от исходной толщины роговицы во всех случаях применяли методику двух резов кератомом с использованием различных головок.

Техника выполнения изолированной ФЛ-ЗПК и ЗАПК на артефактичных глазах не отличалась от описанных выше комбинированных методик.

Результаты клинических исследований

С первого дня после операции глаз оставался практически спокойным. В большинстве случаев на ОКТ отмечали полную адгезию трансплантата к строме. Биомикроскопически визуализировали отек роговицы, адгезию трансплантата, воздух в передней камере и начальную эпителизацию, либо полное ее отсутствие. Все пациенты получали стандартные назначения, включающие инстилляцию каплей антибиотика, глюкокортикостероидного препарата с момента полной эпителизации, кератопротекторных капель и гелей, а также внутривенное капельное введение глюкокортикостероидов 1 раз в сутки в течение первых трех суток.

К наиболее часто возникающим осложнениям ФЛ-ЗПК и ЗАПК относили неполную адгезию трансплантата, чаще в виде периферической отслойки трансплантата. Частота развития данного осложнения во всех 4 группах суммарно составила 16 случаев (15,4%). В течение 1-2 суток осуществлялось динамическое наблюдение за состоянием трансплантата и размером отслойки трансплантата путем проведения биомикроскопии и оптической когерентной томографии. При наличии отрицательной динамики повторно в переднюю

камеру вводился воздух и создавалась дополнительно офтальмогипертензия для адаптации трансплантата.

Результаты остроты зрения

Некорригированная острота зрения (НКОЗ) увеличилась во всех группах по сравнению с дооперационными значениями, которые в среднем составляли $0,03\pm 0,03$ и $0,06\pm 0,03$ у пациентов групп 1А и 2А и $0,05\pm 0,07$ и $0,05\pm 0,03$ – у пациентов групп 1Б и 2Б. Во всех группах НКОЗ постепенно нарастала на всем протяжении периода наблюдения.

Лучшие показатели НКОЗ во все сроки наблюдения были отмечены у пациентов с дистрофией Фукса: через 3 месяца – $0,23\pm 0,06$ и $0,22\pm 0,08$ против $0,18\pm 0,09$ и $0,16\pm 0,06$ у пациентов с буллезной кератопатией. Через 12 месяцев после операции показатели НКОЗ составили: $0,29\pm 0,15$ в 1А группе, $0,29\pm 0,08$ – в 2А группе, в то время как в 1Б и 2Б группах они были несколько ниже: $0,22\pm 0,11$ и $0,23\pm 0,06$ соответственно.

Статистически значимых различий НКОЗ на сроках наблюдения: 1 неделя, 1, 3, 6 и 12 месяцев между группами 1А и 2А, а также между группами 1Б и 2Б выявлено не было ($p>0,05$).

Корригированная острота зрения (КОЗ) увеличилась во всех группах по сравнению с дооперационными значениями от $0,12\pm 0,12$ и $0,14\pm 0,06$ у пациентов с дистрофией Фукса и $0,071\pm 0,09$ и $0,08\pm 0,05$ – у пациентов с буллезной кератопатией. КОЗ постепенно нарастала на всем протяжении периода наблюдения. Наиболее стремительное восстановление зрительных функций во всех группах наблюдалось через 3 месяца после операции: 1А – $0,28\pm 0,1$; 2А – $0,29\pm 0,1$; 1Б – $0,26\pm 0,15$; 2Б – $0,25\pm 0,12$. После 3 месяцев положительная динамика также сохранялась, но с более медленным темпом.

Лучшие показатели КОЗ во все сроки наблюдения были отмечены в 1А и 2А группах: через 12 месяцев после операции они составили $0,42\pm 0,2$ и $0,38\pm 0,1$ соответственно, против $0,32\pm 0,16$ и $0,33\pm 0,11$ у пациентов 1Б и 2Б групп.

При этом статистически значимых различий КОЗ на сроках наблюдения от 1 недели до 12 месяцев между группами 1А и 2А, а также между 1Б и 2Б группами выявлено не было ($p > 0,05$).

Потеря эндотелиальных клеток в послеоперационном периоде

В послеоперационном периоде у пациентов всех групп зарегистрировали постепенное снижение плотности эндотелиальных клеток роговицы, причем максимальная потеря эндотелиальных клеток отмечалась в первые месяцы после операции. Однако этот процесс происходил и в поздние сроки периода наблюдения, но с меньшей скоростью.

Анализ потери эндотелиальных клеток проводился на сроках 3, 6 и 12 месяцев после операции (Таблицы 1, 2).

Статистически значимые различия между группами пациентов с дистрофией Фукса (1А и 2А) и буллезной кератопатией (1Б и 2Б) в сроки наблюдения 3, 6 и 12 месяцев получены не были ($p > 0,05$).

В течение периода наблюдения данные потери эндотелиальных клеток в 1Б и 2Б группах в большинстве случаев превышали значения 1А и 2А групп.

Таблица 1 – Динамика потери эндотелиальных клеток по данным эндотелиальной микроскопии у пациентов с дистрофией Фукса ($M \pm \sigma$)

Срок наблюдения	1А группа (n=15)		2А группа (n=17)		p
	кл/мм ²	%	кл/мм ²	%	
До операции (трансплантат)	2533,3±97,6 2550 {2400-2700}	-	2508,8±100,4 2525 {2400-2650}	-	0,521
3 месяца	1669,4±175,9 1674 {1445-1902}	33,2±7 33,06 {23,92-42,2}	1605,9±132,4 1578 {1399-1757}	35,8±5,3 36,88 {29,72-44,04}	0,308
6 месяцев	1494±150, 1483 {1324-1642}	40,2±6 40,68 {34,32-47,04}	1497,9±119 1471 {1305-1637}	40,1±4,8 41,16 {34,52-47,8}	0,925
12 месяцев	1405,3±146,2 1402 {1232-1572}	43,8±5,8 43,92 {37,12-50,72}	1435,9±122,4 1441 {1284-1598}	42,6±4,9 42,36 {36,08-48,64}	0,650

Таблица 2 – Динамика потери эндотелиальных клеток по данным эндотелиальной микроскопии у пациентов с буллезной кератопатией ($M \pm \sigma$)

Срок наблюдения	1Б группа (n=37)		2Б группа (n=35)		p
	кл/мм ²	%	кл/мм ²	%	
До операции (трансплантат)	2516,2±101,4 2550{2400-2700}	-	2507,1±89,2 2500{2400-2600}	-	0,791
3 месяца	1595,8±260,1 1653{1298-2008}	36,2±10,4 33,88{19,68-48,08}	1590,8±112,5 1608{1450-1765}	36,4±4,5 35,7{29,4-42}	0,427
6 месяцев	1437,2±202,3 1453{1203-1702}	42,5±8,1 41,9{31,92-51,88}	1465,9±114,9 1471{1304-1637}	41,4±4,6 41,18{34,52-47,84}	0,284
12 месяцев	1330,3±193,1 1356{1123-1588}	46,8±7,7 45,78{36,48-55,08}	1369,3±117,2 1377{1212-1542}	45,2±4,7 44,92{38,32-51,52}	0,106

Центральная толщина роговицы (ЦТР)

Через 12 месяцев после операции во всех исследуемых группах отмечали уменьшение ЦТР (Таблицы 3, 4). Вместе с тем наиболее выраженная дегидратация комплекса «роговица + трансплантат» во всех группах наступала к сроку 3 месяца после операции, что совпадало с наибольшей прибавкой НКОЗ и КОЗ. Положительная динамика уменьшения ЦТР на сроке 12 месяцев обеспечила прозрачность комплекса «роговица + трансплантат» в большинстве наблюдаемых случаев.

Статистически значимых различий значений ЦТР между 1А и 2А группами на сроке наблюдения от 1 недели до 12 месяцев выявлено не было ($p > 0,05$). В то же время через 1 и 3 месяца после операции между 1Б и 2Б группами были выявлены статистически значимые различия ($p < 0,05$).

Таблица 3 – Динамика ЦТР (комплекс «роговица + трансплантат») по данным ОКТ у пациентов с дистрофией Фукса, мкм

Срок наблюдения	1А группа (n=15)	2А группа (n=17)	p
До операции	670,29±51,83 684,5{587-729}	639,76±37,07 629{591-698}	0,059
1 неделя	651,15±80,76 668{559-742}	610,65±31,26 603{576-655}	0,229
1 месяц	558,78±34,06 553{510-612}	579,76±17,16 579{558-610}	0,095

3 месяца	537,5±37,82 534,5 {491-591,5}	546,94±20,28 540 {521-579}	0,414
6 месяцев	546,55±32,76 552 {507-572}	541,53±21,8 544 {509-575}	0,677
12 месяцев	543,54±17,14 545 {526-562}	541,76±16,37 539 {517-563}	0,65

Таблица 4 – Динамика ЦТР (комплекс «роговица + трансплантат») по данным ОКТ у пациентов с буллезной кератопатией, мкм, (M±σ)

Срок наблюдения	1Б группа (n=37)	2Б группа (n=35)	p
До операции	759,69±121,65 736 {596-950}	751,09±72,92 765 {629-831}	0,877
1 неделя	680,18±149,87 676 {572-844}	706,46±58,03 712 {621-773}	0,19
1 месяц	583,9±63,72 568,5 {516,5-685,5}	645,51±53,49 653 {561-702}	<0,001
3 месяца	555,63±45,44 548 {503-625}	589,6±44,65 588 {525-645}	0,008
6 месяцев	553,67±43,28 556 {512-595}	561,63±31,5 561 {517-599}	0,266
12 месяцев	549,24±22,05 546 {525-577}	552,15±34,83 547,5 {513-586}	0,985

Через 12 месяцев после операции во всех исследуемых группах отмечали уменьшение толщины трансплантата. Средние значения центральной толщины трансплантата в отдаленные сроки наблюдения представлены в Таблицах 5, 6. В то же время наиболее значимое ее уменьшение во всех группах наблюдалось через 3 месяца после операции. Однако положительная тенденция дегидратации трансплантата сохранялась и на сроке 12 месяцев после операции, обеспечивая эффективное восстановление зрительных функций.

Между группами 1А и 2А в ранние сроки (1 неделя и 1 месяц после операции) были выявлены статистически значимые различия (p=0,031 и p=0,018).

Таблица 5 – Динамика центральной толщины трансплантата по данным ОКТ у пациентов с дистрофией Фукса, мкм, (M±σ)

Срок наблюдения	1А группа (n=15)	2А группа (n=17)	p
До операции	130,67±2,58 130 {130-130}	127,76±2,66 129 {123-130}	0,002

1 неделя	97,54±20,78 94{68-125}	113,94±6,87 115{105-123}	0,031
1 месяц	73,44±15,06 69{59-109}	82,94±9,13 83{71-96}	0,018
3 месяца	74±15,48 71,5{57,5-100}	77,24±8,39 78{64-88}	0,243
6 месяцев	72,36±16,52 68{55-89}	75,18±7,52 74{65-86}	0,264
12 месяцев	75,08±11,7 75{64-88}	73,82±7,08 72{64-85}	0,967

Таблица 6 – Динамика центральной толщины трансплантата по данным ОКТ у пациентов с буллезной кератопатией, мкм

Срок наблюдения	1Б группа (n=37)	2Б группа(n=35)	p
До операции	129,19±4,33 130{120-130}	128±4,06 130{120-130}	0,433
1 неделя	120,15±31,22 115{89-170}	119,03±5,31 119{112-126}	0,264
1 месяц	91,05±21,44 88{67-112}	104,91±7,34 103{96-115}	<0,001
3 месяца	80,33±14,18 81{64-98}	93,83±7,46 92{86-105}	<0,001
6 месяцев	82,17±9,54 81{72-98}	86,8±5,45 85{81-96}	0,016
12 месяцев	81,82±14,92 81{66-98}	83,51±5,41 82{77-90}	0,274

Индекс Ц:П и гиперметропический сдвиг

На сроке наблюдения 12 месяцев на основании ОКТ переднего отрезка глаза был проведен анализ индекса Ц:П, отражающий соотношение толщины трансплантата в центре и на периферии.

В 1А и 1Б группах, там где трансплантат был выкроен при помощи ФСЛ, значения данного индекса Ц:П в среднем составили 0,92±0,03 (0,92 {0,88-0,95}). Данное значение говорит о равномерной толщине сформированного ультратонкого трансплантата.

В 2А и 2Б группах, где трансплантат заготавливался при помощи микрокератома, индекс Ц:П в среднем был равен 0,59±0,02 (0,59 {0,57-0,62}). Это подтверждает факт «менископодобной» формы получаемого трансплантата при данном способе выкраивания и говорит о меньшей симметричности линтикулы.

Между группами, где трансплантат заготавливался с помощью ФСЛ, и где трансплантат заготавливался с помощью микрокератома, в отношении индекса Ц:П были получены статистически значимые различия ($p < 0,001$).

Всем пациентам с дистрофией Фукса (группы 1А и 2А) расчёт ИОЛ был произведён на сферический эквивалент рефракции $-1,5$ дптр. Средние значения фактического сферического эквивалента в послеоперационном периоде на сроке 12 месяцев составили в 1А группе $-1,08 \pm 0,38$ дптр, в 2А группе $-0,29 \pm 0,49$ дптр. Следовательно, величина гиперметропического сдвига в 1А группе составила $0,41 \pm 0,37$ дптр, в 2А группе $-1,21 \pm 0,49$ дптр. При этом в аспекте фактического сферозэквивалента были получены статистически значимые различия между 1А и 2А группами ($p = 0,018$).

Полученные данные свидетельствуют о значительно большей величине сдвига в 2А группе по причине «менискообразной» формы итоговой толщины трансплантата, который заготавливался при помощи микрокератома, по сравнению с методикой с применением ФСЛ.

Оценка оптической плотности роговицы реципиента после проведенной задней послойной кератопластики

Исследование с использованием прибора Pentacam HR выполнялось в автоматическом режиме с целью корректной фокусировки и правильного выравнивания с вершиной роговицы. Снимки были выполнены с использованием настройки 50 сканов за 2 секунды. Величину рассеяния света роговицы рассчитывали для определенных зон (по умолчанию зона 0-2 мм, 2-6 мм). Кроме того, подвергались анализу различные слои роговицы: передний (anterior layer, AL), центральный (center layer, CL), задний слой (posterior layer, PL). Наличие необходимого программного обеспечения (densitometry software, Oculus, Wetzlar, Germany) делало этот процесс высокоточным и воспроизводимым.

В послеоперационном периоде на сроке 12 месяцев средние значения светорассеяния в центральной зоне 0-2 мм в переднем слое снизились в 1А

группе на 20%, в 1Б – на 35,3%, в 2А – на 30,1%, в 2Б группе – на 38,6% по сравнению с дооперационными значениями.

В послеоперационном периоде на сроке 12 месяцев средние значения светорассеяния в центральной зоне 0-2 мм в центральном слое снизились в 1А группе на 18,6%, в 1Б – на 42,1%, в 2А – на 18,9%, в 2Б группе – на 42,7% по сравнению с дооперационными значениями.

На сроке 12 месяцев после операции средняя величина светорассеяния в центральной зоне 0-2 мм в заднем слое снизилась в 1А группе на 29,5%, в 1Б – на 45,1%, в 2А – на 28,7%, в 2Б группе – на 50,5% по сравнению с дооперационными значениями.

Статистически значимые различия в отношении показателей денситометрии переднего, среднего и заднего слоев роговицы между 1А и 2А и между 1Б и 2Б группами выявлены не были ($p>0,05$).

ВЫВОДЫ

1. Разработан в эксперименте хирургический этап подготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики со стороны эндотелия роговицы с помощью отечественного фемтосекундного лазера мегагерцового диапазона.

2. Сравнительный анализ результатов атомно-силовой микроскопии показал, что значения параметров среднеквадратичной шероховатости поверхности в группе, где трансплантат был заготовлен при помощи микрокератома и в группе, где трансплантат заготавливался при помощи фемтосекундного лазера мегагерцового диапазона, были сопоставимы между собой ($p>0,05$).

3. В ходе экспериментального этапа с витальными красителями было показано, что процент потери эндотелиальных клеток при заготовке

трансплантата с помощью микрокератома составил $8,9 \pm 4,3$ и $12,2 \pm 4,5\%$ при использовании фемтосекундного лазера ($p > 0,05$).

4. Наличие корригированной остроты зрения 0,5 и выше было выявлено в 33% случаев в 1А группе, в 16% – в 1Б группе, в 18% – в 2А группе, в 6% случаев – в 2Б группе. Статистически значимых различий корригированной остроты зрения на сроках наблюдения от 1 недели до 12 месяцев у пациентов с дистрофией Фукса, а также с буллезной кератопатией выявлено не было ($p > 0,05$).

Между группами пациентов с дистрофией Фукса, а также между группами пациентов с буллезной кератопатией относительно плотности эндотелиальных клеток и их потери на сроке наблюдения 3, 6 и 12 месяцев статистически значимые различия не получены ($p > 0,05$).

5. На сроке 12 месяцев после операции показатели оптической плотности в передних, средних и задних слоях роговицы были сопоставимы между методиками ($p > 0,05$). Оптическая плотность зоны интерфейса была сопоставима для обеих методик ($p > 0,05$). Величина светорассеяния зоны интерфейса во всех группах через 12 месяцев после операции незначительно превышала нормальные значения денситометрии.

6. Между группами, где трансплантат заготавливался с помощью фемтосекундного лазера, и где трансплантат заготавливался с помощью микрокератома, в отношении индекса Центр:Периферия были получены статистически значимые различия ($p < 0,001$). При этом более равномерная толщина трансплантата была получена в группах с использованием отечественного фемтосекундного лазера мегагерцового диапазона.

В аспекте среднего значения фактического сферозэквивалента были получены статистически значимые различия ($p < 0,05$). Меньшая величина гиперметропического сдвига была выявлена в группе с применением фемтосекундного лазера. Проведенный анализ говорит о большей предсказуемости методики фемтолазерной задней послойной кератопластики в отношении достижения оптимального рефракционного послеоперационного результата.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для предсказуемого процесса аппланации при выкраивании трансплантата с применением ФСЛ следует использовать следующую методику. Донорский корнеосклеральный диск, консервированный в растворе для хранения роговицы, размещают на искусственной передней камере эндотелиальной поверхностью кверху, давление внутри камеры создают равным 50 см вод. ст. Эта величина давления достигалась путем подключения инфузионной капельной системы, где пакет с физиологическим раствором 0,9% располагался на уровне 50 сантиметров от уровня положения искусственной передней камеры. Роговицу помещают под аппланационный интерфейс лазера.

2. Выкраивание трансплантата диаметром 8 мм, толщиной 130 мкм осуществляли по разработанным настройкам ФСЛ «Фемто Визум». При этом физические параметры установки были следующие: частота повторения импульсов 1 МГц, продолжительность импульса 300-400 фс, расстояние между точками – 5 мкм, между рядами – 5 мкм, для горизонтального среза энергия в импульсе – 0,6 мкДж. Время формирования трансплантата 18-20 сек. Данные настройки позволяют получить равномерный по толщине и форме трансплантат сопоставимый по параметру шероховатости RMS с таковым, выполненным с помощью механического микрокератома ($p > 0,05$).

3. Разработанный метод фиксации трансплантата аутоплазмой пациента позволяет успешно провести лечение больных с нарушением состоятельности иридо-хрусталиковой диафрагмы, когда невозможно осуществить качественную воздушную или газовую тампонаду передней камеры глаза реципиента (патент РФ на изобретение № 2694561 от 19.07.2018 г.).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клинические результаты задней послойной фемтокератопластики при эндотелиальной дистрофии роговицы / А. Н. Паштаев, Н.П. Паштаев, Б. Э.

Малюгин, Н. А. Поздеева, Ю. Н. Елаков, **К. И. Катмаков**. – DOI 10.17116/oftalma202013603125. – Текст: электронный // Вестник офтальмологии. – 2020. – Т. 136, № 3. – С. 25–31.

2. Экспериментальное обоснование применения эксимерного лазера для заготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики / А. Н. Паштаев, Н. П. Паштаев, Н. А. Поздеева Н. А., Мухина И. В., Измайлова С. Б., Коротченко С. А., **Катмаков К. И.**, Алиева С. С., Кузьмичев К. Н., Малюгин Б. Э. – DOI 10.18008/1816-5095-2020-2-202-208. – Текст: электронный // Офтальмология. – 2020. – Т. 17, № 2. – С. 202–208.

3. Инвертированная задняя послойная фемтокератопластика: качество поверхности среза роговицы и предварительные клинические результаты / А. Н. Паштаев, Б. Э. Малюгин, С. Б. Измайлова, Н. П. Паштаев, К. Н. Кузьмичев, С. С. Алиева, **К. И. Катмаков**. – DOI 10.18008/1816-5095-2020-2-216-222. – Текст: электронный // Офтальмология. – 2020. – Т. 17, № 2. – С. 216–222.

ПАТЕНТЫ НА ИЗОБРЕТЕНИЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Пат. 2689884 РФ, МПК А61F 9/008. Способ заготовки ультратонких донорских роговичных трансплантатов для задней послойной кератопластики с эндотелиального доступа с помощью высокоэнергетического фемтосекундного лазера / А. Н. Паштаев, Б. Э. Малюгин, С. Б. Измайлова, Н. А. Поздеева, К. Н. Кузьмичёв, С. С. Алиева С.С., А. А. Шипунов, **К. И. Катмаков**; заявитель и патентообладатель ФГАУ «НМИЦ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С. Н. Федорова». – № 2018101849; заявл. 18.01.2018; опубл. 29.05.2019. – Бюл. № 16. – 10 с.

2. Пат. 2694561 РФ, МПК А61F 9/008. Способ дополнительной фиксации заднего послойного трансплантата роговицы с помощью обогащенной тромбоцитами аутоплазмы крови / А. Н. Паштаев, А. А. Шипунов, Н. А. Поздеева, Н. П. Паштаев, И. А. Николаев, **К. И. Катмаков**; заявитель и патентообладатель ФГАУ «НМИЦ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЗАПК	задняя автоматизированная послойная кератопластика
ЗПК	задняя послойная кератопластика
ИОЛ	интраокулярная линза
КОЗ	корригированная острота зрения
НКОЗ	некорригированная острота зрения
ОКТ	оптическая когерентная томография
ФЛ-ЗПК	задняя послойная кератопластика с применением фемтосекундного лазера
ФСЛ	фемтосекундный лазер
ЦТР	центральная толщина роговицы
DSAEK	Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty
DSEK	Descemet's Stripping with Endothelial Keratoplasty
FS-DSEK	Femtosecond laser assisted Descemet's stripping endothelial keratoplasty

БИОГРАФИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

Катмаков Константин Игоревич родился 23 мая 1993 года в Чувашской Республике, городе Чебоксары. В 2016 году окончил Нижегородскую государственную медицинскую академию по специальности «Лечебное дело». В период с 2016 по 2018 г. проходил обучение в клинической ординатуре по специальности «Офтальмология» на базе Чебоксарского филиала «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова. С 2018 года и по настоящее время работает врачом-офтальмологом катарактального отделения Чебоксарского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова Минздрава России. Автор 3 научных работ в журналах, рецензируемых ВАК РФ. Активный участник офтальмологических конференций.