

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«МЕЖОТРАСЛЕВОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
«МИКРОХИРУРГИЯ ГЛАЗА» ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н. ФЕДОРОВА»
МИНЗДРАВА РОССИИ, ЧЕБОКСАРСКИЙ ФИЛИАЛ

На правах рукописи

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

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Паштаев Н.П.

Чебоксары – 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ КЕРАТОПЛАСТИКА В ЛЕЧЕНИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНО-ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСТРОФИИ РОГОВИЦЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).....	12
1.1. Эндотелий роговицы человека в норме и его анатомо-физиологические нарушения.....	12
1.2. Эндотелиально-эпителиальная дистрофия роговицы.....	16
1.3. Исторический обзор эндотелиальной кератопластики.....	20
1.3.1. Эндотелиальные пересадки роговицы с использованием «переднего доступа».....	21
1.3.2. Эндотелиальные пересадки роговицы с использованием «заднего доступа».....	23
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	34
2.1. Дизайн исследования.....	34
2.2. Материалы клиничко-функциональных исследований.....	35
2.3. Клиничко-функциональные показатели пациентов в предоперационном периоде.....	38
2.4. Методы клиничко-функциональных исследований.....	42
2.5. Статистическая обработка данных.....	47
Глава 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ УЛЬТРАТОНКИХ ТРАНСПЛАНТАТОВ, ЗАГОТОВЛЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА И МИКРОКЕРАТОМА.....	48
3.1. Разработка в эксперименте хирургического этапа технологии заготовки ультратонкого трансплантата.....	48
3.2. Экспериментальное исследование количественной оценки сохранности эндотелиального слоя при различных видах воздействия...	52
3.2.1. Количественная оценка сохранности эндотелиального слоя при различных видах воздействия.....	54
3.3. Экспериментальное исследование качества формируемой поверхности ультратонкого трансплантата с использованием метода атомно-силовой микроскопии.....	58
3.3.1. Оценка качества формируемой поверхности ультратонкого трансплантата с использованием метода атомно-силовой микроскопии.....	60

Глава 4. РАЗРАБОТКА ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ДИСТРОФИЕЙ ФУКСА И БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИЕЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ УЛЬТРАТОНКОГО ТРАНСПЛАНТА, ПОДГОТОВЛЕННОГО С ПОМОЩЬЮ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА И РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....	62
4.1. Техника комбинированной одномоментной операции ФЛ-ЗПК с факоэмульсификацией катаракты и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок.....	62
4.2. Техника комбинированной одномоментной операции ЗАПК с факоэмульсификацией катаракты и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок.....	69
4.3. Ведение пациентов в послеоперационном периоде.....	71
4.4. Результаты клиничко-функционального исследования пациентов в послеоперационном периоде.....	73
4.5. Оценка оптической плотности роговицы реципиента после проведенной задней послойной кератопластики.....	82
4.6. Сравнительный анализ данных оптической когерентной томографии роговицы и оценка гиперметропического сдвига.....	86
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	96
ВЫВОДЫ.....	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	115
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	117

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

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. 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., Тео Е.Р., 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.

ГЛАВА 1. ЭНДОТЕЛИАЛЬНАЯ КЕРАТОПЛАСТИКА В ЛЕЧЕНИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНО-ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСТРОФИИ РОГОВИЦЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Эндотелий роговицы человека в норме и его анатомо-физиологические нарушения

Роговица – это передний прозрачный отдел наружной капсулы глазного яблока и вместе с тем главная преломляющая среда в оптической системе глаза. Важнейшими функциями роговицы являются опорная и защитная, благодаря прочности, высокой чувствительности и способности к регенерации переднего эпителия. Как оптическая среда она выполняет функции светопроведения и светопреломления благодаря прозрачности и характерной форме [2].

Общеизвестным фактом является выделение в строении роговицы пяти слоев: эпителия, боуменовской мембраны, стромы, десцеметовой мембраны и эндотелия [2]. Кроме того, в недавнем времени был открыт 6 слой – слой Dua или предесцеметовый слой.

Важно обратить более детальное внимание на комплекс «предесцеметовый слой – десцеметова мембрана – эндотелий». Предесцеметовый слой был изучен в исследовании Dua H.S. с соавт. (2013), которое показало, что он состоит из 5-8 тонких пластин из плотно упакованных коллагеновых пучков, ориентированных в продольном, поперечном и косом направлениях. Его толщина составляет в среднем $10,15 \pm 3,6$ мкм. Иммуногистохимически было показано отсутствие кератоцитов в этом слое, что отличает данный слой от вышележащей стромы [67].

Эндотелий младенческой роговой оболочки состоит из монослоя 500.000-1.000.000 клеток [39]. Клетки находятся на задней поверхности роговицы в виде иррегулярной полигональной мозаики. Они примыкают

друг к другу, с образованием внеклеточных пространств в 2-4 нм, тем самым создавая неполный барьер для диффузии малых молекул.

Эндотелий выполняет несколько функций. С одной стороны, эндотелий способен к секреции внеклеточного вещества, образуя десцеметову мембрану, являющуюся базальной мембраной эндотелия [25]. Имея толщину 5 мкм в детстве, она практически удваивает свою толщину к 40 годам и достигает 15 мкм в течение жизни. Десцеметова мембрана состоит из двух пластин: передней и задней. Передняя пластина имеет «полосатый внешний вид», толщину около 3 мкм и синтезируется в период эмбрионального развития. Задняя пластина имеет «неполосатую», гомогенную структуру и синтезируется эндотелием на протяжении всей жизни [75]. При этом связь десцеметовой мембраны и прилежащей стромы слаба, и мембрана довольно легко отделяется.

С другой стороны, эндотелий отвечает за поддержание прозрачности роговицы путем формирования оптимальной степени гидратации стромы за счет насосной функции. Это явление впервые описал David Maurice (1978).

Уровень гидратации стромы роговицы (75–80%) зависит от состояния эпителия и эндотелия, а также от водно-ионного транспорта через эпителий и эндотелий [87].

Насосные транспортные системы помогают поддерживать концентрационный градиент, регулируя движение воды, как через эпителий в слезную плёнку, так и через эндотелий в переднюю камеру глаза. Среди этих двух явлений решающий вклад вносит движение воды через эндотелий в переднюю камеру. Выведение и абсорбция ионов натрия (Na^+) и хлора (Cl^-) — это главные движущие силы водного транспорта. Водный транспорт может быть осуществлен двумя путями: основным — благодаря работе метаболических помп и дополнительным путем — благодаря движению воды через транспортные каналы, называемые аквапоринами.

Аквапорины (AQP) — это небольшие интегральные мембранные белки в плазматической мембране. Типы аквапоринов AQP1, AQP2, AQP4, AQP5,

AQP8 – отвечают за транспорт молекул воды, тогда как AQP3, AQP7, AQP9 – за транспорт глицерола и других малых молекул. Аквапорины 1-го типа найдены в роговичном эпителии, кератоцитах и эндотелии. Аквапорины 5-го типа локализуются в роговичном эпителии [112].

Поскольку эндотелиальные клетки роговицы имеют органеллы, в частности, большое количество митохондрий, было изучено, что они имеют второй по величине уровень энергетического обмена после фоторецепторов сетчатки [66].

Эндотелий требует значительного запаса энергии для поддержания своей метаболической функции. Большинство питательных веществ, таких как углеводы, витамины, аминокислоты в основном попадают в роговицу через «неполный эндотелиальный барьер», а также в меньшем количестве от лимбальных сосудистых аркад. В свою очередь, углекислый газ и другие метаболические конечные продукты удаляются через эндотелий во влагу передней камеры.

Каждая эндотелиальная клетка содержит большое количество митохондрий и, кроме того, имеет $1,5 \times 10^6$ Na^+/K^+ АТФазных метаболических помп [50]. При различных заболеваниях эндотелия количество помп на 1 клетку может увеличиваться, компенсируя таким образом повышенную нагрузку. При критической потере эндотелиальных клеток, когда плотность находится на уровне $500 \text{ кл}/\text{мм}^2$ и менее, развивается декомпенсация в виде отёка роговицы. В этой ситуации эндотелиальные клетки уже изменили свою форму (полиморфизм) и увеличились в размере (полимегатизм) до критического предела. Однако место для образования дополнительных метаболических помп на латеральных мембранах в этом случае уже отсутствует. По этой причине развивается отек роговицы [64].

Общепринятым на сегодняшний день является факт, что эндотелий роговицы человека находится в нерепликативном состоянии внутри глаза. В 1996 году Joуse N.C. с соавт. показали, что эндотелиальные клетки роговицы человека в естественных условиях заблокированы в G1-фазе клеточного

цикла [77]. Их последующие исследования обнаружили, что контакт-зависимое ингибирование играет важную роль в индукции блокирования клеточного цикла и, взаимодействуя с трансформирующим фактором роста- $\beta 2$ (найден в водянистой влаге), поддерживает эндотелиальный слой роговицы в непролиферативном состоянии [78].

Вместе с тем известно, что стимуляция митоза эндотелия роговицы *in vitro* возможна. В свою очередь подтверждением того, что эндотелий роговицы человека потенциально способен к делению и *in vivo*, служат результаты исследований, проведенных у больных с различными патологическими состояниями, когда изменяется микроокружение клетки и, вероятно, снимаются некоторые механизмы, сдерживающие деление.

Впервые фигуру митоза в эндотелии неизменной роговицы донора, причиной смерти которого стала злокачественная опухоль, наблюдали Kaufman H. с соавт. в 1966 году [79]. Позднее было выявлено, что опухоли различной локализации усиливают пролиферативные способности эндотелия роговицы человека. Плотность эндотелиоцитов у таких больных значительно выше, чем в контрольных группах, при этом увеличено число малых клеток и наблюдаются фигуры митоза — профазы и телофазы [84].

В исследованиях, проведенных в МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова в 1993 году на плоскостных препаратах роговичного эндотелия больных сахарным диабетом средней и высокой степени тяжести под сканирующим электронным микроскопом, были выявлены различные фигуры митоза. Вопрос, почему происходит активация деления клеток эндотелия роговицы у больных сахарным диабетом, на сегодняшний день остаётся открытым [22].

В настоящее время уже ведутся работы по изучению имплантации культивируемых эндотелиальных клеток роговицы человека через клеточный носитель в качестве альтернативной терапевтической стратегии. Однако данная проблема требует дальнейшего изучения [55, 68, 71, 80].

1.2. Эндотелиально-эпителиальная дистрофия роговицы

Эндотелиально-эпителиальная дистрофия роговицы относится к группе дистрофий роговицы с локализацией патологического процесса в десцеметовой мембране и заднем эпителии роговицы и характеризуется необратимым уменьшением количества эндотелиальных клеток.

В 1978 году Волковым В.В. и Дроновым М.М. предложена классификация эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы, также применимая и к первичной дистрофии Фукса, учитывающая изменения роговицы по глубине поражения ее тканевых слоев, где выделено 5 стадий [5]:

I стадия – эндотелиальная, характеризуется морфологическими изменениями клеток эндотелия, возможен локальный отек и соответственно единичные локальные складки десцеметовой оболочки;

II стадия – стромальная, характеризуется возникновением стойкого отека эндотелия и стромы в результате пропитывания ее внутриглазной жидкостью, множественные складки десцеметовой мембраны;

III стадия – эпителиальная (буллезная), характеризуется возникновением диффузного отека эпителия и булл в результате скопления жидкости под слоем эпителиальных клеток;

IV стадия – сосудистая (неоваскулярная), характеризуется прорастанием преимущественно глубоких сосудов в задние слои роговицы, вследствие нарушения процессов метаболизма;

V стадия – терминальная (фиброзная), характеризуется формированием стойкого помутнения роговицы, как правило, неравномерной плотности вследствие замещения слоев роговицы рубцовой и сосудистой тканью с возможными очаговыми поверхностными изъязвлениями.

В 1978 году Krachmer J. с соавт. предложили иную классификацию [34]. Она включает 6 стадий, основанных на обнаружении и подсчете гутт

(выпячиваний) на задней поверхности роговицы (десцеметовой мембраны) в оптическом срезе и при ретролюминесценции:

0 стадия – до 11 центрально расположенных гутт на роговицах обоих глаз;

I стадия – 12 или более центрально расположенных гутт;

II стадия – сливные центральные гутты шириной 1-2 мм;

III стадия – сливные центральные гутты шириной 2-5 мм;

IV стадия – сливные центральные гутты шириной более 5 мм;

V стадия – сливные гутты шириной более 5 мм, отек стромы и/или отек эпителия роговицы.

В 2008 году Weiss J.S. и Международный комитет по классификации дистрофий роговицы (International Committee for Classification of Corneal Dystrophies – IC3D) опубликовали классификацию дистрофий, которая на сегодняшний день имеет широкое распространение в мире [108]. В основе этой классификации лежат анатомические принципы организации – в соответствии с наиболее поврежденным слоем роговой оболочки глаза: эпителий, строма или эндотелий. Эндотелиальная дистрофия Фукса относится к группе дистрофий десцеметовой мембраны и эндотелия.

В классификации IC3D эта группа выглядит следующим образом:

- эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса (FECD) C1, C2, или C3;
- задняя полиморфная дистрофия роговицы (PPCD) C1 или C2;
- врожденная наследственная эндотелиальная дистрофия 1 (CHED1) C2;
- врожденная наследственная эндотелиальная дистрофия 2 (CHED2) C1;
- х-сцепленная эндотелиальная дистрофия роговицы (XECD) C2.

В 2015 году была опубликована обновленная классификация Weiss J.S. с соавт. – Classification of Corneal Dystrophies – IC3D Edition 2 [69]. В новой версии группа эндотелиальных дистрофий представлена таким образом:

- эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса (FECD) C1, C2, или C3;
- задняя полиморфная дистрофия роговицы (PPCD) C1 или C2;
- врожденная наследственная эндотелиальная дистрофия (CHED) C1;

– х-сцепленная эндотелиальная дистрофия роговицы (ХЕСД) С2.

Наибольшую распространенность и клиническую значимость среди первичных форм эндотелиальных дистрофий имеет дистрофия роговицы Фукса. В 1910 году австрийский офтальмолог Ernst Fuchs впервые сообщил о 13 случаях центрального помутнения роговицы с формированием эпителиальных булл и назвал это явление «дистрофия эпителия роговицы». Она отличалась поздним началом, медленным прогрессированием, снижением остроты зрения в утреннее время, отсутствием воспаления, диффузной непрозрачностью особенно в центре и шероховатым эпителием с везикулоподобными чертами.

Первый переход к пониманию этиопатогенеза дистрофии Фукса был сделан Краура Е. в 1920 году, когда он впервые высказал предположение, что эпителиальные изменения вызваны в первую очередь изменениями в эндотелии.

Биомикроскопически эндотелиальные изменения детально описал Graves S. в 1924 году. Тогда как термин «cornea guttata» был введен Vogt A. в 1930-е [52].

В современном представлении дистрофия Фукса характеризуется аутосомно-доминантным типом наследования со 100% пенетрантностью и различной экспрессией, отличается локусной гетерогенностью (мутации в разных генах являются причиной одной болезни) и вариабельностью клинических проявлений каждого типа развития патологического процесса. Согласно последней версии (IC3D Edition 2) международной классификации дистрофий роговицы (Weiss J.S. et al.) «заинтересованные» локусы выявлены на различных хромосомах. Для ДФ с ранним началом – это хромосома 1p34.3-p32 (ДФ1). Для ДФ с поздним началом – это целый ряд хромосом: 13pter-q12.13 (ДФ2), 18q21.2-q21.3 (ДФ3), 20p13-p12 (ДФ4), 5q33.1-q35.2 (ДФ5), 10p11.2 (ДФ6), 9p24.1-p22.1 (ДФ7) и 15q25 (ДФ8) [69].

Последние современные исследования уделяют большое внимание межклеточному взаимодействию. Межклеточная связь имеет важное

значение для поддержания гомеостаза у многоклеточных организмов. Эта связь может быть локальной и удаленной. Классическим примером удалённой связи являются гормоны, которые циркулируют по телу благодаря току крови. Объектом пристального внимания в последнее время в отношении локальной связи стали структуры, называемые Extracellular Vesicles – дословно, «внеклеточные везикулы». В 2017 году Han с соавт. доказали наличие внеклеточных везикул в эпителии и в клетках стромы роговицы человека.

Другим коллективом авторов внеклеточные везикулы были найдены в трех основных типах клеток роговицы человека: эпителии, фибробластах, эндотелии. Кроме того, они были обнаружены между роговичными фибробластами и роговичными эндотелиоцитами [117]. Это открытие делает идею о многокомпонентности этиопатогенеза дистрофии Фукса более актуальной.

Дистрофия Фукса – медленно прогрессирующее дегенеративное заболевание глаза. На сегодняшний день выявлено, что целый ряд клеточных процессов играет роль в формировании дистрофии Фукса: отложение ненормального экстрацеллюлярного матрикса, окислительный стресс, повышенный апоптоз, эпителиально-мезенхимальный переход, измененная аутофагия. При этом данное заболевание требует дальнейшего изучения, так как по-прежнему отсутствует единая объединяющая множество компонентов теория [70].

Идеи о простом предположении, что ослабление проникновения света происходит по причине увеличения толщины роговицы недостаточно, поскольку коэффициент пропускания света уменьшается только на 4% при увеличении толщины роговицы вдвое (закон Lambert-Beer) [36]. Важным фактором в возникновении и возрастании величины светорассеяния является неравномерное расширение коллагеновых волокон.

Начало заболевания проявляется появлением выпячиваний на задней поверхности роговицы, а именно на десцеметовой мембране в виде «запотелого стекла», называемых роговичными гуттами [13].

Буллезная кератопатия является вторичным заболеванием. Развивается вследствие проникающих ранений глазного яблока, воспалительных процессов роговой оболочки, оперативных вмешательств на переднем отрезке глаза, чаще всего после факоемульсификации катаракты с имплантацией ИОЛ.

Иридо-корнеальный эндотелиальный синдром не является наследственной патологией и почти всегда бывает односторонним. Этот синдром включает группу заболеваний: синдром Когана-Риза, синдром Чандлера и эссенциальную атрофию радужки. В частности, при синдроме Чандлера гистопатологические исследования выявляют аномальные эндотелиальные клетки, которые мигрируют через трабекулярную сеть к радужке. Пролиферация этих аномальных клеток может вызвать отек роговицы, периферические синехии и глаукому, а также тракцию и атрофию радужки [9].

Эндотелиально-эпителиальная дистрофия роговицы различной этиологии (дистрофия Фукса, псевдофакичная буллезная кератопатия, иридо-корнеальный эндотелиальный синдром) является одним из ведущих показаний к кератопластике в мире [104].

1.3. Исторический обзор эндотелиальной кератопластики

Впервые идея «послойности» пересадки роговицы принадлежала Arthur von Hippel, который в 1886 году изготовил послойный трансплантат для передней послойной кератопластики.

По мере развития технической стороны хирургии пересадок роговицы, происходило детальное изучение консервирования тканей. Важные знания были получены в 30-50-х годах 20 века основоположниками советской

школы: Филатовым В.П., Пучковской Н.А., Войно-Ясенецким В.В. и др. [6, 14]. За рубежом 1970 год был ознаменован появлением консервационной среды McCarey-Kaufman. Несколько позднее в 1993 году в России была разработана среда Борзенка-Мороз (раствор для хранения роговицы ТУ 9398-013-29039336-2008).

Исследуя вопрос исторического развития хирургической мысли в отношении эндотелиальных послойных кератопластик, можно выделить два основных этапа. Первый этап включает хирургические техники эндотелиальной пересадки роговицы, выполненные с использованием «переднего доступа». Второй этап – эндотелиальная кератопластика через лимбально-склеральный разрез с применением «заднего доступа».

1.3.1. Эндотелиальные пересадки роговицы с использованием «переднего доступа»

В 1950 году Хосе Барракер предложил выполнить послойную кератопластику задней части роговицы. Данная методика получила название Posterior Lamellar Keratoplasty (PLK). Процедура представляла собой формирование в качестве начала поверхностного прямоугольного клапана из передней части стромы роговицы. Поднимая поверхностный лоскут, формировалась круглая лентикла задней стромы. Соответственно круглой «глубокой» лентикле, выкраивался трансплантат из донорского материала. Затем поверхностный клапан и глубокий круглый пересаженный трансплантат укреплялись швами.

Повторно данную методику Барракер Х. представил на The First World Congress of the Cornea в 1964 году.

В 1956 году Tillett C.W. сообщил о клиническом случае пересадки заднего слоя роговицы с введением воздуха в переднюю камеру глаза, но по-прежнему с дополнительной фиксацией швами [110].

В 1965 году Polack F.M. описал лабораторные эксперименты на животных с использованием хирургической техники Хосе Барракера. Однако результаты исследований на роговицах человека опубликованы не были [88].

В 1980 году доктор Барракер Х. внес некоторые изменения в ранее представленную технику, описав модифицированную хирургическую процедуру. Передний клапан был представлен лентикулой круглой формы, сформированный микрокератомом. Микрокератом, в свою очередь, был ранее предложен им же. Шовная фиксация как переднего клапана, так и заднего донорского трансплантата сохранилась.

В 1995 году доктор White T.C. на заседании Американского общества катарактальных и рефракционных хирургов представил экспериментальные данные на 10 кадаверных глазах. Данных на живых человеческих роговицах также представлено не было.

В 1998 году Jones D.T. и Culbertson W.W. описали новую технику, назвав её Endothelial Lamellar Keratoplasty (ELK). Передняя лентикула у реципиента формировалась при помощи микрокератома, представляя собой лентикулу с заданным диаметром 9,5-10,0 мм. Затем у реципиента осуществлялась трепанация задней лентикулы диаметром 6,75-7,0 мм. У донора выполнялась идентичная процедура на искусственной передней камере. Толщина трансплантируемого заднего трансплантата составляла порядка 250-270 мкм. Обе лентикулы, передняя и задняя, фиксировались швами. Была представлена серия из троих пациентов, которым была выполнена операция техникой ELK. В 2 из 3 случаев удалось добиться исчезновения отека стромы роговицы. В своей хирургической практике методику ELK стали использовать Busin M., Ehlers N., Azar D.T. Основными осложнениями стали: врастание эпителия под сформированный поверхностный клапан, формирование «двойной» передней камеры из-за неприлегания заднего трансплантата и иррегулярный астигматизм [76].

1.3.2. Эндотелиальные пересадки роговицы с использованием «заднего доступа»

Наряду с накопленными знаниями в отношении патогенеза заболеваний роговицы происходило стремительное развитие инструментов и микрохирургической техники выполнения кератопластики.

Второй этап – эндотелиальная кератопластика через лимбально-склеральный разрез с применением «заднего доступа».

В 1993 году была сделана первая экспериментальная попытка трансплантации лентикулы через «задний доступ». Доктор Ко W.W. с соавт. провели эксперимент на кроликах, которым вводили задний послойный трансплантат через лимбальный разрез. В результате у 7 из 10 животных было отмечено уменьшение отека роговицы [54].

Дальнейшее развитие хирургии было связано с именами докторов: Gerrit Melles, Mark Terry, Francis Price, Mark Gorovoy.

Доктор Gerrit Melles в 1998 году предложил формировать задний послойный трансплантат путем формирования передней лентикулы ручным образом, затем донорский корнеосклеральный диск переворачивали эндотелиальной поверхностью вверх и трепанировали диаметром 7,0-7,5 мм. У реципиента выполняли склеральный разрез длиной 9,0 мм и затем удаляли плоским трепаном центральную часть задней роговицы. Имплантировали ранее заготовленный трансплантат, фиксировали его при помощи воздуха, швы для фиксации не использовали. С течением времени размер корнеосклерального разреза сократился с 9,0 до 5,0 мм. Melles G. опубликовал результаты данной методики на животных, далее – на кадаверных глазах, а затем и на человеческих глазах. Во всех случаях, показав уменьшение отека и увеличение прозрачности роговицы [23].

Доктор Mark Terry из США в 2001 году стал автором методики DLEK (Deep Lamellar Endothelial Keratoplasty). Особенности методики стали расслаивание роговицы спереди на большую глубину и выкраивание задней лентикулы у реципиента вручную при помощи специального трепана. Была

организована специальная исследовательская группа EKG (Endothelial Keratoplasty Group) в рамках клинического исследования. Первые данные говорили о прозрачном приживлении трансплантата, низкой величине астигматизма, оптимальной плотности эндотелиальных клеток, но субоптимальных зрительных функциях. Вероятно, это было связано с наличием рассеяния света на границе интерфейса «донор – реципиент» [106].

Задняя автоматизированная послойная кератопластика

В дальнейшем G. Melles предложил выполнение десцеметорексиса для формирования ложа для эндотелиального трансплантата, выдвинул идею о воздушной фиксации трансплантата без шовной фиксации. И опубликовал успешные результаты своих новаторских изысканий уже в 2004 году [90].

Эту идею в США развил доктор Francis Price в 2006 году, назвав её DSEK (Descemet`s Stripping with Endothelial Keratoplasty). Особенностью методики стала ручная заготовка трансплантата для пересадки [94]. Разумеется, ручная заготовка эндотелиального трансплантата связана с дополнительной неравномерностью лентикулы по толщине и дополнительной неровностью поверхности трансплантата.

Тогда доктор Mark Gorovoy в том же 2006 году предложил следующие нововведения. Он начал выкраивать задний послойный трансплантат с помощью микрокератома фирмы Moria (Antony, Франция) с передней стороны роговицы на искусственной передней камере. Так появилась методика DSAEK (Descemet`s Stripping Automated Endothelial Keratoplasty) [65].

В 2017 году Abhimanyu Singh с соавт. был проведен мета-анализ клинических результатов двух методик Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK) и DSAEK. В анализ вошли 9 исследований различных коллективов авторов. Сравнение этих двух методик проходило по критериям: максимальная корригированная острота зрения, плотность эндотелиальных клеток, процент их потери, центральная толщина роговицы, субъективное

мнение пациентов (удовлетворенность, предпочтения) и послеоперационные осложнения. Было выяснено, что DMEK в сравнении с DSAEK обеспечивает более высокие зрительные функции, меньшую итоговую центральную толщину роговицы, большую удовлетворенность пациентов лечением. Тогда как статистически значимой разницы в отношении плотности эндотелиальных клеток на сроке наблюдения 6 месяцев между DMEK/DSAEK выявлено не было. В эти же сроки были получены сопоставимые результаты в отношении потери эндотелиальных клеток (в среднем 30% для DSAEK и 31% – для DMEK). Касаясь послеоперационных осложнений, то необходимость повторного введения воздуха или газо-воздушной смеси в группе DMEK была выше в сравнении с DSAEK. Частота неприживлений трансплантата была на очень низком уровне в отношении обеих методик [103].

Трансплантация десцеметовой мембраны

Поступательное усовершенствование в хирургической технике кульминационно нашло свое отражение в анатомической замене слоёв роговицы.

Так, впоследствии революционной методикой стала DMEK (Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty) доктора Melles G., получившей широкое признание. Она представляет собой трансплантацию изолированной десцеметовой мембраны и эндотелия. Были получены великолепные результаты в отношении зрительных функций пациентов [40].

Коллектив авторов во главе с Melles G. в 2017 году представили публикацию результатов 500 проведенных операций DMEK. На сроке наблюдения 12 месяцев после операции в 81% случаев удалось достичь остроты зрения 0,8 и более, в 49% – 1,0 и более и в 15% случаев острота зрения была более 1,2. Данное процентное распределение остроты зрения оставалось стабильным и на сроке наблюдения 24 месяца. Что касается потери эндотелиальных клеток от начальных данных донорской ткани, то

потеря находилась на уровне $37\pm 18\%$ на сроке 6 месяцев, $40\pm 18\%$ – на сроке 12 месяцев и $45\pm 18\%$ – через 24 месяца после операции [111].

Наиболее часто встречающимися осложнениями как для методики фемтосекундной DSEK, так и для методики DMEK являются: частичное неприлегание трансплантата, первичная или вторичная недостаточность трансплантата. Проблема частичного неприлегания трансплантата может быть решена путем повторного введения 100% стерильной воздушной смеси или газовой-воздушной смеси с применением газа, например, серы гексафторид (SF_6).

В том же исследовании доктор Melles G. с коллегами выполнили ретрансплантацию: по поводу неприлегания трансплантата в 5,2% случаев (26 глаз), по поводу первичной недостаточности трансплантата на 1 глазу (0,2%) и по поводу вторичной недостаточности трансплантата на 5 глазах (1,0%) [111].

Как попытка несколько упростить довольно сложную технику DMEK, доктор Studeny P. с соавт. предложили методику DMEK-S в 2010 году. Главная идея заключалась в разработке модели эндотелиального трансплантата, состоящего только из десцеметовой мембраны и эндотелия в центральной оптической зоне, поддерживаемой периферическим стромальным ободком [41].

Затем в 2011 году доктор Pereira C.R. с соавт. модифицировали эту технику путем использования микрокератома для диссекции донорского трансплантата, назвав её DMAEK (Descemet Membrane Automated Endothelial Keratoplasty) [44].

Техники DMEK-S и DMAEK в настоящее время являются в некоторой степени «переходным вариантом» в освоении довольно непростой процедуры классической DMEK.

В наши дни стремительного развития и укрепления позиций послойных кератопластик они становятся «золотым стандартом» для лечения эндотелиальной дистрофии Фукса или псевдофакичной буллезной

кератопатии. Тогда как сквозная пересадка роговицы становится вариантом выбора при необратимой деструкции фибриллярных элементов стромы роговицы.

Фемтолазерная задняя послойная кератопластика

Одним из принципиально новых направлений технического развития лазерных систем, применяемых в офтальмологии, является разработка фемтосекундного лазера (ФСЛ), характеристики которого обеспечивают максимальную безопасность и точность операционного вмешательства.

В 1964 году Нобелевской премии были удостоены отечественные физики Прохоров А.М. и Басов Н.Г. совместно с Townes С. за разработку первых генераторов и усилителей световых волн.

Взаимодействие фемтосекундных лазеров с тканью роговицы основывается на нелинейной абсорбции ткани роговицы и её расслаивании с помощью образования пузырькового слоя за счет испарения ткани. Распространенность фотодеструкции зависит от точности фокусировки и величины рабочего пятна.

Формируемое лазерное излучение состоит из очень коротких импульсов и позволяет достигать высокого уровня энергии. В зоне фокусировки лазерного излучения биологическая ткань превращается в газообразную плазму. Микроскопические пузырьки газа нарушают целостность ткани, подвергшейся воздействию. Перемещение лазерного луча приводит к необходимому разделению поверхности [8].

В 2001 году появилась первая фемтосекундная лазерная установка IntraLase (АМО, США). Концепция, которая легла в основу фемтосекундного лазера IntraLase, появилась в 1994 году, когда Kurtz R.M., совместно с физиками Gerard Mourou и Tibor Juhasz вели фундаментальные исследования проблемы применения сверхбыстрого лазера для хирургии в офтальмологии.

Практика использования фемтосекундного лазера в России началась с 2007 года, когда профессор Паштаев Н.П. успешно внедрил методику в

Чебоксарском филиале МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова [15].

В настоящий момент в мире существует большое количество фемтолазерных установок различных производителей: Femto LDV (Ziemer, Швейцария), IntraLase iFS (AMO, США), VisuMax (Carl Zeiss Meditec AG, Германия), WaveLight FS-200 (Alcon Laboratories, Inc., США), Фемто Визум (Оптосистемы, Россия, Троицк) [18].

В России успешно используется первая отечественная фемтосекундная лазерная система «Фемто Визум» (Оптосистемы, Троицк). Физические параметры установки следующие: частота повторения импульсов – 1 МГц, продолжительность импульса – 300-400 фс, диаметр пятна фокусировки менее – 2,0 мкм, энергия в импульсе – 0,3-0,9 мкДж, расстояние между лазерными импульсами – 5 мкм [10].

Закономерно с развитием фемтосекундных лазеров росло и их применение в аспекте задней послойной фемтолазерной кератопластики. Так, стремительно получила своё развитие методика FS-DSEK (Femtosecond Laser-assisted Descemet's Stripping Endothelial Keratoplasty).

В 2003 году в рамках FS-DSEK впервые фемтосекундный лазер FEMTEC (20/10 Perfect Vision, Heidelberg, Германия) был использован Seitz В. с соавт. в эксперименте на 18 свежих энуклеированных свиных глазах и 10 человеческих роговицах, отбракованных для трансплантации. Параметры вмешательства: уровень энергии – 10 мкДж, частота импульсов – 12,5 кГц, размер пятна – менее 10 мкм, диаметр реза – 6-7 мм, глубина реза – от 50 до 500 мкм. При этом рез осуществлялся с «передней» эпителиальной стороны роговицы. Коллектив авторов сделал вывод о многообещающих перспективах применения ФСЛ [83].

В 2006 году доктор Sikder S. с соавт. использовали ФСЛ IntraLase для заготовки трансплантата с эндотелиальной стороны. В этой работе трансплантат заготавливался со стороны эндотелия, имея диаметр 7,0 мм и толщиной 100 мкм. При этом до момента аппланации эндотелиальная

поверхность покрывалась вискоэластиками различного типа с целью изучения влияния типа вискоэластика на защитную функцию в отношении аппланационного интерфейса ФСЛ. Потеря эндотелиальных клеток составила от 4 до 19% [101].

А в 2007 году Cheng Y. с соавт. выполнили первую FS-DSEK у пациентки с псевдофакичной буллезной кератопатией. Для заготовки заднего послойного трансплантата использовался ФСЛ IntraLase. Со стороны эпителия роговицы производился рез глубиной 400 мкм с энергией импульса 1,4 мкДж, частотой следования импульса 30 кГц, размером пятна 2,4 мкм. Диаметр трансплантата составил 9,5 мм. К сроку наблюдения 2 месяца величина общей пахиметрии уменьшилась с 794 до 593 мкм, также сократилась величина стромального отека. Через 4 месяца после операции удалось достичь максимально корригированную остроту зрения 0,4 [61].

В 2008 году Mehta J.S. с соавт. анализировали техники FS-DSEK «single-pass», «double-pass», «triple-pass». В исследование было взято 40 корнеосклеральных дисков, непригодных для трансплантации. В 8 случаях использовали технику «single-pass», в 19 случаях – «double-pass», в 13 случаях – «triple-pass». Использовали ФСЛ Femtec (20/10 Perfect Vision) с величиной энергии горизонтального реза 1,4 мкДж и размером пятна 5 мкм и величиной энергии вертикального реза 2,7 мкДж с размером пятна 6 мкм. Все манипуляции осуществляли, начиная с эпителиальной поверхности роговицы. Лазер программировали таким образом, чтобы остаточная толщина роговицы составила 150-200 мкм. При этом формирование трансплантата происходило за один, два или три захода. Авторы пришли к выводу, что техника двойного прохода давала более высокое качество поверхности трансплантата в сравнении с техникой одного прохода лазера [62].

Техника FS-DSEK описана и для других фемтолазерных установок. Так, Hjortdal J. с соавт. провели FS-DSEK на лазерной установке Visumax femtosecond laser 500 кГц (Carl Zeiss Meditec, Jena, Германия). Донорский

трансплантат заготавливали с эндотелиальной поверхности диаметром 7,8 мм, толщиной 130 мкм. Имплантация осуществлялась с помощью глайда Бузина. Было прооперировано 10 пациентов с эндотелиальной дистрофией Фукса. На сроке наблюдения 12 месяцев центральная толщина роговицы (ЦТР) уменьшилась от диапазона 600-650 мкм до диапазона 550-600 мкм. Во всех случаях отметили улучшение зрительных функций. В среднем плотность эндотелиальных клеток (ПЭК) составила 1779 кл/мм^2 [73].

Также FS-DSEK была проведена и с использованием ФСЛ Ziemer LDV Z8 (Ziemer, Швейцария). Донорский трансплантат заготавливался с эндотелиальной поверхности, толщиной 110 мкм. Было прооперировано 40 пациентов с эндотелиальной дистрофией Фукса. На сроке наблюдения 3 месяца толщина трансплантата в среднем составила 105 ± 10 мкм. Авторы в своей работе не указывают процент потери эндотелиальных клеток [74].

Кроме того, в 2013 году Нероев В.В. с соавт. опубликовали 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). Толщина трансплантата составила 150 мкм. Всего было прооперировано 6 пациентов. На сроке наблюдения 6 месяцев острота зрения составила от 0,05 до 0,4. Средняя ПЭК составила $1720 \pm 162 \text{ кл/мм}^2$ [12].

Преимуществами методики FS-DSEK являются довольно быстрая зрительная реабилитация, отсутствие большого роговичного рубца и ассоциированной с ним большой величины астигматизма, технически меньшая сложность в сравнении с методикой DMEK, а также меньший иммунный ответ по причине меньшего количества пересаживаемой ткани.

К недостаткам методики можно отнести: потерю эндотелиальных клеток на этапе заготовки и имплантации трансплантата, возникновение помутнения на границе раздела сред (то есть между донорским

трансплантатом и стромой реципиента), гиперметропический рефракционный сдвиг, большую итоговую центральную толщину роговицы по причине наличия дополнительных слоев трансплантируемой стромы, неприлегание трансплантата, раннюю и позднюю недостаточность трансплантата.

В систематическом обзоре и мета-анализе эффективности и безопасности методик DSEK и DMEK в 2017 году Saiqun Li с соавт. были проанализированы 1124 глаза с проведенной операцией DMEK и 1254 глаза с операцией DSEK. Мета-анализ показал более высокие зрительные функции и более высокий процент неприлегания трансплантата в группе с DMEK. Тогда как по итоговой плотности эндотелиальных клеток не было выявлено различий между группами DSEK и DMEK [51].

В дополнение к этому высокая техническая сложность этапов методики DMEK, как заготовки трансплантата, так и его расправления в передней камере, влияют на выбор хирургической тактики лечения. Тогда как более простые и предсказуемые манипуляции с более толстым трансплантатом методик DSAEK/FS-DSEK делают их более предпочтительными.

Так, в 2017 году Mark A.P. Fajgenbaum и Emma J. Hollick в своем исследовании изучали два важных фактора в отношении методики DSEK – это выживаемость трансплантата на различных сроках и процент потери эндотелиальных клеток от начального значения донорской роговицы. Критериями отбора стало наличие: эндотелиальной дистрофии Фукса, афакичной или псевдофакичной буллезной кератопатии. Авторы пришли к выводу, что на сроке 1 год, 3 года и 5 лет выживаемость трансплантата составила 99, 98 и 94% соответственно. Процент потери эндотелиальных клеток был равен $44\pm 16\%$, $56\pm 17\%$ и $67\pm 13\%$ соответственно. Это говорит о высоком потенциале методики в отношении реабилитации пациентов [59].

2014 год был ознаменован появлением двух методик. Заготовка трансплантата может осуществляться с применением не только ФСЛ и

микрokerатома, а также с использованием эксимерного лазера. Кроме того, возможны различные комбинации использования этих устройств.

Например, в 2014 году Trinh L. с соавт. была предложена идея техники FELEK (Femtosecond and Excimer Laser-assisted Endothelial Keratoplasty). Донорский трансплантат заготавливался с эпителиальной стороны путем комбинации действия двух приборов. Первого – ФСЛ IntraLase FS150 с параметрами: глубина реза – 400 мкм, энергия – 1,05 мкДж, размер пятна – 2 мкм, диаметр – 9,1 мм. Затем после механического удаления поверхностного лоскута толщиной 400 мкм, донорская роговица подвергалась воздействию эксимерного лазера Wavelight Allegretto platform (Alcon Laboratories). Глубина абляции составляла 30 мкм, диаметром оптической зоны 8,0 мм. Это делалось для создания эффекта «сглаживания» поверхности, тем самым повышая качество поверхности. Коллектив авторов, сравнивая качество формируемой поверхности трансплантата при помощи метода сканирующей электронной микроскопии, пришел к выводу, что комбинация ФСЛ с эксимерным лазером обеспечивает наилучшее качество поверхности по сравнению с однократным резом ФСЛ, двукратным резом ФСЛ, однократным резом микрokerатомом [60].

И также в 2014 году была опубликована работа с альтернативной методикой, получившей название MELEK (Microkeratome and Excimer Laser-assisted Endothelial Keratoplasty), где для выкраивания трансплантата используется комбинация микрokerатома и эксимерного лазера, преследуя всё ту же цель – выкроить трансплантат с высоким качеством поверхности [81].

Таким образом, методика задней послойной кератопластики привлекает всё больше внимания офтальмологов из различных стран. Как и другие операции, широко используемые в клинической деятельности, ЗПК проходила из года в год последовательные шаги в усовершенствовании техники. Применение микрokerатома или фемтосекундного лазера стало одним из важнейших направлений развития. Однако, если в отношении

микркератома после анализа преимуществ, недостатков и клинико-функциональных результатов были выявлены основные аспекты его использования, то касаясь применения фемтосекундного лазера, особенно при выкраивании трансплантата со стороны эндотелия роговицы, по-прежнему не сформирована однозначная позиция исследователей. На сегодняшний день отсутствует экспериментально-клиническое исследование, детально затрагивающее вопрос применения российского фемтосекундного лазера «Фемто Визум» в области задней послойной пересадки роговицы. Это и определило актуальность данной работы.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Дизайн исследования

Данная работа представляет собой сравнительное проспективное рандомизированное исследование проведения операции задней послойной кератопластики, учитывая разные способы заготовки ультратонкого трансплантата. В сравнительном аспекте рассматривались две методики подготовки трансплантата: использование микрокератома и применение фемтосекундного лазера.

Экспериментальные исследования проводились на 9 кадаверных корнеосклеральных дисках с применением фемтосекундного лазера и на 9 кадаверных корнеосклеральных дисках с использованием микрокератома. Клинические исследования базировались на результатах лечения 104 пациентов (104 глаза) с дистрофией Фукса и буллезной кератопатией. Дизайн исследования представлен в Таблица 1.

Таблица 1 – Дизайн исследования

1. Экспериментальные исследования	
1.1. Экспериментальное исследование количественной оценки сохранности эндотелиального слоя при различных видах воздействия, n=8	группа 1 – 4 пары кадаверных корнеосклеральных дисков, где на 1 образце производили выкраивание трансплантата с использованием ФСЛ со стороны эндотелия роговицы, на другом образце из этой же пары выкраивали трансплантат со стороны эпителия роговицы при помощи микрокератома, n=8
1.2. Экспериментальное исследование качества формируемой поверхности ультратонкого трансплантата с	1-я группа – 5 кадаверных корнеосклеральных дисков, из которых заготовили ультратонкие роговичные трансплантаты с помощью механического микрокератома (Moria LSK-One,

использованием метода атомно-силовой микроскопии, n=10	Франция) со стороны эпителия роговицы 2-я группа – 5 кадаверных корнеосклеральных дисков из этих же пар, из которых заготовили ультратонкие роговичные трансплантаты с применением ФСЛ со стороны эндотелия роговицы
2. Клинико-функциональное исследование	
Анализ клинико-функциональных результатов у пациентов после задней послойной кератопластики при выкраивании ультратонкого трансплантата с помощью ФСЛ и микрокератома, n=104 глаз (104 пациента)	1А группа – пациенты с катарактой и дистрофией Фукса, которым была выполнена комбинированная одномоментная операция ЗПК с применением фемтосекундного лазера (ФЛ-ЗПК) с факоэмульсификацией катаракты (ФЭК) и имплантацией интраокулярной линзы (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 ФЭК 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)

2.2. Материалы клинико-функциональных исследований

Детально рассмотрены данные клинико-функциональных исследований и проанализированы результаты серии операций, выполненных для реабилитации пациентов с дистрофией роговицы Фукса и эндотелиально-эпителиальной дистрофией роговицы (псевдофакичной буллезной кератопатией). В исследование вошли 104 пациента (104 глаза). У части

пациентов была диагностирована катаракта, некоторые пациенты ранее уже были прооперированы по поводу помутнений хрусталика различной степени выраженности. Все пациенты, вошедшие в исследование, обратились в Чебоксарский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» и МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва, с жалобами на снижение зрения.

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 (ФЭК) и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок (**15 пациентов, 15 глаз**). Средний возраст пациентов составил 68 ± 9 лет. Из 15 пациентов было 5 мужчин (33,3%) и 10 женщин (66,7%).

1Б группа – пациенты с буллезной кератопатией и артификацией, которым была выполнена изолированная ФЛ-ЗПК (**37 пациентов, 37 глаз**). Средний возраст пациентов составил 71 ± 10 лет. Из 37 пациентов было 9 мужчин (24,3%) и 28 женщин (75,7%).

2А группа – пациенты с катарактой и дистрофией Фукса, которым была выполнена комбинированная одномоментная операция ЗАПК с ФЭК и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок (**17 пациентов, 17 глаз**). Средний возраст пациентов составил 70 ± 6 лет. Из 17 пациентов было 7 мужчин (41%) и 10 женщин (59%).

2Б группа – пациенты с буллезной кератопатией и артификацией, которым была выполнена изолированная ЗАПК (**35 пациентов, 35 глаз**). Средний возраст пациентов составил 71 ± 5 лет. Из 35 пациентов было 10 мужчин (29%) и 25 женщин (71%).

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

По классификации эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы Волкова В.В. и Дронова М.М. (1978) в исследование включались пациенты

со II и III стадиями. Данная классификация применима и к первичной дистрофией Фукса, т.к. учитывает изменения роговицы по глубине поражения ее тканевых слоев, где выделено пять стадий [5].

В частности, II и III стадии характеризуются следующим образом:

II стадия – стромальная, характеризуется возникновением стойкого отека эндотелия и стромы в результате пропитывания ее внутриглазной жидкостью, множественные складки десцеметовой мембраны;

III стадия – эпителиальная (буллезная), характеризуется возникновением диффузного отека эпителия и булл в результате скопления жидкости под слоем эпителиальных клеток.

Критериями исключения стали: наличие необратимых фибриллярных изменений в строме роговицы, амблиопия высокой степени, терминальная глаукома, глаукома с некомпенсированным внутриглазным давлением (ВГД), воспалительные заболевания глаза в стадии обострения, отслойка сетчатки, возрастная макулярная дегенерация на стадии рубцовой формы, внекапсулярная фиксация ИОЛ (зрачковая, переднекамерная), соматические заболевания в стадии декомпенсации.

Статистически значимых различий по возрастно-половому составу выявлено не было. Сформированные группы пациентов однородны, что позволяет провести анализ данных и получить рациональные выводы (Таблица 2).

Таблица 2 – Характеристика пациентов по поло-возрастному составу

Параметр	Группа 1А (n=15), 15 глаз	Группа 2А (n=17), 17 глаз	p	Группа 1Б (n=37), 37 глаз	Группа 2Б (n=35), 35 глаз	p
Возраст, лет	68±9	70±6	0,692	71±10	71±5	1,0
Доля мужчин, %	33,3%	41%	0,255	24,3%	29%	0,186

2.3. Клинико-функциональные показатели пациентов в предоперационном периоде

В среднем пациенты ожидали проведения оперативного лечения более 1 года с момента установки диагноза. Тем не менее, по всем группам сроки ожидания донорского материала для проведения пересадки роговицы были сопоставимы.

Сроки ожидания трансплантации по группам пациентов представлены в Таблице 3. Различий по срокам ожидания между группами не выявлено ($p > 0,05$).

Таблица 3 – Сроки ожидания задней плоскостной кератопластики исследования по группам

Исследуемые параметры	1А группа (n=15)	1Б группа (n=37)	p	2А группа (n=17)	2Б группа (n=35)	p
Срок ожидания, мес.	13,3±1,9	14,1±1,8	0,159	13,7±1,6	13,8±1,9	0,853

Примечание: здесь и далее в таблицах результаты приведены как $M \pm \sigma$

Всем пациентам проводилось комплексное обследование, включающее в различные периоды наблюдения: проверку остроты зрения без коррекции и с коррекцией (визометрия), авторефрактометрию, тонометрию, биометрию, периметрию, а также ОКТ переднего отрезка глаза, подсчет плотности эндотелиальных клеток, электрофизиологическое исследование (ЭФИ) зрительного нерва (определение лабильности зрительного нерва и порогов электрической чувствительности), ультразвуковое исследование заднего отрезка глаза, кератотопографию, проведение денситометрии на приборе Pentacam HR, биомикроскопию, офтальмоскопию. Данные показателей представлены в Таблица 4, 5.

Таблица 4 – Функциональные показатели у групп пациентов с дистрофией Фукса в дооперационном периоде

Исследуемые параметры, единицы измерения	1А группа (n=15)	2А группа (n=17)	p
НКОЗ	0,03±0,03 0,02{0,01-0,1}	0,06±0,03 0,04{0,02-0,1}	0,072
КОЗ	0,12±0,12 0,1{0,01-0,3}	0,14±0,06 0,15{0,08-0,2}	0,246
Кератометрия (средняя), дптр	43,47±2,42 43,38{40,63-46,5}	43,09±1,12 42,88{41,88-44,75}	0,966
Астигматизм, дптр	2,31±2,83 1,63{0,25-4,00}	2,46±1,24 3,00{0,25-3,75}	0,866
ЦТР, мкм	670,29±51,83 684,5{587-729}	639,76±37,07 629{591-698}	0,059
ПЗО, мм	24,79±2,62 24,31{22,6-28,2}	24,19±1,41 24,1{22,4-26,2}	0,794
ПЭК, кл/мм ²	не опред.	не опред.	

Таблица 5 – Функциональные показатели у групп пациентов с буллезной кератопатией в дооперационном периоде

Исследуемые параметры, единицы измерения	1Б группа (n=37)	2Б группа (n=35)	p
НКОЗ	0,05±0,07 0,02{0,01-0,15}	0,05±0,03 0,04{0,02-0,1}	0,089
КОЗ	0,07±0,09 0,02{0,01-0,2}	0,08±0,05 0,06{0,04-0,2}	0,081
Кератометрия (средняя), дптр	44,23±1,52 44,0{42,63-46,13}	43,16±0,78 42,88{42,5-44,5}	0,079
Астигматизм, дптр	2,41±2,24 1,88{0,25-6,75}	2,1±1,7 1,50{0,50-4,25}	0,544
ЦТР, мкм	759,69±121,65 736{596-950}	751,09±72,92 765{629-831}	0,877
ПЗО, мм	24,01±2,51 23,29{21,51-28,8}	24,34±1,29 24,6{22,7-25,9}	0,052
ПЭК, кл/мм ²	не опред.	не опред.	

Исходные данные клинико-функциональных параметров в группах с комбинированным вмешательством (1А и 2А), а также с изолированными операциями (1Б и 2Б) были сопоставимы (см. Таблица 4, 5).

При использовании эндотелиального микроскопа при подсчете плотности эндотелиальных клеток возникали затруднения по причине наличия выраженного отёка и снижения прозрачности роговицы.

При биомикроскопии у всех пациентов с дистрофией Фукса – 1А (n=15) и 2А групп (n=17) – были выявлены помутнения ядра хрусталика средней плотности, NC 4-5.

Для проведения оперативного лечения использовали донорские корнеосклеральные диски с показателем трансплантабельности 3А, заготовленные в Глазном тканевом банке Чебоксарского филиала ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России. Донорский материал был представлен корнеосклеральным диском, хранящимся в растворе для хранения роговицы.

Оптимальным считали донорский материал с количеством эндотелиальных клеток более 2400 кл/мм^2 от донора в возрасте менее 70 лет (Таблица 6). Подсчёт плотности эндотелиальных клеток на трансплантате проводили с помощью зеркального микроскопа Konan Eye Bank KeratoAnalyzer (Konan Medical Inc., Япония). Срок хранения для всех используемых материалов (n=104) составил от 1 до 4 дней, в среднем $2,4 \pm 0,8$ дней.

Таблица 6 – Исходная плотность эндотелиальных клеток донорских роговичных трансплантатов

Исследуемые группы	ПЭК трансплантата, кл/мм ²	p
1А группа (n=15) ФСЛ «Фемто Визум»	2533,33±97,6 2550{2400-2700}	0,521
2А группа (n=17) Микрокератом	2508,8±100,4 2525{2400-2650}	
1Б группа (n=37) ФСЛ «Фемто Визум»	2516,2±101,4 2550{2400-2700}	0,791
2Б группа (n=35) Микрокератом	2507,1±89,2 2500{2400-2600}	

Между группами пациентов с дистрофией Фукса (1А и 2А), а также группами пациентов с буллезной кератопатией (1Б и 2Б) статистически значимых различий в отношении исходного количества эндотелиальных клеток на трансплантате выявлено не было ($p>0,05$).

Вне зависимости от способа заготовки трансплантата (с применением ФСЛ либо микрокератома) не было зафиксировано ни одного случая отбраковки донорского материала.

На дооперационном этапе анализ оптической плотности роговицы показал, что меньшие значения оптической плотности были выявлены у пациентов 1А и 2А группах (Таблица 7). При этом статистически значимых различий между этими группами выявлено не было ($p>0,05$). Статистически значимых различий между 1Б и 2Б группами также не отмечено ($p>0,05$).

Таблица 7 – Сравнительный анализ показателей денситометрии различных слоев роговицы: AL, CL, PL в центральной 0-2 мм и 2-6 мм парацентральной зонах у исследуемых групп пациентов до операции, усл. ед.

Слой Зона	Передний слой		Центральный слой		Задний слой	
	0-2 мм	2-6 мм	0-2 мм	2-6 мм	0-2 мм	2-6 мм
1А группа	33,82±4,04 33,8{28,9- 38,2}	31,61±3,96 31,2{26,2- 36,9}	19,54±1,7 19,2{17,3- 22,1}	18,62±1,52 18,4{16,9- 21,2}	22,09±2,66 22,9{19,6- 25,5}	21,2±2,46 21,1{18,9- 24,2}
2А группа	35,36±4,47 34,2{29- 44}	33,14±3,82 33,1{27,6- 39,7}	19,36±1,39 19,5{17- 21,1}	18,05±1,25 17,5{16,5- 20,1}	22,13±2,5 22,7{18,4- 25}	20,86±2,49 20,6{17,1- 24}
p	0,35	0,295	0,97	0,216	0,823	0,602
1Б группа	41,99±3,25 42,9{38,1- 45,3}	40,07±3,12 41{36,2- 43,9}	28,86±3,2 28,8{26,1- 33,2}	27,76±2,98 27,5{24,3- 32,1}	30,99±3,48 30,2{28,2- 34,6}	29,84±3,3 29,1{27,3- 33,5}
2Б группа	43,85±3,59 44,5{38,5- 48}	41,6±4,38 42,7{34,9- 46}	28,39±2,73 28,3{25- 32,8}	26,63±2,8 26,1{23,1- 29,6}	32,75±4,06 32{28- 38,9}	30,71±3,68 30,6{25,2- 35,8}
p	0,117	0,115	0,466	0,066	0,063	0,217

Во всех исследуемых группах от 7 до 40% пациентов имели сопутствующую офтальмологическую патологию (Таблица 8).

Таблица 8 – Структура сопутствующей патологии в исследуемых группах (n (%))

Сопутствующая патология	1А группа (n=15) ФСЛ «Фемто Визум»	1Б группа (n=37) ФСЛ «Фемто Визум»	2А группа (n=17) Микро- кератом	2Б группа (n=35) Микро- кератом
Глаукома, компенсированная медикаментозно и/или оперативным путем	3 (20%)	6 (16%)	2 (12%)	5 (14%)
Осевая миопия и ассоциированные дегенеративные изменения в макулярной зоне	6 (40%)	7 (19%)	4 (24%)	8 (23%)
Возрастная макулярная дегенерация различной степени выраженности	4 (27%)	5 (14%)	3 (18%)	7 (20%)
Эпиретинальный фиброз	1 (7%)	-	-	-

Таким образом, сравнительное исследование клинико-функциональных параметров глаз в группах пациентов показало, что их можно считать однородными и полностью подходящими для последующего сравнительного статистического анализа динамики восстановления клинико-функциональных показателей оперированных глаз в различные послеоперационные сроки.

2.4. Методы клинико-функциональных исследований

Всем пациентам проводилось комплексное обследование, включающее: проверку остроты зрения без коррекции и с коррекцией (визометрия), авторефрактометрию, тонометрию, биометрию, периметрию, а также ОКТ переднего отрезка глаза, подсчет плотности эндотелиальных клеток,

электрофизиологическое исследование зрительного нерва (определение лабильности зрительного нерва и порогов электрической чувствительности), ультразвуковое исследование заднего отрезка глаза, кератотопографию, проведение денситометрии на приборе Pentacam HR, биомикроскопию, офтальмоскопию.

Визометрия проводилась без коррекции и с максимальной коррекцией при помощи фороптера Huvitz CDR-3100 (Корея) с проектором знаков Torcon ACP-5 (Япония). Данное обследование осуществлялось на всех сроках наблюдения пациента, начиная от предоперационного обследования и до срока 12 месяцев после операции.

Авторефрактометрия проводилась на приборе RC-5000, Tomey (Япония), в естественных условиях.

Тонометрия выполнялась с использованием пневмотонометра Torcon (Япония) и по классической методике с применением аппланационного тонометра Маклакова весом 10 г. под местной анестезией.

Биометрия проводилась на приборе Optical Biometer OA-2000, Tomey (Япония). Измерение включало в себя определение величины длины глаза, глубины передней камеры, толщины роговицы, хрусталика.

Оптическая когерентная томография (ОКТ) выполнялась с использованием приборов Visante OCT (Zeiss, Германия) или Optovue (США). Технические характеристики прибора Optovue (США) следующие: длина волны сканирующего луча 840 ± 10 нм, скорость получения изображения не менее 26.000 А-сканов/сек, продольное (по лучу зрения) оптическое разрешение в тканях переднего и заднего отрезка 5 мкм, максимальная длина скана на роговице 8 мм. Поскольку методика является бесконтактной, то обследование проводилось на всех этапах наблюдения за пациентом, особенно это было важно в раннем послеоперационном периоде. Благодаря этой методике в раннем послеоперационном периоде оценивались следующие параметры: наличие полной адгезии трансплантата к строме реципиента на всем протяжении пересаженной ткани; равномерность

толщины выкроенного трансплантата; наличие или отсутствие локальной или полной отслойки трансплантата; адаптация краев трансплантата в краевой зоне сформированного после десцеметорексиса ложе; общая толщина комплекса «роговица реципиента + трансплантат»; толщина трансплантата в центре и на периферии.

Определение **плотности эндотелиальных клеток (ПЭК)** осуществлялось на эндотелиальном микроскопе Tomey EM-3000 (Япония). Обследование проводилось в автоматическом режиме, в центральной зоне. Особое внимание было уделено динамике изменения плотности эндотелиальных клеток на всех послеоперационных сроках наблюдения.

Электрофизиологическое исследование зрительного нерва происходило на приборе «ЭСОМ-КОМЕТ» (Россия).

Ультразвуковое исследование заднего отрезка глаза проводилось на приборе NIDEK US-4000 (Япония). В ходе исследования исключали наличие гемофтальма, отслойки сетчатки и внутриглазных новообразований.

Кератотопография была выполнена на автоматизированном кератотопографе TMS-4 фирмы Tomey (Япония).

Исследование переднего отрезка глаза с помощью ротационной Шеймпфлюг-камеры проводилось с использованием устройства Pentacam HR (Oculus, Германия) в затемненном помещении, примерно через 2-3 секунды после того, как пациент поморгает (с целью предотвращения возникновения аберраций из-за сухости глазной поверхности). Денситометрия проводилась в центральной зоне (0-2 мм) и парацентральной зонах (2-6 мм) на сроке наблюдения до проведения операции и 12 месяцев после операции. Роговица была разделена на три зоны по глубине: передний слой (anterior layer, AL), центральный слой (center layer, CL), задний слой (posterior layer, PL). Передний слой – передняя 1/3 роговицы (эпителий, боуменова мембрана, строма), средний слой – средняя 1/3 роговицы от общей толщины сразу после переднего слоя (только строма), задний слой –

оставшаяся часть роговицы. На послеоперационном этапе роговичный трансплантат относили к заднему слою.

Дополнительному анализу подвергалась зона интерфейса, под которой понимали участок роговицы, нижней границей которого считали $2/3$ от толщины трансплантата со стороны эндотелия, а область на 100 мкм выше этой границы определяли как верхнюю границу.

Биомикроскопия переднего отрезка глаза проводилась с использованием щелевой лампы фирмы Opton (Германия). Первично проводилась оценка состояния придаточного аппарата глаза (ресниц, век), состояние тарзальной и бульбарной конъюнктивы, переднего и заднего отрезков глаза. При осмотре век отмечали гиперемию краев во всех случаях при наличии у больного роговичного синдрома. При осмотре роговицы отмечали признаки эндотелиальной дистрофии, наличие патологических гутт (от единичных до сливных) на эндотелии в срезе щелевой лампы и при ретролюминесценции, наличие симптома «битого металла» в виде неравномерности десцеметовой мембраны с отливом бронзового цвета.

Оценивали состояние десцеметовой мембраны, наличие складок и целостность. При отеке роговицы определяли его локализацию и степень выраженности, толщину роговицы в оптическом срезе щелевой лампы и вовлечение поверхностного эпителия роговицы (наличие неравномерности эпителия, буллезности). Оценивали глубину и равномерность передней камеры глаза, наличие спаек и гониосинехий и их протяженность. Изучали состояние радужной оболочки, формы, размера и целостности пигментной каймы зрачка, а также наличие коллоидом. При наличии ИОЛ определяли ее положение, место и степень фиксации. При наличии нативного хрусталика оценивали степень его прозрачности с целью планирования комбинированного вмешательства (ФЛ-ЗПК/ЗАПК + ФЭК + ИОЛ).

Офтальмоскопия выполнялась при достаточной прозрачности сред переднего отрезка глаза с помощью бесконтактной асферической линзы Ocular Osher MaxField с оптической силой 78 дптр фирмы Ocular

Instruments (США). Оценивали состояние диска зрительного нерва, цвет, границы, форму и глубину экскавации, состояние макулярной зоны, калибр и ход сосудов глазного дна, их световые рефлексy.

Расчет ИОЛ проводился при помощи IOL Master (Carl Zeiss, Meditec, США). При длине глаза <22 мм использовали формулу HofferQ, в других случаях – SRK/T. В данном исследовании расчет ИОЛ выполняли с учетом поправки на возможный гиперметропический сдвиг в 1,5 дптр, то есть к проводимому расчету оптической силы ИОЛ на эмметропию добавляли дополнительно 1,5 дптр.

Определение степени плотности ядра хрусталика на дооперационном этапе проводилось с использованием классификации LOCS III. Одной из наиболее популярных классификаций, широко используемых в научных исследованиях на сегодняшний день, является классификация LOCS III (Lens Opacities Classification System III) [109]. В классификацию включен ряд стандартных изображений, которые описывают: NC (Nucleus Color) – цвет ядра, основной параметр по которому можно оценить плотность ядра хрусталика. Для цифрового представления используются десятичные дроби от 0,1 до 6,9. Кроме того – NO (Nucleus Opalescence; 0,1-6,9) – помутнения ядра хрусталика, зарегистрированные при проведении биомикроскопии. Дополнительно представлен ряд из 5 изображений помутнений кортикальных слоев хрусталика (Cortical Opacity – C; 0,1-5,9) и 5 изображений задних субкапсулярных помутнений хрусталика (Subcapsular Opacity – P; 0,1-5,9), зарегистрированных при проведении ретро-иллюминации.

Все результаты клинико-функциональных исследований заносили в сводные таблицы программы Excel пакета Microsoft Office 2010.

2.5. Статистическая обработка данных

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием методов параметрического и непараметрического анализов [3, 4, 7].

Использованы традиционные показатели описательной статистики. Брали число наблюдений (n), среднее арифметическое (M), медиану (Me), стандартное отклонение (σ), 10 и 90 процентиля изучаемого признака. Правильность распределения оценивали методами Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Вилка.

Из-за малого объема выборки и/или неправильности распределения, что практически всегда имело место, для оценки значимости различий между двумя группами использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (r_{M-U}). Для суждения о статистической значимости различий при использовании качественных признаков из-за малого числа наблюдений использовали точный критерий Фишера – r_F . Во всех случаях вероятность ошибки обозначали символом p и считали статистически значимой при $p < 0,05$.

Статистический анализ работы выполнен на персональном компьютере IBM PC/AT с использованием разработанных для этого класса вычислительной техники статистических программ в среде Excel 97.0 и Statistica for Windows 6.0 (программный продукт компании «StatSoft», США) [102]. При работе в программе Statistica использованы рекомендации научного директора StatSoftRussia Боровикова В.П. [1].

Глава 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ УЛЬТРАТОНКИХ ТРАНСПЛАНТАТОВ, ЗАГОТОВЛЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА И МИКРОКЕРАТОМА

Целью данной главы является экспериментальное обоснование возможности применения отечественной фемтолазерной установки мегагерцового диапазона для подготовки трансплантата для задней послойной кератопластики, включая разработку в эксперименте *ex vivo* хирургического этапа подготовки ультратонкого трансплантата, оценку качества его поверхности и степень потери эндотелиальных клеток в сравнении с трансплантатами, выкраенными с помощью микрокератома.

Для этого был разработан хирургический этап технологии заготовки ультратонкого трансплантата, в эксперименте произведена качественная и количественная оценка трансплантатов, полученных как при помощи микрокератома, так и с применением ФСЛ. Затем трансплантаты подвергались количественной оценке методом прижизненного окрашивания и качественной оценке методом атомно-силовой микроскопии.

3.1. Разработка в эксперименте хирургического этапа технологии заготовки ультратонкого трансплантата

Целью этого раздела экспериментального исследования стала разработка хирургического этапа заготовки ультратонких трансплантатов и сравнительного анализа, направленного на изучение состояния ультратонкого трансплантата в зависимости от способа выкраивания ткани.

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

Донорский корнеосклеральный диск с показателем трансплантабельности 3А по Борзенку С.А.¹, консервированный в растворе для хранения роговицы, размещали на искусственной передней камере эндотелиальной поверхностью кверху. Давление внутри камеры создавали равным 50 см вод. ст. путем заполнения передней камеры сбалансированным солевым раствором, за счет подключения инфузионной системы. На штативе с держателем подвешивали пакет с раствором на фиксированной высоте. Роговицу помещали под аппланационный интерфейс лазера. Выполняли выкраивание трансплантата диаметром 8 мм, толщиной 130 мкм. При этом использовали стандартные параметры работы лазера, физические параметры установки были следующие: частота повторения импульсов – 1 МГц, продолжительность импульса – 300-400 фс, диаметр пятна фокусировки – менее 2,0 мкм, расстояние между лазерными импульсами – 5 мкм, энергия – 0,6 мкДж. Время формирования трансплантата – 18-20 сек. Центральный роговичный диск диаметром 8,0 мм, на котором проводили подсчет клеток заднего эпителия, заготовили с помощью стандартного пробойника (Barron, США).

Трансплантат с применением микрокератома заготавливали с использованием следующей техники. Корнеосклеральный диск монтировали на искусственную переднюю камеру эндотелиальной поверхностью книзу, подключали к инфузионной системе, внутри которой создавали давление 50 см вод. ст. Выполняли пахиметрию с помощью оптической когерентной томографии (ОКТ). Затем использовали механический микрокератомом Moria LSK-2 (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

¹ Борзенко С.А. Медико-технологические и методологические основы эффективной деятельности глазных тканевых банков России в обеспечении операций по сквозной трансплантации роговицы: дисс. ... докт. мед наук: 14.01.07/ Борзенко Сергей Анатольевич. – М., 2008. – 308с.

центральной и периферической зонах трансплантата. Итоговая толщина трансплантатов находилась в диапазоне от 120 до 130 мкм в центральной зоне.

Необходимо более детально рассмотреть процесс обеспечения поддержания постоянства давления на этапах укладывания донорского корнеосклерального диска на искусственную переднюю камеру и аппланации лазерного интерфейса.

В момент укладывания донорской роговицы на искусственную переднюю камеру для проведения дальнейшего выкраивания трансплантата на фемтолазерной установке, роговичный корнеосклеральный диск ориентирован эндотелиальной поверхностью вверх, поэтому после заполнения камеры раствором для хранения роговицы до достижения нормотензии, хирург несколько ограничен в возможности механического контроля давления по причине травматизма эндотелия. С другой стороны, момент аппланации также влияет на давление внутри искусственной передней камеры. Поэтому для того, чтобы обеспечить стабильное давление внутри последней, и как следствие, минимизацию потери эндотелиальных клеток и предсказуемый процесс аппланации и дальнейшей фемтодиссекции, после закрывания механизма искусственной передней камеры, производили ее заполнение сбалансированным солевым раствором путем подключения инфузионной системы. На штативе с держателем подвешивали пакет с раствором на фиксированной высоте, обеспечивающей достижение давления внутри системы 50 см вод. ст. (Рисунок ки 1, 2). Эндотелиальную поверхность увлажняли консервационной средой.



Рисунок 1 – Штатив с установленным пакетом сбалансированного солевого раствора на высоте 50 сантиметров

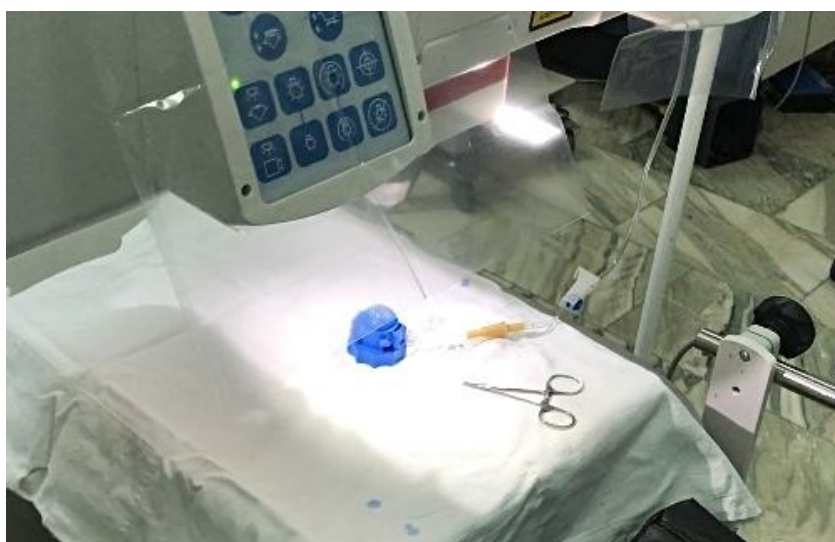


Рисунок 2 – Подключенная инфузионная система к искусственной передней камере

Таким образом, подключение инфузионной системы к искусственной передней камере с постоянным положением пакета со сбалансированным солевым раствором, обеспечивающего давление 50 см. вод. ст., позволяет длительно стабильно поддерживать внутри нее оптимальный уровень давления. Это в свою очередь обеспечивает более деликатный процесс аппланации интерфейса фемтолазерной установки, минимизацию гибели эндотелиальных клеток в момент контакта аппланационного стекла лазера с эндотелием роговицы и предсказуемый процесс фемтолазерной диссекции.

3.2. 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).

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 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 (AM) 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.

Перед окрашиванием исследуемые роговицы промывали в чашке Петри стерильным раствором PBS (Phosphate-Buffered Saline, pH-7.4, Thermo Fisher Scientific, 10010023). Далее ткань переносили в другую чашку Петри с раствором красителей в PBS: Calcein Violet 450 AM – 10 мкМ и Propidium Iodide – 500 нМ, и инкубировали в течение 30 минут в темноте при комнатной температуре, чтобы предотвратить выцветание флуоресцентных меток. По истечении получаса роговицу промыли чистым раствором PBS и переместили в пластиковую чашку Петри со стеклянным дном (MatTek Corporation) в 1 мл PBS эндотелием вниз, сверху накрыли покровным стеклом. Все описанные процедуры провели в стерильных условиях в ламинарном шкафу.

Для визуализации окрашивания использовали инвертированный микроскоп Leica DMIL HC (Leica, Германия). Возбуждение флуоресцентных меток происходило при освещении образца ртутной лампой с применением цветных фильтров. Возбужденные метки красителя Calcein Violet в сочетании с фильтром придали синюю окраску цитоплазме живых клеток. Возбужденные метки красителя Propidium Iodide в сочетании с фильтром придали красную окраску ядрам мертвых клеток. 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. Выполняли подсчет количества живых и мертвых клеток, далее рассчитывали процент мертвых клеток от общего их количества. Общее число клеток подсчитывали как сумму живых и мертвых клеток, окрашенных в синий и красные цвета соответственно.

3.2.1. Количественная оценка сохранности эндотелиального слоя при различных видах воздействия

Полученные данные об уровне потери эндотелиальных клеток в каждой группе донорских роговиц отражены в Таблице 9. Данные представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – среднее арифметическое, σ – стандартное отклонение.

Таблица 9 – Процент потери эндотелиальных клеток, в зависимости от способа выкраивания трансплантата

№ образца	Потеря эндотелиальных клеток в трансплантатах, выкроенных на фемтосекундном лазере (%)	Потеря эндотелиальных клеток в контрольных трансплантатах, выкроенных микрокератомом (%)
1	11,7±5,6	7,6±4,3
2	6,0±4,1	4,7±4,2
3	15,2±5,2	8,6±4,6
4	15,7±5,3	14,8±5,1
В среднем, $M \pm \sigma$	12,2±4,5	8,9±4,3

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

Потеря эндотелиальных клеток в трансплантатах, выкроенных при помощи фемтосекундного лазера «Фемто Визум» с эндотелиальной стороны составила в среднем $12,2 \pm 4,5\%$ (Рисунок 3-5), в то время как в трансплантатах, полученных при помощи микрокератома из парных глаз тех же доноров, потеря эндотелиальных клеток составила $8,9 \pm 4,3\%$ (Рисунок 6-8).

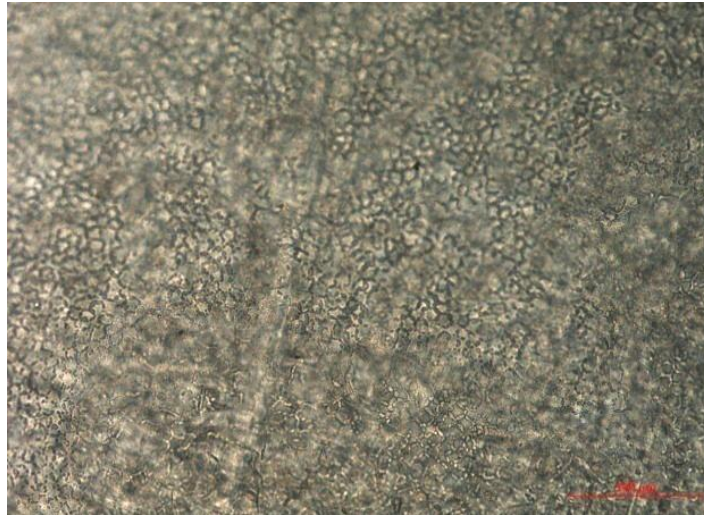


Рисунок 3 – Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи фемтосекундного лазера, фазово-контрастная микроскопия, увеличение 10×

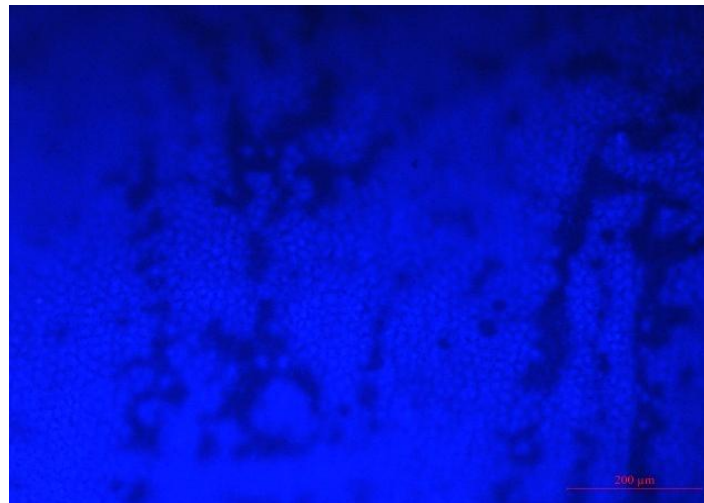


Рисунок 4 – Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи фемтосекундного лазера, флуоресцентная микроскопия, живые клетки окрашены синим (Calcein Violet 450 AM), идентичный участок, увеличение 10×

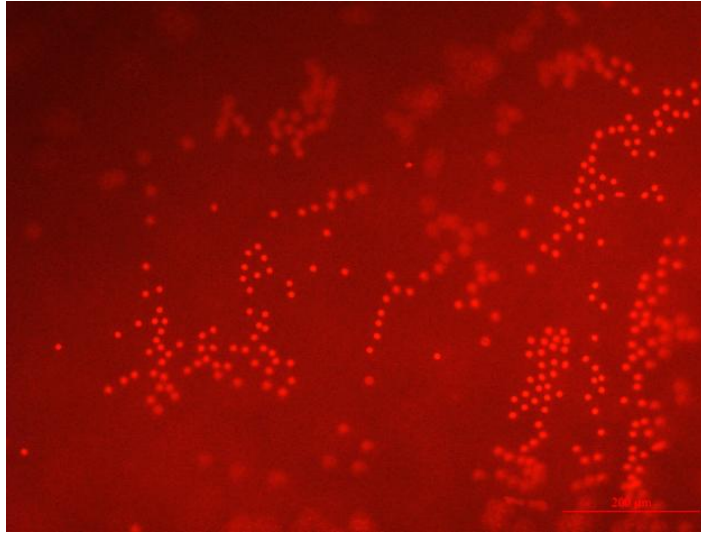


Рисунок 5 – Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи фемтосекундного лазера, флуоресцентная микроскопия, мертвые клетки окрашены красным (Propidium Iodide), идентичный участок, увеличение 10×

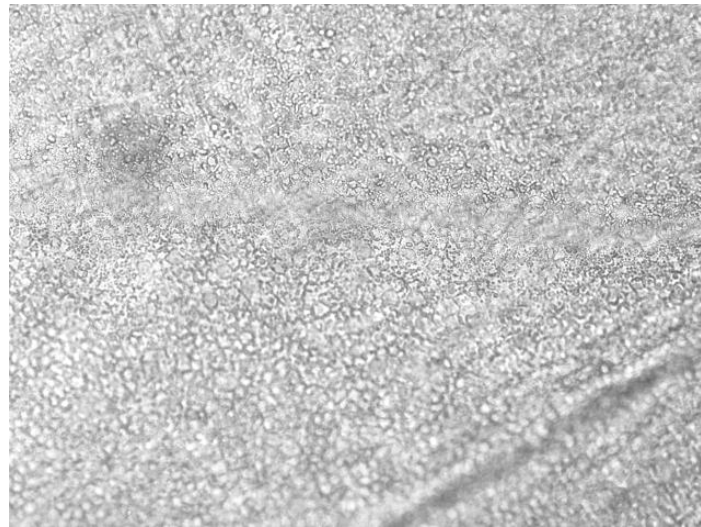


Рисунок 6 – Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи микрократома Moria LSK-2, фазово-контрастная микроскопия, увеличение 10×

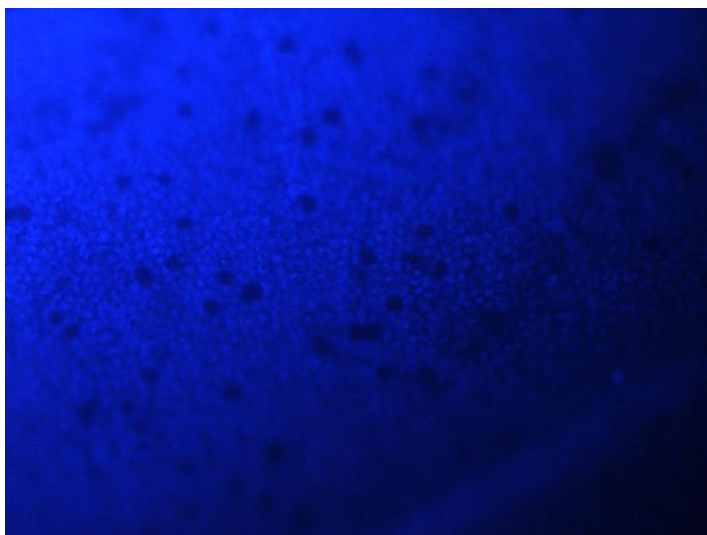


Рисунок 7 – Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи микрократома Moria LSK-2, флуоресцентная микроскопия, живые клетки окрашены синим (Calcein Violet 450 AM), идентичный участок, увеличение 10×

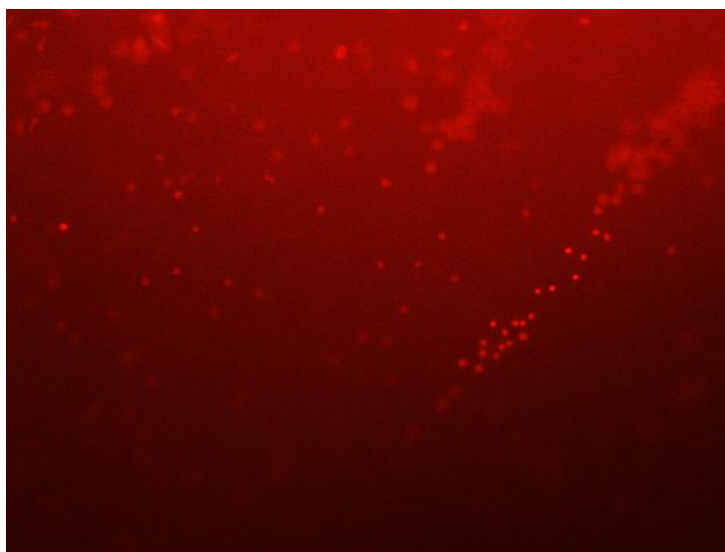


Рисунок 8 – Эндотелий трансплантата, выкроенного при помощи микрократома Moria LSK-2, флуоресцентная микроскопия, мертвые клетки окрашены красным (Propidium Iodide), идентичный участок, увеличение 10×

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±4,5%, что соответствует литературным данным при выкраивании трансплантата для ЗПК на других фемтолазерных установках [35, 53]. В свою очередь процент потери эндотелиальных клеток на трансплантатах, выкроенных 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.

3.3. 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.

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.

В 1981 г. Бинниг Г. и Рорер Г. разработали технологию сканирующей туннельной микроскопии, позволяющей преодолеть физические ограничения оптической микроскопии и перейти к изучению объектов на молекулярном уровне. Позднее в 1986 г. Рорер Г. разработал первый в мире атомно-силовой микроскоп (АСМ). Принцип сканирующей зондовой микроскопии заключается в сканировании поверхности образца сверхтонким зондом с толщиной кончика порядка нескольких нанометров, называемым кантилевером. При этом происходит измерение сил Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий, т.е. электростатического притяжения или отталкивания. Именно измерение сил межмолекулярных взаимодействий позволяет использовать АСМ для работы с непроводящими биологическими образцами.

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 мкм^2 ($20 \times 20 \text{ мкм}$).

3.3.1. 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 $22,3 \pm 18,3 \text{ мкм}$ (Рисунок 9).

Во второй группе, где ультратонкий трансплантат был выкроен при помощи ФСЛ «Фемто Визум» значение среднеквадратичной шероховатости составило в среднем $18,7 \pm 12,0 \text{ мкм}$ (Рисунок 10).

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

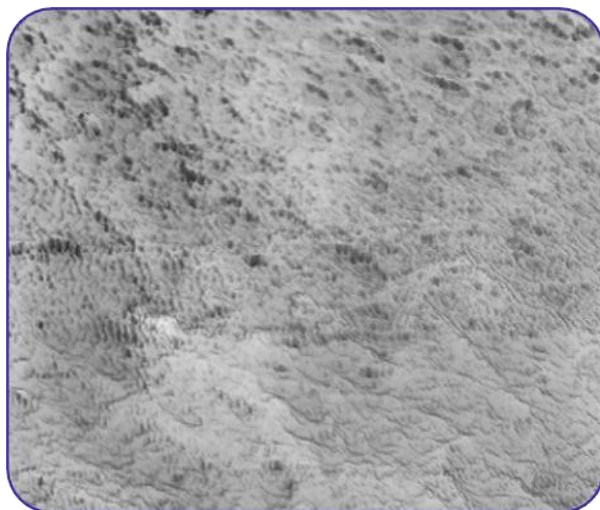


Рисунок 9 – Изображение поверхности образца 1-й группы (микрokerатом), полученное методом АСМ, фрагмент 5×5 мкм

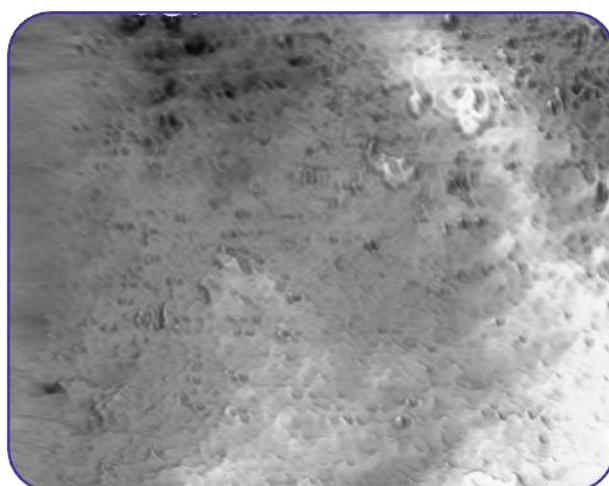


Рисунок 10 – Изображение поверхности образца 2-й группы (фемтолазер), полученное методом АСМ, фрагмент 5×5 мкм

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

Глава 4. РАЗРАБОТКА ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ДИСТРОФИЕЙ ФУКСА И БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИЕЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ УЛЬТРАТОНКОГО ТРАНСПЛАНТАТА, ПОДГОТОВЛЕННОГО С ПОМОЩЬЮ ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА И МИКРОКЕРАТОМА, И РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью данной главы является разработка хирургической техники и комплексная оценка результатов клиничко-функциональных исследований в аспекте задней послойной кератопластики, выполненной с применением микрокератома или с использованием фемтосекундного лазера.

4.1. Техника комбинированной одномоментной операции фемтолазерной задней послойной кератопластики с факоэмульсификацией катаракты и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок

В ходе предоперационной подготовки проводили премедикацию внутримышечным введением Промедола (1,0% 1,0 мл). Далее производили ретробульбарную блокаду (Лидокаин гидрохлорид 2% 2,0 мл) и акинезию век по Ван-Линдту. Все манипуляции выполняли по стандартной методике. Анестезию дополняли закапыванием в конъюнктивальную полость анестетика (Оксибупрокаин 0,4%) 3 раза с интервалом 5 минут.

Эпителий механически отслаивали специальным скребком в пределах 7-8 мм во всех случаях.

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).

Факоэмульсификацию катаракты проводили по стандартной методике на хирургической системе CENTURION Vision System (Alcon, США). Основной корнеосклеральный тоннельный разрез располагали с височной стороны шириной 2,65 мм. Дополнительные два парацентеза шириной 1,0 мм располагали: первый – несколько ниже основного разреза, второй – на 3 или на 9 часах в зависимости от правого или левого глаза. Непрерывный круговой капсулорексис выполняли при помощи инсулиновой иглы. При этом его диаметр был не более 4,5-5,0 мм с целью профилактики смещения ИОЛ из капсульного мешка в переднюю камеру на этапе имплантации роговичного трансплантата. Окрашивание передней капсулы хрусталика не проводили. Величина активной ирригации соответствовала положению высоты бутылки с ирригационным раствором 80 см. На этапе разлома и дробления ядра хрусталика использовали две техники – «фако чоп» (phaco chop) и «остановись и раздели» (stop and chop). Предпочтение отдавали имплантации S-образной заднекамерной ИОЛ. После удаления кортикальных масс при помощи бимануальной ирригационно-аспирационной системы, производили имплантацию гидрофобной ИОЛ в капсульный мешок. Выбор гидрофобного материала ИОЛ обусловлен тем фактом, что ИОЛ из гидрофильного материала способны мутнеть от контакта с воздухом [28, 72, 85], что может привести к необходимости проведения дополнительных хирургических манипуляций в будущем. А это может негативно влиять на плотность эндотелиальных клеток на трансплантате и, как следствие, снизить выживаемость трансплантата в отдаленном периоде.

Выкраивание ультратонкого трансплантата

Донорский материал был представлен корнеосклеральным диском, предварительно заготовленным в Глазном банке и хранящимся в растворе для хранения роговицы (ТУ 9398-013-29039336-2008). Показатель трансплантабельности донорского материала по С.А. Борзенку соответствовал 3А.

Оптимальным считали донорский материал с количеством эндотелиальных клеток более 2400 кл/мм^2 от донора в возрасте менее 70 лет. Подсчёт плотности эндотелиальных клеток на трансплантате проводили с помощью зеркального микроскопа Konan Eye Bank KeratoAnalyzer (Konan Medical Inc., Япония).

Трансплантат заготавливали с помощью отечественной фемтосекундной лазерной установки «Фемто Визум» (Оптосистемы, Троицк) с частотой следования импульсов 1 МГц следующим способом. Донорскую роговицу, законсервированную в растворе для хранения роговицы, помещали на искусственную переднюю камеру эндотелиальной поверхностью вверх (Рисунок 11). После обеспечения центровки и аппланации (Рисунок 12, 13) выполняли срез роговицы в горизонтальной плоскости на глубине 130 мкм и вертикальный срез диаметром 8,0 мм (Рисунок 14). Физические параметры установки были следующие: частота повторения импульсов – 1 МГц, продолжительность импульса – 300-400 фс, диаметр пятна фокусировки – менее 5,0 мкм, расстояние между лазерными импульсами – менее 5 мкм, энергия – 0,6 мкДж. Время формирования трансплантата – 16-20 сек. Остаточные роговичные стромальные мостики в послойном срезе (между трансплантатом и оставшейся стромой) разделяли шпателем с тупым концом. Готовый трансплантат аккуратно с помощью шпателя переносили в ложе глайда Бузина. Перед этим поверхность глайда смачивали несколькими каплями раствора для хранения роговицы. На эндотелиальную поверхность трансплантата вискоэластик не наносили. При помощи пинцета трансплантат протягивали в основание глайда.



Рисунок 11 – Укладывание корнеосклерального диска на искусственную переднюю камеру эндотелиальной поверхностью вверх

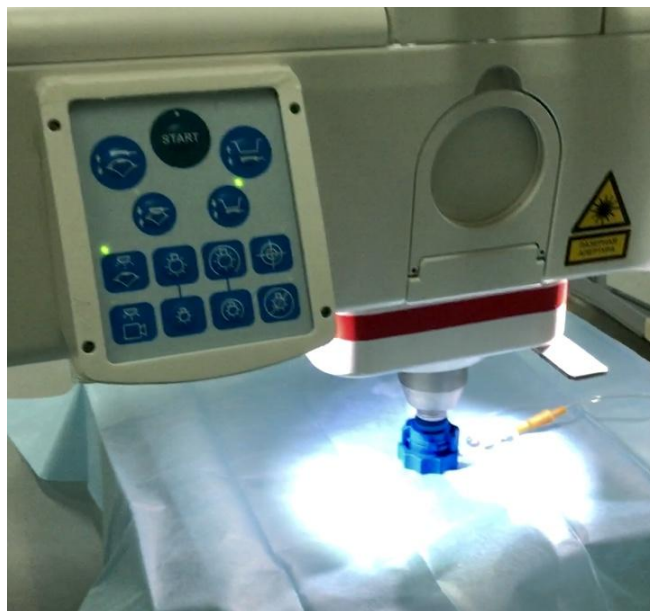


Рисунок 12 – Аппланация интерфейса фемтосекундного лазера



Рисунок 13 – Цифровая центровка границ планируемой фемтодиссекции



Рисунок 14 – Формирование трансплантата с помощью фемтосекундного лазера «Фемто Визум». Время выкраивания – 16 секунд

После того как был выполнен этап факоэмульсификации катаракты, приступали ко второму хирургическому этапу – проведение фемтолазерной задней послойной кератопластики.

Трансплантацию выполняли по наиболее распространённой технологии через тоннельный роговичный разрез с помощью глайда Бузина.

Вначале разметчиком диаметром 8,0 мм на роговице делали кольцевую отметку, планируя границы будущего десцеметорексиса. В переднюю камеру вводили когезивный вискоэластик (Provisc, Алкон). Десцеметорексис выполняли крючком Сински в пределах выполненной разметки. Десцеметову мембрану удаляли витреальным пинцетом 23G. В зоне 12 часов выполняли дополнительный парацентез для установки в будущем ирригационного потока. Тщательно вымывали вискоэластик из передней камеры. На 12 часах устанавливали трубку для подачи ирригационной жидкости в переднюю камеру. Основной корнеосклеральный разрез расширяли расслаивателем с 2,65 до 4,5 мм. Выполнение периферической колобомы не проводили.

Основание глайда Бузина с трансплантатом подносили к основному разрезу. Специальный пинцет вводили в противоположный парацентез, проводили через переднюю камеру и выводили через основной разрез, захватывая край трансплантата. Затем втягивали трансплантат в переднюю камеру, при этом включали ирригацию с целью стабилизации передней камеры. На основной разрез накладывали два узловых шва (нейлон 10-0). Переднюю камеру заполняли стерильной 100% воздушной смесью до полного прилегания трансплантата. Поскольку периферическую иридэктомию не проводили, газовой-воздушной смеси как возможный альтернативный способ фиксации трансплантата не применялась, учитывая ее имеющийся потенциал к расширению в передней камере, что является риском развития офтальмогипертензии в послеоперационном периоде. В завершении операции под конъюнктиву вводили растворы антибиотика (гентамицин 4% 0,3мл) и глюкокортикостероида (дексаметазон 0,4% 0,5 мл). Воздух оставляли в передней камере реципиента до полного рассасывания.

Операцию заканчивали через 15-20 минут после фиксации трансплантата воздухом.

У пациентов с ранее существующими нарушениями анатомической целостности иридо-хрусталиковой диафрагмы (n=10), в качестве дополнительного способа фиксации трансплантата использовали аутоплазму пациента, обогащённую тромбоцитами (патент РФ на изобретение № 2694561 от 19.07.2018 г.).

В подобных случаях перед операцией из локтевой вены у пациента шприцом объемом 20 мл производили забор 13,5 мл крови, а затем добирали в него 1,5 мл цитрата натрия. Затем кровь помещали в центрифугу и вращали со скоростью 3400-3600 об/мин в течение 4 минут в пробирке YCELLBIO-KIT. Далее 1-2 мл обогащенной тромбоцитами аутоплазмы забирали из пробирки в шприц для последующей инъекции.

После десцеметорексиса в роговице реципиента в 5 мм зоне копьевидным ножом (Mani, Япония) формировали 4 парацентеза, дренирующих зону интерфейса. После центрации трансплантата и фиксации его стерильной воздушной смесью через парацентезы, при помощи шприца с канюлей калибра 30 Ga, между трансплантатом и роговицей реципиента вводили обогащенную тромбоцитами аутоплазму крови объемом 0,01-0,02 мл. Под осветителем операционного микроскопа выполнялась 15-минутная экспозиция. За это время происходила адгезия трансплантата, а также формировалась фибриновая спайка, обеспечивающая его дополнительную фиксацию.

После чего больного переводили в отделение и назначали постельный режим, без подушки, лицом вверх до осмотра. Осмотр проводили через 2 часа после операции.

4.2. Техника комбинированной одномоментной операции задней автоматизированной послойной кератопластики с факоэмульсификацией катаракты и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок

В ходе предоперационной подготовки проводили премедикацию внутримышечным введением Тримеперидина (1,0% 1,0 мл). Далее производили ретробульбарную блокаду (Лидокаин 2% 2,0 мл) и акинезию век по Ван-Линдту. Все манипуляции выполняли по стандартной методике. Анестезию дополняли закапыванием в конъюнктивальную полость анестетика (Оксибупрокаин 0,4%) 3 раза с интервалом 5 минут.

Эпителий механически отслаивали специальным скребком в пределах 7-8 мм во всех случаях.

Операцию выполняли в два этапа: первый хирургический этап – факоэмульсификация катаракты с имплантацией ИОЛ в капсульный мешок, второй хирургический этап – проведение автоматизированной задней послойной кератопластики.

Техника операции не отличалась от вышеописанной, кроме этапа выкраивания ультратонкого трансплантата.

Факоэмульсификацию катаракты проводили по стандартной методике на хирургической системе CENTURION Vision System (Alcon, США). На этапе разлома и дробления ядра хрусталика использовались две техники – «фако чоп» (phaco chop) и «остановись и раздели» (stop and chop). После удаления кортикальных масс при помощи бимануальной ирригационно-аспирационной системы производили имплантацию гидрофобной ИОЛ в капсульный мешок.

Выкраивание ультратонкого трансплантата

Корнеосклеральный диск эндотелиальной поверхностью вниз монтировали на искусственную переднюю камеру, подключенную к

инфузионной системе, внутри которой создавали давление 50 см вод. ст. Выполняли ОКТ пахиметрию. Затем использовали механический микрокератом Moria LSK-2 (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. Далее корнеосклеральный диск укладывали в ложе вакуумного пробойника (Barron, США) и осуществляли трепанацию донорской роговицы со стороны эндотелия, диаметром 7,5-8 мм. Готовый трансплантат аккуратно с помощью шпателя переносили в ложе глайда Бузина. Перед этим на поверхность глайда наносили несколько капель раствора для хранения роговицы. На эндотелиальную поверхность трансплантата вискоэластик не наносили. После чего при помощи пинцета трансплантат протягивали в основание глайда.

Трансплантацию выполняли по наиболее распространённой технологии через тоннельный роговичный разрез с помощью глайда Бузина.

Вначале разметчиком диаметром 8,0 мм на роговице делали кольцевую отметку, планируя границы будущего десцеметорексиса. В переднюю камеру вводили когезивный вискоэластик (Provisc, Алкон). Десцеметорексис выполняли крючком Сински в пределах выполненной разметки. Десцеметову мембрану удаляли витреальным пинцетом 23G. На зоне 12 часов выполняли дополнительный парацентез для установки в будущем ирригационного потока. Тщательно вымывали вискоэластик из передней камеры. На 12 часах устанавливали трубку для подачи ирригационной жидкости в переднюю камеру. Основной корнеосклеральный разрез расширяли расслаивателем с 2,65 до 4,5 мм. Выполнение периферической колобомы не проводили. Основание глайда Бузина с трансплантатом подносили к основному разрезу. Специальный пинцет вводили в противоположный парацентез, проводили

через переднюю камеру и выводили через основной разрез, захватывая край трансплантата. Затем втягивали трансплантат в переднюю камеру, при этом включали ирригацию с целью стабилизации передней камеры. На основной разрез накладывали два узловых шва (нейлон 10-0). До полного прилегания трансплантата переднюю камеру заполняли стерильной 100% воздушной смесью, которая практически не имеет потенциала к расширению внутри передней камеры, что в условиях отсутствия периферической колобомы, является профилактикой повышения внутриглазного давления в послеоперационном периоде. В завершении операции под конъюнктиву вводили растворы антибиотика (гентамицин 4% 0,3 мл) и глюкокортикостероида (дексаметазон 0,4% 0,5 мл). Воздух оставляли в передней камере реципиента до полного рассасывания. Операцию заканчивали через 15-20 минут после фиксации трансплантата воздухом. После чего больного переводили в отделение и назначали постельный режим, без подушки, лицом вверх до осмотра. Осмотр проводили через 2 часа после операции.

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

4.3. Ведение пациентов в послеоперационном периоде

Всех пациентов осматривали через 2 часа после операции и затем ежедневно в течение пребывания в стационаре. С первого дня после операции глаз оставался практически спокойным (Рисунок 15, 16).

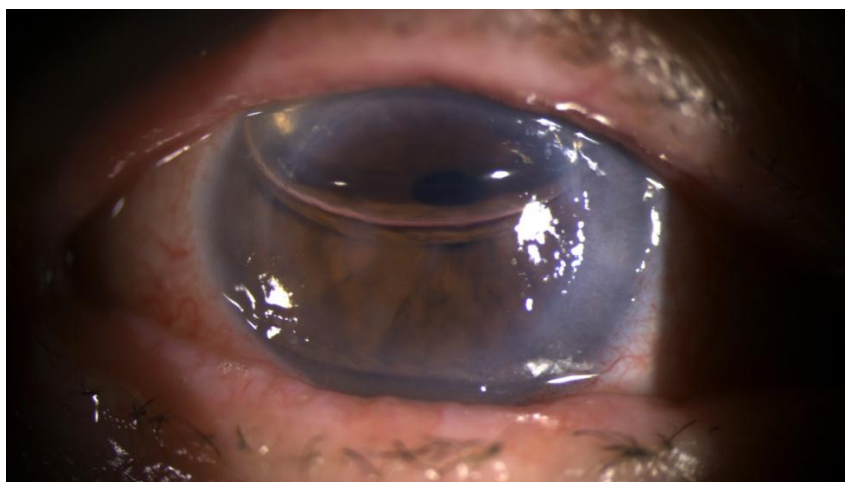


Рисунок 15 – Фото глаза пациента А., 77 лет. Первый день после операции ФЛ-ЗПК. Воздух в передней камере, полное прилегание трансплантата, начальная эпителизация на периферии

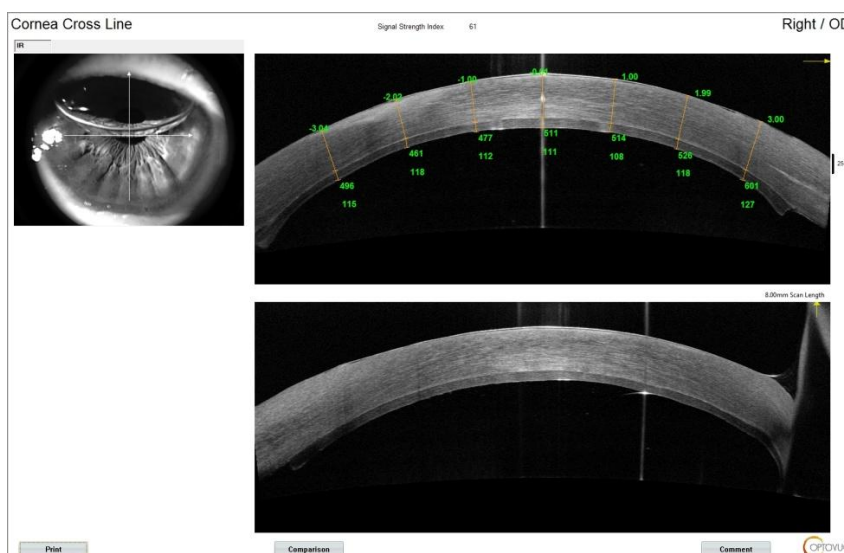


Рисунок 16 – Оптическая когерентная томография глаза пациента А., 77 лет. Первый день после операции ФЛ-ЗПК. Воздух в передней камере, полное прилегание трансплантата, равномерная толщина выкроенного трансплантата, толщина трансплантата в центре 111 мкм

Биомикроскопически визуализировали отек роговицы, адгезию трансплантата, воздух в передней камере и начальную эпителизацию, либо полное ее отсутствие. На ОКТ отмечали полную адгезию трансплантата к строме в 84,6% случаев (88 глаз из 104 прооперированных) на 3-й день после операции. В остальных 15,4% случаев на ОКТ наблюдали периферическую отслойку трансплантата, что потребовало повторного введения воздуха.

Послеоперационный период в целом протекал без осложнений. После операции пациенты были выписаны, в среднем, на 7-й день.

На момент выписки ОКТ подтверждала полную адгезию трансплантата к строме реципиента. Биомикроскопическая картина глаза была следующей: наблюдался остаточный отек роговицы, адгезия трансплантата на всем протяжении и полная эпителизация. В последующем контрольный осмотр проводили в амбулаторных условиях через 1, 3, 6 и 12 месяцев после операции.

Послеоперационный медикаментозный режим состоял из закапывания раствора глюкокортикостероидных противовоспалительных препаратов по убывающей схеме – раствор Дексаметазона 0,1% (первые 4 недели после операции: по 1 капле 6 раз в день; пятая неделя – 5 раз в день; шестая неделя – 4 раза в день, седьмая неделя – 3 раза в день, восьмая неделя – 2 раза в день, последующие 4 месяца 1 раз в день); раствора антибиотика – раствор Левофлоксацина 0,5% по 2 капли 4 раза в день в течение 14 дней и кераторепаранта – гель Дексапантенол 5% по 1 капле 4 раза в день 2 месяца.

4.4. Результаты клинико-функционального исследования пациентов в послеоперационном периоде

Целью этого раздела является оценка клинико-функциональных результатов ЗПК с выкраиванием трансплантата при помощи ФСЛ (ФЛ-ЗПК), либо микрокератома у пациентов с дистрофией Фукса и буллезной кератопатией в исследуемых группах после операции.

Для этого на сроках 1, 3, 6 и 12 месяцев после операции анализу подвергались следующие параметры: количество и структура возникших осложнений, некорригированная острота зрения (НКОЗ), корригированная острота зрения (КОЗ), центральная толщина роговицы (ЦТР), толщина трансплантата, кератометрия, плотность эндотелиальных клеток (ПЭК) и их потеря, данные оптической плотности роговицы, морфометрическая оценка

комплекса «роговица + трансплантат» путем анализа данных оптической когерентной томографии, индекс Ц:П, величина гиперметропического сдвига.

Послеоперационные осложнения

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. Под периферической отслойкой трансплантата подразумевали отслойку донорского трансплантата, не превышающую 1/3 его протяженности. Данное осложнение чаще наблюдали в 2А и 2Б группах, там, где трансплантат заготавливали при помощи микрокератома. Вероятно, это связано со значительно большей толщиной трансплантата на периферии из-за итоговой «менискообразной» формы лентикулы. Далее в течение 1-2 суток проводили динамическое наблюдение за состоянием трансплантата и размером его отслойки путем проведения биомикроскопии и оптической когерентной томографии. При наличии отрицательной динамики повторно в переднюю камеру вводили воздух и создавали дополнительную офтальмогипертензию для адаптации трансплантата.

Также в нескольких случаях в 1А и 1Б группах в отдаленном послеоперационном периоде (на сроке 3-6 месяцев) после операции

наблюдали возникновение стойкого хейза в зоне интерфейса, который сохранился и на сроке наблюдения 12 месяцев после операции.

Кроме того, на сроке 1-3 месяца после операции у пациентов во всех группах была выявлена ранняя эндотелиальная недостаточность трансплантата. Вероятно, она была связана с большим количеством манипуляций, проводимых с трансплантатом с целью репозиции, что привело к механическому повреждению эндотелия. По этому поводу была выполнена ре-кератопластика с заменой ультратонкого трансплантата на новый с положительной динамикой.

Качественная и количественная структура осложнений по группам пациентов представлена в Таблице 10.

Таблица 10 – Структура осложнений по группам пациентов, %

Послеоперационные осложнения	1А группа (n=15)	1Б группа (n=37)	2А группа (n=17)	2Б группа (n=35)
Периферическая отслойка трансплантата	2 (13,3%)	5 (13,5%)	3 (17,6%)	6 (17,1%)
Повторное введение воздуха	0 (0%)	4 (10,8%)	3 (17,6%)	6 (17,1%)
Дислокация трансплантата	0 (0%)	0 (0%)	3 (17,6%)	6 (17,1%)
Послеоперационный хейз интерфейса	1 (6,6%)	2 (5,4%)	1 (5,8%)	2 (5,7%)
Ранняя недостаточность трансплантата	1 (6,6%)	3 (8,1%)	1 (5,9%)	4 (11,4%)

Отдельно необходимо упомянуть, что из общего количества пациентов, находящихся под наблюдением (104 глаза), в 10 случаях имело место нарушение иридо-хрусталиковой диафрагмы. В каждой из групп 1А и 2А было по 1 факичному глазу с довольно большой колобомой в верхнем секторе, выполненной по причине наличия глаукомного процесса (n=2). В каждой из групп 1Б и 2Б – по 4 глаза с артификацией, на которых ранее проведена пластика радужки с сохранившимися дефектами в радужной оболочке (n=8). В этих случаях был применен разработанный метод

фиксации трансплантата в осложнённых случаях ЗПК с помощью интраоперационного введения обогащённой тромбоцитами аутоплазмы крови реципиента в зону интерфейса собственной роговицы и донора (патент РФ на изобретение № 2694561 от 19.07.2018 г.).

Его суть заключалась в выполнении по завершении этапа десцеметорексиса в зоне диаметром 5 мм 1-4 прокола перпендикулярно поверхности роговицы при помощи копья калибром 25 Га. Затем в конце операции после введения в переднюю камеру стерильного воздуха для фиксации трансплантата через подготовленные проколы роговицы при помощи шприца с канюлей калибром 30 Га между трансплантатом и роговицей реципиента вводили обогащенную тромбоцитами аутоплазму крови объемом 0,01-0,05 мл. В течение 5-10 минут после выполнения операции глаз выдерживали под лампой операционного микроскопа. За это время происходила адгезия трансплантата, а также формировалась фибриновая спайка, обеспечивающая дополнительную фиксацию трансплантата. В 10 из 10 случаев удалось достичь полной адгезии трансплантата в послеоперационном периоде.

Результаты остроты зрения

Некорригированная острота зрения (НКОЗ) увеличилась во всех группах по сравнению с дооперационными значениями. НКОЗ во всех группах постепенно нарастала на всем протяжении периода наблюдения.

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

Лучшие показатели НКОЗ во все сроки наблюдения были отмечены в 1А и 2А группах (Таблицы 11, 12).

Таблица 11 – Результаты сравнительной оценки величины некорригированной остроты зрения вдаль у пациентов с дистрофией Фукса в течение 12 месяцев после операции

Срок наблюдения	1А группа (n=15)	2А группа (n=17)	p
До операции	0,03±0,03 0,02{0,01-0,1}	0,06±0,03 0,04{0,02-0,1}	0,072
1 неделя	0,16±0,09 0,2{0,04-0,3}	0,14±0,05 0,15{0,1-0,2}	0,576
1 месяц	0,19±0,09 0,2{0,05-0,3}	0,18±0,06 0,2{0,1-0,3}	0,711
3 месяца	0,23±0,06 0,2{0,15-0,3}	0,22±0,08 0,2{0,15-0,4}	0,749
6 месяцев	0,26±0,08 0,3{0,15-0,3}	0,26±0,07 0,3{0,2-0,4}	0,853
12 месяцев	0,29±0,15 0,3{0,15-0,5}	0,29±0,08 0,3{0,2-0,4}	0,941

Таблица 12 – Результаты сравнительной оценки величины некорригированной остроты зрения вдаль у пациентов с буллезной кератопатией в течение 12 месяцев после операции

Срок наблюдения	1Б группа (n=37)	2Б группа (n=35)	p
До операции	0,05±0,07 0,02{0,01-0,15}	0,05±0,03 0,04{0,02-0,1}	0,089
1 неделя	0,11±0,09 0,1{0,02-0,3}	0,09±0,05 0,08{0,04-0,2}	0,611
1 месяц	0,13±0,08 0,15{0,03-0,2}	0,12±0,05 0,1{0,08-0,2}	0,531
3 месяца	0,18±0,09 0,18{0,05-0,3}	0,16±0,06 0,15{0,1-0,2}	0,274
6 месяцев	0,21±0,11 0,2{0,05-0,32}	0,21±0,07 0,2{0,15-0,3}	0,848
12 месяцев	0,22±0,11 0,2{0,1-0,4}	0,23±0,06 0,2{0,15-0,3}	0,487

Корригированная острота зрения (КОЗ) увеличилась во всех группах по сравнению с дооперационными значениями, постепенно нарастая на всем протяжении периода наблюдения (Таблица 13, 14). Наиболее стремительное восстановление зрительных функций наблюдалось к сроку 3 месяца после

операции во всех группах. После 3 месяцев положительная динамика также сохранялась, но с более медленным темпом.

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 ($p>0,05$).

Лучшие показатели КОЗ во все сроки наблюдения были отмечены в 1А и 2А группах.

Таблица 13 – Результаты сравнительной оценки величины корригированной остроты зрения вдаль у пациентов с дистрофией Фукса в течение 12 месяцев после операции

Срок наблюдения	1А группа (n=15)	2А группа (n=17)	p
До операции	0,12±0,12 0,1{0,01-0,3}	0,14±0,06 0,15{0,08-0,2}	0,246
1 неделя	0,2±0,11 0,2{0,04-0,3}	0,19±0,08 0,2{0,1-0,3}	0,766
1 месяц	0,29±0,13 0,2{0,15-0,5}	0,26±0,07 0,3{0,2-0,3}	0,958
3 месяца	0,28±0,1 0,3{0,18-0,4}	0,29±0,1 0,3{0,2-0,5}	0,675
6 месяцев	0,35±0,1 0,4{0,2-0,4}	0,34±0,09 0,3{0,2-0,5}	0,611
12 месяцев	0,42±0,2 0,4{0,15-0,7}	0,38±0,1 0,4{0,3-0,6}	0,278

Таблица 14 – Результаты сравнительной оценки величины корригированной остроты зрения вдаль у пациентов с буллезной кератопатией в течение 12 месяцев после операции

Срок наблюдения	1Б группа (n=37)	2Б группа (n=35)	p
До операции	0,07±0,09 0,02{0,01-0,2}	0,08±0,05 0,06{0,04-0,2}	0,081
1 неделя	0,13±0,12 0,1{0,02-0,3}	0,13±0,07 0,1{0,08-0,3}	0,163
1 месяц	0,16±0,1 0,15{0,03-0,3}	0,15±0,07 0,15{0,08-0,3}	0,955
3 месяца	0,26±0,15 0,23{0,10-0,40}	0,25±0,12 0,2{0,15-0,40}	0,956

6 месяцев	0,3±0,14 0,3{0,15-0,5}	0,31±0,12 0,3{0,2-0,5}	0,708
12 месяцев	0,32±0,16 0,3{0,15-0,6}	0,33±0,11 0,3{0,2-0,5}	0,324

В 1А группе (n=15) на сроке 12 месяцев после операции КОЗ 0,3 и выше была выявлена в 80% случаев, 0,5 и выше – в 33% случаев. Максимальная острота зрения составила 0,8 у 1 пациента, КОЗ равная 0,6 была выявлена у 3 пациентов.

В 1Б группе (n=37) через 12 месяцев после операции КОЗ 0,3 и выше была отмечена в 62% случаев, 0,5 и выше – в 16% случаев. Максимальная острота зрения составила 0,7 у 1 пациента, КОЗ равная 0,6 была выявлена у 1 пациента.

В 2А группе (n=17) на сроке 12 месяцев после операции КОЗ 0,3 и выше была зафиксирована в 100% случаев, 0,5 и выше – в 18% случаев. Максимальная острота зрения составила 0,6 у 2 пациентов, КОЗ равная 0,6 была выявлена также у 2 пациентов.

В 2Б группе (n=35) через 12 месяцев после операции КОЗ 0,3 и выше была выявлена в 80% случаев, 0,5 и выше – в 6% случаев. Максимальная острота зрения составила 0,6 у 2 пациентов, КОЗ равная 0,6 была выявлена у 2 пациентов.

Показатели суммированы в Таблице 15, достоверных различий не получено ($p > 0,05$).

Таблица 15 – Показатели корригированной остроты зрения через 12 месяцев после оперативного лечения

Исследуемый параметр	Группа 1А (n=15)	Группа 2А (n=17)	p_F	Группа 1Б (n=37)	Группа 2Б (n=35)	p_F
КОЗ $\geq 0,3$	80% (12/15)	100 (17/17)	0,092	62% (23/37)	80% (28/35)	0,053
КОЗ $\geq 0,5$	33% (5/15)	18% (3/17)	0,194	16% (6/37)	6% (2/35)	0,116

p_F – оценка по точному методу Фишера

Рефракционные результаты

Статистически значимых различий между показателями средней кератометрии в 1А и 2А группах, а также в 1Б и 2Б группах выявлено не было ($p>0,05$) (Таблица 16).

Таблица 16 – Результаты сравнительной оценки кератометрии (Кср) и величины астигматизма по данным кератометрии в исследуемых группах, дптр

Исследуемый параметр	1А группа (n=15)	1Б группа (n=37)	2А группа (n=17)	2Б группа (n=35)	р 1А-2А	р 1Б-2Б
До операции Кср	43,47±2,42 43,38{40,63-46,50}	44,23±1,52 44,0{42,63-46,13}	43,09±1,12 42,88{41,88-44,75}	43,16±0,78 42,88{42,5-44,5}	0,966	0,079
До операции астигматизм по данным кератометрии	2,31±2,83 1,63{0,25-4,0}	2,41±2,24 1,88{0,25-6,75}	2,46±1,24 3,0{0,25-3,75}	2,1±1,7 1,5{0,5-4,25}	0,866	0,546
12 месяцев после операции Кср	42,31±2,07 42,69{39,50-44,63}	43,9±1,1 43,81{42,5-45,2}	42,5±0,97 42,38{41,38-44,0}	42,88±0,75 43,0{41,88-43,75}	0,921	0,091
12 месяцев после операции астигматизм по данным кератометрии	1,62±1,22 1,25{0,50-3,75}	1,8±1,1 1,63{0,25-3,25}	1,71±0,92 1,5{0,5-3,25}	2,06±1,02 2,0{0,5-3,5}	0,546	0,247

Потеря эндотелиальных клеток в послеоперационном периоде

В послеоперационном периоде у пациентов всех групп зарегистрировали постепенное снижение ПЭК роговицы.

Максимальная потеря эндотелиальных клеток отмечалась в первые месяцы после операции. Однако процесс потери эндотелиальных клеток 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 (Таблица 17, 18). На сроке 1 месяц после операции не во всех случаях удавалось провести анализ данного параметра, поэтому он не был включён в исследование.

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

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

Таблица 17 – 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 18 – Динамика потери эндотелиальных клеток по данным эндотелиальной микроскопии 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

Таким образом, анализ клинико-функциональных данных лечения пациентов с применением методики ФЛ-ЗПК в сравнении с ЗАПК показал, что обе методики позволяют добиться удовлетворительного биологического и функционального результата.

В отношении таких параметров, как некорригированная и корригированная острота зрения, кератометрия, плотность и потеря эндотелиальных клеток были получены сопоставимые данные.

Среди послеоперационных осложнений для обеих методик (ФЛ-ЗПК и ЗАПК) встречались периферические отслойки трансплантата, развитие послеоперационного хейза интерфейса, ранняя недостаточность трансплантата. Однако для методики ЗАПК процент периферических отслоек трансплантата был несколько выше. Вероятно, это может быть связано с «менископодобной» формой трансплантата.

4.5. Оценка оптической плотности роговицы реципиента после проведенной задней послойной кератопластики

Данный раздел посвящен оценке оптической плотности роговицы реципиента методом денситометрии с помощью ротационной Шаймпфлюг-камеры в послеоперационном периоде в исследуемых группах.

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: 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.

Дополнительному анализу подвергалась зона интерфейса, под которой понимали участок роговицы, нижней границей которого считали $2/3$ от толщины трансплантата со стороны эндотелия, а область на 100 мкм выше этой границы определяли как верхнюю границу.

Метод денситометрии дает объективное представление о прозрачности роговицы. Величина относительного рассеяния света стандартизована, градуирована от 0 до 100 условных единиц цифровой яркости (Gray Scale Units) и формируется аппаратными средствами. Значение 0 единиц показывает прозрачность роговицы. Значение 100 единиц означает полную непрозрачность роговицы.

Анализ оптической плотности роговицы был произведен в исследуемых группах через 12 месяцев после операции (Таблица 19).

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 группе – на 35,3%, в 2А группе – 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 группе – на 42,1%, в 2А группе – на 18,9%, в 2Бгруппе – 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 группе – на 45,1%, в 2А группе – 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 между 1А и 2А группами, а также между 1Б и 2Б группами выявлены не были ($p>0,05$).

Таблица 19 – Сравнительный анализ показателей денситометрии различных слоев роговицы: AL, CL, PL в центральной 0-2 мм и 2-6 мм парацентральной зонах у исследуемых групп пациентов в отдаленные сроки наблюдения 12 месяцев, усл. ед. ($M\pm\sigma$)

Слой	Передний слой		Центральный слой		Задний слой	
	0-2 мм	2-6 мм	0-2 мм	2-6 мм	0-2 мм	2-6 мм
1А группа	27,04±2,78 27,1{23,5-29,7}	25,56±2,24 25,9{23,2-27,5}	15,91±1,23 15,7{14,1-17,8}	15,11±1,11 15,1{13,5-16,5}	15,58±1,56 15,6{13,4-17,8}	14,57±1,23 14,9{12,7-15,9}
2А группа	24,71±1,34 24,9{22,8-26,5}	23,06±1,59 23,1{20,7-25,2}	15,71±1,64 15,3{13,9-18,4}	14,45±1,81 14{12,7-17,7}	15,78±1,15 15,7{14,2-17,3}	13,59±1,03 13,5{12,2-15}
p	0,117	0,121	0,502	0,105	0,682	0,214
1Б группа	27,18±2,07 26,5{25,4-29,2}	26,21±1,82 26{24,2-28,2}	16,71±1,92 16,5{14,5-19,5}	16,18±1,84 16,4{14-18,6}	17,02±1,45 17{15,1-18,9}	16,25±1,27 16,3{14,2-18}
2Б группа	26,93±1,47 27,4{24,5-28,3}	25,79±1,51 26,2{23,9-27,1}	16,28±1,08 16,4{14,8-17,8}	15,71±1,42 15,3{14-17,2}	16,2±1,08 16,5{14,9-17}	15,73±0,99 16,1{14,5-16,7}
p	0,754	0,893	0,473	0,252	0,321	0,203

Зона разделения сред, то есть место прилегания трансплантата к строме роговицы реципиента, подвергалось также подробному анализу. Анализ оптической плотности интерфейса в зоне 0-2 мм и 2-6 мм проводился на сроке 12 месяцев после операции (Таблица 20).

Сравнительный анализ данных не выявил статистически значимые различия зоны интерфейса ни между 1А и 2А группами, ни между 1Б и 2Б группам ($p>0,05$).

Таблица 20 – Сравнительный анализ показателей денситометрии зоны интерфейса в центральной 0-2 мм и 2-6 мм парацентральной зонах у исследуемых групп пациентов в отдаленные сроки наблюдения 12 месяцев, усл. ед.

Зона	Интерфейс в зоне 0-2 мм, на сроке 12 месяцев после операции	Интерфейс в зоне 2-6 мм, на сроке 12 месяцев после операции
1А группа	15,26±0,78 15,2{14,2-16,2}	14,7±0,71 14,7{13,9-15,8}
2А группа	16,09±1,06 15,9{14,6-17,4}	14,52±0,96 14,2{13,5-16}
p	0,124	0,39
1Б группа	17,34±1,7 17,2{15,5-19,5}	16,7±1,43 16,5{15,2-18,4}
2Б группа	19,23±1,01 19,5{17,6-20,4}	18,67±1,08 18,9{17,1-20,1}
p	0,278	0,194

Таким образом, исходя из полученных данных, можно сделать несколько выводов. Во-первых, величина светорассеяния в 1А и 2А группах пациентов с дистрофией Фукса в дооперационном периоде была ниже, чем величина светорассеяния в 1Б и 2Б группах пациентов с буллезной кератопатией, что может быть объяснено наличием более выраженных помутнений в роговицах пациентов с данным заболеванием. Во-вторых, в послеоперационном периоде на сроке 12 месяцев после операции во всех группах было получено снижение величины светорассеяния во всех слоях роговицы (AL, CL, PL), что говорит об эффективности методики задней послойной пересадки роговицы у пациентов с дистрофией Фукса и буллезной кератопатией независимо от типа заготовленного трансплантата. В-третьих, величина светорассеяния зоны интерфейса во всех группах на сроке 12 месяцев после операции незначительно превышала нормальные значения денситометрии, это свидетельствует о довольно высоком качестве формируемой поверхности трансплантата, заготовленного тем или иным способом.

4.6. Сравнительный анализ данных оптической когерентной томографии роговицы и оценка гиперметропического сдвига

Целью данного раздела является анализ результатов, полученных методом оптической когерентной томографии роговицы, у пациентов в исследуемых группах на послеоперационном этапе наблюдения.

Для этого анализу подвергались следующие параметры: ЦТР (толщина комплекса «роговица реципиента + трансплантат»), толщина трансплантата в центре и на периферии. Затем производился расчет индекса Ц:П, а также анализировалась величина гиперметропического сдвига.

Центральная толщина роговицы

Анализировалась динамика изменения центральной толщины роговицы (ЦТР), а также толщины трансплантата у пациентов с дистрофией Фукса и буллезной кератопатией.

Через 12 месяцев после операции во всех исследуемых группах отмечали уменьшение ЦТР. 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 (Таблицы 21, 22).

Таблица 21 – 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 22 – 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

Статистически значимых различий значений ЦТР между 1А и 2А группами на сроке наблюдения от 1 недели до 12 месяцев выявлено не было ($p>0,05$).

На сроке наблюдения 1 и 3 месяца после операции между 1Б и 2Б группами были выявлены статистически значимые различия ($p<0,05$).

Через 12 месяцев после операции во всех исследуемых группах отмечали уменьшение толщины трансплантата. Средние значения центральной толщины трансплантата в отдаленные сроки наблюдения представлены в Таблица 23, 24. В то же время наиболее значимое уменьшение толщины трансплантата во всех группах наблюдалось на сроке 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 23 – Динамика центральной толщины трансплантата по данным ОКТ у пациентов с дистрофией Фукса, мкм, ($M\pm\sigma$)

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 24 – 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

Клинические примеры

Для наглядности клинико-функциональных результатов лечения пациентов с дистрофией Фукса в зависимости от метода подготовки ультратонкого трансплантата приведены клинические примеры.

Клинический пример № 1. Пациент А., 76 лет, с диагнозом: ОУ – Дистрофия роговицы Фукса. Частичная осложненная катаракта. Острота зрения ОУ=0,1 н/к. Пациенту проведено оперативное лечение – ФЛ-ЗПК+ФЭК+ИОЛ.

На сроке наблюдения 3 месяца острота зрения составила 0,3 н/к. При этом наблюдается практически интактная картина глаза: полная эпителизация, полное прилегание трансплантата на всем протяжении. Высокая прозрачность общего комплекса «роговица + трансплантат» (Рисунки 17, 18).



Рисунок 17 – Фото глаза пациента А., 76 лет. 3 месяца после операции ФЛ-ЗПК+ФЭК+ИОЛ. Полная эпителизация, полное прилегание трансплантата

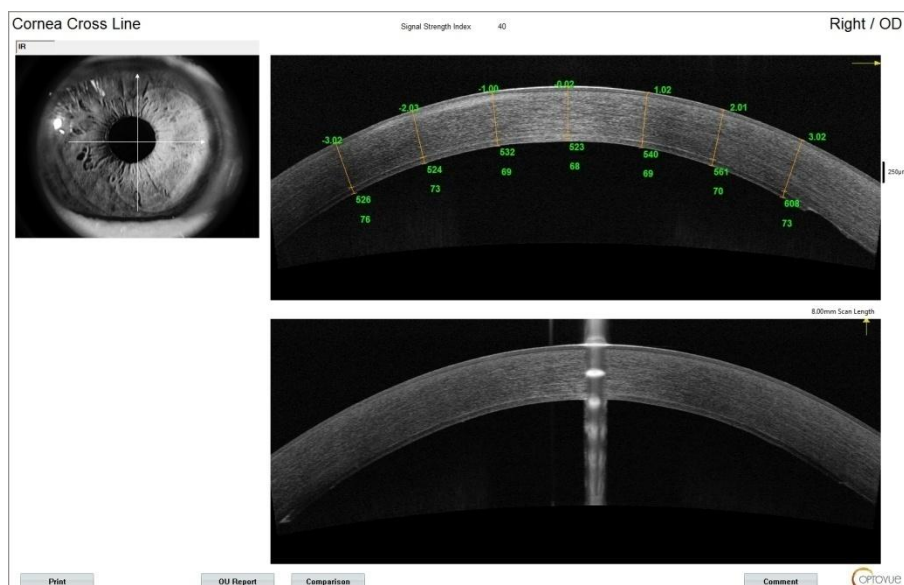


Рисунок 18 – Оптическая когерентная томография глаза пациента А., 76 лет. 3 месяца после операции ФЛ-ЗПК+ФЭК+ИОЛ. Полное прилегание трансплантата, равномерная толщина выкроенного трансплантата, толщина трансплантата в центре 68 мкм

На сроке наблюдения 12 месяцев острота зрения составила – 0,5 н/к. Глаз спокоен. Прозрачный комплекс «роговица + трансплантат» (Рисунки 19, 20).

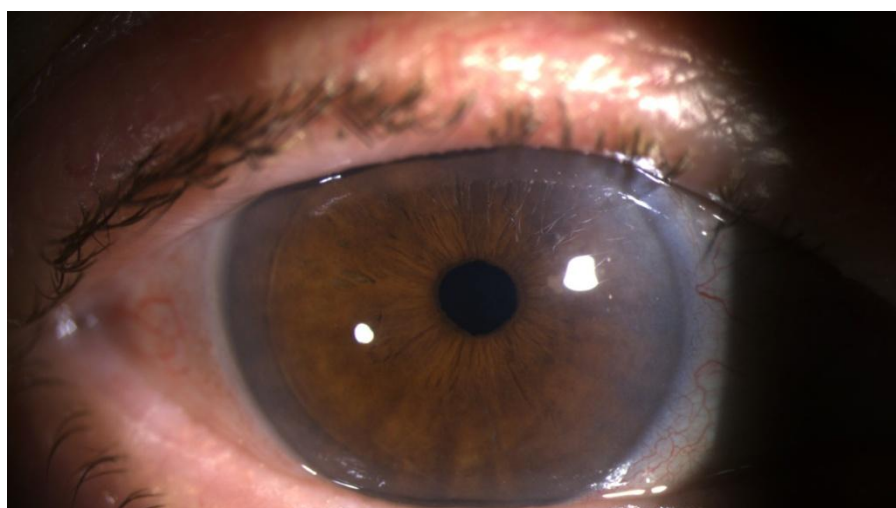


Рисунок 19 – Фото глаза пациента А., 76 лет. 12 месяцев после операции ФЛ-ЗПК+ФЭК+ИОЛ. Полная эпителизация, полное прилегание трансплантата

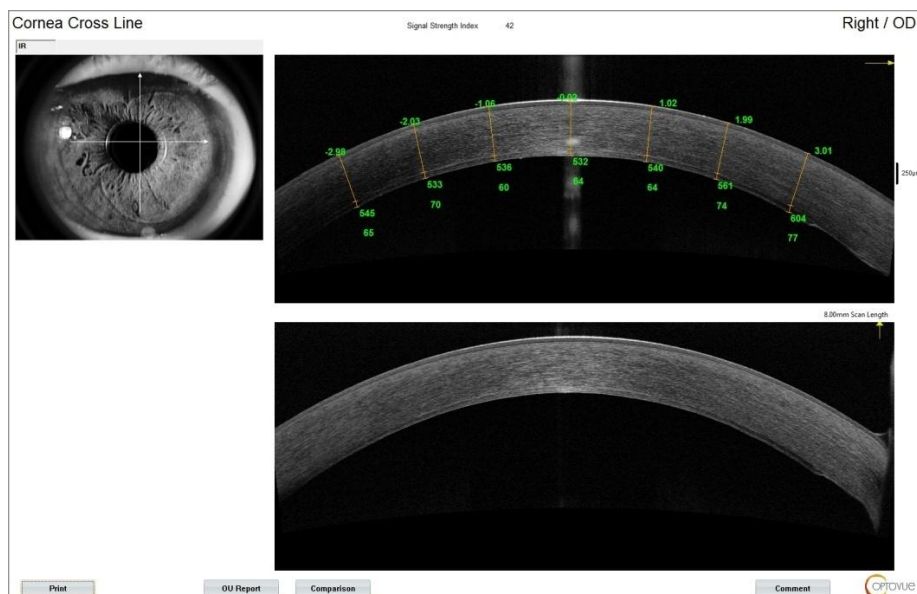


Рисунок 20 – Оптическая когерентная томография глаза пациента А., 76 лет. 12 месяцев после операции ФЛ-ЗПК+ФЭК+ИОЛ. Полное прилегание трансплантата, равномерная толщина выкроенного трансплантата, толщина трансплантата в центре 64 мкм

Клинический пример № 2. Пациент Б., 79 лет, с диагнозом: OU – Дистрофия роговицы Фукса. Частичная осложненная катаракта. Острота зрения OU=0,08 н/к. Пациенту проведено оперативное лечение – ЗАПК+ФЭК+ИОЛ.

На сроке наблюдения 12 месяцев после операции острота зрения составила 0,4 н/к. Комплекс «роговица + трансплантат» прозрачен. В оптическом срезе визуализируется преобладание толщины трансплантата на периферии в сравнении с центральной зоной (Рисунки 21, 22).

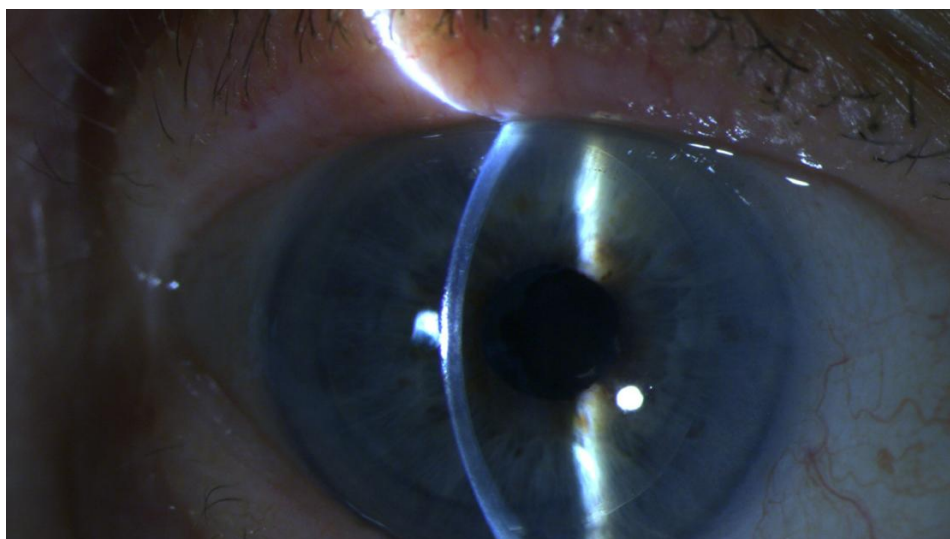


Рисунок 21 – Фото глаза пациента Б., 79 лет. 12 месяцев после операции ЗАПК+ФЭК+ИОЛ. Полная эпителизация, полное прилегание трансплантата

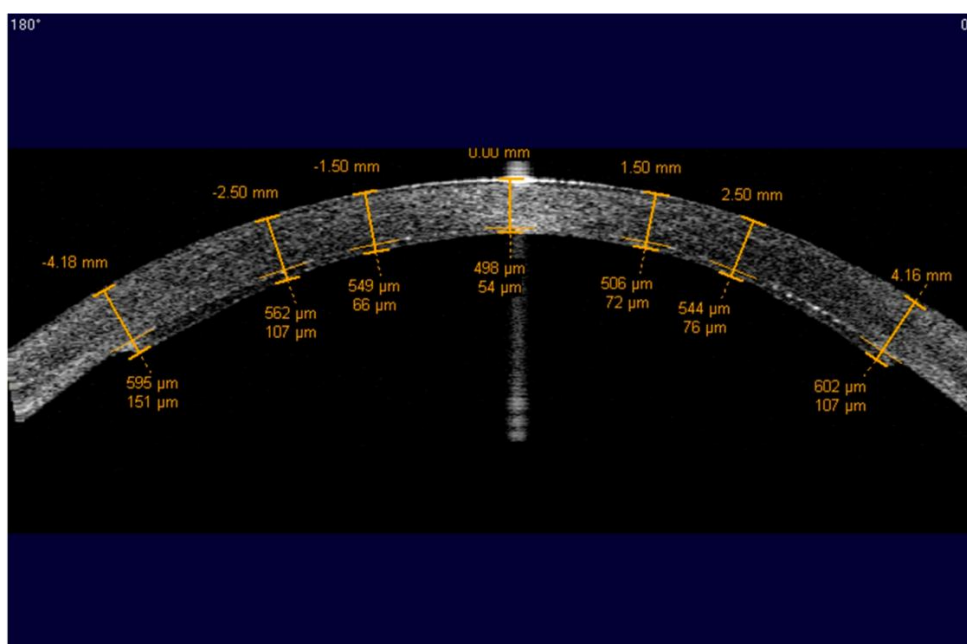


Рисунок 22 – Оптическая когерентная томография глаза пациента Б., 79 лет. 12 месяцев после операции ЗАПК+ФЭК+ИОЛ. Полное прилегание трансплантата, толщина трансплантата в центре 54 мкм, толщина трансплантата на периферии 151 мкм

Индекс Ц:П и гиперметропический сдвиг

Данная часть работы рассматривает оценку индекса Центр:Периферия (Ц:П) и связанного с ним гиперметропического сдвига.

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 $0,92 \pm 0,03$ ($0,92\{0,88-0,95\}$). 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 $0,59 \pm 0,02$ ($0,59\{0,57-0,62\}$). Это подтверждает факт «менископодобной» формы получаемого трансплантата при данном способе выкраивания и говорит о меньшей симметричности лентикулы.

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 ($p < 0,001$). При этом более равномерная толщина трансплантата была получена в группах с использованием ФСЛ.

Безусловно важно рассмотреть проблему гиперметропического сдвига в отношении двух методик: ФЛ-ЗПК и ЗАПК. Поскольку именно данный аспект будет иметь существенные различия.

Для того чтобы была возможность проанализировать показатели роговицы, её состояние должно быть удовлетворительным для выполнения соответствующих измерений, поэтому в данном исследовании анализу подвергались пациенты только 1А группы (ФЛ-ЗПК+ФЭК+ИОЛ) и 2А группы (ЗАПК+ФЭК+ИОЛ) с дистрофией Фукса, где роговица могла быть проанализирована с точки зрения кератометрии.

Из всех пациентов 1А группы (n=15) и 2А группы (n=17), в сумме 32 глаза, удалось выполнить кератометрию на дооперационном этапе в 40,6% случаев (n=13). В 1А группе – 6 глаз, в 2А группе – 7 глаз. Всем пациентам с дистрофией Фукса (группы 1А и 2А) расчёт ИОЛ был произведён на сферический эквивалент рефракции -1,5 дптр [37] (Таблица 25). 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. То есть величина гиперметропического сдвига в 1А группе составила $0,41 \pm 0,37$ дптр, в 2А группе – $1,21 \pm 0,49$ дптр.

Таблица 25 – Результаты сравнительной оценки расчетного и фактического сферозэквивалента у пациентов с дистрофией Фукса, дптр

Исследуемый параметр	1А группа (n=6) «Фемто Визум»	2А группа (n=7) Микрокератом	p
Расчетный сферозэквивалент, дптр	-1,5	-1,5	
Фактический сферозэквивалент, дптр	$-1,08 \pm 0,38$ $-1,25 \{-1,5- -0,5\}$	$-0,29 \pm 0,49$ $-0,5 \{-0,75-0,5\}$	0,018

При этом в аспекте фактического сферозэквивалента были получены статистически значимые различия между 1А и 2А группами (p=0,018).

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

Таким образом, ультратонкий трансплантат, выкроенный тем или иным способом, после проведенной операции постепенно уменьшается в толщине на протяжении всего периода наблюдения. Наиболее выраженная дегидратация трансплантата во всех исследуемых группах наблюдалась через 3 месяца после операции, что совпадало с наибольшей прибавкой зрения. Метод оптической когерентной томографии позволяет измерить толщину трансплантата как в центре, так и на периферии, что дает возможность

оценить симметричность и равномерность ткани и выразить в виде индекса Ц:П. Относительно методики ФЛ-ЗПК индекс Ц:П стремился к 1,0, что говорит о почти равномерной толщине трансплантата. Индекс Ц:П при методике ЗАПК стремился к 0,5, что свидетельствует о значительно меньшей равномерности трансплантата и указывает на «менископодобную» форму.

Меньшая равномерность трансплантата обеспечивает более выраженные значения гиперметропического сдвига и делает технику ЗАПК менее предсказуемой в отношении итогового рефракционного результата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методика задней послойной пересадки роговицы стала хирургической техникой выбора при дисфункции эндотелия роговицы и отсутствии необратимых изменений в строме. Наряду с развитием фемтолазерных технологии в аспекте рефракционной и катарактальной хирургии, внедрение фемтосекундных лазеров происходит и в сфере кератопластики. 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: величины гибели эндотелиальных клеток, качества формируемой поверхности. И как следствие не изучены отдаленные клинико-функциональные результаты реабилитации пациентов с дистрофией Фукса, псевдофакичной буллезной кератопатией с применением хирургической техники FS-DSEK с использованием ультратонкого трансплантата вышеуказанного типа.

По статистическим данным организации Eye Bank Association of America за 2014 год было сделано порядка 19 тысяч СКП против почти 26 тысяч эндотелиальных кератопластик [56]. Тогда как в статистическом отчете этой же организации за 2019 год количество выполненных сквозных пересадок роговицы снизилось до 17,5 тысяч, а количество эндотелиальных кератопластик возросло, составив порядка 30,5 тысяч операций за год [57]. Этот факт свидетельствует о непрерывном росте интереса к области, где может быть применен тот или иной вид эндотелиальной кератопластики.

За последние годы задняя послойная кератопластика стала крайне актуальным методом реабилитации пациентов с дистрофией Фукса и буллезной кератопатией [13]. Ведущими способами заготовки трансплантата,

состоящего из части задней стромы роговицы, десцеметовой мембраны и эндотелия стали две методики: использование микрокератома и применение фемтосекундного лазера.

На сегодняшний день большой путь пройден в отношении как анализа полученных данных от проведенных различных типов эндотелиальной кератопластики, так и в отношении совершенствования каждого из этапов хирургического лечения.

Начиная с 2006 года, когда доктор Gorovoy M. предложил нововведения в виде использования микрокератома фирмы Moria (Antony, Франция) для выкраивания трансплантата с передней стороны роговицы (методика DSAЕК или ЗАПК) на искусственной передней камере, проанализировано большое количество ключевых характеристик [65].

Прежде всего, Dekaris I. с соавт. (2012) в исследовании показали, что в тех случаях, когда для операции ЗАПК использовались трансплантаты с толщиной менее 180 мкм, были получены лучшие результаты остроты зрения, в сравнении с операциями, где использовались трансплантаты толщиной – 180-250 мкм и более 250 мкм [42]. Затем Neff K.D. с соавт. (2011) изучили проблему дальнейшего уменьшения толщины трансплантата, выкраиваемого с помощью микрокератома с передней поверхности роговицы, и получили данные лучшей остроты зрения в группе, где толщина трансплантата составляла менее 130 мкм, в сравнении с операциями, где толщина трансплантата была более указанной (138-182 мкм) [82].

Однако существует и альтернативная точка зрения, где коллективы авторов, проведя корреляционный анализ между толщиной трансплантата и КОЗ, не находили какой-либо зависимости [24, 46].

Параллельно происходило развитие других технологий, в частности, подразумевающих применение фемтосекундных лазеров. Таким образом, формирование трансплантата с передней поверхности роговицы стало возможно не только с помощью микрокератома, но и при помощи ФСЛ. В исследовании Rossi M. с соавт. (2013), где сравнивалось качество

поверхности трансплантата, сформированного с передней стороны роговицы, с одной стороны при помощи микрокератома, с другой стороны при помощи ФСЛ, были получены данные о превосходящем качестве поверхности в группе с использованием микрокератома [96]. Другой коллектив авторов также пришёл к выводу, что в аспекте качества сформированной поверхности трансплантата при выкраивании с передней поверхности роговицы, микрокератом обладает преимуществом перед ФСЛ [60]. Однако было проведено исследование, где при помощи метода сканирующей электронной микроскопии сравнивалось качество сформированной поверхности роговичного трансплантата со стороны эпителия и со стороны эндотелия при помощи ФСЛ. Авторы пришли к выводу, что поверхность более высокого качества получается при выкраивании трансплантата со стороны эндотелия роговицы [63]. Именно поэтому одной из важных задач исследования стала качественная оценка поверхности выкраиваемого трансплантата при помощи ФСЛ в сравнении со стандартной микрокератомной методикой.

Важными недостатками как методики ФЛ-ЗПК, так и ЗАПК являются гибель эндотелиальных клеток в процессе формирования ультратонкого трансплантата, возникновение гиперметропического сдвига. Также к минусам обеих методик можно отнести раннюю и позднюю недостаточность трансплантата, неприлегание трансплантата, возникновение хейза интерфейса.

Однако помимо общих недостатков, у методики ЗАПК есть исключительно свои. Во-первых, нормальное строение роговицы характеризуется её постепенным утолщением от центра к периферии. Во-вторых, диаметр донорской роговицы и кривизна её задней поверхности также являются важными факторами при формировании трансплантата. Поэтому заготовленный при помощи микрокератома трансплантат часто бывает неравномерным, его края имеют значительно большую толщину, нежели центральная часть, что может отрицательно влиять на зрительные функции пациента.

Кроме того, стремление сформировать ультратонкий трансплантат неотъемлемо связано с высоким риском выбраковки материала. Так, Busin M. с соавт. (2013) наблюдал осложнения, связанные с применением микрокератома, такие как неполная центральная диссекция и перфорация трансплантата в 7,2% случаев [27]. Другие авторы в своих работах отмечали возникновение перфорации донорской роговицы, приводившей к выбраковке материала в 13,7–18,5% случаев [11]. Эти значения являются достаточно большим числом в условиях дефицита донорского материала.

Стоит заметить, что начиная с 2003 по 2007 год, обратила на себя внимание методика инвертного выкраивания трансплантата, то есть со стороны эндотелия роговицы, с применением фемтосекундного лазера [93, 97, 101]. Высокая прогнозируемость аппланации современных лазерных установок делает процесс безопасным [53]. Однако в момент аппланации имеется непосредственный контакт с эндотелием, что индуцирует потерю плотности эндотелиальных клеток [62,101].

Данные литературы свидетельствуют о том, что величина потери эндотелиальных клеток при заготовке ультратонкого трансплантата при помощи кератома варьирует от 3,7 до 21,1% [58,92].

Обращает на себя внимание факт, что было проведено сравнение величины потери эндотелиальных клеток при заготовке трансплантата с применением ФСЛ с эпителиальной стороны роговицы и с эндотелиальной стороны роговицы. Авторы исследования показали, что при заготовке со стороны эндотелия гибель клеток на 30% выше в сравнении с заготовкой с эпителиальной стороны [63]. Именно поэтому одной из важных задач настоящего исследования стала количественная оценка гибели эндотелиальных клеток при выкраивании трансплантата при помощи ФСЛ в сравнении с «золотым стандартом» микрокератомной методики.

Результаты первого клинического опыта использования ФСЛ «Фемто Визум» продемонстрировали безопасное и прогнозируемое получение ультратонких и равномерных по толщине трансплантатов [16].

Выполнение вышеописанных задач было необходимым для достижения поставленной цели работы — экспериментального и клинического обоснования возможности подготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики со стороны эндотелия роговицы с помощью отечественного фемтосекундного лазера с частотой следования импульсов 1 МГц.

Вся работа включала в себя выполнение таких этапов, как разработка в эксперименте *ex vivo* хирургического этапа заготовки ультратонкого трансплантата для ЗПК со стороны эндотелия с помощью ФСЛ «Фемто Визум», экспериментальных и клинических исследований.

Экспериментальный этап состоял из двух исследований: первое — исследование количественной оценки сохранности эндотелиального слоя при различных видах воздействия с помощью метода прижизненного окрашивания, второе — исследование качества формируемой поверхности ультратонкого трансплантата с использованием метода атомно-силовой микроскопии.

Клинический этап включал: проведение сравнительного анализа клинико-функциональных результатов пациентов после задней послойной кератопластики с различными способами выкраивания трансплантата (ФЛ-ЗПК, ЗАПК), изучение показателей денситометрии собственной роговицы реципиента с дистрофии Фукса или с псевдофакичной буллезной кератопатией на дооперационном этапе, изучение комплекса «реципиент + донор» и хирургического интерфейса на сроке 12 месяцев после операции методом оптической денситометрии после ФЛ-ЗПК и ЗАПК, сравнительный анализ данных, полученных методом оптической когерентной томографии, в том числе индекса Ц:П, а также оценку гиперметропического сдвига.

На сегодняшний день существует большой накопленный опыт использования витальных красителей.

Уже в 1940 году Насонов Д.Н. и Александров В.Я. пришли к выводу, что изменения физиологического состояния ткани, возникающее под

влиянием различных повреждающих воздействий, находят свое отражение в ее отношении к прижизненным красителям. Эти изменения проявляются с большим постоянством и могут быть легко учитываемы.

В частности, при окраске ткани прижизненным красителем в живых неповрежденных клетках вначале отмечается кратковременная стадия диффузной окраски цитоплазмы, после чего проникший в клетку краситель начинает конденсироваться в ней в виде гранул. Ядро клетки и участки цитоплазмы, не занятые гранулами, остаются при этом бесцветными.

Под влиянием различных повреждающих моментов способность клетки к гранулообразованию утрачивается, параллельно с этим резко ослабляются и другие ее функции. В мертвой клетке цитоплазма и ядро окрашиваются диффузно — так же, как и в фиксированных препаратах. По этой причине реакция гранулообразования, отражающая состояние обменных функций клетки, может быть использована в качестве критерия ее жизнедеятельности.

Природу гранулярного отмешивания наиболее детально установил Хлопин Н. (1924, 1927 гг.) [14].

При этом само количество витальных красителей, применяемых в офтальмологии, не так обширно. Различные коллективы авторов использовали разные их комбинации в своих исследованиях.

Витальное окрашивание 0,06% раствором Трипанового синего использовалось для обнаружения бороздок и линий мертвых эндотелиальных клеток, что визуализировало травму во время работы с материалом. Дополнительно благодаря этому красителю может быть установлено наличие редкого специфического состояния, как герпетический эндотелиальный некроз. Например, этот краситель был применен в 2008 году в работе Mehta J.S. для изучения количественной оценки гибели эндотелия в зависимости от техники имплантации, где было показано значительно большее повреждающее действие имплантации трансплантата в переднюю камеру при помощи пинцета, нежели чем при помощи глайда [29].

Использование тройной маркировки, то есть комбинации трех красителей: The Hoechst, Ethidium homodimer, Calcein-AM позволило в исследовании Aurelin Pipparelli комплексно оценить жизнеспособность эндотелиального слоя после мануального формирования лентиккулы. Все три красителя обладают эффектом флюоресценции. The Hoechst визуализирует клеточные ядра сине-голубым цветом независимо от состояния клетки, в котором она находится в настоящее время (живая, на этапе умирания, мёртвая). Ethidium homodimer проникает в клетки, с нарушенными мембранами и окрашивает их в красный цвет при возбуждении флюоресцентных меток. Calcein-AM проникает в неповрежденные живые клетки и внутри клетки за счет гидролиза при помощи внутриклеточных эстераз образует зеленый флюоресцентный продукт [86].

В исследовании Takeshi Ide с соавт. (2008), были выбраны два красителя: 0,25% раствор Трипанового синего и 0,2% раствор Ализаринового красного С. Первый использовался для визуализации поврежденных эндотелиальных клеток, а Ализариновый красный С — для визуализации их границ [45].

В настоящем исследовании использовались красители: Calcein Violet и Propidium Iodide.

В ходе первого исследования экспериментального этапа были получены следующие данные. В сравнении с ФСЛ микрокератом показал несколько меньший процент гибели эндотелиальных клеток при заготовке трансплантата: $8,9 \pm 4,3\%$ против $12,2 \pm 4,5\%$ соответственно. Статистически значимые различия не выявлены ($p > 0,05$). Однако значения гибели клеток в группе трансплантатов, заготовленных при помощи ФСЛ, не сильно превышают микрокератомную группу, что говорит о возможности применения данного типа трансплантата в клинической практике. Литературные данные свидетельствуют о том, что процент потери эндотелиальных клеток на этапе заготовки ультратонкого трансплантата при

помощи микроккератома варьирует от 3,7 до 4,8% [92,105]. Это несколько ниже, чем полученный в ходе исследования результат.

Что касается процента потери эндотелиальных клеток при использовании ФСЛ в заготовке ткани, то Cheng Y.Y. с соавт. (2007), выкраивая трансплантат с передней стороны роговицы с использованием ФСЛ FS laser (Intralase Corp., Irvine, США) в режиме с частотой следования импульсов 15 кГц, получили 7,7% потери эндотелиальных клеток, а в режиме 30 кГц она составила 4,3% [35]. При выкраивании трансплантата толщиной 90 мкм со стороны эндотелия с помощью ФСЛ Femto LDV Z6 коллектив авторов Liu Y.C. с соавт. (2014) получили $22,0 \pm 3,7\%$ потери эндотелиальных клеток [53]. Результат нашего эксперимента по изучению жизнеспособности эндотелиальных клеток трансплантата, подготовленного с помощью «Фемто Визум», соответствует литературным данным.

Важно отметить, что помимо индуцированной потери эндотелиальных клеток при выкраивании трансплантата с применением той или иной методики, существует небольшой процент потери, связанной с хранением в консервационной среде. Литературные данные говорят, что при хранении в среде Eusol-C интактных донорских роговиц коллектив авторов Yüksel B. с соавт. (2016) получили скорость потери эндотелиальных клеток равную 3,1% в день в период с 9-го по 24-й день консервации [116]. С другой стороны, Means T.L. с соавт. (1998) были получены данные, что при хранении в среде Optisol-GS интактных донорских роговиц, скорость гибели ЭК равна $0,57 \pm 0,3\%$ в день [113].

В ходе второго исследования экспериментального этапа проводили качественную оценку формируемой поверхности ультратонкого трансплантата с использованием метода атомно-силовой микроскопии с помощью атомно-силового микроскопа Certus V (Nano Scan Technologies, Россия), образцы подвергались анализу в контактном режиме в воздушной среде. Сравнительный анализ показал, что значения параметров среднеквадратичной шероховатости поверхности в первой группе с

использованием микрокератома и во второй группе, там, где трансплантат был сформирован при помощи ФСЛ «Фемто Визум» были сопоставимы ($p > 0,05$).

Клинический этап включал анализ клинико-функциональных результатов ФЛ-ЗПК и ЗАПК, выполненных у 104 пациентов (104 глаза) по поводу эндотелиально-эпителиальной недостаточности различной этиологии. Все пациенты были разделены на 4 группы. Исследуемые группы пациентов были однородны и сравнимы по предоперационным характеристикам.

Осложнения, которые возникли в связи с проведением хирургического лечения, – это периферическая отслойка ультратонкого трансплантата и необходимость по этому поводу повторного введения воздуха, возникновение послеоперационного хейза интерфейса и ранняя недостаточность трансплантата. Наиболее частым осложнением стала периферическая отслойка трансплантата: 13,3% в 1А группе, 13,5% в 1Б группе, 17,6% в 2А группе, 17,1% в 2Б группе.

Повторное введение воздуха в 1Б группе (ФЛ-ЗПК) в раннем послеоперационном периоде было выполнено в 4 случаях, что составляет 10,8% от общего количества операций в этой группе. Учитывая литературные данные, согласно которым данный процент находится в интервале от 0 до 18% [103], полученное нами значение свидетельствует о высоких адгезивных свойствах трансплантата. В 2 случаях из 2 в 1А группе и в 1 случае из 5 в 1Б группе трансплантат самостоятельного адгезировался к строме реципиента.

Отдельное внимание стоит уделить возникновению послеоперационного хейза интерфейса. Данное осложнение возникло в 1А группе в 6,6% случаев, в 1Б группе – в 5,4% случаев, в 2А группе – в 5,8%, в 2Б группе – 5,7%. Во всех случаях был выявлен стойкий хейз интерфейса, который сохранился и на сроке наблюдения 12 месяцев. Согласно одним литературным данным, коллектив авторов выявил развитие хейза интерфейса

после ЗПК в 2% случаев [32], другие авторы сообщают о более высоких процентах – 2,7% [26], и даже в 8,5-16,9% случаев [31].

В ретроспективном исследовании, посвященном анализу данных 7 медицинских учреждений, где пациентам выполнялась ЗАПК, была проанализирована серия из 30 случаев возникновения хейза. И не смотря на то, что на сегодняшний день не существует единой теории, описывающей причину и механизм возникновения этой проблемы, авторы всё-таки выделили два предположения: связь с неровностью поверхности трансплантата, заготовленного при помощи микрокератома, и остатки используемого вискоэластика на границе раздела сред [107].

Частота возникновения ранней недостаточности трансплантата была в 1А группе в 6,6% случаев, в 1Б группе – в 8,1% случаев, в 2А группе – 5,9%, в 2Б группе – 11,4%. Эти цифры не превышают данных литературы, где ранняя недостаточность трансплантата в первые 3 месяца варьирует от 0 до 29% [38,89]. По поводу недостаточности пациентам выполнена рекератопластика с положительным эффектом.

По итогам анализа было выявлено улучшение показателей НКОЗ и КОЗ во всех исследуемых группах по сравнению с дооперационными значениями. При этом лучшие показатели остроты зрения наблюдали в 1А и 2А группах у пациентов с дистрофией Фукса. Сравнивая НКОЗ и КОЗ, в отношении методик ФЛ-ЗПК и ЗАПК были получены сопоставимые данные на сроке наблюдения 12 месяцев после операции. Сравнительный анализ НКОЗ и КОЗ не выявил статистически значимых различий между ФЛ-ЗПК и ЗАПК ($p > 0,05$).

За исключением глаз, где было описано возникновение того или иного осложнения, в подавляющем большинстве случаев во всех группах удалось достичь прозрачного приживления, то есть высокого биологического результата.

В отношении функционального результата были получены следующие данные.

В 1А группе КОЗ 0,3 и выше была выявлена в 80% случаев, в 1Б группе (ФЛ-ЗПК) – в 62%, в 2А группе – в 100%, в 2Б группе (ЗАПК) КОЗ 0,3 и выше – в 80% случаев.

В 1А группе КОЗ 0,5 и выше была зафиксирована в 33% случаев, в 1Б группе (ФЛ-ЗПК) – в 16%, в 2А группе – в 18%, в 2Б группе (ЗАПК) КОЗ 0,5 и выше – в 6% случаев.

Наличие КОЗ 0,3 и выше в 80% случаев (1А группа), в 62% (1Б группа), в 100% (2А группа), в 80% случаев (2Б группа), так или иначе, демонстрирует эффективное восстановление предметного зрения почти у трех четвертей больных в каждой исследуемой группе.

Наличие КОЗ 0,5 и выше в 33% случаев (1А группа), в 16% (1Б группа), в 18% (2А группа), в 6% случаев (2Б группа) ассоциировано, вероятно, с наличием сопутствующей глазной патологии.

Данные литературы имеют широкий диапазон касательно этого вопроса. Так, Sarnicola V. с соавт. (2008) отмечали достижение КОЗ более 0,5 на сроке 12 месяцев после ЗАПК в 38% случаев [99]. В свою очередь в 2006 г. Marianne O. Price с соавт. выявили достижение КОЗ более 0,5 на сроке 6 месяцев после ЗАПК в 69% случаев [95], а Francis W. Price с соавт. (2005) отметили достижение КОЗ более 0,5 на сроке 6 месяцев после ЗАПК в 62% случаев [94]. Здесь, безусловно, показатели всех исследуемых групп были ниже этих данных. Это можно объяснить, с одной стороны, наличием сопутствующей патологии во всех группах. Структура описана выше в разделе 2.3., Таблица 8. С другой стороны – длительностью патологического процесса в роговице пациента. Почти все пациенты ожидали оперативного лечения не менее 12 месяцев.

У 1 пациента из 1А группы, там, где была выполнена ФЛ-ЗПК+ФЭК+ИОЛ, без сопутствующей патологии сетчатки и зрительного нерва удалось получить КОЗ 0,8 на сроке наблюдения 12 месяцев, что демонстрирует высокий потенциал технологии в аспекте возможности достижения высоких зрительных функций.

По данным одних авторов, величина гиперметропического сдвига после ЗАПК составляет, в среднем, $1,19 \pm 1,32$ дптр [114] или $0,96 \pm 1,86$ дптр [30], по данным других – рефракционные изменения варьируют от $-1,0$ до $2,5$ дптр [49] к сроку наблюдения 6 месяцев.

Для методики ФЛ-ЗПК величина гиперметропического сдвига в исследовании отечественных авторов составила $0,27 \pm 0,9$ [20].

В 2011 году в исследовании Hwang R.Y. с соавт. была представлена довольно подробная математическая модель гиперметропического сдвига. Как известно, задняя послойная кератопластика выполняется с использованием донорской лентиккулы, которая «добавляется» на внутреннюю поверхность роговицы реципиента после проведения десцеметорексиса. Идеальным трансплантатом мог бы стать единственный слой эндотелиальных клеток, который пересаживался бы на внутреннюю поверхность роговицы реципиента. Именно к этому частично приближена методика DMEK. В настоящий момент, учитывая степень развития офтальмохирургии, роговичный трансплантат для ЗПК на всем своем протяжении должен стремиться параллельно повторить форму задней поверхности роговицы реципиента. Поэтому в современных условиях влияние толщины трансплантата на послеоперационный исход должно быть учтено на этапе предоперационного планирования.

Важнейшим индексом, связанным с гиперметропическим сдвигом, является индекс центр-периферия (Ц:П), отражающий равномерность толщины трансплантата на всем протяжении. При значении индекса Ц:П близком к $1,0$ можно говорить о максимально возможной равномерности ткани. При значении индекса Ц:П близком к $0,5$ можно говорить о «менископодобной» форме ткани, где толщина периферии практически в 2 раза толще центра ткани.

Авторами в исследовании на математической модели было показано, что при фиксированной толщине роговицы реципиента (500 мкм), фиксированной толщине трансплантата в центре (100 мкм), но вариативном

индексе Ц:П величина расчетного гиперметропического сдвига будет разной. Так, при индексе Ц:П=0,67, величина гиперметропического сдвига составит +1,66 дптр. При индексе Ц:П=0,92, величина гиперметропического сдвига будет равна +0,33 дптр [98].

В данном исследовании значения расчетного сферического эквивалента составили в 1А и 2А группах -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. При этом в аспекте среднего значения фактического сферозэквивалента были получены статистически значимые различия ($p=0,018$).

Величина сдвига больше по причине «менискообразной» формы итоговой толщины трансплантата, который заготавливался при помощи микрокератома по сравнению с методикой с применением ФСЛ.

Рациональный способ подготовки трансплантата для задней послойной кератопластики является важным шагом для достижения успешного хирургического результата. Идеальный трансплантат должен иметь предсказуемую толщину, однородную форму, хорошее качество стромального интерфейса, высокую жизнеспособность эндотелия.

В 2017 году коллектив авторов провёл исследование, в котором было проанализировано 1789 операций DSAЕК, выполненных с 2007 по 2014 год в 4 микрохирургических центрах Скандинавии. Главной задачей было изучение влияния исходных параметров донорского трансплантата (плотность эндотелиальных клеток), характеристик самого донора (возраст и пол) на выживаемость трансплантата на сроке 2 года после выполненной операции. Проведя статистический анализ, авторы пришли к нестандартному выводу: при плотности эндотелиальных клеток донорской роговицы более 2300 кл/мм^2 , а также при плотности донорской роговицы в интервале $2000\text{-}2300 \text{ кл/мм}^2$ они не выявили достоверного снижения выживаемости трансплантата на сроке 2 года. Что касается характеристик самого донора, то

возраст также не оказал влияния (в исследовании возраст доноров варьировал от 33 лет до 71 года). А в отношении роли пола донора был сделан вывод, что когда донором роговицы является мужчина, а реципиентом женщина, то, вероятно, это может оказывать негативное влияние [47].

Обобщая все сделанные выводы в упомянутом исследовании, стоит отметить, что потеря эндотелиальных клеток после выполненной пересадки роговицы является динамическим процессом, механизмы и движущие силы которого требуют дальнейшего детального изучения.

По данным литературных источников, потеря эндотелиальных клеток при ФЛ-ЗПК на сроке 6 месяцев находится в диапазоне от 25 до 54%, составляя в среднем 37%, тогда как на сроке наблюдения 12 месяцев данная величина варьирует от 24 до 61%, составляя в среднем 41% [43, 91]. В нашей работе были получены сопоставимые данные.

На сроке 6 месяцев после операции величина потери эндотелиальных клеток составила в 1А группе $40,2 \pm 6\%$, в 1Б группе – $42,5 \pm 8,1\%$, в 2А группе – $40,1 \pm 4,8\%$, в 2Б группе – $41,4 \pm 4,6\%$. Через 12 месяцев процент потери эндотелиальных клеток был равен в 1А группе – $43,8 \pm 5,8\%$, в 1Б группе – $46,8 \pm 7,7\%$, в 2А группе – $42,6 \pm 4,9\%$, в 2Б группе – $45,2 \pm 4,7\%$. При проведении сравнительного анализа статистически значимые различия плотности эндотелиальных клеток и их потери между группами 1А и 2А, а также 1Б и 2Б не выявлены.

Важно подчеркнуть необходимость более длительных исследований для того, чтобы рационально обосновать причину динамического процесса потери эндотелиальных клеток.

Исходя из полученных данных, можно сделать вывод об умеренной величине потери эндотелиальных клеток во всех исследуемых группах. Наибольший процент потери был в 1Б и 2Б группах у пациентов с буллезной кератопатией.

Метод Шеймпфлюг-фотографии и анализ полученных денситометрических изображений является очень точной техникой измерения и оценки светорассеяния анатомических структур переднего сегмента глаза. Принцип Шеймпфлюга был впервые введен Теодором Шеймпфлюгом в конце 19 – начале 20 века, австрийским морским военным, который был недоволен качеством навигационных карт и предложил технологическое решение проблемы [115]. Современной разработкой среди офтальмологических камер, основанных на принципе Scheimpflug, является Pentacam HR (Oculus, Germany).

Метод денситометрии дает представление о прозрачности роговицы. Основными источниками рассеяния света являются передние эпителиальные слои и задний эндотелий роговицы. Строма роговицы поддерживает прозрачность благодаря регулярному расположению коллагеновых фибрилл и организации в виде роговичных пластин.

В исследовании Otri A.M. с соавт. (2012), где проводилась денситометрия на 40 здоровых глазах и 36 глазах с бактериальным кератитом в острый период заболевания и после разрешения процесса, были получены следующие данные. Денситометрия в группе здоровых глаз варьировала от $19 \pm 4,4$ до $4,7 \pm 0,9$ условных единиц (усл. ед.) и составила в среднем $12,3 \pm 2,4$ усл. ед. Тогда как в острый период бактериального кератита в месте бактериального очага значения были от $24,6 \pm 14,5$ до $91,8 \pm 18$, составляя в среднем $47,6 \pm 12$ усл. ед. В период разрешения воспаления в зоне очага было выявлено увеличение прозрачности роговицы, несмотря на сформировавшийся рубец, и соответственно снижение значений денситометрии в среднем до $38,1 \pm 13$ усл. ед. [33].

В 2018 году в исследовании Droutsas K. с соавт. было проведено сравнение денситометрических данных, полученных с использованием Pentacam HR (Oculus, Германия) в 54 случаях ДМЕК на сроках от 3 до 24 месяцев и в 25 случаях ДСАЕК на сроках от 3 до 24 месяцев. В группе пациентов, которым была выполнена операция ДМЕК, данные

денситометрии в центральной зоне 0-2 мм снизились с $34,4 \pm 9,4$ до $23 \pm 4,3$ усл. ед. на сроке 3 месяца и до $19,2 \pm 2,7$ усл. ед. – на сроке 24 месяца после операции. В группе пациентов, где была выполнена операция DSAEK, эти значения снизились с $34,0 \pm 13,4$ до $30,3 \pm 10,3$ усл. ед. на сроке 3 месяца и до $21,2 \pm 2,5$ усл. ед. – на сроке 24 месяца после операции [100]. В нашей работе были получены сопоставимые данные.

Известно, что меньшая величина светорассеяния обеспечивает более высокую остроту зрения. На сроке 12 месяцев после операции было отмечено снижение денситометрических показателей во всех группах. Этот факт говорит об увеличении прозрачности роговицы и достижении высокого биологического результата.

Сравнительный анализ между 1А и 2А группами, а также между 1Б и 2Б группами не показал статистически значимые различия между показателями денситометрии ($p > 0,05$).

Отдельно была проанализирована зона интерфейса на сроке 12 месяцев после операции. В центральной зоне 0-2 мм были получены следующие данные: в 1А группе – $15,3 \pm 0,8$ усл. ед., в 1Б группе – $17,3 \pm 1,7$ усл. ед., в 2А группе – $16,1 \pm 1,1$ усл. ед., в 2Б группе – $19,2 \pm 1,0$ усл. ед. Эти значения во всех четырех группах сопоставимы со значениями денситометрии здоровой роговицы [33]. Что в свою очередь указывает на высокое качество поверхности трансплантата, участвующего в формировании интерфейса.

При проведении сравнительного анализа зоны интерфейса между группами пациентов с дистрофией Фукса и с буллезной кератопатией не было выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Особое внимание стоит уделить тем пациентам, у которых был выявлен хейз интерфейса. В 1Б группе было зафиксировано 2 случая, в одном денситометрические показатели зоны интерфейса на сроке 12 месяцев после операции составили 38 усл. ед., в другом – 43 усл. ед. Множество факторов способны влиять на развитие хейза интерфейса, к ним относят: эпителиальный рост на границе раздела сред, инфекцию (в том числе

грибковой этиологии) [48], остатки десцеметовой мембраны, кровь в интерфейсе, отложения соединений кальция, остатки металлических частиц, вышеупомянутую нерегулярность поверхности трансплантата, выкроенного тем или иным способом, и остатки вискоэластика [107]. Однако выявить ведущий компонент в развитии данного состояния – это проблема, требующая детального изучения в будущем.

Таким образом, сравнительный анализ клинико-функциональных результатов после задней послойной кератопластики с использованием фемтосекундного лазера и микрокератома показал улучшение показателей в послеоперационном периоде по сравнению с дооперационными значениями во всех группах наблюдения. Между техниками операции ФЛ-ЗПК и ЗАПК результаты некорригированной и корригированной остроты зрения в отдаленном периоде были сопоставимы. Однако меньшая величина гиперметропического сдвига, более равномерная толщина трансплантата (индекс Ц:П) были присущи ФЛ-ЗПК.

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 скорректированной 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 скорректированной 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 СОКРАЩЕНИЙ

- АСМ** атомно-силовая микроскопия
- ВВ** внеклеточные везикулы
- ЗАПК** задняя автоматизированная послойная кератопластика
- ЗПК** задняя послойная кератопластика
- ИОЛ** интраокулярная линза
- КОЗ** скорригированная острота зрения
- НКОЗ** некорригированная острота зрения
- ОКТ** оптическая когерентная томография
- ПЭК** плотность эндотелиальных клеток
- ФЛ-ЗПК** фемтолазерная задняя послойная кератопластика
- ФСЛ** фемтосекундный лазер
- ФЭК** факоэмульсификация катаракты
- ЦТР** центральная толщина роговицы
- AQP** Аквапорины
- DLEK** Deep lamellar endothelial keratoplasty
- DMAEK** Descemet membrane automated endothelial keratoplasty
- DMEK** Descemet membrane endothelial keratoplasty
- DSAEK** Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty
- DSEK** Descemet's Stripping with Endothelial Keratoplasty
- ELK** Endothelial lamellar keratoplasty
- FELEK** Femtosecond and excimer laser-assisted endothelial keratoplasty
- FS-DSEK** Femtosecond laser-assisted Descemet's stripping endothelial keratoplasty
- LOCS III** Lens Opacities Classification System III
- MELEK** Microkeratome and excimer laser-assisted endothelial keratoplasty
- NC** Nucleus Color
- NO** Nucleus Opalescence
- PLK** Posterior Lamellar Keratoplasty

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боровиков В. П. Популярное введение в программу Statistica / В. П. Боровиков. – М. : КомпьютерПресс, 1998. – 267 с. – Текст : непосредственный.
2. Глазные болезни: учебник / Под ред. В. Г. Копаевой. – М. : Медицина, 2002. – С. 201–204. – Текст : непосредственный.
3. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. – М. : Практика, 1998. – 459 с. – Текст : непосредственный.
4. Гублер, Е. В. Информатика в патологии, клинической медицине и педиатрии / Е. В. Гублер. – Л. : Медицина, 1990. – 176 с. – Текст : непосредственный.
5. Дронов, М. М. Глубокая дистрофия роговой оболочки и методы ее лечения: специальность 14.00.08 «Глазные болезни» : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Дронов Михаил Михайлович. – Л., 1978. – 26 с. – Текст : непосредственный.
6. Ерошевский, Т. И. Пересадка роговицы / Т. И. Ерошевский. – Саратов : Куйбышевское книжное издательство, 1971. – 310 с. – Текст : непосредственный.
7. Каминский, Л. С. Статистическая обработка лабораторных и клинических данных / Л. С. Каминский. – Л. : Медицина, 1964. – 251 с. – Текст : непосредственный.
8. Корниловский, И. М. Механизм лазериндуцированного рефракционного кератомоделирования и его новые возможности при интрастромальном воздействии излучением фемтосекундного лазера / И. М. Корниловский. – Текст : непосредственный // Рефракционная хирургия и офтальмология. – 2009. – Т. 9, № 2. – С. 4–12.

9. Крачмер, Д. Роговица: атлас / Д. Крачмер ; пер. с англ. под ред. Н. И. Курышевой. – М. : Логосфера, 2007. – С. 190–192. – Текст : непосредственный.
10. Лазерная кераторефракционная хирургия. Российские технологии / А. В. Дога, С. К. Вартапетов, И. А. Мушкова [и др.]. – М. : Офтальмология, 2018. – С. 56–57. – Текст : непосредственный.
11. Марванова, Л. Р. Новый способ формирования трансплантата для задней автоматизированной послойной кератопластики в лечении пациентов с эпителиально–эндотелиальной дистрофией роговицы / Л. Р. Марванова. – Текст : непосредственный // Медицинский вестник Башкортостана. – 2018. – Т. 13, № 5. – С. 27–33.
12. Нероев, В. В. Первый опыт и краткосрочные результаты фемтолазерной задней кератопластики (DSEK) с формированием трансплантата с эндотелиальной стороны / В. В. Нероев, Р. А. Гундорова, А. В. Степанов. – Текст : непосредственный // Российский медицинский журнал. – 2013. – № 5. – С. 43–47.
13. Новая клиничко–морфологическая классификация эндотелиально–эпителиальной дистрофии роговицы / И. А. Рикс, С. С. Папанян, С. Ю. Астахов, С. А. Новиков. – Текст : непосредственный // Офтальмологические ведомости. – 2017. – Т. 10, № 3. – С. 46–52.
14. Основы пересадки роговой оболочки : монография / Н. А. Пучковская, С. А. Бархаш, Д. Г. Бушмич [и др.]. – Киев : Здоров'я, 1971. – 279 с. – Текст : непосредственный.
15. Паштаев, Н.П. IntraLasik: Первые результаты лазерного кератомилеза с формированием роговичного клапана при помощи фемтосекундного лазера у пациентов с миопией. – Текст : непосредственный / Н.П. Паштаев, Т.З. Патеева // Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии. – 2008: сб. науч. ст. – М., 2008. – С. 202–206.
16. Первый опыт задней послойной кератопластики, выполненной с помощью российского фемтосекундного лазера «Визум» / А. Н.

- Паштаев, Б. Э. Малюгин, Н. П. Паштаев [и др.]. – Текст : непосредственный // Современные технологии в офтальмологии. – 2016. – № 5. – С. 167–169.
17. Первый опыт и клинические результаты задней автоматизированной послойной кератопластики (ЗАПК) с использованием предварительно выкроенных консервированных ультратонких роговичных трансплантатов / Б. Э. Малюгин, З. И. Мороз, С. А. Борзенко [и др.]. – Текст : непосредственный // Офтальмохирургия. – 2013. – № 3. – С. 12–16.
 18. Пожарицкий, М. Д. Сравнительная оценка интра- и послеоперационных осложнений фемтоЛАСИК при использовании фемтосекундных лазеров ZiemerLDV и IntraLaseFS на этапе формирования лоскута роговой оболочки / М. Д. Пожарицкий, В. Н. Трубилин. – Текст : непосредственный // Катарактальная и рефракционная хирургия. – 2011. – Т. 11, № 1. – С. 13–17.
 19. Предварительные результаты задней послойной кератопластики с использованием высокоэнергетического фемтосекундного лазера для заготовки ультратонкого донорского роговичного трансплантата / Б. Э. Малюгин, С. Б. Измайлова, А. Н. Паштаев, К. Н. Кузьмичев – Текст : непосредственный // Современные технологии в офтальмологии. – 2018. – Т. 24, № 4. – С. 140–142.
 20. Сравнительный анализ клинико-функциональных результатов задней послойной кератопластики с использованием фемтосекундного лазера и микрокератома / Б. Э. Малюгин, Н. Ф. Шилова, О. П. Антонова [и др.]. – Текст : непосредственный // Офтальмохирургия. – 2019. – № 1. – С. 20–26.
 21. Труфанов, С. В. Автоматизированная эндотелиальная кератопластика с удалением десцеметовой мембраны (DSAEK) при использовании тонких трансплантатов у больных буллезной кератопатией с низкой дооперационной остротой зрения / С. В. Труфанов, Е. Г. Полунина. –

- Текст : непосредственный // Офтальмология. – 2013. – Т. 10, № 2. – С. 24–30.
22. Федоров, С. Н. Эндотелий роговицы человека / С. Н. Федоров, Т. И. Ронкина, Т. М. Явишева. – М: МНТК «Микрохирургия глаза», 1993. – 126 с. – Текст : непосредственный.
 23. A surgical technique for posterior lamellar keratoplasty / G. R. Melles, F. A. Eggink, F. Lander [et al.]. – DOI 10.1097/00003226-199811000-00010. – Text : electronic // Cornea. – 1998. – Vol. 17, № 6. – P. 618–626.
 24. Aberrations after descemet stripping endothelial keratoplasty for fuchs dystrophy / L. S. Seery, C. B. Nau, J. W. McLaren [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajo.2011.05.003. – Text : electronic // Am. J. Ophthalmol. – 2011. – Vol. 152, № 6. – P. 910–916.
 25. Brightbill, F. S. Corneal Surgery. Theory, Technique and Tissue / F. S. Brightbill, P. J. McDonnel, N. J. Charles. – Fourth edition. – 2009, Elsevier. – 62 p. – Text : immediate.
 26. Busin, M. A modified technique for descemet membrane stripping automated endothelial keratoplasty to minimize endothelial cell loss / M. Busin, P. R. Bhatt, V. Scorcia. – DOI 10.1001/archophth.126.8.1133. – Text : electronic // Arch. Ophthalmol. – 2008. – Vol. 126, № 8. – P. 1133–1137.
 27. Busin, M. Ultrathin descemet's stripping automated endothelial keratoplasty with the microkeratome double-pass technique / M. Busin, S. Madi, P. Santorum. – DOI 10.1016/j.optha.2012.11.030. – Text : electronic // Ophthalmology. – 2013. – Vol. 120, № 6. – P. 1186–1194.
 28. Calcification of a hydrophilic acrylic intraocular lens after descemet-stripping endothelial keratoplasty: case report and laboratory analyses / M. A. Fellman, L. Werner, E. T. Liu. – DOI 10.1016/j.jcrs.2013.01.028. – Text : electronic // J. Cataract. Refract. Surg. – 2013. – Vol. 39, № 5. – P. 799–803.
 29. Comparison of donor insertion techniques for descemet stripping automated endothelial keratoplasty / J. S. Mehta, J. M. Por, R. Poh [et al.]. – DOI

- 10.1001/archophth.126.10.1383. – Text : electronic // Arch. Ophthalmol. – 2008. – Vol. 126, № 10. – P. 1383–1388.
30. Comparison of posterior lamellar keratoplasty techniques to penetrating keratoplasty / I. Bahar, I. Kaiserman, P. McAllum [et al.]. – DOI 10.1016/j.ophtha.2008.02.010. – Text : electronic // Ophthalmology. – 2008. – Vol. 115, № 9. – P. 1525–1533.
31. Complications after descemet's stripping endothelial keratoplasty / G. S. Moura, G. M. Oliveira, T. Tognon [et al.]. – DOI 10.1590/s0004-27492013000500007. – Text : electronic // Arq. Bras. Oftalmol. – 2013. – Vol. 76, № 5. – P. 288–291.
32. Complications of Descemet's stripping with automated endothelial keratoplasty: survey of 118 eyes at one institute / L. H. Suh, S. H. Yoo, A. Deobhakta [et al.]. – DOI 10.1016/j.ophtha.2008.01.024. – Text : electronic // Ophthalmology. – 2008. – Vol. 115, № 9. – P. 1517–1524.
33. Corneal densitometry as an indicator of corneal health / A. M. Otri, U. Fares, M. A. Al-Aqaba, H. S. Dua. – DOI 10.1016/j.ophtha.2011.08.024. – Text : electronic // Ophthalmology. – 2012. – Vol. 119, № 3. – P. 501–508.
34. Corneal endothelial dystrophy. A study of 64 families / J. H. Krachmer, J. J. Purcel, C. W. Young, K. D. Bucher. – DOI 10.1001/archophth.1978.03910060424004. – Text : electronic // Arch. Ophthalmol. – 1978. – Vol. 96, № 11. – P. 2036–2039.
35. Corneal endothelial viability after femtosecond laser preparation of posterior lamellar discs for descemet–stripping endothelial keratoplasty / Y. Y. Cheng, E. Pels, J. P. Cleutjens [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0b013e31814531d1. – Text : electronic // Cornea. – 2007. – Vol. 26, № 9. – P. 1118–1122.
36. Corneal optical changes associated with induced edema in fuchs endothelial corneal dystrophy / K. Wacker, J. W. McLaren, K. M. Kane, S. V. Patel. – DOI 10.1097/ICO.0000000000001465. – Text : electronic // Cornea. – 2018. – Vol. 37, № 3. – P. 313–317.

37. Corneal power after descemet stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK) – Modeling and concept for calculation of intraocular lenses / A. Langenbacher, N. Szentmáry, C. Spira [et al.]. – DOI 10.1016/j.zemedi.2015.02.003. – Text : electronic // Z. Med. Phys. – 2016. – Vol. 26, № 2. – P. 120–126.
38. Covert, D. J. Descemet stripping and automated endothelial keratoplasty (DSAEK) in eyes with failed penetrating keratoplasty / D. J. Covert, S. B. Koenig. – DOI 10.1097/ICO.0b013e31805fc38f. – Text : electronic // Cornea. – 2007. – Vol. 26, № 6. – P. 692– 696.
39. Dawson, D. G. Long-term histopathologic findings in human corneal wounds after refractive surgical procedures / D. G. Dawson, H. F. Edelhauser, H. E. Grossniklaus. – DOI 10.1016/j.ajo.2004.08.078. – Text : electronic // Am. J. Ophthalmol. – 2005. – Vol. 139, № 1. – P. 168–178.
40. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) / G. R. Melles, T. S. Ong, B. Ververs, J. van der Wees. – DOI 10.1097/01.ico.0000248385.16896.34. – Text : electronic // Cornea. – 2006. – Vol. 25, № 8. – P. 987–990.
41. Descemet membrane endothelial keratoplasty with a stromal rim (DMEK–S) / P. Studeny, A. Farkas, M. Vokrojova [et al.]. – DOI 10.1136/bjo.2009.165134. – Text : electronic // Br. J. Ophthalmol. – 2010. – Vol. 94, № 7. – P. 909–914.
42. Descemet stripping automated endothelial keratoplasty – is a thinner donor lamella the better choice? / I. Dekaris, M. Pauk, N. Drača[et al.]. – Doi10.4172/2161-0991.S2-004. – Text : electronic // J. Transplant. Technol. Res. – 2012. – S. 2.
43. Descemet`s stripping endothelial keratoplasty: safety and outcome / L. W. Barry, S. J. Deborah, D. C. [et al.]. – DOI 10.1016/j.opthta.2009.06.021. – Text : electronic // Ophthalmology. – 2009. – Vol. 116, № 9. – P. 1818 – 1830.

44. Descemet's membrane automated endothelial keratoplasty (DMAEK): visual outcomes and visual quality / C. R. Pereira, F. P. Guerra, F. W. Price, M. O. Price. – DOI 10.1136/bjo.2010.191494. – Text : electronic // Br. J. Ophthalmol. – 2011. – Vol. 95, № 7. – P. 951–954.
45. Descemet–stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK): effect of nontoxic gentian violet marking pen on DSAEK donor tissue viability by using vital dye assay / T. Ide, S. H. Yoo, G. D. Kymionis [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0b013e318165841f. – Text : electronic // Cornea. – 2008. – Vol. 27, № 5. – P. 562–564.
46. Determinants of visual quality after endothelial keratoplasty / A. M. Turnbull, M. Tsatsos, P. N. Hossain, D. F. Anderson. – DOI10.1016/j.survophthal.2015.12.006. – Text : electronic // Surv. Ophthalmol. – 2016. – Vol. 61, № 3. P. 257–271.
47. Donor endothelial cell count does not correlate with descemet stripping automated endothelial keratoplasty transplant survival after 2 years of follow–up / I. O. Potapenko, B. Samolov, M. C. Armitage [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0000000000001189. – Text : electronic // Cornea. – 2017. – Vol. 36, № 6. – P. 649–654.
48. Donor–related candida keratitis after descemet stripping automated endothelial keratoplasty / A. S. Kitzmann, M. D. Wagoner, N. A. Syed, K. M. Goins. – DOI 10.1097/ICO.0b013e31819140c4. – Text : electronic // Cornea. – 2009. – Vol. 28, № 7. –P. 825–828.
49. Dupps, W. J. Multivariate model of refractive shift in descemet–stripping automated endothelial keratoplasty / W. J.Dupps, Y. Qian, D. M. Meisler. – DOI 10.1016/j.jcrs.2007.11.045. – Text : electronic //J. Cataract. Refract. Surg. – 2008. – Vol. 34, № 4. – P. 578–584.
50. Edelhauser, H. F. The cornea and the sclera / H. F. Edelhauser, J. L. Ubels. – Text :immediate // Kaufman, P. L. Adler's physiology of the eye : clinical application / P. L. Kaufman, A. Aim. – St Louis: Elsevier Science, 2003. – Ed. 10 – P. 47.

51. Efficacy and safety of descemet's membrane endothelial keratoplasty versus descemet's stripping endothelial keratoplasty: A systematic review and meta-analysis / S. Li, L. Liu, W. Wang [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0182275. – Text : electronic // PLoS One. – 2017. – Vol. 12, № 12. – e0182275.
52. Eghrari, A. O. Fuchs' corneal dystrophy / A. O. Eghrari, J. D. Gottsch. – DOI 10.1586/eop.10.8. – Text : electronic // Expert. Rev. Ophthalmol. – 2010. – Vol. 5, № 2. – P. 147–159.
53. Endothelial approach ultrathin corneal grafts prepared by femtosecond laser for descemet stripping endothelial keratoplasty / Y. C. Liu, E. P. Teo, K. B. Adnan [et al.]. – DOI 10.1167/iovs.14-15080. – Text : electronic // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2014. – Vol. 55, № 12. – P. 8393–8401.
54. Experimental posterior lamellar transplantation of the rabbit cornea: (ARVO abstract) / W. W. Ko, B. E. Frueh, C. K. Shield [et al.]. – Text : immediate // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1993. – Vol. 34. – P. 1102.
55. Extracellular matrix protein coating of processed fish scales improves human corneal endothelial cell adhesion and proliferation / Y-J. Hsueh, D. H. - K. Ma, K. S.–C. Ma [et al.]. – DOI 10.1167/tvst.8.3.27. – Text : electronic // Trans. Vis. Sci. Tech. – 2019. – Vol. 8, № 3. – P. 27.
56. Eye Bank Association of America. Available at: https://issuu.com/moiremarketing/docs/ebaa6134__ebaa_2015_yir_online_fina?e=1631814/15343138. – Text : electronic
57. Eye Bank Association of America. Available at: <https://restoresight.org/what-we-do/publications/statistical-report>. – Text : electronic
58. Eye bank-prepared femtosecond laser-assisted automated descemet membrane endothelial grafts / G. J. Jardine, J. D. Holiman, J. D. Galloway [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0000000000000453. – Text : electronic // Cornea. – 2015. – Vol. 34, № 7. – P. 838–843.
59. Fajgenbaum, M. A. Modeling endothelial cell loss after descemet stripping endothelial keratoplasty / M. A. Fajgenbaum, E. J. Hollick. – DOI

- 10.1097/ICO.0000000000001177. – Text : electronic // *Cornea*. – 2017. – Vol. 36, № 5. – P. 553–560.
60. Femtosecond and excimer laser–assisted endothelial keratoplasty (FELEK): a new technique of endothelial transplantation / L Trinh., B. Saubaméa, F. Auclin [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0b013e31826429d5. – Text : electronic // *J. Fr. Ophtalmol.* – 2014. – Vol. 37, № 3. – P. 211–219.
61. Femtosecond laser assisted descemet’s stripping endothelial keratoplasty / Y. Y. Cheng, E. Pels, R. M. Nuijts [et al.]. – DOI 10.1016/j.jcrs.2006.07.044. – Text : electronic // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2007. – Vol. 33, № 1. – P. 152–155.
62. Femtosecond laser creation of donor cornea buttons for Descemet–stripping endothelial keratoplasty / J. S. Mehta, R. Shilbayeh, Y.M. Por [et al.]. – DOI 10.1016/j.jcrs.2008.07.028. – Text : electronic // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2008. – Vol. 34, № 11. – P. 1970–1975.
63. Femtosecond laser cutting of endothelial grafts / A. Bernard, Z. He, A. S. Gauthier [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0000000000000314. – Text : electronic // *Cornea*. – 2015. – Vol. 34, № 2. – P. 209–217.
64. Geroski, D. H. Pump function of the human corneal endothelium / D. H. Geroski, M. Matsuda, R. W. Yee [et al.] // *Ophthalmology*. – 1985. – Vol. 92, № 6. – P. 759–763.
65. Gorovoy, M. S. Descemet–stripping automated endothelial keratoplasty / M. S. Gorovoy. – DOI 10.1097/01.ico.0000214224.90743.01. – Text : electronic // *Cornea*. – 2006. – Vol. 25, № 8. – P. 886–889.
66. Hogan, M. J. *Cornea. The Limbus* / M. J. Hogan, J. A. Alavarado, E. Weddell – Text : immediate // *Histology of the Human Eye. An Atlas and Textbook*. – Philadelphia, W. B. Saunders, 1971. – P. 55–182.
67. Human corneal anatomy redefined : a novel pre–descemet’s layer (Dua’s layer) / H. S. Dua, L. A. Faraj, D. G. Said [et al.]. – DOI 10.1016/j.optha.2013.01.018. – Text : electronic // *Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 120, № 9. – P. 1778–1785.

68. Human corneal endothelial cell transplantation using nanocomposite gel sheet in bullous keratopathy / P. Parikumar, K. Haraguchi, R. Senthilkumar, S. J. Abraham. – Text : immediate // *Am. J. Stem. Cells.* – 2018. – Vol. 7, № 1. – P. 18-24.
69. IC3D classification of corneal dystrophies – edition 2 / J. S. Weiss, H. U. Møller, A. J. Aldave [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0000000000000307. – Text : electronic // *Cornea.* – 2015. – Vol. 34, № 2. – P. 117–159.
70. Immunohistochemical profiling of corneas with fuchs endothelial corneal dystrophy / A.–K. De Roo, T. Janssens, B. Foets, J. J. van den Oord. – DOI 10.1097/ICO.0000000000001212. – Text : electronic // *Cornea.* – 2017. – Vol. 36, № 7. – P. 866–874.
71. Injection of cultured cells with a ROCK inhibitor for bullous keratopathy / S. Kinoshita, N. Koizumi, M. Ueno [et al.]. – DOI 10.1056/NEJMoa1712770. – Text : electronic // *N. Engl. J. Med.* – 2018. – Vol. 378, № 11. – P. 995–1003.
72. Intraocular lens opacification after descemet stripping automated endothelial keratoplasty / M. A. Ahad, K. Darcy, S. D. Cook, D. M. Tole. – DOI 10.1097/ICO.0000000000000279. – Text : electronic // *Cornea.* – 2014. – Vol. 33, № 12. – P. 1307–1311.
73. Inverse cutting of posterior lamellar corneal grafts by a femtosecond laser / J. Hjortdal, E. Nielsen, A. Vestergaard, A. Søndergaard. – DOI 10.2174/1874364101206010019. – Text : electronic // *Open. Ophthalmol. J.* – 2012. – Vol. 6, № 1. – P. 19–22.
74. Ivarsen, A. Clinical outcome of descemet's stripping endothelial keratoplasty with femtosecond laser-prepared grafts / A. Ivarsen, J. Hjortdal. – DOI 10.1111/aos.13672. – Text : electronic // *Acta. Ophthalmologica.* – 2018. – Vol. 96, № 5. – e655–e656.
75. Johnson, D. H. The ultrastructure of Descemet's membrane: I. Changes with age in normal corneas / D. H. Johnson, W. M. Bourne, R. J. Campbell. –

- DOI 10.1001/archophth.1982.01030040922011. – Text : electronic // Arch. Ophthalmol. – 1982. – Vol. 100, № 12. – P. 1942-1947.
76. Jones, D. T. Endothelial lamellar keratoplasty (ELK): ARVO abstract / D. T. Jones, W. W. Culbertson. – Text : immediate // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1998. – Vol. 39. – P. 876.
77. Joyce, N. C. Cell cycle protein expression and proliferative status in human corneal cells / N. C. Joyce, B. Meklikr, S. J. Joyce, J. D. Zieske. – Text : immediate // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1996. – Vol. 37, № 4. – P. 645-655.
78. Joyce, N. C. Mechanisms of mitotic inhibition in corneal endothelium: Contact inhibition and TGF-beta2 / N. C. Joyce, D. L. Harris, D. M. Mello. – Text : immediate // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2002. – Vol. 43, № 7. – P. 2152-2159.
79. Kaufman, H. E. The human corneal endothelium / H. E. Kaufman, J. A. Capella, J. E. Robbins. – Text : immediate // Am. J. Ophthalmol. – 1966. – Vol. 61, № 5. – P. 835-841.
80. Magnetic human corneal endothelial cell transplant: delivery, retention, and short-term efficacy / X. Xia, M. Atkins, R. Dalal [et al.]. – DOI 10.1167/iovs.18-26001. – Text : electronic // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2019. – Vol. 60, № 7. – P. 2438–2448.
81. Mikrokeratom – und Excimer–Laser–gestützte endotheliale keratoplastik (MELEK) / C. Thannhäuser, K. Palka, H. Herbst [et al.]. – DOI 10.1055/s-0034-1383094. – Text : electronic // Klin. Monbl. Augenheilkd. – 2014. – Vol. 231, № 10. – P. 1008–1011.
82. Neff, K. D. Comparison of Central Corneal Graft Thickness to Visual Acuity Outcomes in Endothelial Keratoplasty / K. D. Neff, J. M. Biber, E. J. Holland. – DOI 10.1097/ICO.0b013e3181f236c6. – Text : electronic // Cornea. – 2011. – Vol. 30, № 4. – P. 388–391.
83. Nonmechanical posterior lamellar keratoplasty using the femtosecond laser (femto-plak) for corneal endothelial decompensation / B. Seitz, A.

- Langenbucher, C. Hofmann–Rummelt [et al.]. – DOI 10.1016/s0002-9394(03)00449-5. – Text : electronic // *Am. J. Ophthalmol.* – 2003. – Vol. 136, № 4. – P. 769–772.
84. Olsen, E. G. The healing of human corneal endothelium. An in vitro study / E. G Olsen, M. Davanger. – DOI 10.1111/j.1755-3768.1984.tb08439.x. – Text : electronic // *Acta. Ophthalmol. (Copenh).* – 1984. – Vol. 62, № 6. – P. 885–892.
85. Opacification of the intraocular lens after descemet stripping endothelial keratoplasty / C. P. Nieuwendaal, I. J. E. van der Meulen, E. K. Patryn [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0000000000000574. – Text : electronic // *Cornea.* – 2015. – Vol. 34, № 11. – P. 1375–1377.
86. Pan–corneal endothelial viability assessment: application to endothelial grafts predissected by eye banks / A. Pipparelli, G. Thuret, D. Toubeau [et al.]. – DOI 10.1167/iovs.10-6641. – Text : electronic // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2011. – Vol. 52, № 8. – P. 6018–6025.
87. Pepose, J. S. The cornea / J. S. Pepose, J. L. Ubels – Text : electronic // *Hart W. M. Jr. Adler 's physiology of the eye: clinical application / W. M. Hart.* – ed 9. – St Louis: Mosby, 1992. – P. 29. – Text : immediate.
88. Polack, F. M. Queratoplastialamelar posterior / F. M. Polack. – Text : immediate // *Rev. Peru. Oftalmol.* – 1965. – Vol. 2. – P. 62–64.
89. Posterior lamellar keratoplasty – comparison of deep lamellar endothelial keratoplasty and descemet stripping automated endothelial keratoplasty in the same patients: a patient's perspective / I. Bahar, W. Sansanayudh, E. Levinger [et al.]. – DOI 10.1136/bjo.2007.136630. – Text : electronic // *Br. J. Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 93, № 2. – P. 186–190.
90. Posterior lamellar keratoplasty using descemetorhexis and organ cultured donor corneal tissue (Melles technique) / C. P. Nieuwendaal, R. Lapid–Gortzak, I. J. van der Meulen, J. R Melles. – DOI 10.1097/01.ico.0000239002.92989.1a. – Text : electronic // *Cornea.* – 2006. – Vol. 25, № 8. – P. 933–936.

91. Precut tissue for descemet's stripping automated endothelial keratoplasty: vision, astigmatism, and endothelial survival / M. A. Terry, N. Shamie, E. S. Chen [et al.]. – DOI 10.1016/j.opht.2008.09.017. – Text : electronic // *Ophthalmology*. – 2009. – Vol. 116, № 2. – P. 248–256.
92. Precut tissue in descemet's stripping automated endothelial keratoplasty / E. S. Chen, M. A. Terry, N. Shamie [et al.]. – DOI 10.1016/j.opht.2007.11.032. – Text : electronic // *Ophthalmology*. – 2008. – Vol. 115, № 3. – P. 497–502.
93. Preliminary results of femtosecond laser–assisted descemet stripping endothelial keratoplasty / Y. Y. Cheng, F. Hendrikse, E. Pels [et al.]. – DOI 10.1001/archoph.126.10.1351. – Text : electronic // *Arch. Ophthalmol.* 2008. – Vol. 126, № 10. – P. 1351–1356.
94. Price, F. W. Descemet's stripping with endothelial keratoplasty in 200 eyes: early challenges and technique to enhance donor adherence / F. W. Price, M. O. Price. – DOI 10.1016/j.jcrs.2005.12.078. – Text : electronic // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2005. – Vol. 32, № 3. – P. 411–418.
95. Price, M. O. Descemet's stripping with endothelial keratoplasty / M. O. Price, F. Price. – DOI 10.1016/j.opht.2006.05.034. – Text : electronic // *Ophthalmology*. – 2006. – Vol. 113, № 11. – P. 1936–1942.
96. Protective effects of deswelling on stromal collagen denaturation after a corneal femtosecond laser cut / M. Rossi, R. Mistò, C. Gatto [et al.]. – DOI 10.1167/iovs.12-10818. – Text : electronic // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 54, № 6. – P. 4148–4157.
97. Quality of vision after femtosecond laser–assisted descemet stripping endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty: a randomized, multicenter clinical trial / Y. Y. Cheng, T. J. van den Berg, J. S. Schouten [et al.]. – DOI 10.1016/j.ajo.2011.03.012. – Text : electronic // *Am. J. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 152, № 4. – P. 556–566.
98. Refractive changes after descemet stripping endothelial keratoplasty: a simplified mathematical model / R. Y. Hwang, D. J. Gauthier, D. Wallace,

- N. A. Afshari. – DOI 10.1167/iavs.10-5839. – Text : electronic // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2011. – Vol. 52, № 2. – P. 1043-1054.
99. Sarnicola, V. Descemet–stripping automated endothelial keratoplasty by using suture for donor insertion / V. Sarnicola, P. Toro. – DOI 10.1097/ICO.0b013e31816f62bd. – Text : electronic // Cornea. – 2008. – Vol. 27, № 7. – P. 825–829.
100. Scheimpflug densitometry after DMEK versus DSAEK-Two-Year outcomes / K. Droutsas, A. Lazaridis, E. Giallouros [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0000000000001483. – Text : electronic // Cornea. – 2018. – Vol. 37, № 4. – P. 455–461.
101. Sikder, S. Femtosecond laser preparation of donor tissue from the endothelial side / S. Sikder, R. Snyder. – DOI 10.1097/01.icc.0000195948.86071.98. – Text : electronic // Cornea. – 2006. – Vol. 25, № 4. – P. 416–422.
102. StatSoft [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.statsoft.ru/home/portal/textbook_ind/default.htm. (Дата обращения 15.09.2020).
103. Systematic review and meta–analysis of clinical outcomes of descemet membrane endothelial keratoplasty versus descemet stripping endothelial keratoplasty / descemet stripping automated endothelial keratoplasty / A. Singh, M. Zarei–Ghanavati, V. Avadhanam, C. Liu. – DOI 10.1097/ICO.0000000000001320. – Text : electronic // Cornea. – 2017. – Vol. 36, № 11. – P. 1437–1443.
104. Tan, D. Future directions in lamellar corneal transplantation / D. Tan, J. Mehta. – DOI 10.1097/ICO.0b013e31812f685c. – Text : electronic // Cornea. – 2007. – Vol. 26, № 9 (Suppl. 1). – S. 21–28.
105. Technique for preparing ultrathin and nanothin descemet stripping automated endothelial keratoplasty tissue / A. Y. Cheung, J. H. Hou, P. Bedard [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0000000000001510. – Text : electronic // Cornea. – 2018. – Vol. 37, № 5. – P. 661–666.
106. Terry, M. A. Deep lamellar endothelial keratoplasty in the first United States patients: early clinical results / M. A. Terry, P. J. Ousley. – DOI 10.1097/

- 00003226-200104000-00001. – Text : electronic // *Cornea*. – 2001. – Vol. 20, № 1. – P. 239–243.
107. Textural interface opacity after descemet stripping automated endothelial keratoplasty / S. Vira, C. Y. Shih, N. Ragusa [et al.]. – Text : electronic // *Cornea*. – 2013. – Vol. 32, № 5. – P. e54–e59.
108. The IC3D classification of the corneal dystrophies / J. S. Weiss, H. U. Moller, W. Lisch [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0b013e31817780fb. – Text : electronic // *Cornea*. – 2008. – Vol. 27, (suppl. 2). – P. 1–42.
109. The lens opacities classification system III. The longitudinal study of cataract study group / L.T. Chylack, J. K. Wolfe, D. M. Singer [et al.]. – DOI 10.1001/archophth.1993.01090060119035. – Text : electronic // *Arch. Ophthalmol.* – 1993. – Vol. 111, № 6. – P. 831–836.
110. Tillett, C. W. Posterior lamellar keratoplasty. – DOI10.1016/0002-9394(56)91269-7. – Text : electronic // *Am. J. Ophthalmol.* – 1956. – Vol. 41, № 3. – P. 530-533.
111. Two–year clinical outcome of 500 consecutive cases undergoing descemet membrane endothelial keratoplasty / J. Peraza–Nieves, L. Baydoun, I. Dapena [et al.]. – DOI 10.1097/ICO.0000000000001176. – Text : electronic // *Cornea*. – 2017. – Vol. 36, № 6. – P. 655–660.
112. Verkman, A. S. Aquaporins and water transport in the cornea / A. S. Verkman. – Text : electronic // Tombran–Tink J., Barnstable C. J. *Ophthalmology research: ocular transporters in ophthalmic diseases and drug delivery*. – Totowa N. J., Ilamana Press, 2008. – P. 3-16.
113. Viability of human corneal endothelium following Optisol–GS storage / T. L. Means, D. H. Geroski, A. Hadley [et al.]. – DOI 10.1001/archophth.1995.01100060131047. – Text : electronic // *Arch. Ophthalmol.* – 1995. – Vol. 113, № 6. – P. 805–809.
114. Visual acuity, refractive error, and endothelial cell density six months after descemet stripping and automated endothelial keratoplasty (DSAEK) / S. B. Koenig, D. J. Covert, W. J. Dupps, D. M. Meisler. – DOI 10.1097/

- ICO.0b013e3180544902. – Text : electronic // *Cornea*. – 2007. – Vol. 26, № 6. – P. 670–674.
115. Wegener, A. Photography of the anterior eye segment according to Scheimpflug's principle: options and limitations – a review / A. Wegener, H. Laser-Junga. – DOI 10.1111/j.1442-9071.2009.02018.x. – Text : electronic // *Clin. Exp. Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 37, № 1. – P. 144–154.
116. Yüksel, B. Endothelial cell viability of donor corneas preserved in eusol–c corneal storage medium / B. Yüksel, U. D. Uzunel, T. Küsbeci. – DOI 10.6002/ect.2014.0295. – Text : electronic // *Exp. Clin. Transplant.* – 2016. – Vol. 14, № 4. – P. 441–444.
117. Zieske, J. D. Extracellular vesicles and cell-cell communication in the cornea / J. D. Zieske, A. E. K. Hutcheon, X. Guo. – DOI 10.1002/ar.24181. – Text : electronic // *Anat. Rec. (Hoboken)*. – 2020. – Vol. 303, № 6. – P. 1727-1734.