

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора Шелудченко Вячеслава Михайловича на диссертационную работу Паштаева Алексея Николаевича на тему «Реабилитация пациентов с дистрофией роговицы Фукса и буллезной кератопатией на основе послойной кератопластики с применением различных лазерных систем», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.07 – глазные болезни

### **Актуальность темы диссертации**

В последнее время реконструктивная хирургия переднего отдела глаза при осложнениях катарактальной хирургии и генетически детерминированных заболеваниях роговицы сделала большой скачок, благодаря развитию новых технологий.

Заболевания эндотелия роговицы могут носить первичный характер – дистрофия Фукса (ДФ) и вторичный - после оперативных вмешательств на глазном яблоке, травм, воспалительных процессов – буллезная кератопатия (БК). Частота для первого заболевания в среднем 4 – 4,5% для пациентов старше 50-ти лет и имеет неравномерное географическое распространение. Дистрофия роговицы Фукса характерна больше для стран Европы и США, - меньше - для стран Азии. По некоторым данным, женщины страдают чаще мужчин, приблизительное соотношение составляет 3:1. По данным одномоментного исследования заболеваемости первичной эндотелиальной дистрофией роговицы Фукса в РФ по обращаемости в ЛПУ, ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» МЗ РФ, проведённого в 2014-2016 гг., распространенность заболевания среди пациентов с катарактой составляет 4,1%, при этом соотношение женщин и мужчин равно 3,8:1.

Операция задней автоматизированной послойной кертопластики ЗАПК или DSAEK, выполненная по стандартной методике с использованием механического микрokerатома для заготовки трансплантата в настоящее время является наиболее часто применяемым хирургическим методом в реабилитации больных. Существующая погрешность механического кератома (МК) в виде недостаточного уровня точности для достижения регулярно воспроизводимого результата - стабильной заданной толщины трансплантата при выкраивании - часто приводит к получению слишком толстых трансплантатов, снижающих остроту зрения после операции, либо к перфорации и выбраковке донорского материала, что совершенно недопустимо при имеющемся его дефиците кадаверного материала.

Логической альтернативой механическому является фемтолазерный кератом, обеспечивающий точность реза на уровне десятков микрометров. Принцип работы фемтосекундного лазера (ФСЛ) основан на фотодеструкции. В основе процесса лежат электрооптические пробои ткани, возникающий вследствие высвобождения большого количества сильно ионизованной плазмы с высокой плотностью заряженных частиц и высокой температурой в ограниченном объеме. Образующаяся в точке воздействия лазерного излучения плазма, приводит к созданию мощной ударной волны и микроразрыву ткани. Не смотря на высокую точность реза, формирование трансплантата со стороны передней поверхности роговицы донора не позволяет получить у пациента высокие зрительные функции. Одной из возможных причин невысоких зрительных результатов при использовании донорского трансплантата, подготовленного с помощью ФСЛ с эпителиальной стороны, является недостаточное качество стромальной поверхности трансплантата. Другой проблемой является получение лентикулы с различной толщиной в центре и на периферии ввиду природной неравномерности толщины роговицы, а также её деформации при аппланации лазерного интерфейса.

Для исключения перечисленных недостатков в данной работе была предложена модифицированная техника выкраивания трансплантата с эндотелиальной стороны (инвертная техника задней послойной фемторекератопластики (Ф-ЗПК). Такой подход позволил провести срез на небольшом расстоянии от источника излучения и сформировать равномерную лентикулу.

В то же время, возможность получения равномерного трансплантата предсказуемой толщины еще не в полной мере определяет конечный функциональный результат, который не всегда сопоставим с результатами классической ЗАПК. Это создаёт необходимость в продолжении исследований по оптимизации метода.

Эксимерный лазер, способный производить высокоточную абляцию ткани на строго заданную глубину, также может быть использован в технологии кератопластики, и такое применение может в значительной степени помочь формировать тонкие трансплантаты. Что также использовано и изучено в настоящей диссертации.

Учитывая, все выше перечисленное, тема диссертационной работы А. Н. Паштаева является актуальной.

#### **Оценка содержания диссертации и ее завершенности**

Данная диссертация посвящена разработке системы хирургической реабилитации больных с эндотелитальной дистрофией роговицы на основе задней послойной кератопластики с ультратонким трансплантатом, заготовленным с использованием фемтосекундного или эксимерного лазеров, и оценить клинико-функциональные результаты лечения пациентов.

Диссертация изложена по классическому принципу на 310 листах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя. Работа иллюстрирована 135 рисунками и 75 таблицами. Список литературы содержит 347 источников, из них 54 на русском языке и 293 – на английском.

В обзоре литературы автор подробно излагает историю, эпидемиологию и современные подходы к проблеме эндотелиальной дистрофии (ЭД) роговицы, останавливается на особенностях клиники и диагностики заболевания. Далее всесторонне анализирует современные методы лечения больных с этой патологией. В результате соискатель приходит к выводу, что проведение пересадки роговицы по методике задней автоматизированной послойной кератопластики является наиболее эффективным радикальным методом лечения ЭД роговицы. При этом автор заключает, что слабой стороной метода являются: риск перфорации при заготовке и плохо прогнозируемая толщина трансплантата, а применение фемтосекундного и эксимерного лазера в операции может позволить стандартизировать методику и повысить её повторяемость в точности.

Во 2-й главе автор приводит технические данные двух фемтосекундных и эксимерных лазеров, даёт характеристику экспериментального материала, описывает методику сканирования поверхности трансплантата с помощью атомно-силовой микроскопии. Подсчёт живых и мёртвых эндотелиальных клеток проводили с применением витальных красителей. Для окрашивания живых клеток использовали Calcein Violet 450 AM Viability Dye – мембрально-проницаемый краситель, окраивающий цитоплазму живых клеток и клеток, находящиеся на ранней стадии апоптоза в синий цвет. Клетки, находящиеся на поздней стадии апоптоза, и мертвые клетки визуализировали с помощью красителя Propidium Iodide, который окрашивает ядра красным. Отсутствие окрашивания этим маркером подтверждает целостность мембраны живых клеток и клеток на ранней стадии апоптоза.

Глава содержит полный перечень современных методов обследования пациентов с ЭД роговицы, таких как оптическая когерентная томография, денситометрия и подсчёт эндотелиальных клеток *in vivo*. В данной главе дается полная клинико-функциональная характеристика 281 глаз 257 пациентов с ДФ и БК из которых было сформировано 8 групп.

В 3-й главе приводятся результаты исследований по разработке методов заготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики с эндотелиальной поверхности роговицы донора с применением фемтосекундного и эксимерного лазеров. Таким образом, в ходе исследования был разработан метод заготовки ультратонкого трансплантата для ЗПК с эндотелиальной поверхности донорской роговицы с применением ФСЛ российского производства Визум (патент № 2622200 от 11.08.2016) и метод заготовки ультратонкого трансплантата для ЗАПК с помощью последовательного применения механического микрokerатома и эксимерного лазера российского производства Микроскан 500 в режиме «простая ФТК» (патент № 2629211 от 06.10.2016).

Атомно-силовая микроскопия (ACM) поверхности, формируемой при помощи ФСЛ Визум и эксимерного лазера Микроскан 500 в задних слоях донорской роговицы, продемонстрировала значение параметра RMS, соответствующее достигнутому с помощью механического микрokerатома ( $p>0,05$ ), что говорит о высоком качестве формируемой поверхности и, как следствие, хороших оптических свойствах трансплантата, и демонстрирует перспективность его применения для восстановления прозрачности роговицы пациентов с ДФ и БК с достижением высоких зрительных функций.

С целью исследования безопасности разработанного способа применения ФСЛ для заднего эпителия донорской роговицы, была проведена оценка потери ЭК при заготовке УТ трансплантата с задней её поверхности с помощью ФСЛ российского производства Визум и выполнен сравнительного анализа с их гибелью при выкраивании по технологии 2-х срезов микрokerатомом. Исследование выявило потерю ЭК, с связанную с заготовкой трансплантата толщиной 130 мкм с эндотелиального доступа с помощью ФСЛ Визум, равную 12,4%. При этом эксперимент, изучавший потерю ЭК, связанную с изолированной аппланацией лазерного интерфейса, продемонстрировал цифру в 14%. Эти данные соотносятся с представлением о безопасности лазерной энергии для эндотелия роговицы на дистанции в 130

МКМ и превалирующем значении механического его повреждения интерфейсом ФСЛ при аппланации. При проведении прямого сравнения потери ЭК при заготовке УТ трансплантата с помощью ФСЛ Визум ( $13,4\pm4,8\%$ ) и механического микрокератома методом 2-х срезов ( $10,4\pm5,0\%$ ) не было выявлено статистически достоверной разницы между группами ( $p>0,05$ ). Таким образом, жизнеспособными являлись от 82,7 до 86,6% клеток на трансплантате нового типа, что свидетельствует о безопасности разработанного метода для трансплантируемого эндотелия донора.

Глава №4 посвящена описанию хирургической технологии лечения пациентов с эндотелиальной дистрофией роговицы, которая включает описание техник и приёмов, применяемых при проведении операций у пациентов с различной сопутствующей патологией, такой как афакия, наличие имплантированной ПК, факичной или зрачковой ИОЛ, выполненная ранее СКП или ЗПК. Даются подробные рекомендации по профилактике и ведению интраоперационных осложнений.

Представленная хирургическая технология позволила во всех случаях (281 из 281, 100%) завершить операцию адаптацией ультратонкого трансплантата к задней поверхности роговицы реципиента. Разработанный метод фиксации донорской ткани в осложнённых случаях ЗПК с помощью шва даёт возможность успешно провести лечение больных с частичной аниридией и псевдоирисофакией, когда не удается осуществить качественную воздушную или газовую тампонаду ПК глаза реципиента и во всех случаях добиться адгезии в раннем и позднем послеоперационном периоде без необходимости репозиции и дополнительного введения воздуха или газо-воздушно смеси.

В разработанном технологическом процессе, вероятность перфорации трансплантата при его заготовке для ЗАПК и Э-ЗАПК приблизилась к нулю. При этом, любой трансплантат, сформированный с помощью микрокератома, который получался слишком тонким для выполнения второго реза, но, при

этом, толще 130 мкм, был подвергнут последующей фотоабляции до необходимой толщины, что позволило в 100 % случаев получить ультратонкий трансплантат. Таким образом, был достигнут результат: 110 ультратонких трансплантатов из 110 роговиц, 0% перфорации.

В 5-й главе проведена оценка ранних и отдалённых клинико-функциональных результатов задней послойной фемто-кератопластики и эксимер-ассистированной задней автоматизированной послойной кератопластики. Методом оптической когерентной томографии, изучена динамика дегидратации комплекса «донор-реципиент», толщина трансплантата в центральной зоне и индекс центр-периферия при выкраивании роговичного лоскута с применением фемтосекундного и эксимерного лазеров. Методом прижизненной эндотелиальной биомикроскопии проведён анализ потери трансплантированных клеток на различных сроках послеоперационного периода после задней послойной фемто-кератопластики и эксимер-ассистированной задней автоматизированной послойной кератопластики.

В ходе работы показано, что применение новых разработанных способов заготовки ультратонкого трансплантата для лечения больных ДФ и БК методом ЗПК, позволило увеличить остроту зрения пациентов по сравнению с дооперационными показателями во всех исследуемых группах ( $p<0,05$ ). Ф-ЗПК с применением ультратонкого трансплантата, заготовленного с помощью ФСЛ Визум для лечения пациентов с ДФ, позволяет достичь более высоких зрительных функций с меньшей потери ЭК, по сравнению с Ф-ЗПК, выполненной с помощью ФСЛ Z8. Ф-ЗПК с применением ультратонкого трансплантата, заготовленного с помощью ФСЛ Визум для лечения пациентов

с БК, позволяет достичь зрительных функций, сопоставимых с таковыми при применении ФСЛ Z8, при этом, потеря ЭК на том же сроке наблюдения ниже в группе пациентов 1Б (Визум). Э-ЗАПК с применением ультратонкого трансплантата, заготовленного с помощью последовательного применения механического микрекератома и эксимерного для лечения пациентов с ДФ и БК, позволяет достичь сопоставимых со стандартной ЗАПК зрительных функций и потери ЭК.

#### **Научная новизна диссертационной работы**

Впервые разработан и экспериментально обоснован метод заготовки ультратонкого эндотелиального трансплантата с помощью фемтосекундного и эксимерного лазеров позволяющий получить лентикулу донорской роговицы искомой толщины без риска перфорации трансплантата. Он клинически апробирован и подтвержден наблюдениями до 3 лет.

Впервые методом АСМ получены сравнительные данные о качестве поверхности среза, формируемого в глубоких слоях донорской роговицы при заготовке ультратонкого трансплантата с её эндотелиальной поверхности с помощью фемтосекундных лазеров 2-х различных моделей

Впервые в ходе лабораторного исследования с применением витальных красителей получены данные о потере клеток заднего эпителия донорской роговицы при заготовке ультратонкого трансплантата с её эндотелиальной поверхности с применением ФСЛ по разработанной технологии и влиянии изолированной аппланацации интерфейса на те же структуры.

Впервые проведена сравнительная оценка потери ЭК при формировании трансплантата с помощью ФСЛ и механического микрекератома.

Впервые проведена сравнительная оценка клинико-функциональных результатов лечения пациентов с ДФ и БК методом Ф-ЗПК с применением ультратонких трансплантатов, выкроенных с эндотелиальной поверхности донорской роговицы с помощью 2-х различных фемтосекундных лазеров.

Впервые проведена сравнительная оценка динамики дегидратации комплекса

«донор-реципиент», толщины трансплантата в центральной зоне и соотношения «центр-периферия», а также гиперметропического сдвига рефракции

Впервые, методом оптической денситометрии, проведена сравнительная оценка состояния роговицы реципиента и трансплантата в послеоперационном периоде Ф-ЗПК у пациентов с ДФ и БК, пролеченных с применением ультратонких трансплантатов, выкроенных с эндотелиальной поверхности донорской роговицы с помощью фемтосекундных лазеров 2-х разных моделей.

Использованные статистические методы соответствуют поставленным задачам и дизайну отдельных исследований, входящих в состав диссертации.

Задачи, поставленные в работе, соответствуют цели исследования, выводы отражают результаты и в полной мере реализуются в практических рекомендациях.

Публикации отражают содержание диссертации.

#### **Вопросы и замечания**

Принципиальных замечаний и вопросов по содержанию и изложению работы не имею.

В порядке обсуждения предложены следующие вопросы:

1. Какова ваша собственная версия формирования и динамики гиперметропической рефракции при предложенной вами технологии проведения ЗАПК на различных этапах мониторинга?
2. Как по вашему мнению возможно снизить негативное воздействие эксимерной фотоабляции в виде формирования хэйза при комбинированной технологии ЗАПК?

#### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Паштаева Алексея Николаевича на тему: «Реабилитация пациентов с дистрофией роговицы Фукса и буллезной кератопатией на основе послойной кератопластики с

применением различных лазерных систем», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, может быть классифицирована как самостоятельная завершенная научно-квалификационная работа, на основании которой решена крупная научно-практическая задача: разработка системы хирургической реабилитации больных с дистрофией Фукса и буллёзной кератопатией на основе задней послойной кератопластики трансплантатами сформированными комбинацией различных лазерных систем и микрокератома.

По своим характеристикам работа полностью соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного ПП РФ от 24.09.2013 № 842 (с изменениями от 21.04.2016 №335 «О внесении изменений в положение о порядке присуждения ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук. Автор диссертационного исследования заслуживает присуждения степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.07 – глазные болезни.

Официальный оппонент,

д.м.н., профессор

«\_\_\_» 2021 г.

В.М. Шелудченко

Подпись профессора В.М. Шелудченко заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ НИИ ГБ

«\_\_\_» 2021 г.

Юридический и почтовый адрес:

Россия, 119021, Москва, ул. Россолимо, 11 А

Телефон: +7 (499) 248-04-69

Сайт в интернете: [niigb.ru](http://niigb.ru).

E-mail: [info@eyeacademy.ru](mailto:info@eyeacademy.ru)

