

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«МЕЖОТРАСЛЕВОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
«МИКРОХИРУРГИЯ ГЛАЗА» ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.Н. ФЕДОРОВА»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

КУЗЬМИЧЕВ КОНСТАНТИН НИКОЛАЕВИЧ

**КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ
ЗАДНЕЙ ПОСЛОЙНОЙ КЕРАТОПЛАСТИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
УЛЬТРАТОНКОГО ТРАНСПЛАНТАТА, ЗАГОТОВЛЕННОГО С
ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ПОВЕРХНОСТИ РОГОВИЦЫ С ПОМОЩЬЮ
НИЗКОЧАСТОТНОГО ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА**

3.1.5 – Офтальмология

диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

д.м.н., профессор

Малюгин Борис Эдуардович

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса: эпидемиология, патогенез, клинико-генетические формы	11
1.2. Буллезная кератопатия: этиология, патогенез	17
1.3. Исторические аспекты развития кератопластики.....	19
1.3.1. Сквозная кератопластика	19
1.3.2. Развитие эндотелиальной кератопластики	21
1.4. Современные методики эндотелиальной кератопластики	24
1.4.1. Задняя автоматизированная послойная кератопластика.....	24
1.4.2. Трансплантация Десцеметовой мембраны с эндотелием	28
1.4.3. Фемтоассистированная задняя послойная кератопластика	35
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	44
2.1. Дизайн исследования.....	44
2.2. Материал и методы экспериментального исследования	46
2.3. Характеристика фемтосекундных лазеров.....	47
2.4. Стандартная технология заготовки ультратонкого трансплантата при помощи высокочастотного ФСЛ.....	49
2.5. Количественная оценка воздействия фемтолазерной энергии на эндотелиальные клетки и кератоциты	51
2.6. Количественная оценка качества формируемой стромальной поверхности ультратонкого трансплантата после его заготовки с использованием двух различных фемтолазерных систем.....	52
2.7. Материалы клинико-функциональных исследований	53
2.7.1. Характеристика пациентов группы 1А.....	56

2.7.2. Характеристика пациентов группы 1Б	56
2.7.3. Характеристика пациентов группы 2А	57
2.7.4. Характеристика пациентов группы 2Б	57
2.8. Методы клинико-функциональных исследований	58
2.9. Методы статистических исследований	61
ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ УЛЬТРАТОНКИХ ТРАНСПЛАНТАТОВ, ЗАГОТОВЛЕННЫХ С ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ПОВЕРХНОСТИ РОГОВИЦЫ ПРИ ПОМОЩИ НИЗКОЧАСТОТНОГО ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА, В СРАВНИТЕЛЬНОМ АСПЕКТЕ С ВЫСОКОЧАСТОТНЫМ ФЕМТОСЕКУНДНЫМ ЛАЗЕРОМ	62
3.1. Разработка в эксперименте технологии заготовки ультратонкого донорского роговичного трансплантата при помощи низкочастотного фемтосекундного лазера	62
3.2. Экспериментальное исследование воздействия фемтолазерной энергии на эндотелиальные клетки и кератоциты при заготовке трансплантата	66
3.2.1. Сравнительный анализ относительной потери эндотелиальных клеток при заготовке трансплантата при помощи двух различных фемтолазерных систем	67
3.2.2. Экспериментальное изучение воздействия двух различных фемтолазерных систем на кератоциты при заготовке трансплантата для ЗПК	70
3.3. Экспериментальное изучение качества формируемой стромальной поверхности ультратонкого трансплантата после его заготовки с использованием двух различных фемтолазерных систем	75
ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА НОВОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ДИСТРОФИЕЙ РОГОВИЦЫ ФУКСА И ПСЕВДОФАКИЧНОЙ БУЛЛЕЗНОЙ	

КЕРАТОПАТИЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДВУХ РАЗЛИЧНЫХ ФЕМТОЛАЗЕРНЫХ УСТАНОВОК	77
4.1. Разработка в клинике хирургического этапа комбинированной новой технологии задней послойной кератопластики с факоэмульсификацией катаркты и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок.....	77
4.2. Клинико-функциональные результаты разработанной технологии ФЛ-ЗПК .	84
4.3. Сравнительный анализ результатов оптической когерентной томографии и оптической плотности роговицы после выполненной ФЛ-ЗПК	94
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	101
ВЫВОДЫ	111
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	113
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	116

ВВЕДЕНИЕ

Задняя послойная кератопластика (ЗПК) является наиболее часто выполняемой операцией по пересадке донорской роговицы. По данным Ассоциации глазных банков США за 2019 год, процент выполнения задней автоматизированной послойной кератопластики/Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty (ЗАПК/ДСАЕК) был равным 34% от количества всех выполненных кератопластик в стране (Eye Bank Association of America: Statistical report on eye banking activity for 2019).

С тех пор, как Gorovoy M.S. с соавт. в 2006 г. впервые применили микрокератом при выкраивании трансплантата для ЗПК, эта методика получила широкое распространение. Однако применение автоматического микрокератома имеет ряд недостатков. Учитывая, что максимальной остроты зрения возможно достичь только при использовании ультратонкого трансплантата (Dapena I. et al., 2009; Jun B. et al., 2009), применение микрокератома для достижения желаемой толщины трансплантата, которая должна быть менее 130 мкм (Neff K. et al., 2011; Sikder S. et al., 2011; Busin M. et al., 2012; Малюгин Б.Э. с соавт., 2013), нередко приводит к перфорации и выбраковке донорского материала, что является неприемлемым в условиях дефицита донорского материала. По некоторым данным, величина потери донорского материала может достигать 29% (Woodward M.A. et al., 2014).

Решением проблемы может служить использование фемтосекундного лазера (ФСЛ) для выкраивания донорского ультратонкого трансплантата, что позволяет получить точный срез на уровне десятков микрон за счет предсказуемой фотодеструкции роговичной ткани на молекулярном уровне (Bloembergen N., 1974).

Первые попытки экспериментального применения ФСЛ для заготовки трансплантатов для ЗПК были предприняты Seitz В. с соавторами в 2003 г. В то время как первые клинические результаты представил Cheng Y.Y. с соавт в 2007 г., методика ЗПК с использованием ФСЛ для выкраивания трансплантата получила

название femtosecond laser-assisted Descemet stripping endothelial keratoplasty (FS DSEK).

Использование ФСЛ исключало перфорацию и последующую выбраковку донорского материала, однако привычное применение ФСЛ с эпителиальной стороны приводило к формированию стромальной поверхности трансплантата неоптимального качества, а также донорская лентикла имела неравномерную толщину в центральной зоне и на периферии по причине физиологически неравномерной толщины роговицы. Все это не позволяло получить высокую остроту зрения (Cheng Y.Y. et al., 2007; Mehta J.S. et al., 2008; Ziebarth N.M. et al., 2013).

Альтернативным методом фемтолазерной задней послойной кератопластики (ФЛ-ЗПК) является выкраивание трансплантата при помощи ФСЛ с эндотелиальной поверхности роговой оболочки. В таком случае трансплантат получается равномерный и высокого качества. Наибольшее распространение для инвертной методики получил высокочастотный ФСЛ - Ziemer Femto LDV Z6, Z8 (Нероев В.В. с соавт., 2013; Mehta J.S. et al., 2014).

В России применение данного ФСЛ изучалось достаточно подробно на протяжении последних лет (Погорелова С.С. с соавт., 2016; Яковлева С.С., 2017; Шилова Н.Ф., 2019). Его использование приводит к нулевому проценту выбраковки донорского материала, позволяет заготовить ультратонкий и равномерный донорский материал, а также достичь биологического эффекта операции, но, к сожалению, полученная максимальная острота зрения с трудом достигает 0,5, при этом потеря эндотелиальных клеток также высока.

Ввиду этого возникла необходимость поиска более подходящего фемтосекундного лазера, применение которого позволило бы достичь высоких рефракционных результатов, с сохранением всех вышеперечисленных преимуществ этой технологии. Сравнительный анализ результатов лечения новой методики ЗПК целесообразно проводить в сравнительном аспекте с наиболее часто используемым высокочастотным ФСЛ.

Цель исследования

Разработать в эксперименте и изучить в клинике методику задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого донорского роговичного трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера.

Задачи исследования

1. В эксперименте разработать метод заготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера и определить оптимальные параметры его работы.
2. В эксперименте с применением флуоресцентных красителей изучить воздействие фемтолазерной энергии на эндотелиальные клетки и кератоциты при заготовке ультратонкого трансплантата с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с высокочастотным.
3. В эксперименте методом атомно-силовой микроскопии провести сравнительный анализ качества поверхности ультратонкого трансплантата, заготовленного с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с высокочастотным.
4. Разработать в клинике хирургический этап технологии задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера
5. На основании анализа клинико-функциональных результатов лечения пациентов с эндотелиальной дистрофией роговицы Фукса и псевдофакичной буллезной кератопатией, прооперированных методом задней послойной кератопластики с применением ультратонкого трансплантата, заготовленного с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с высокочастотным, доказать эффективность и безопасность новой технологии.

6. На основании методов оптической когерентной томографии и денситометрии роговицы оценить в послеоперационном периоде центральную толщину роговицы, толщину и индекс Ц:П ультратонкого трансплантата, а также оптическую плотность роговицы реципиента для определения восстановления ее прозрачности и равномерности сформированного трансплантата после задней послойной кератопластики с использованием низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с применением высокочастотного.

Научная новизна

1. Впервые разработан метод заготовки ультратонкого трансплантата с эндотелиальной поверхности с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера и определены оптимальные энергетические параметры его работы.
2. Впервые с помощью флуоресцентного красителя исследовано воздействие на эндотелий и кератоциты ультратонкого трансплантата низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с высокочастотным.
3. Впервые методом атомно-силовой микроскопии получены данные о качестве поверхности ультратонкого трансплантата, заготовленного с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с высокочастотным.
4. Впервые получены сравнительные данные о клинико-функциональных результатах лечения и изучена потеря эндотелиальных клеток в послеоперационном периоде у пациентов с эндотелиальной дистрофией роговицы Фукса и псевдофакичной буллезной кератопатией, прооперированных методом задней послойной кератопластики с применением ультратонкого трансплантата, заготовленного с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с высокочастотным.
5. Впервые методом оптической когерентной томографии роговицы произведена оценка в послеоперационном периоде центральной толщины роговицы реципиента, а также толщины и индекса Ц:П ультратонкого трансплантата

после задней послойной кератопластики с использованием для заготовки трансплантата низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с высокочастотным.

6. Впервые методом денситометрии с помощью ротационной Шаймпфлюг – камеры определена оптическая плотность роговицы реципиента после проведения задней послойной кератопластики с использованием донорского трансплантата, заготовленного с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с высокочастотным.

Практическая значимость

1. Разработанный метод аппланации низкочастотного фемтосекундного лазера и выкраивания трансплантата позволяет в 100% случаев получить равномерный ультратонкий трансплантат без риска его перфорации.
2. Разработанные параметры работы низкочастотного фемтосекундного лазера (глубина – 130 мкм, энергия – 0,8 мкДж, расстояние между точками – 8 мкм, между рядами – 8 мкм) позволяют получить равномерный по толщине и форме ультратонкий трансплантат с достаточно качественной поверхностью.
3. Экспериментальное изучение воздействия фемтолазерной энергии на кератоциты выявило наличие мертвых клеток вплоть до глубины 117 мкм. Из чего следует, что уменьшение толщины трансплантата менее 100 мкм не является целесообразным, так как может оказывать негативное воздействие на эндотелиальные клетки.

Основное положение, выносимое на защиту

Разработанная технология задней послойной кератопластики, основанная на использовании ультратонкого и равномерного по толщине трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью оптимизированных настроек низкочастотного фемтосекундного лазера, является безопасной, оказывает минимальное воздействие на структуру и клеточный состав

трансплантата и обладает высокой биологической и клинической эффективностью.

Внедрение результатов работы в клиническую практику

Результаты исследований и разработанная методика внедрены в практическую деятельность головной организации 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 на кафедре глазных болезней ИНПО ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России.

Апробация работы

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на XIX и XX Международных научно-практических конференциях «Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии» (Москва, 2018, 2019); на XV и XVI Всероссийских научных конференциях «Федоровские чтения» (Москва 2018, 2019); на XXXVII Конгрессе Европейского общества катарактальных и рефракционных хирургов (Париж 2019); на съезде Всеиндийского общества офтальмологов 2019 (Индор); на конференции «Роговицы онлайн» 2020; на совместной онлайн-конференции Общества офтальмологов России и Всеиндийского общества офтальмологов 2020; на XII Съезде Общества офтальмологов России (2020).

Публикации

По теме диссертации опубликованы 4 печатные работы в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, из них – 2 статьи, входящие в

международную базу данных «Scopus», получены 2 патента Российской Федерации на изобретение: № 2689884 от 29.05.2019 и № 2727871 от 24.07.2020.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 148 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам, а также двух глав с результатами экспериментальных и клинических исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа проиллюстрирована 29 рисунками и содержит 29 таблиц. Список использованной литературы включает 263 источника, из них 37 отечественных и 226 иностранных. Работа выполнена на базе ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в отделе трансплантационной и оптико-реконструктивной хирургии переднего отрезка глазного яблока и на базе Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем головной организации. Часть экспериментального исследования была выполнена на базе Института окружающей среды и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО) Тюменского государственного университета.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса: эпидемиология, патогенез, клиничко-генетические формы

Эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса (ДФ) – это ассиметричная, двусторонняя, медленно прогрессирующая патология, которая проявляется эндотелиальной дисфункцией, а также отложением каплевидных образований – экстрацеллюлярного матрикса (гутт), утолщением Десцеметовой мембраны (ДМ) и прогрессирующей потерей эндотелиальных клеток роговицы [96, 105, 240, 245, 253, 252].

ДФ впервые была описана в 1902 году австрийским офтальмологом E. Fuchs как «эпителиальная дистрофия роговицы» [105]. В дальнейшем название было изменено, так как было доказано, что первично идет повреждение эндотелия, а отек эпителия возникает вторично, на поздней стадии заболевания [92].

Термин «каплевидные наросты» (*cornea guttata*), предложенный Vogt A. в 1911 году, используется во всем мире для описания характерных выпячиваний ДМ, в виде капель, которые могут иметь округлую, бородавчатую или грибовидную форму и напоминают вид «запотелого стекла» или «булыжной мостовой» [245].

Наличие гутт коррелирует с потерей и дисфункцией эндотелиальных клеток с последующим прогрессивным развитием отека роговицы [93]. Также гутты имеют тенденцию появляться сначала в центральной области роговицы, а затем вовлекать среднюю и крайнюю периферию роговицы в естественное течение болезни [39].

Если отсутствует возможность дополнительных диагностических обследований, то диагноз ДФ можно выставить на основании данного клинического признака, который определяется при осмотре с помощью щелевой лампы в виде безрефлексных (неотражающих) точек, видимых в зеркальном изображении эндотелия, или как втянутые частицы, если использовать обратное освещение [151]. Следует отметить, что появление схожего признака может наблюдаться после воспалений или травм – это будет расцениваться как вторичная недостаточность эндотелиальных клеток.

Исходя из классификации международного комитета (International Committee for Classification of Corneal Dystrophies – IC3D), дистрофия роговицы Фукса (Fuch's Endothelial Corneal Dystrophy – FECD) относится к группе первичных, генетически детерминированных патологий, которые обычно называют дистрофиями «заднего» типа. К этой группе заболеваний также относятся врожденная наследственная эндотелиальная дистрофия (Congenital Hereditary Endothelial Dystrophy – CHED), иридокорнеальный эндотелиальный синдром (Iridocorneal Endothelial Syndrome – ICE) и задняя полиморфная дистрофия (Posterior Polymorphous Corneal Dystrophy – PPCD) [253, 252].

ДФ выявляется в среднем у 4-4,5% людей, возраст которых превышает 50 лет [40, 104, 148]. Распространение среди женского пола выше, чем у мужского, и имеет соотношение 3:1 [39, 40, 82, 148, 210, 247]. Встречается ДФ в Европе и США с наибольшей частотой, с меньшей – в азиатских странах [211]. Встречаемость в российской популяции сопоставима с таковой в европейских и американских [19, 224].

Как уже было сказано ранее, патогенетический механизм развития ДФ располагается в ДМ и эндотелии. Клетки эндотелия относятся к высокодифференцированным и долгоживущим клеткам, которые в норме обладают гексагональной формой. Плотность эндотелиальных клеток (ПЭК) уменьшается в течение всей жизни человека. При рождении ПЭК равна 3500-5000 кл/мм², затем в течение жизни количество клеток с каждым годом уменьшается, и физиологическая потеря в среднем составляет 0,5-2,0% в год. Так ПЭК к 60 годам составляет 1400-2500 кл/мм² [9, 140].

В обычных условиях *in vivo* эндотелиальные клетки человека не способны к пролиферации [135, 136, 140]. Физиологической регенерацией в клетках эндотелия являются процессы восстановления внутриклеточных элементов. Соседние клетки за счет изменения формы (полиморфизм) и размера (полимегатизм) берут на себя функции умерших клеток. На основе исследования компенсаторных возможностей эндотелиальных клеток было установлено минимальное значение ПЭК, которое позволяет поддерживать роговице свою прозрачность, равное 300-500 кл/мм² [83, 225].

При ДФ в результате воздействия генетических факторов клетки эндотелия обретают функции и морфологию фибробластов, после чего начинают вырабатывать коллагеновые фибриллы и вещество, которое аналогично базальной мембране. Это приводит к пятислойности и утолщению ДМ. Стоит отметить, что схожие физиологические изменения наблюдаются и у здоровых пожилых людей. Это бессимптомные гиалиновые отложения маленького размера и округлой формы, которые располагаются на периферии роговицы, со стороны эндотелия – тельца Гассалья-Генле (Hassal-Henle bodies) [129, 147, 192, 249].

Как уже было сказано ранее, кроме эндотелия в патологическом процессе ДФ принимает участие и ДМ, которая является базальной мембраной эндотелиальных клеток и имеет толщину у взрослого человека порядка 10-12 мкм. ДМ включает в свой состав коллаген IV и VIII типов, фибронектин, ламинин, кератан-сульфат, гепаран-сульфат и дерматан-сульфат. При проведении электронной микроскопии ДМ в норме определяется 2 слоя: передняя полосатая зона и гладкая зона [129, 249]. При наличии ДФ происходит формирование трех новых слоев: задняя полосатая зона, фибриллярный задний коллагенозный слой и фиброклеточный задний коллагенозный слой. За счет этого толщина ДМ увеличивается в несколько раз и достигает в центре $17,6 \pm 3,8$ мкм [108, 129, 249].

Чтобы систематизировать клинические проявления заболевания, в 1978 году Волковым В.В. и Дроновым М.М. была предложена классификация эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы, которая применима и к первичной ДФ. Данная классификация основана на изменениях роговицы по глубине расположения повреждений и включает в себя пять стадий [8]:

I стадия – эндотелиальная, характеризуется морфологическими изменениями клеток эндотелия, возможен локальный отек и единичные локально расположенные 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 или 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 или фиброзная, характеризуется формированием стойкого помутнения роговицы, как правило неравномерной плотности,

вследствие замещения слоев роговицы рубцовой и сосудистой тканью с возможными очаговыми поверхностными изъязвлениями.

Имеется также классификация, согласно которой выделяют только четыре стадии [39, 247]:

I стадия – изменения эндотелия в виде расположенных в центральной области единичных или сливных гутт, появляющихся чаще после 40 лет. Субъективные жалобы, как правило, отсутствуют.

II стадия – возникновение отека стромы и эпителия роговицы. Больные предъявляют жалобы на туман перед глазами, преимущественно в утреннее время, радужные круги вокруг источников света.

III стадия – образование эпителиальных кист, сливающихся в буллы. При обнажении булл больные предъявляют жалобы на возникновение резких, колющих болей, периодическое чувство инородного тела.

IV стадия – развитие очагов стромального и субэпителиального помутнения, появление новообразованных сосудов. Отмечается уменьшением болевого синдрома и буллезности.

За рубежом применяют классификацию ДФ, которую предложил Krachmer J. с соавторами в 1978 году [148]. Данная классификация основывается на обнаружении и подсчете гутт, располагающихся на задней поверхности роговицы. Она включает в себя пять стадий:

0 стадия – до 11 центрально расположенных гутт,

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.

Этиопатогенез ДФ остается до конца не изученным, но, что является абсолютно достоверным, – это его генетическая обусловленность. Выявлено 9 клиничко-генетических форм, из них 4 – с аутосомно-доминантным и 5 – с

неустановленным типом наследования. Также существует два типа начала и течения ДФ: первый тип – раннее манифестирующее начало после 30 лет, которое сопровождается быстрым прогрессированием заболевания, второй тип – позднее начало после 50 лет со сравнительно медленной прогрессией. [82, 112, 126].

Наибольшую клиническую значимость и распространенность имеет ДФ, характеризующаяся аутосомно-доминантным типом наследования и имеющая 100% пенетрантность с различной экспрессией, которая обусловлена мутациями в различных генах. Она отличается локусной гетерогенностью (причиной одного заболевания являются мутации в разных генах) и вариативностью клинических проявлений каждого типа патологического процесса. Генетическим маркером ДФ раннего начала являются мутации, располагающиеся в гене COL8A2 (ген коллагена VIII типа $\alpha 2$, локализован на хромосоме 1, в регионе 1p34.3) [44, 60, 112, 160, 178]. К ДФ позднего начала относят 8 клинико-генетических вариантов. К таковым относят мутации в следующих генах [54, 126, 131, 188, 203, 204, 205, 229, 233]:

- ***FECD2*** (локализован на хромосоме 13 в участке 13pter-q12.13, аутосомно-доминантный тип наследования);
- ***FECD5*** (локализован на хромосоме 5 в участке 5q33.1-q35.2, тип наследования не установлен);
- ***FECD7*** (локализован на хромосоме 9 в участке 9p24.1-p22.1, тип наследования не установлен);
- ***TCF8 (ZEB1)*** (локализован на хромосоме 10 в участке 10p11.22, тип наследования не установлен);
- ***LOXHD1*** (локализован на хромосоме 18 в участке 18q21.1, тип наследования не установлен);
- ***AGBL1*** (локализован на хромосоме 15 в участке 15q25.3, аутосомно-доминантный тип наследования);
- ***SLC4A11*** (локализован на хромосоме 20 в участке 20p13, тип наследования не установлен);

- *TCF4* (локализован на хромосоме 18 в участке 8q21.2, аутосомно-доминантный тип наследования).

1.2. Буллезная кератопатия: этиология, патогенез

Одной из главных физиологических функций эндотелия роговицы является поддержание постоянного содержания жидкости в строме на определенном уровне, что достигается за счет эффективного функционирования барьера между водянистой влагой передней камеры глаза и стромой роговицы вследствие адекватной работы метаболических помп [176].

Метаболические помпы эндотелиальных клеток работают активно в непрерывном режиме, перемещая воду из стромы обратно в переднюю камеру глаза [64, 163]. Динамическое равновесие между активными насосными функциями и эндотелиальным барьером обеспечивает регулирование гидратации роговицы и сохранение ее прозрачности [65, 72, 196, 207].

По причине развития необратимого нарушения нормального функционирования эндотелиальных клеток развивается хронический отек роговицы и буллезная кератопатия (БК). Отек нарастает постепенно: сначала развивается отек стромы, после чего добавляется межклеточный отек эпителия роговицы. Отек эпителия связан с образованием микрокист, которые переходят в пузыри – буллы. Данные буллы имеют тенденцию к самопроизвольному вскрытию и провоцированию болевого синдрома. Болевой синдром может обладать разной степенью выраженности: пациент может испытывать дискомфорт либо невыносимые боли, которые невозможно терпеть. Также это сопровождается выраженным слезотечением и светобоязнью, что соответствует клинической картине роговичного синдрома. Стоит отметить, что образующиеся дефекты эпителия после вскрытия булл могут послужить входными «воротами» для присоединения вторичной инфекции [182]. Острота зрения пациентов с БК напрямую зависит от степени выраженности отека: чем он больше, тем меньше

острота зрения. Во время проведения биомикроскопии визуализируются складки ДМ и утолщение как центральной, так и периферических частей роговицы.

К наиболее частым причинам, которые влекут за собой развитие БК, относят: механическую травму слоя эндотелиальных клеток роговицы во время проведения интраокулярных хирургических вмешательств, чаще всего после факэмульсификации катаракты – псевдофакичная буллезная кератопатия (ПБК) – и ДФ. Также к стойкому отеку роговицы может привести герпетический дисковидный кератит и реакция тканевой несовместимости после выполненной кератопластики. В указанных случаях сами клетки эндотелия являются мишенями для воспалительного процесса. Еще одной причиной, способной привести к повреждению эндотелиальных клеток и развитию БК, является неспецифическое воспаление при послеоперационном или травматическом иридоциклите, а также увеите, вызванном различными причинами [5, 139].

Радикальным этиопатогенетическим методом лечения ДФ и БК является кератопластика. Среди показаний к проведению кератопластики данные патологии занимают лидирующую позицию по сравнению с другими заболеваниями роговицы во всем мире [111, 117, 118, 157]. Данная методика подразумевает замену измененного, поврежденного эндотелия реципиента на здоровый, способный к нормальному функционированию эндотелий роговицы донора, с последующим восстановлением остроты зрения [95]. Следует отметить, что возраст манифестации ДФ, который часто начинается от 40 лет, совпадает с началом развития у пациентов сопутствующих заболеваний: возрастная катаракта, глаукома, возрастная макулярная дегенерация. В таких случаях, когда имеется сопутствующая патология, очень важно подобрать корректную методику лечения. Одномоментное обсервационное исследование заболеваемости ДФ в РФ выявило, что распространенность заболевания среди пациентов, имеющих сопутствующую патологию переднего отрезка глаза (катаракта), составляет 4,1%, при соотношении женщин к мужчинам 3,8:1 [17].

1.3. Исторические аспекты развития кератопластики

1.3.1. Сквозная кератопластика

Впервые термин «кератопластика» был предложен Reisinger в 1824 году. Первая в мире успешная сквозная кератопластика (СКП) – пересадка всех слоев роговицы – была выполнена в 1905-м г. Zirm E.K. [94]. Многие ученые внесли свой вклад в развитие кератопластики, в том числе и Fuchs E., Elschmig A., Paufique L., Franceschetti A., Castroviejo R., Фейгин Ф.И., Шимановский А.Ф., Филатов В.П. [33, 34, 36, 73, 74, 100, 101, 105].

Очень долгое время СКП оставалась основным методом хирургического лечения пациентов с различной патологией роговицы, в том числе ДФ и БК [4, 12, 15, 228].

Внедрение в офтальмологии высокотехнологичного микрохирургического оборудования, а также применение современной фармакотерапии существенно увеличило частоту прозрачного приживления донорского роговичного трансплантата с 35% до 95% случаев [13, 15, 24, 26, 30].

Показания к СКП различны. В конце 70-х гг. самым частым показанием к выполнению СКП была БК (17,5%), а ДФ составляла 9,1% [175, 208, 226, 232, 248, 250]. С 1981 по 1990 гг. наиболее частой причиной, приводящей к выполнению СКП, был кератоконус (24,2%), БК составила 23%, а ДФ – 5,8% [161]. До 1995 года 40% пересадок донорского роговичного материала в США выполнялись по причине патологии роговицы, связанной с повреждением эндотелия [83]. На протяжении последних лет идет активный переход от СКП к выполнению послойных методик. Общее количество выполненных СКП в 2005 г. в США составило 42 063 и к 2019 г. снизилось до 17409, в то время как эндотелиальная кератопластика, напротив, увеличилась с 1398 до 30650. В 2019 г. ДФ стала показанием для СКП только в 4,4% случаев от общего количества сквозных пересадок в стране и составила 54,3% случаев от всех выполненных эндотелиальных кератопластик. Пациентам с диагнозом ДФ в 95,6% случаев была проведена органосохраняющая послойная кератопластика [96].

Биологические результаты СКП являются вполне удовлетворительными. Однако СКП при относительной своей простоте выполнения имеет целый ряд недостатков. Основными факторами, влияющими на развитие болезни трансплантата (отторжения) после ранее проведенной СКП, являются [7, 84, 177, 127, 133, 149, 177, 197, 238, 241, 255, 256, 254, 257]:

- наличие неоваскуляризации роговицы,
- воспалительный процесс,
- синдром сухого глаза,
- повышение внутриглазного давления (ВГД) и глаукома,
- передние синехии,
- афакия,
- количество выполненных ранее пересадок роговицы.

Стоит отметить, что длительное нахождение роговичных швов более установленного срока (1-1,5 года) может привести к росту новообразованных сосудов, которые, в свою очередь, значительно увеличивают вероятность развития реакции отторжения трансплантата [79].

Вероятность прозрачного приживления трансплантата уменьшается при повторной и каждой последующей трансплантации [197, 238]. При этом возраст донора, причина его смерти, диаметр сквозного трансплантата и срок его консервации не оказывают значимого влияния на прозрачное приживление донорского материала [133].

Пациенты с ДФ имеют достаточно высокую вероятность прозрачного приживления трансплантата. По мнению ряда авторов, она может достигать 64% при сроке наблюдения 4 года [189], в то время как другие исследования демонстрируют 81-90% при сроке наблюдения 10 лет [127, 201].

Не менее важным по сравнению с биологическим является функциональный результат выполненной операции. Все недостатки, которыми обладает СКП, объясняются методикой ее выполнения – это полная замена всех слоев роговицы независимо от глубины залегания повреждений. Во время выполнения данной операции глазное яблоко находится значительное время в состоянии

разгерметизации, что, безусловно, влияет на вероятность развития интраоперационных осложнений. Сквозной трансплантат требует обязательной шовной фиксации. Несмотря на различные варианты шовной фиксации и сроки их удаления, окончательный рефракционный результат остается совершенно непредсказуемым, так как сопровождается развитием индуцированных аметропий различной степени выраженности, чаще всего – астигматизма [14, 24, 57, 165, 206, 214]. Получается, что при достижении прозрачного приживления трансплантата, можно получить неудовлетворительный рефракционный результат [10, 43].

К серьезным недостаткам СКП относится невозможность проведения точного расчета оптической силы необходимой интраокулярной линзы (ИОЛ) при выполнении комбинированного лечения с одномоментным удалением катаракты и имплантацией ИОЛ [81, 155, 174].

И наконец самым опасным осложнением после СКП является нарушение целостности послеоперационного роговичного рубца, которое может повлечь за собой выпадение внутренних оболочек глаза, кровотечение, эндофтальмит, развитие синехий и вторичной глаукомы, отторжение трансплантата [38, 153, 193, 194]. Учитывая возможность данного осложнения, пациенты должны вести себя крайне аккуратно и ограничивать свою физическую активность, что, безусловно, влияет на качество адаптации в социальной и профессиональной среде после операции.

Даже применение современного фемтолазерного оборудования для выкраивания как донорского трансплантата, так и для формирования ложа в глазу пациента, не исключает основных недостатков СКП [67, 97].

1.3.2. Развитие эндотелиальной кератопластики

В XX веке основным хирургическим методом лечения БК и ДФ являлась СКП. Тот факт, что сквозная трансплантация обладает рядом вышеописанных недостатков, подтолкнул ученых к разработке и исследованию новых методик, которые были направлены на сведение к минимуму существующих минусов СКП.

Это привело к появлению задней послойной кератопластики, которая подразумевает избирательную замену только поврежденных слоев роговицы (эндотелий, ДМ) на донорский трансплантат, содержащий эндотелий, ДМ и задние слои стромы, оставляя передние слои пациента интактными [110, 121]. ЗПК является патогенетически обоснованной методикой в отличие от СКП, так как восстановление структуры и функции эндотелия приводит к полной резорбции отека и восстановлению прозрачности роговицы [27].

История селективной замены задних слоев роговой оболочки начинается в 1951 г., когда Barraquer J.I. предложил методику задней ламеллярной кератопластики (posterior lamellar keratoplasty – ЗЛК/PLK). Методика подразумевала замену глубоких патологически измененных, неэффективных слоев роговицы реципиента на аналогичные, здоровые слои донора, с последующей шовной фиксацией, после того как хирургом был сформирован лоскут на ножке из передних слоев стромы [55, 56]. Это был первый в мире патогенетически обоснованный хирургический метод лечения эндотелиальной недостаточности роговицы.

Спустя 20 лет, в 1972 г. Barraquer J.I. модифицировал собственную методику. Он применил новый кератом с пневматической фиксацией. Однако данная методика протекала по типу «открытого неба» и имела существенные недостатки, схожие с методикой СКП, по причине чего она не получила широкого распространения и дальнейшего развития [55].

Свою методику ЗЛК в 1956 г. предложил Tillet C.W. Ее отличительной особенностью было формирование стромального ложа для замены задних слоев. Выполняли разрез в лимбальной зоне диаметром 12 мм, после этого задние участки стромы расслаивателем отделяли от передних, затем задние слои роговицы удаляли при помощи ножниц. Далее заранее подготовленный трансплантат задних слоев донорской роговицы укладывали в подготовленное ложе и фиксировали его к строме швами. Поверхностный лоскут роговицы также фиксировали в зоне первичного доступа и формировали второй уровень швов [239].

В отечественной офтальмологии Дронов М.М. и Волков В.В. в 1976 г. первыми применили ЗЛК для лечения заболеваний с повреждением эндотелия. Они предложили фиксировать донорский трансплантат тремя узловыми швами, которые можно было удалить через 1 месяц после операции [3, 246]. Также Гундорова Р.А. и Бойко А.В. (1977) использовали ЗЛК при посттравматическом врастании эпителия [2, 6, 119].

В 1973 г. Мороз З.И. и Тоцкая Т.Д. предложили способ, который представлял собой бесшовную межслойную фиксацию донорского трансплантата задних слоев роговицы между поверхностным лоскутом и оставшейся частью задних слоев роговицы реципиента. Это, по мнению авторов, обеспечивало obturating, клапанную и защитную функции [25].

В 1996 г. Busin M. предложил модифицированный вариант ЗЛК, в котором поверхностный лоскут собственных слоев роговицы формировали с использованием микрокератома [69].

В 1993 г. Ко W. с соавт. усовершенствовали концепцию корнеосклерального доступа, которую предложил Tillet C.W., и применили в эксперименте на животных [143]. После чего Melles G.R. применил эту технику в клинической практике. В 1998 г. он впервые предложил фиксацию трансплантата при помощи пузыря воздуха, введенного в переднюю камеру, лимбальный разрез уменьшился до 8 мм [168]. Все следующие исследования будут направлены на уменьшение разреза, минимизацию шовной фиксации и использование заднего доступа.

В том же 1998 г. Jones и Culberston впервые предложили термин – эндотелиальная послойная кератопластика, endothelial lamellar keratoplasty (ELK), во время описания методики, подразумевающей подшивание донорского трансплантата в ложе, которое формировали при помощи трепана в задних слоях роговой оболочки [134].

В 2002 г. Melles G.R. предложил перейти на 5 мм склеральный доступ, после чего стромальное ложе формировали в непосредственной близости от ДМ, а поврежденные слои иссекали при помощи закругленных ножниц. Следующим

этапом имплантировали трансплантат в сложенном виде в соотношении 60/40 и фиксировали пузырем воздуха [172].

В 2001 г. Terry M.A. и Ousley P.J., разработав новый инструментарий, представили миру новую модифицированную методику ЗЛК – глубокая ламеллярная эндотелиальная кератопластика, deep lamellar endothelial keratoplasty (DLEK) [234, 235, 236]. Но данная методика не нашла широкого применения, по причине высокой сложности выполнения, необходимости специальных инструментов и высокого риска возможной травмы радужки [122].

В 2003 г. Melles G.R. с соавт. впервые предложили выполнение десцеметорексиса (ДР) – изолированное циркулярное удаление ДМ вместе с эндотелием. Эту операцию назвали эндотелиальной кератопластикой с удалением десцеметовой мембраны (Descemet's Stripping Endothelial Keratoplasty – DSEK) [173, 169]. Методика кардинально отличалась от существовавших ранее и исключала этап ламеллярной диссекции роговой оболочки реципиента. Она заключалась в выполнении ДР при заполнении передней камеры глаза воздухом, вископротекторами, либо физиологическим раствором [103, 106]. Новая методика позволила снизить риск травмы структур передней камеры глаза, и, что немаловажно, сохранить целостность задних слоев стромы реципиента.

В 2005 г. Price M.O. модифицировала методику DSEK, предложив сворачивать донорский трансплантат перед имплантацией в виде дубликатуры в соотношении 40/60, – это обеспечило уменьшение потери эндотелиальных клеток и улучшение расправления трансплантата в передней камере [200].

1.4. Современные методики эндотелиальной кератопластики

1.4.1. Задняя автоматизированная послойная кератопластика

Новым этапом в развитии эндотелиальной кератопластики стало применение автоматизированного микрокератома для выкраивания донорского роговичного трансплантата. Gorovoy M.S. с соавт. в 2006 г. впервые применили микрокератом

для заготовки трансплантата. Данная техника получила название – задняя автоматизированная послойная кератопластика, Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty (ЗАПК, DSAЕК). Выкраивание трансплантата протекает следующим образом: донорский корнеосклеральный диск устанавливаем в искусственную переднюю камеру (ИПК), после чего используем микрокератом с головкой 300-350 мкм для проведения стромального среза, затем корнеосклеральный диск укладываем эндотелием вверх и выполняем трепанацию при помощи трепана диаметром 9 мм. Для имплантации используем роговичный разрез в 5 мм, через который при помощи пинцета осуществляем имплантацию трансплантата, сложенного в дубликатуру в соотношении 60/40, трансплантат фиксируем пузырем воздуха [110]. Стандартизация метода заготовки донорского роговичного трансплантата решила главные недостатки DSEK, которые были связаны с мануальным выкраиванием трансплантата. Это позволило значительно снизить выбраковку донорского материала и достичь более предсказуемой толщины и равномерной поверхности трансплантата, что дало возможность обеспечить более быструю и лучшую зрительную реабилитацию пациентов [200].

Методика ЗАПК все же обладает рядом недостатков. Один из них – это относительно бóльшая потеря ПЭК по сравнению со СКП, которая может быть во время заготовки трансплантата, имплантации, расправления, а также его фиксации в передней камере [199]. Чтобы минимизировать процент потери эндотелиальных клеток, разные авторы предложили свои варианты модификации техники имплантации.

Первым в 2006 г. свой вариант предложил Vajrayee R.B. с соавт.. Предложенная техника заключается в накладывании удерживающего шва перед имплантацией со стороны стромы донорского трансплантата, после чего, используя обратный крючок Сински (DORC International), выполняется захват нити, что позволяет расправить трансплантат в правильном положении [244].

Koenig S.B. с соавт. в 2007 г. предложили фиксировать край трансплантата при помощи иглы 30G, которая соединена со шприцом объёмом 3 мл, наполненным воздухом [146].

Mehta J.S. с соавт. также в 2007 г. представили специальный глайд для имплантации трансплантата, что снизило потерю эндотелиальных клеток, по причине отсутствия контакта трансплантата с роговицей в момент имплантации в месте разреза [167].

Наибольшее распространение получила методика DSAЕК с использованием металлического глайда воронкообразной формы, которую разработал Busin M. в 2008 г [68]. Доказанным является тот факт, что применение Busin glide приводит к меньшей потере клеток (25%), чем классическая методика (34%), в которой для имплантации используется пинцет [51].

В 2010 г. Foster J.B. продемонстрировал результаты использования системы Endosaver, которая оснащена гибким дистальным концом, на котором располагается трансплантат. При использовании данной системы используется роговичный разрез 4 мм, однако имеется ряд ограничений: диаметр донорского трансплантата не должен превышать 8 мм и толщина не должна быть более 175 мкм [102]. Потеря ПЭК при использовании данной системы на сроке 1 год составляет 29% [243].

Khor W.B. с соавт. в 2011 г. представили новый инжектор Endoglide, что позволило уменьшить разрез до 3 мм и потерю ПЭК до 15,6% через 1 год после операции [141].

Важным этапом в развитии ЗАПК явилось стремление к уменьшению толщины трансплантата и достижению его равномерности, что напрямую взаимосвязано с повышением максимально корригированной остроты зрения (МКОЗ) [86, 138]. При выполнении стандартной методики ЗАПК с использованием микрокератома для выкраивания донорского материала, полученный трансплантат представляет собой вогнутую линтикулу, которая обладает различной толщиной на периферии и в центре, что обуславливается анатомическим строением роговицы и работой микрокератома. В результате возникает гиперметропический сдвиг рефракции ($0,31 \pm 2,35$ дптр) [138, 213].

Одной из самых распространенных методик для достижения более тонкого роговичного донорского трансплантата является методика double-pass,

предложенная Busin M. с соавт. в 2011 г., которая подразумевала использование двух последовательных срезов микрокератомом, со стороны эпителия, до достижения минимальной толщины донорского трансплантата. Техника задней послойной кератопластики с использованием ультратонких трансплантатов получила название – Ultrathin Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (UT-DSAEK, УТ-ЗАПК). Средняя толщина трансплантата составила $89,1 \pm 34,1$ мкм [70]. Донорский трансплантат может считаться ультратонким, если его толщина не превышает 130 мкм [7, 18, 70, 185, 195, 221]. По данным Neff K.D. с соавт., МКОЗ 0,8 достигается у всех пациентов (при отсутствии сопутствующей патологии) в результате выполнения ЗАПК с использованием ультратонкого трансплантата и в 71% – 1,0, в то время как использование более толстого трансплантата только в 50% случаев позволяет достичь 0,8 и в 19% – 1,0 [185].

В 2013 г. Дроздов И.В. представил свою методику double-pass, при которой средняя толщина полученного трансплантата была равна 68 ± 19 мкм, МКОЗ 0,8 и выше была достигнута в 66% случаев, при этом после отработки технологии заготовки донорского материала его выбраковка отсутствовала [7]. В том же году Busin M. с соавт. показал свои результаты методики UT-DSAEK на сроке наблюдения 2 года. МКОЗ составила 0,5 в 48,8% случаев, потеря ПЭК – $36,6 \pm 16\%$, процент осложнений, которые были связаны с перфорацией донорской ткани во время проведения второго среза и формирования отверстия (buttonhole), составил 7,2% [71]. Другая группа авторов сообщили о 18% перфорации во время проведения второго среза [221]. Woodward M.A. в 2014 г. сообщил о 29% случаев, в которых произошла выбраковка донорского материала при использовании техники double-pass. Нередко происходит перфорация донорского материала в процессе получения ультратонкого трансплантата, это приводит к его выбраковке. Учитывая, что очень часто имеет место дефицит донорского материала, его выбраковка является совершенно недопустимой [258].

В 2018 г. Вае S.S. с соавт. предложили решить проблему перфорации донорского материала при помощи специально разработанных номограмм для методики double-pass, использование которых позволяет предсказать итоговую

толщину трансплантата и максимально снизить его выбраковку. Это, по данным авторов, позволило снизить перфорацию задних слоев роговицы до 1,5% [50].

Использование данных номограмм привело к возникновению методики *Nanothin Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (NT-DSAEK)* с использованием нанотрансплантата толщиной 50 мкм, которую предложил Cheung A.Y. с соавт. в 2018 г. Толщина трансплантата была равна $41,1 \pm 6,4$ мкм, а выбраковка донорского материала составила 4,8% [78]. Однако выполнение подобной методики является технически сложной и возникает большой вопрос возможности ее стандартизации и воспроизведения.

1.4.2. Трансплантация Десцеметовой мембраны с эндотелием

Стремление к уменьшению толщины готового для имплантации трансплантата и достижению наиболее физиологичной анатомии роговицы, способной обеспечить максимально возможные клиничко-функциональные результаты, привело к развитию новой хирургической методики – трансплантации ДМ с эндотелием, *Descemet's membrane endothelial keratoplasty (ТДМ, DMEK)*. Эта технология позволяет достичь полной визуальной, функциональной и ультраструктурной реабилитации роговицы [219]. Впервые методику DMEK описал Melles G.R. с соавт. в 2006 г., после нескольких лет разработок в лабораторных условиях [170]. Первые клинические результаты были представлены в 2007 г. Tarrin M. В его варианте исполнения трансплантат ДМ диаметром 7,5 мм имплантировали через роговичный разрез 8 мм при помощи специального инструмента (Altomed) [231]. Также имеются результаты крупного проспективного исследования по результатам 500 выполненных операций DMEK, по данным которого МКОЗ 0,8 была достигнута в 75% случаев, 1,0 – в 41% случаев и в 13% результат превышал 1,0 [209].

К важным преимуществам DMEK перед DSAEK относится низкий процент отторжения донорского трансплантата, который, по данным Anshu A. с соавт., составляет всего 0,7%, а после DSAEK – около 9% [46].

Стоит отметить, что техника DMEK обладает рядом недостатков. Одним из главных недостатков является ее высокая техническая сложность, которая требует очень высокой квалификации хирурга и намного большего времени освоения по сравнению с DSAEK [23]. Процедура заготовки донорского трансплантата для DMEK является наиболее сложным этапом операции, по причине высокого риска выбраковки трансплантата при его препаровке [45, 75, 156, 170, 198]. Кроме этапа выкраивания трансплантата, к крайне сложным и трудоемким можно отнести этап расправления и центрации трансплантата в передней камере глаза. В связи с этим были разработаны различные варианты выкраивания трансплантата, каждый из которых, по мнению авторов, снижает риск повреждения донорской ткани и потери ПЭК во время этой процедуры.

В 2008 г. Melles G.R. с соавт. предложили методику «no-touch» для подготовки трансплантата. Согласно этой методике, корнеосклеральное кольцо донорской ткани захватывали держателем, после чего при помощи ножа «хоккейная клюшка» (DORC International, Netherlands) производили отделение ДМ вместе с трабекулярной сетью на протяжении 360° . Затем проводили отделение ДМ вместе с трабекулярной тканью от стромы – в данном случае не происходит закручивания ДМ по причине естественной ригидности и относительного большего веса трабекулярной ткани. Далее окрашивали ткани ДМ 0,06% раствором трипанового синего (VisionBlue; DORC International) и помещали на мягкую контактную линзу (МКЛ), где и выполняли трепанацию при помощи 9,5 мм трепана [115].

В 2013 г. Muraine M. с соавт. предложили свою методику, при которой первым этапом выполняли неполную трепанацию ткани на протяжении 330° , после чего для отделения ДМ от стромы проводили ее гидродиссекцию сбалансированным водно-солевым раствором при помощи канюли 27G. Трансплантат формировали в виде двойной дубликатуры и имплантировали уже в первоначально правильной ориентации, что ускоряло процесс его расправления и центрации [184].

В 2009 г. McCauley M.B. с соавт. предложили использовать микрокератом при подготовке трансплантата, техника получила название DMAЕК (Descemet's membrane automated endothelial keratoplasty) [164, 198]. В данном случае корнеосклеральный диск фиксировали эндотелием вниз на искусственной передней камере, после чего интраоперационно измеряли центральную толщину роговицы (ЦТР) и проводили срез микрокератомом. Вторым этапом корнеосклеральный диск также эндотелием вниз помещали на подставку к трепану, после этого инсулиновый шприц, наполненный воздухом, с иглой 25G вводили в строму в периферической части роговой оболочки. Далее отделение ДМ от надлежащей стромы производили за счет введения воздуха и формирования пузыря размером 6-7 мм. Данная техника отделения ДМ от стромы при помощи воздуха также применяется при выполнении передней глубокой послойной кератопластики (ПГПК) и получила название «big bubble» [47]. На следующем этапе пространство искусственной передней камеры заполняли вискоэластиком, затем при помощи микрохирургического ножа производили надрез стромы и корнеосклеральными ножницами иссекали остаточную стромальную ткань. После этого корнеосклеральный диск переворачивали и выполняли трепанацию диаметром 8,5-9 мм. Трансплантат, заготовленный таким способом, представляет собой ДМ с остаточным кольцевидным ободком стромы на периферии около 2 мм, который выступает в качестве поддержки, за счет чего трансплантат резистентен к закручиванию и может быть имплантирован любым способом, используемым при DSAЕК. Расправление и фиксация осуществляют аналогично DSAЕК.

В том же 2009 г. другой группой авторов во главе с Studeny P. была предложена похожая методика – DMEK-S, при которой трансплантат ДМ содержал остаточное периферическое кольцо стромы. Авторы описали применение аэросепарации ДМ после предварительного механического расслаивания поверхностных слоев стромы подобно методике ПГПК [227].

Помимо техники «big bubble», не менее популярной является методика SCUBA (submerged cornea using backgrounds away). Заготовку методикой SCUBA и последующую имплантацию ДМ по Price M.O. (2009) выполняют следующим

образом: корнеосклеральный диск помещают в высекатель роговицы эндотелием вверх, после окрашивают ДМ 0,06% раствором трипанового синего. Следующим этапом производят несквозное высекание роговицы при помощи трепана необходимого диаметра со стороны эндотелия, затем, начиная с краев трепанационной насечки и используя пинцет, ДМ отслаивают от задних слоев стромы, и она спонтанно сворачивается в рулон. Все этапы выполняют при постоянной ирригации раствором BSS (сбалансированный солевой раствор) или консервационной средой. После того, как рулон ДМ сформирован, его укладывают в стандартный картридж для ИОЛ, в дистальный конец которого предварительно вводят когезивный вискоэластик. Имплантируют трансплантат через роговичный тоннельный разрез 3,0-3,2 мм [198].

По результатам исследований, частота повреждения (разрыва) донорской ДМ при использовании техники «big bubble» достигает 30%, а техники SCUBA – 26% [88]. Price M.O. с соавт. представили данные о разрыве ДМ при технике SCUBA в 16% случаев [198]. Также есть авторы, которые указывают, что разрывы ДМ при использовании техники «big bubble» зависят исключительно от опыта хирурга [227].

Harminder S. Dua с соавт. в 2014 году продемонстрировали новую методику – трансплантацию «предесцеметового» слоя стромы вместе с ДМ и эндотелием (pre-Descemet's endothelial keratoplasty — PDEK). В этой технике использовали иглу 30G, которая соединена со шприцом, заполненным воздухом, ее вводили в средние слои роговицы до ее центра, со стороны склерального кольца, после чего формировали пузырь путем введения воздуха между «предесцеметовым» слоем (слой Dua) и задними слоями стромы. Следующим этапом внутрь сформированного пузыря вводили раствор трипанового синего для прокрашивания ДМ, после этого ДМ иссекали при помощи ножниц [41].

Условия дефицита донорского материала привели к развитию новой методики – Nemi-DMEK, которая была внедрена в 2014 г. Melles G. R. с соавт. Преимущество методики заключается в разделении одного трансплантата на две равные части (half-moon), каждая из которых является абсолютно полноценной, что

дает возможность использовать один донорский материал для двух реципиентов [152]. По данным авторов, МКОЗ $\geq 0,8$ удалось получить в 86% случаев и в 57 % $\geq 1,0$, в это время ПЭК к сроку наблюдения 1 год составила 850 ± 300 кл/мм², а в 40% случаев потребовалось повторное введение воздуха.

На этом исследования не закончились, и в 2016 г. методика была доработана в Quarter-DMEK, которая заключается в разделении донорского трансплантата на 4 части [183]. Следует отметить, что данная технология возможна при условии, если ДФ ограничена центральной оптической зоной роговицы в 7 мм. Заготовку таких трансплантатов выполняли по технологии «no-touch», после того как отделяли ДМ с трабекулярной сетью на протяжении 360°, используя хирургическое лезвие, донорский материал разделяли на 4 равные части. После этого ДМ каждой из 4 частей очищали от задних слоев стромы и формировали 4 отдельные рулона ДМ, которые имплантировали при помощи стеклянной канюли (Melles glass inserter, DORC International). Расправление и фиксация такого рода трансплантата выполняли идентично стандартной методике DMEK. Спустя 6 месяцев во всех случаях МКОЗ была $\geq 0,5$; значение 0,8 и выше достигнуто в 95% случаев, и в 42% МКОЗ составила $\geq 1,0$. После этого МКОЗ оставалась стабильной до 2 лет. Средняя ПЭК снизилась с 2842 ± 139 кл/мм² (до имплантации) до 913 ± 434 кл/мм² через 6 мес., через 1 год – 869 ± 313 кл/мм², а спустя 2 года средняя ПЭК составила 758 ± 225 кл/мм² [59]. Применение данной технологии позволяет использовать один донорский материал на 5 реципиентов [187].

Стоит отметить, что такие модификации стандартной методики, как DMAEK, DMEK-S и PDEK не позволяют использовать один донорский материал для более чем одного пациента.

Следующий важный и требующий внимания этап — это сам процесс имплантации ДМ с эндотелием. Для имплантации такого трансплантата в настоящее время используют различные модификации инжекторов, к наиболее известным относят: инжектор Geuder (Германия), пипетка-инжектор Melles и модифицированная трубка Jones (США). За счет более гладкой поверхности, по сравнению с пластиковыми инжекторами для ИОЛ, использование такого рода

инжекторов облегчает процедуру имплантации и снижает травматизацию донорской ткани [237].

Расправление трансплантата в передней камере глаза после имплантации может быть достигнуто применением различных техник: например, легким движением канюлей по передней поверхности роговой оболочки реципиента, возможно использование маленького пузыря воздуха сверху или снизу трансплантата [156], либо касанием ДМ внутри передней камеры (<http://youtu.be/sYne48IQ0ck>).

После расправления и центрации трансплантата, для его фиксации выполняют введение воздуха в переднюю камеру либо газовой смеси, которая более длительно может оставаться в передней камере и состоит из 10% смеси газа SF₆ или C₃F₈ и воздуха [87].

Основным осложнением методики DMEK, так же как и DSAEK является отслойка (неприлегание) трансплантата [85, 167, 170]. Самой главной причиной его неприлегания является неправильная ориентация трансплантата – он должен располагаться таким образом, чтобы клетки эндотелия располагались в сторону просвета передней камеры, а ДМ прилегала к строме реципиента [120]. По данным литературы, частота неприлегания трансплантата после его имплантации варьируется от 12 до 85% и требует его репозиции и/или дополнительного введения воздуха или газовой смеси. К другим осложнениям можно отнести ущемление трансплантата в разрезе (10%) и офтальмогипертензию (10%) [85, 99, 116, 170].

Во время регистрации случая неприлегания трансплантата была отмечена положительная динамика [89], что подтолкнуло на разработку новой хирургической методики – трансфер Десцетовой мембраны с эндотелием (Descemet Membrane Endothelial Transfer – DMET). Методика основывается на теории восстановления функциональных и биологических свойств роговицы за счет способности клеток эндотелия к миграции [16, 90, 130]. При этой методике десцеторексис сопровождается трансплантацией рулона ДМ, притом он

свободно флотируется во влаге передней камеры глаза, однако продолжает контактировать с роговицей в зоне разреза.

После того как ученые стали замечать спонтанное восстановление прозрачности роговицы после травмы ДМ в процессе катарактальной хирургии, тотальной отслойки донорского трансплантата после DMEK [48, 144], это подтолкнуло на мысль выполнять изолированный десцеметорексис без имплантации донорского материала для восстановления прозрачности при ДФ и БК. После чего стали появляться публикации разных авторов о применении только одного этапа десцеметорексиса с различными результатами [52, 61, 63, 66, 107, 128, 179, 217, 251, 260, 262].

Можно сказать, что изолированный десцеметорексис бросил вызов современной концепции эндотелиальной кератопластики и подверг сомнению необходимость трансплантации донорского материала после проведения этапа десцеметорексиса. Многие из этих исследований подчеркнули краткосрочные хирургические результаты. Но кроме этого, были описаны и отрицательные результаты, в ходе которых не удалось достичь прозрачности роговой оболочки [63, 128, 145, 180, 191, 202]. Эти исследования также подтверждают, что методика DMEK может привести к прозрачности роговицы только в глазах с ДФ, но не БК. Это говорит нам о том, что механизм действия DMEK заключается в первую очередь в стимуляции эндотелиального миграционного ответа реципиента, а не в снабжении напрямую дополнительными функциональными клетками. Можно также предположить, что регенеративная способность эндотелия в глазах с ДФ может быть недостаточной для продолжительного поддержания прозрачности роговицы, потому что все прооперированные глаза испытывают только частичное и преходящее состояние относительной дегидратации. Эта ограниченная и временная способность эндотелия роговицы реципиента к самовосстановлению в глазах с ДФ может объяснить успех проведения методики изолированного небольшого, центрально расположенного десцеметорексиса [48]. Это может объяснить и механизм возникновения случаев преждевременной декомпенсации

роговицы после ДМЕК, при наличии большого по площади стойкого неприлегания трансплантата [154].

Соответственно, чтобы достичь полной и длительной реабилитации, обязательным является полная адаптация центрально расположенного трансплантата, имеющего ДМ с эндотелием. Еще одним выводом, сделанным авторами, является тот факт, что если присутствует значительная по площади дезадаптация трансплантата, то лучше всего использовать повторное введение воздуха, а не ждать спонтанного восстановления прозрачности роговицы [109].

В настоящий момент техника ДМЕК остается предпочтительным вариантом для долгосрочного лечения таких эндотелиальных патологий, как ДФ и БК [22]. Однако в некоторых осложненных случаях, например, при несостоятельности иридохрусталиковой диафрагмы (ИХД), авитрии, оперированной глаукоме, а также при наличии выраженного отека роговой оболочки, который значительно затрудняет визуализацию манипуляций в передней камере, хирурги предпочитают более простой в техническом выполнении метод DSAEK. Учитывая относительно высокий процент выбраковки во время заготовки трансплантата методом ДМЕК, небольшой опыт хирурга выполнения этой методики и в условиях дефицита донорского материала, многие хирурги также отдают предпочтение технике DSAEK.

1.4.3. Фемтоассистированная задняя послойная кератопластика

Одним из наиболее важных достижений физики во второй половине XX века стало создание лазеров, что подтолкнуло к кардинальным изменениям в различных сферах науки и техники. В 1964 г. советские ученые Басов Н.Г. и Прохоров А.М., а также американский ученый Townes С.Н, были удостоены Нобелевской премии за исследования в квантовой электронике, которые привели к созданию лазеров [1].

Фемтосекундными являются такие лазеры, которые генерируют световые импульсы длительностью значительно меньше пикосекунды (ультракороткие импульсы, т.е. с длительностью во времени фемтосекундного порядка). Приставка

«фемто» означает 10^{-15} , значит, 1 фемтосекунда – это 1 квадриллионная доля секунды. Фемтосекундный лазер (ФСЛ) принадлежит к категории сверхбыстрых лазеров (лазеров ультракоротких импульсов).

Формирование реза ткани при помощи ФСЛ основано на феномене фотодеструкции – в ее основе лежат электрооптические пробой ткани, которые образуются по причине высвобождения большого количества плазмы в точке воздействия лазерного излучения, имеющей высокую плотность заряженных частиц и высокую температуру в ограниченном объеме. Образующаяся плазма приводит к развитию ударной волны и микроразрыву ткани [62]. В последующем, после ослабления ударной волны, осуществляется образование кавитационных полостей, размер которых зависит от величины энергии лазерного импульса и варьируется от 1 до 5 мкм [32, 137].

В 1994 году Kurtz R.M. впервые предложил использовать ФСЛ в офтальмологии [150]. Наибольшее применение в офтальмологии ФСЛ получил в рефракционной хирургии, заменив собой использование микрокератома для формирования роговичного клапана [230]. Кроме этого, ФСЛ активно применяют и в катарактальной хирургии [20].

Обладая высокой точностью и качеством реза, возможностью формировать заданный срез различной формы, диаметра и на разной глубине, ФСЛ стал применяться и в роговичной трансплантологии, сначала в СКП, а потом и в послойной кератопластике. [67, 97, 132, 181, 195].

Впервые в 2003 г. Seitz В. с соавторами применили ФСЛ в эндотелиальной кератопластике для заготовки донорского трансплантата. Исследование выполнялось *in vitro*, использовали ФСЛ Femtec (20/10 Perfect Vision, Heidelberg, Germany). Формирование трансплантата осуществляли с эпителиальной стороны, как и при стандартной методике ЗАПК. В этой методике ФСЛ заменил собой применение микрокератома и получила название Femto Posterior Lamellar Keratoplasty (Femto-PLAK). Авторы использовали следующие параметры работы лазера: частота импульсов – 12,5 кГц, уровень энергии – 10 мкДж, глубина залегания среза – 500 мкм, диаметр – 7 мм [215].

В 2007 г. Cheng Y.Y. с соавт. впервые осуществили применение ФСЛ для заготовки трансплантата с эпителиальной стороны для ЗПК в клинике – FS DSEK. Они использовали ФСЛ IntraLase у пациентки с ПБК со следующими параметрами: частота – 30 кГц, глубина реза – 400 мкм и диаметр – 9,5 мм. На максимальном сроке наблюдения, который составил 6 месяцев, ЦТР уменьшилась с 794 до 596, МКОЗ – 0,4 [76]. В 2011 г. Cheng Y.Y. с соавт. предоставили данные сравнения СКП и ЗПК с применением ФСЛ, в результате которого после СКП МКОЗ было немного выше [77].

К причинам относительно невысокого зрения пациентов после методики FS DSEK, трансплантат для которой был заготовлен с эпителиальной стороны, относят качество стромальной поверхности готового для имплантации трансплантата. Объясняется это тем, что формирование среза в глубоких слоях стромы, со стороны эпителия, характеризуется высоким рассеиванием лазерного излучения, что влияет на гладкость поверхности трансплантата. В задних слоях стромы роговой оболочки коллагеновые волокна имеют меньшее количество перемычек, а также более свободную, рыхлую структуру, по сравнению с передними слоями [142]. Неоптимальное качество стромальной поверхности трансплантата значительно влияет на снижение контрастной чувствительности и качество зрительных функций [123]. Zhang C. с соавт. при помощи сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) оценивали качество поверхности трансплантата и выявили прямую зависимость гладкости поверхности от глубины реза ФСЛ (IntraLase 60 кГц). Исходя из этого исследования, наилучшее качество поверхности трансплантата возможно получить, если глубина реза будет составлять не более 31% от всей толщины роговой оболочки глаза, что примерно равно 200 мкм [261].

Ученые стремились улучшить качество поверхности получаемого трансплантата, и в 2008 г. Mehta J.S. с соавт. предложили собственные модифицированные техники: «double-pass» и «multiple-pass». Авторы использовали ФСЛ Femtec 40 кГц. Методика заключалась в выполнении фемтодиссекции два или более раз также со стороны эпителия до получения толщины трансплантата равной 150 мкм. Для расчетов количества срезов и

настроек ФСЛ применяли специально разработанные номограммы, которые ориентировались на исходную толщину донорской роговицы. После проведения техники «multiple-pass» было отмечено более легкое отделение трансплантата и меньшее количество тканевых мостиков, также была достигнута более гладкая поверхность полученного трансплантата по сравнению с выполнением однократной фемтодиссекции, что подтвердилось данными СЭМ. Но у этой методики оставались недостатки, к таковым относятся: невозможность выполнения нескольких ламеллярных резов одновременно, и она по-прежнему не решала проблемы неравномерности трансплантата по толщине [166].

В 2013 году Trinh L. с соавт. предложили использовать ФСЛ в комбинации с эксимерным лазером для улучшения качества трансплантата. Эта методика получила название femtosecond and excimer lasers-assisted endothelial keratoplasty (FELEK). Сначала выполняли этап фемтодиссекции на глубине 400 мкм, при помощи ФСЛ IntraLase FS150. Вторым этапом после удаления поверхностного клапана выполняли процесс лазерной фотоабляции на глубину 30 мкм, при помощи эксимерного лазера Wavelight Allegretto (Alcon, USA), после этого финальным этапом выполняли трепанацию готового трансплантата. По данным авторов, основываясь на результатах проведения СЭМ, после FELEK поверхность трансплантата является более гладкой, чем после DSAEK [242].

Помимо глубины реза, на качество среза и соответственно поверхности трансплантата влияют параметры работы лазера: уровень энергии импульса, частота, размер лазерного пятна [216].

В 2007 г. Sarayba M.A. с соавт., изучая качество поверхности на ФСЛ IntraLase, определили, что использование растрового паттерна ФСЛ позволяет достичь более гладкой поверхности, чем применение спирального паттерна [212].

Lombardo M. с соавт. в 2012 г. определили оптимальные параметры для ФСЛ IntraLase FS150, которые позволяют достичь качества поверхности трансплантата, сопоставимого с применением микрокератома. Также при помощи атомно-силовой микроскопии (АСМ) продемонстрировали связь между энергией импульса и шероховатостью стромальной поверхности. Оптимальными параметрами для ФЛ

IntraLase FS150 являются низкая энергия импульса, равная 0,5 мкДж, и размер лазерного пятна, не превышающий 2 мкм [159].

В 2013 г. Ziebarth N.M. с соавт., используя АСМ, провели количественную оценку качества реза ФСЛ Visumax 500 кГц (CarlZeiss Meditec, Germany). В результате авторы выяснили, что наиболее гладкая поверхность достигается при использовании низкой энергии 180 нДж и глубине реза 300 мкм [263].

Еще одной проблемой заготовки трансплантата со стороны эпителия является неравномерность толщины трансплантата. По причине анатомического строения роговой оболочки, трансплантат получается большей толщины на периферии и меньшей в центре, что, как и при стандартной DSAEK, приводит к гиперметропическому сдвигу рефракции [76].

Для решения этой и других проблем была предложена инвертная методика фемтоассистированной ЗПК, которая подразумевает выкраивание донорского трансплантата при помощи ФСЛ с эндотелиальной стороны роговой оболочки [37, 124]. Инвертная техника была описана для нескольких фемтолазерных систем [124, 158, 166, 220].

В 2006 г. Sikder S. и Snyder R.W. впервые в эксперименте изучили возможность применения инвертной методики на ФСЛ IntraLase, оценили ее перспективность и возможность дальнейшей оптимизации [220].

Первые клинические результаты проведения инвертной методики FS DSEK были представлены Hjortdal J. с соавт. в 2012 г. на ФСЛ Visumax 500 кГц. Сначала корнеосклеральный диск фиксировали на искусственной передней камере эндотелиальной стороной вверх. После этого выполняли этап фемтодиссекции и получали равномерный ультратонкий трансплантат толщиной 130 мкм и диаметром 7,8 мм. В 5 из 10 случаев пришлось прибегнуть к повторному введению воздуха. На сроке наблюдения 12 месяцев только у одного пациента удалось достигнуть МКОЗ – 0,5; средняя ПЭК составила 1779 кл/мм². Невысокую МКОЗ авторы связали с наличием хейза в зоне интерфейса трансплантат – роговица, причиной которого, по мнению авторов, предположительно может быть параллельная организация фибрилл коллагена в задней части стромы, за счет

которой образуются крошечные нити фибрилл во время воздействия фемтосекундного лазера и образования плазмы [124].

В 2013 г. Singh K. с соавт. в эксперименте описали новое устройство для заготовки донорского роговичного трансплантата, в котором одна низкоэнергетическая фемтосекундная система используется как в качестве источника света для оптической когерентной томографии (ОКТ), так и для диссекции трансплантата. Новое устройство позволяло осуществлять рез ткани на заданную глубину без аппланации и прямого контакта лазера с эндотелием роговицы. Однако публикаций применения этого устройства в клинике не последовало [223].

В 2014 г. Mehta J.S. с соавт. представили свои результаты экспериментального исследования применения ФСЛ Femto LDV Z6 (Ziemer Ophthalmic Systems, Switzerland) для заготовки ультратонких трансплантатов с эндотелиальной стороны. Корнеосклеральный диск устанавливали на искусственную переднюю камеру эндотелием вверх, после чего выполняли этап фемтодиссекции. Использовали следующие параметры лазера: частота импульсов – 5 МГц, уровень энергии – 100 нДж, размер пятна – 2 мкм, глубина реза – 70 и 90 мкм, диаметр – 9,2 мм. На 9 из 30 кадаверных роговиц перед аппланацией лазера наносили вискоэластик Viscoat (Alcon, USA), в остальных случаях использовали несколько капель культуральной среды Optisol-GS (Bausch & Lomb Inc, USA). Количество эндотелиальных клеток определяли с помощью зеркальной микроскопии, а толщину трансплантата оценивали с помощью ОКТ. Жизнеспособность эндотелиальных клеток определяли путем окрашивания витальными красителями: Trypan blue/Alizarin red, Calcein-AM/EthD-1. Качество стромальной поверхности оценивали при помощи СЭМ. В обеих группах трансплантаты имели равномерную толщину и оптимальное качество стромальной поверхности, однако в тех случаях, где применялся вискоэластик, была отмечена нерегулярность среза. Равномерность определяли с помощью индекса Ц:П, где Ц – центральная толщина трансплантата и П – средняя периферическая толщина трансплантата. Стоит отметить, что впервые соотношение центральной толщины к

средней периферической и использование понятия индекс Ц:П для определения равномерности трансплантата было введено в 2008 г. Yoo S.H. с соавт [259]. Соотношение центральной толщины к средней периферической составило 0,976 и 0,998 для трансплантатов толщиной 70 и 90 мкм соответственно. Большая потеря ПЭК была отмечена в группе более тонких трансплантатов (70 мкм), что авторы связывают с близостью работы лазера к эндотелию, но также была доказана и эффективность нанесения вископротектора для снижения потери ПЭК [158].

В отечественной литературе Нероев В.В. с соавт. в 2013 г. впервые описали собственные результаты инвертной FS DSEK с использованием ФСЛ Femto LDV Z6. Прозрачное приживление было достигнуто во всех случаях, толщина трансплантата составила от 76,6 до 93,3 мкм, ПЭК на сроке 6 месяцев составила 1720 ± 162 кл/мм² [28].

В 2015 г. свои результаты проведения инвертной FS DSEK на ФСЛ Femto LDV Z6 опубликовала Погорелова С.С. с соавт. МКОЗ достигла $0,2 \pm 0,16$; потеря ПЭК на сроке 3 месяца была равна 54% [31].

В 2017 г. Яковлевой С.С. были опубликованы результаты лечения 49 пациентов инвертной техникой FS DSEK – использовался уже общеизвестный и наиболее часто применяющийся ФСЛ Femto LDV Z6. Авторы пришли к выводу, что данная методика является биологически эффективной. На сроке наблюдения 24 месяца МКОЗ составила $0,33 \pm 0,11$, средний роговичный астигматизм составил $3 \pm 1,5$ Дптр, среднее значение оптической плотности всей толщины роговой оболочки было приближено к показателям после DSAEK и составило $20,8 \pm 4,8$ у пациентов с ДФ и $24,5 \pm 6,5$ у.е. у пациентов с ПБК, потеря ПЭК на сроке 1 год около 67% [37]. Измерение оптической плотности (density) проводилось при помощи Шаймпфлюг денситометрии (Pentacam Scheimpflug system. Oculus Inc., Германия).

Система Pentacam обладает способностью оценивать рассеяние света и, следовательно, непрозрачность тканей/помутнение роговицы методом денситометрии Шаймпфлюга [114, 186]. Этот метод также был предложен в качестве индикатора прозрачности роговицы, чтобы объективно измерить реакцию

на инфекцию или мониторинг ответа роговицы на лечение методом эксимерлазерной кератэктомии или кросслинкинга коллагена [113, 162].

Передний поверхностный слой эпителиальных клеток роговицы и эндотелиальный слой являются основными источниками рассеяния света, при этом строма обладает низким светорассеянием за счет правильного расположения коллагеновых фибрилл и очень точной организацией внеклеточного матрикса [190]. Разрушение коллагенового матрикса во время отека и в результате рубцевания роговицы может спровоцировать увеличение рассеяния света, которое клинически идентифицируется как роговичный хейз (помутнение) и возникновение «disability glare». «Disability glare» – термин, применяющийся в английской литературе и не имеющий дословного перевода на русский язык, описывает потерю контраста изображения на сетчатке в результате внутриглазного рассеяния света или прямого света. Это было описано как снижение остроты зрения, вызванное источником света в другом месте в поле зрения (Koch 1989). Например, при вождении в ночное время встречные фары могут снижать зрительные функции (van den Berg 1991).

После ЗПК неоптимальная острота зрения и «disability glare» могут быть вызваны рубцами на стромальной поверхности трансплантата в зоне интерфейса, либо аномалиями на остаточной передней роговице реципиента, главным образом в субэпителиальной области [53].

В 2019 г. Шилова Н.Ф. представила результаты сравнительного анализа ЗПК с использованием микрокератома и ФСЛ Femto LDV Z8 (инвертно). Применение ФСЛ показало меньший гиперметропический сдвиг – 0,12 Дптр, по сравнению с 1,33 Дптр после стандартной DSAEK. Хотя лучшие показатели МКОЗ были в группе DSAEK, острота зрения 0,5 и выше была достигнута в 57% случаев, а после FS DSEK, комбинированной с ФЭК и имплантацией ИОЛ, – в 23%, а после изолированной FS DSEK – всего в 8% случаев. Потеря ПЭК в отдаленные сроки наблюдения после DSAEK составила $58 \pm 8,1\%$, после FS DSEK – $68,2 \pm 5,6\%$. Анализ общей денситометрии не выявил статистически достоверной разницы между значениями оптической плотности после DSAEK и после FS DSEK [35].

Таким образом, после анализа литературных данных, очевидным является тот факт, что эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса характеризуется значительным распространением и клиническим полиморфизмом. ДФ и ПБК являются одними из основных показаний к выполнению кератопластики во всем мире [111, 117, 118, 157].

Долгое время на протяжении XX века единственным этиопатогенетическим методом лечения являлась сквозная кератопластика. Но на данном этапе развития мировой офтальмологии преимущества клинического применения наиболее современных техник эндотелиальной кератопластики не вызывают сомнений при лечении пациентов с ДФ и ПБК, по сравнению с классической СКП.

Последние несколько десятилетий были направлены на усовершенствование техники хирургической операции ЗПК, развитие ее различных модификаций и изучение клинико-функциональных результатов. Условия дефицита донорского материала привели к появлению различных способов выкраивания донорского трансплантата с целью уменьшить процент его выбраковки.

В настоящее время наиболее предпочтительным методом в физиологическом плане и с целью получения наивысших зрительных функций является методика ТДМ/ДМЕК. Но, к сожалению, в ряде осложненных случаев и при дефиците донорского материала ее выполнение затруднительно. В таких случаях хирурги отдают свое предпочтение методике ЗАПК/ДСАЕК. Все преимущества и недостатки этой методики хорошо изучены.

К наиболее важным относят: неравномерность получаемого трансплантата, заготовленного при помощи микрокератома, что в послеоперационном периоде приводит к гиперметропическому сдвигу рефракции, а также выбраковка донорского материала при попытке получить ультратонкий трансплантат. Для решения этих проблем было предложено использовать фемтосекундный лазер для заготовки донорского трансплантата (FS DSEK).

Наибольшее распространение в клинической практике для применения в этой методике получил низкоэнергетический ФСЛ Femto LDV Z6/8 [28, 31, 35, 37, 158].

Применение этого ФСЛ позволяет снизить процент выбраковки донорского материала, получить ультратонкий, равномерный донорский материал, а также достичь биологического эффекта операции, но полученная МКОЗ с трудом достигает 0,5, при этом ПЭК на сроке наблюдения 12 месяцев после операции значительно уступает автоматизированной технологии с использованием микрокератома [23, 35, 37, 218].

Это свидетельствует об эффективности методики FS DSEK и решении ряда значительных недостатков DSAEK, но относительно невысокая МКОЗ и низкие показатели ПЭК подталкивают нас на поиск более подходящего фемтосекундного лазера.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Дизайн исследования

Данное исследование является сравнительной проспективной рандомизированной работой по оценке выполнения методики задней послойной кератопластики с учетом различных способов выкраивания ультратонкого донорского роговичного трансплантата: при помощи низкочастотного (Wavelight FS 200) и высокочастотного ФСЛ (Femto LDV Z8).

Дизайн исследования представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Дизайн исследования

1. Экспериментальные исследования	
1.1. Экспериментальное изучение воздействия фемтолазерной энергии на эндотелиальные клетки и кератоциты, n=10	Группа 1 – свиные корнеосклеральные диски, из которых выкраивали ультратонкие трансплантаты с эндотелиальной поверхности роговицы при помощи низкочастотного ФСЛ, n=5

	<p>Группа 2 – свиные корнеосклеральные диски, из которых выкраивали ультратонкие трансплантаты с эндотелиальной поверхности роговицы при помощи высокочастотного ФСЛ, n=5</p>
<p>1.2. Экспериментальное изучение качества формируемой стромальной поверхности ультратонкого трансплантата с применением метода атомно-силовой микроскопии, n=20</p>	<p>Группа 1 – кадаверные корнеосклеральные диски, после выкраивания ультратонких трансплантатов с эндотелиальной поверхности роговицы при помощи низкочастотного ФСЛ, n=10</p> <p>Группа 2 – кадаверные корнеосклеральные диски, после выкраивания ультратонких трансплантатов с эндотелиальной поверхности роговицы при помощи высокочастотного ФСЛ, n=10</p>
<p>2. Клинико-функциональное исследование</p>	
<p>Анализ клинико-функциональных результатов лечения пациентов после выполнения ЗПК с применением двух различных фемтолазерных систем для заготовки ультратонких трансплантатов, n=101</p>	<p>Группа 1А – пациенты с катарактой и ДФ, которым одномоментно выполнена комбинированная операция ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного ФСЛ + факоэмульсификация катаракты (ФЭК) + имплантация интраокулярной линзы (ИОЛ) в капсульный мешок (25 пациентов, 25 глаз)</p>

	Группа 1Б – пациенты с ПБК и артефакцией, которым была выполнена ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного ФСЛ (24 пациента, 24 глаза)
	Группа 2А – пациенты с катарактой и ДФ, которым одномоментно выполнена комбинированная операция ФЛ-ЗПК с использованием высокочастотного ФСЛ + ФЭК + имплантация ИОЛ в капсульный мешок (27 пациентов, 27 глаз)
	Группа 2Б – пациенты с ПБК и артефакцией, которым была выполнена ФЛ-ЗПК с использованием высокочастотного ФСЛ (25 пациентов, 25 глаз)

2.2. Материал и методы экспериментального исследования

Первая часть экспериментальной работы включает в себя изучение и сравнительный анализ воздействия на эндотелиальные клетки и кератоциты двух различных фемтолазерных систем: низкочастотный ФСЛ (Wavelight FS 200) и высокочастотный (Femto LDV Z8).

Для этого методом прижизненного окрашивания с помощью флуоресцентного красителя, после заготовки трансплантата толщиной 130 мкм при помощи двух различных фемтолазерных установок, было исследовано 10 свиных роговиц.

Группа 1 состояла из 5 свиных корнеосклеральных дисков, из которых впоследствии были заготовлены ультратонкие трансплантаты с эндотелиальной поверхности роговицы при помощи низкочастотного ФСЛ.

Группа 2 включала 5 свиных корнеосклеральных дисков, из которых впоследствии были заготовлены ультратонкие трансплантаты с эндотелиальной поверхности роговицы при помощи высокочастотного ФСЛ.

Вторая часть экспериментальной работы заключалась в количественной оценке качества формируемой стромальной поверхности трансплантатов, заготовленных при помощи 2 различных ФСЛ, методом атомно-силовой микроскопии. Суммарно исследованию подверглись 20 образцов.

В группу 1 были включены 10 кадаверных роговичных дисков, которые были получены после выкраивания ультратонкого роговичного трансплантата при помощи низкочастотного ФСЛ.

В группу 2 были включены 10 кадаверных роговичных дисков, которые были получены после выкраивания ультратонкого роговичного трансплантата с использованием высокочастотного ФСЛ.

2.3. Характеристика фемтосекундных лазеров

В ходе исследования для выкраивания трансплантатов для ЗПК применяли два фемтосекундных лазера:

1. «Wavelight FS 200» (Alcon, Германия).
2. «Femto LDV Z8» (Ziemer, Швейцария).

Технические параметры используемых ФСЛ отображены в таблице 2.

Таблица 2 – Основные технические параметры фемтосекундных лазеров

Технические параметры	Фемтосекундные лазеры	
	«Wavelight FS 200» (Alcon, Германия)	«Femto LDV Z8» (Ziemer, Швейцария).
Длина волны, нм	1030±5 (M±σ)	1020-1060
Длительность импульса, фс	350±50 (M±σ)	200-500

Частота импульсов, кГц	200	>5000
Энергия в импульсе, мкДж	0,5-2,0	<0,1
Паттерн сканирования	Растровый	Растровый
Стыковочный конус	Плоский	Плоский

ФСЛ «Wavelight FS 200» является стационарным фемтолазером с длиной волны 1030 ± 5 нм, энергией в импульсе $<2,0$ мкДж, длительностью импульса 350 ± 50 фс, с частотой импульсов 200 кГц, диаметр луча в фокусе – $5,0\pm 0,5$ мкм. Данный лазер имеет возможность изменять мощность импульсов и расстояние между ними индивидуально, в зависимости от глубины реза и поставленных задач. ФСЛ использует растровый паттерн сканирования и плоский стыковочный конус (аппланационный интерфейс). Аппланация стыковочного конуса к роговице осуществляется при помощи электрического сервопривода. Глубина реза – 90-1200 мкм, диаметр реза – до 10 мм.

ФСЛ «Femto LDV Z8» представляет собой мобильную фемтолазерную установку с длиной волны 1020-1060 нм, энергией в импульсе $<0,1$ мкДж, длительностью импульса 200-500 фс, частотой импульсов >5000 кГц, диаметр импульса равняется $2\times 2\times 2$ мкм, дистанция между импульсами регулируется за счет скорости движения головки. В лазере применяется растровый паттерн сканирования и плоский стыковочный конус (аппланационный интерфейс). Аппланация стыковочного конуса к роговице осуществляется при помощи мануального механического привода. Глубина реза – от 50 до 900 мкм, диаметром до 9,5 мм. Обладая высокой плотностью энергии, ФСЛ создает сфокусированный пучок лазерных импульсов, которые перекрывают друг друга, это, как заявляет производитель, и позволяет достичь максимально высокого качества формируемого среза.

Учитывая индивидуальные характеристики, ФСЛ «Wavelight FS 200» можно обозначить как низкочастотный ФСЛ, а ФСЛ «Femto LDV Z8» – как высокочастотный. Далее в тексте будут использоваться указанные обозначения ФСЛ.

2.4. Стандартная технология заготовки ультратонкого трансплантата при помощи высокочастотного ФСЛ

Трансплантат выкраивали при помощи высокочастотного ФСЛ (Ziemer Femto LDV Z8) следующим образом: донорский корнеосклеральный диск диаметром 16 мм, который предварительно заготавливали в донорском Глазном банке и хранили в стандартной консервационной среде, устанавливали эндотелиальной поверхностью вверх на искусственную переднюю камеру (Ziemer, Швейцария) (Рисунок 1).

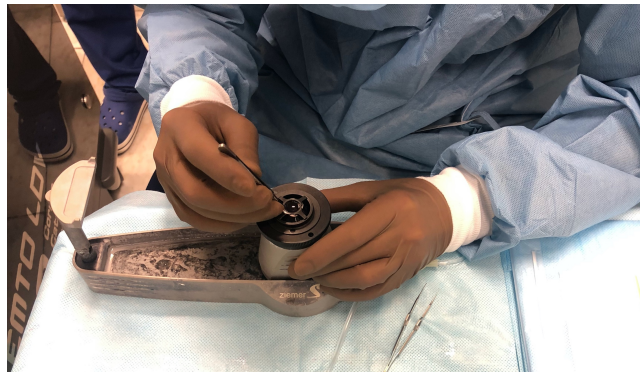


Рисунок 1 – Установка донорского корнеосклерального диска в ИПК (Ziemer, Швейцария)

После чего ИПК заполняли сбалансированным солевым раствором при помощи ирригационной системы хирургической установки Centurion. Уровень давления в ИПК соответствовал высоте поднятия бутылки на 50 см от уровня передней камеры. После того, как трансплантат был зафиксирован в ИПК (Рисунок 2), на эндотелиальную поверхность наносили несколько капель консервационной среды.

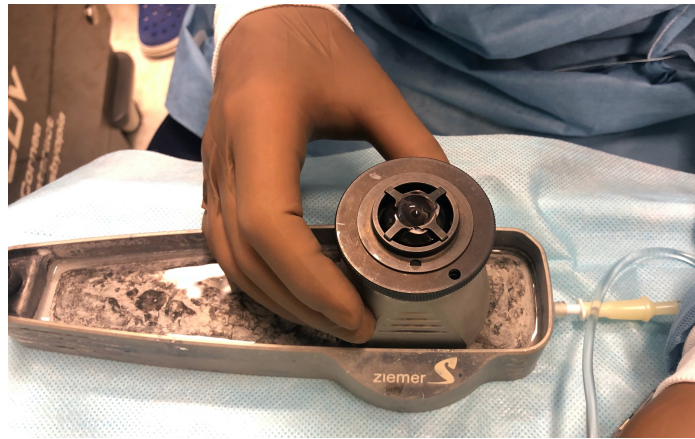


Рисунок 2 – Трансплантат надежно зафиксирован в ИПК и готов к выполнению основного этапа выкраивания

Следующим этапом устанавливали подвижную головку лазера на ИПК и выполняли аппланацию с помощью мануального механического привода. После центровки с использованием программного обеспечения лазера выполняли срез роговицы на глубине 130 мкм диаметром 8,0 мм (Рисунок 3). Использовали следующие настройки ФСЛ: для горизонтального реза – скорость реза 11 мм/с, мощность 97%, для вертикального реза – скорость реза 40 мм/с, мощность 110%. Время формирования трансплантата занимает около 30 секунд.

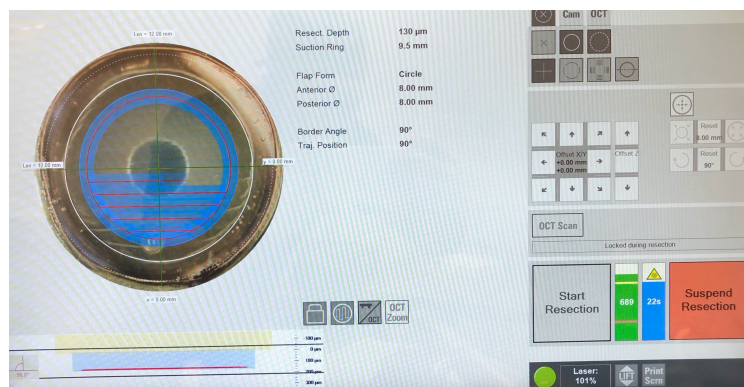


Рисунок 3 – Формирование горизонтального среза, вид с экрана ФСЛ с низкой энергией импульса и высокой частотой

Остаточные стромальные перемычки разделяли тупым путем при помощи шпателя. Готовый трансплантат окрашивали трипановым синим (Membrane Blue, Dorc, Нидерланды). Затем уже сформированный ультратонкий трансплантат

помещали в глайд Бузина, который во всех случаях предварительно смачивали несколькими каплями консервационной среды. На поверхность эндотелия трансплантата наносили тонкую полоску когезивного вискоэластика (Provisc, Alcon) для протекции эндотелиальных клеток во время последующих манипуляций с трансплантатом. После этого, при помощи цангового пинцета без зубцов 23G (Alcon, США), трансплантат протягивали в основание глайда.

Во всех случаях в группах 1А и 2А после выполнения этапа факоэмульсификации катаракты и заготовки донорского трансплантата при помощи ФСЛ переходили к основному этапу – трансплантации ультратонкого донорского роговичного трансплантата.

2.5. Количественная оценка воздействия фемтолазерной энергии на эндотелиальные клетки и кератоциты

Были сформированы две экспериментальные группы, включающие по 5 свиных роговиц каждая. В группе 1 ультратонкие трансплантаты были заготовлены при помощи низкочастотного ФСЛ, в группе 2 – с использованием высокочастотного ФСЛ.

После выкраивания и отделения, для того чтобы минимизировать дальнейшие перемещения и возможные повреждения эндотелиальных клеток, трансплантаты сразу укладывали эндотелием вниз в пластиковые чашки Петри со стеклянным дном (MatTek Corporation) и производили окрашивание.

Для определения жизнеспособности эндотелия роговицы применяли флуоресцентный краситель с торговым названием Live and Dead (Ab 115347, Abcam).

Перед окрашиванием трансплантат трижды отмывали от консервационной среды по 5 минут стерильным раствором BSS (Balanced Salt Solution, pH – 7.4, Abbot). Затем чашку Петри заполняли раствором красителя Live and Dead – 5 мкл в 1 мл стерильного раствора PBS (Phosphate-Buffered Saline, pH – 7.4, Thermo Fisher Scientific) так, чтобы жидкость полностью покрывала трансплантат, и инкубировали в течение 10 минут в темноте при комнатной температуре, для

исключения выцветания флуоресцентных меток. После чего исследуемые образцы промывали троекратно по 5 мин стерильным раствором BSS. Все описанные процедуры были выполнены в стерильных условиях в ламинарном шкафу.

Для визуализации и изучения результатов окрашивания применяли лазерный сканирующий конфокальный микроскоп Olympus Fluoview 10i (Olympus, Япония). Живые клетки представлены зеленым цветом, мертвые – красным. Выполняли по 3 снимка каждого полученного образца для изучения жизнеспособности эндотелиальных клеток. Площадь каждого снимка составляла 1,63 мм². После получения снимков эндотелиальных клеток, чашки Петри извлекали из конфокального микроскопа, трансплантат переворачивали стромальной поверхностью вниз и снова помещали в лазерный сканирующий конфокальный микроскоп для дальнейшего изучения. Для определения глубины повреждения и жизнеспособности кератоцитов, изучали их состояние послойно, с шагом 13 мкм до отсутствия наличия мертвых клеток в изучаемой зоне, так же проводили исследование в 3 разных участках каждого образца объемом 0,19 мм³.

Подсчет живых и мертвых клеток с полученных изображений осуществляли при помощи программы ImageJ (National Institute of Health, США). Общее количество эндотелиальных клеток представляло собой сумму живых и мертвых клеток.

2.6. Количественная оценка качества формируемой стромальной поверхности ультратонкого трансплантата после его заготовки с использованием двух различных фемтолазерных систем

В условиях дефицита наличия донорского материала изучение качества стромальной поверхности ультратонкого трансплантата проводилось на конгруэнтной поверхности остаточной стромы роговичного диска донора.

Группа 1 включала в себя образцы после заготовки трансплантата с применением низкочастотного ФСЛ. Группа 2 состояла из образцов после выкраивания трансплантата при помощи высокочастотного ФСЛ. Каждая группа включала по 10 образцов.

Исследование проводили методом атомно-силовой микроскопии, суть которого заключается в сканировании поверхности исследуемого образца сверхтонким зондом (кантилевером), в процессе его перемещения относительно образца, значение взаимодействия поддерживается постоянным за счет изменения расстояния между зондом и образцом, изображение формируется за счет его регистрации. В АСМ происходит измерение силы Ван-дер-Ваальсовых взаимодействий (электростатическое притяжение/отталкивание) или другими словами, регистрации притяжения или отталкивания атомов зонда и образца.

Сканирование осуществляли при помощи сканирующего микроскопа Certus V (Nano Scan Technologies, Россия). Оно выполнялось в безвоздушной среде и контактном режиме, причем образцы были предварительно высушены в эксикаторе. Применялись следующие зонды: MSCT-AUNM (Veeco, США), жесткость балки – 0,01 Н/м, радиус кривизны зонда – 10 нм.

Проведение количественного морфометрического анализа осуществляли при помощи программного обеспечения самого микроскопа. Оценивали среднеквадратичную шероховатость поверхности (RMS), для этого предварительно полученные изображения выпрямляли по осям X и Y. От каждого образца получали не менее 5 изображений из разных участков, площадь которых составляла 400 мкм².

2.7. Материалы клинико-функциональных исследований

Исследование основывается на сравнительном анализе данных клинико-функциональных исследований и результатов хирургического лечения 101 пациента (101 глаз) с дистрофией роговицы Фукса и псевдофакичной буллезной кератоптаией. У пациентов с ДФ также была диагностирована катаракта разной степени выраженности. Всем пациентам была выполнена ЗПК с применением ультратонких трансплантатов, заготовленных при помощи двух различных ФСЛ. Все пациенты, которые вошли в исследование, обратились в головную организацию ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» и МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России с жалобами

на выраженное снижение зрения или отсутствие предметного зрения, пациенты с выраженной ПБК также жаловались на слезотечение, светобоязнь, боли.

В зависимости от выявленной клинической патологии и вида хирургического лечения все пациенты были разделены на 4 группы.

Группа 1А – пациенты с катарактой и ДФ, которым одномоментно выполнена комбинированная операция ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного ФСЛ + ФЭК + имплантация ИОЛ в капсульный мешок (**25 пациентов, 25 глаз**).

Группа 1Б – пациенты с ПБК и артификацией, которым была выполнена ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного ФСЛ (**24 пациента, 24 глаз**).

Группа 2А – пациенты с катарактой и ДФ, которым одномоментно выполнена комбинированная операция ФЛ-ЗПК с использованием высокочастотного ФСЛ + ФЭК + имплантация ИОЛ в капсульный мешок (**27 пациентов, 27 глаз**).

Группа 2Б – пациенты с ПБК и артификацией, которым была выполнена ФЛ-ЗПК с использованием высокочастотного ФСЛ (**25 пациентов, 25 глаз**).

Пациентам выполняли комплекс диагностических обследований в дооперационном периоде, а также на сроках 1, 3, 6, 12 месяцев после проведенного лечения.

Критериями включения пациентов были наличие эндотелиальной дистрофии роговицы в развитой или далеко зашедшей стадиях, на основании классификации Волкова В.В. и Дронова М.М. (1978), которая также применима к первичной дистрофии роговицы Фукса и отражает поражение и вовлечение основных тканевых структур роговицы пациента. Для групп 1А и 2А критерием включения служило дополнительное наличие возрастной катаракты.

К наличию развитой стадии относились пациенты, которые имели стойкий отек эндотелия и стромы, множественные складки ДМ, что можно было визуализировать при выполнении биомикроскопии. По данным кератопахиметрии, данная стадия характеризовалась центральной толщиной роговицы (ЦТР) >640 мкм.

Пациенты с далеко зашедшей стадией характеризовались наличием выраженного диффузного стромального и эпителиального отека роговицы, буллезностью эпителия. ЦТР находилась в диапазоне от 700 до 1010 мкм. Пациенты с выраженным роговичным синдромом до операции получали консервативное лечение в виде корнепротекторов и временного ношения мягкой контактной линзы.

Критериями исключения пациентов из исследования были следующие параметры: отказ пациента от участия в исследовании, тяжелое соматическое состояние пациента, выраженные необратимые изменения в строме роговицы, неоперабельная отслойка сетчатки, рубцовая стадия возрастной макулярной дегенерации (ВМД), амблиопия высокой степени, терминальная глаукома, глаукома с некомпенсированным внутриглазным давлением (ВГД).

В дооперационном периоде у ряда пациентов была выявлена различная сопутствующая патология (Таблица 3).

Таблица 3 – Сопутствующая патология в исследуемых группах (n(%))

Сопутствующая патология	Группа 1А (n=25)	Группа 1Б (n=24)	Группа 2А (n=27)	Группа 2Б (n=25)
Миопия средней и высокой степени	6 (24%)	7 (26%)	8 (33%)	5 (20%)
Глаукома, компенсированная медикаментозно или оперативно	5 (20%)	8 (30%)	4 (17%)	9 (36%)
ВМД («сухая форма»)	6 (24%)	7 (26%)	4 (17%)	9 (36%)
Эпиретинальный фиброз	1 (4%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (8%)
Оперированная отслойка сетчатки	0 (0%)	2 (7%)	0 (0%)	0 (0%)

Состояние после радиальной кератотомии (РКТ)	3 (12%)	1 (3%)	2 (8%)	2 (8%)
--	---------	--------	--------	--------

2.7.1. Характеристика пациентов группы 1А

В группу 1А вошли 25 глаз 25 пациентов, которым была проведена комбинированная операция ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного с ФЭК и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок.

Распределение пациентов в группе 1А по возрасту и полу отображено в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристика пациентов по половому и возрастному составу в группе 1А

Параметр	Показатели
Пациенты (глаза)	25(25)
Возраст, лет $M \pm \sigma$	64 \pm 10
Пол, муж/жен %	13 (42%)/18 (58%)

2.7.2. Характеристика пациентов группы 1Б

В группу 1Б вошли 24 глаза 24 пациентов, с ПБК и артефакцией, которым была выполнена ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного ФСЛ.

Распределение пациентов в группе 1Б по возрасту и полу отображено в таблице 5.

Таблица 5 – Характеристика пациентов по половому и возрастному составу в группе 1Б

Параметр	Показатели
Пациенты (глаза)	24(24)
Возраст, лет $M \pm \sigma$	73 \pm 8

Пол, муж/жен %	16 (46%)/19 (54%)
----------------	-------------------

2.7.3. Характеристика пациентов группы 2А

Группа 2А включала 27 глаз 27 пациентов с катарактой и ДФ, которым одномоментно была проведена комбинированная операция ФЛ-ЗПК с использованием высокочастотного ФСЛ + ФЭК + имплантация ИОЛ в капсульный мешок.

Распределение пациентов в группе 2А по возрасту и полу отображено в таблице 6.

Таблица 6 – Характеристика пациентов по половому и возрастному составу в группе 2А

Параметр	Показатели
Пациенты (глаза)	27(27)
Возраст, лет $M \pm \sigma$	67 \pm 13
Пол, муж/жен %	15 (39%)/23 (61%)

2.7.4. Характеристика пациентов группы 2Б

Группа 2Б включала 25 глаз 25 пациентов с ПБК и артификацией, которым была проведена ФЛ-ЗПК с использованием высокочастотного ФСЛ.

Распределение пациентов в группе 2Б по возрасту и полу отображено в таблице 7.

Таблица 7 – Характеристика пациентов по половому и возрастному составу в группе 2Б

Параметр	Показатели
Пациенты (глаза)	25(25)
Возраст, лет $M \pm \sigma$	73,5 \pm 9,5
Пол, муж/жен %	16(43%)/21 (57%)

Исходя из проанализированных данных пациентов, можно сделать

заключение, что исследуемые группы пациентов являются однородными и подходящими для дальнейшего сравнительного статистического анализа динамики клинико-функциональных параметров на различных сроках наблюдения после оперативного лечения.

2.8. Методы клинико-функциональных исследований

Всем пациентам было выполнено комплексное клинико-функциональное обследование, которое включало в себя следующие исследования: визометрия с коррекцией и без, авторефрактометрия, тонометрия, периметрия, электрофизиологические исследования зрительного нерва (определение порогов электрической чувствительности и лабильности), биомикроскопия, офтальмоскопия, ультразвуковая эхобиометрия, кератотопография, подсчет плотности эндотелиальных клеток, оптическая когерентная томография, Шаймпфлюг денситометрия.

Визометрию выполняли без коррекции и с максимальной очковой коррекцией с помощью фороптора Nuvitz CDR-3100 (Германия) и проектора опто типов Торсон АСР-5 (Япония). Визометрию выполняли в дооперационном периоде и на всех сроках наблюдения до 12 месяцев после операции.

Авторефрактометрию выполняли в естественных условиях на аппарате RC-5000 «Tomey» (Япония) с погрешностью $\pm 0,25$ дптр.

Тонометрию выполняли на пневмотонометре Торсон (Япония).

Периметрию выполняли на проекционном периметре АППЗ-01 (Россия) по общепринятой методике с применением объектов белого цвета разной величины и яркости, которые зависят от остроты зрения пациента.

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

Биомикроскопию переднего отрезка глаза выполняли с помощью щелевой лампы SL-30 «Opton» (Германия). Первично проводили оценку придаточного аппарата глаза (век, ресниц), состояния тарзальной и бульбарной конъюнктивы, а также переднего и заднего отрезка глаз.

У пациентов с роговичным синдромом во всех случаях визуализировали гиперемию краев век. Во время осмотра роговицы отмечали наличие признаков эндотелиальной дистрофии роговицы, таких как симптом «битого металла» в виде неравномерности ДМ с отливом бронзового цвета, наличие патологических гутт и складок ДМ. Определяли степень и локализацию отека стромы и эпителия роговицы, наличие булл.

Подвергали оценке глубину и равномерность передней камеры глаза, наличие ретрокорнеальной мембраны, спаек, синехий. Оценивали состояние радужной оболочки, размера и формы зрачка, наличие колесом. Если имелась ИОЛ, оценивали ее положение внутри глаза, место и степень ее фиксации. Если у пациента имелся нативный хрусталик, то оценивали степень его прозрачности с целью применения комбинированного вмешательства (ФЛ-ЗПК + ФЭК + ИОЛ).

Офтальмоскопию выполняли при наличии достаточной прозрачности сред переднего отрезка глаза при помощи асферической линзы с оптической силой 78 дптр «MaxField» (Ocular, США). Осмотру подвергали макулярную зону, диск зрительного нерва, его цвет, границы, величину экскавации, а также ход и калибр сосудов сетчатки.

Ультразвуковое А- и В-сканирование выполняли на приборе «SONOMED» (США). Измеряли глубину передней камеры, толщину хрусталика, передне-задний размер глазного яблока, также исключали наличие внутриглазных новообразований, отслойки сетчатки и гемофтальма.

Кератотопографию осуществляли при помощи автоматизированного кератотопографа TMS-4 «Tomey» (Япония).

Подсчет плотности эндотелиальных клеток проводили на всех сроках наблюдения в центральной зоне и автоматическом режиме с помощью эндотелиального микроскопа Tomey EM-3000 (Япония).

Оптическая когерентная томографию осуществляли с применением двух приборов: Optovue (США) и Visante OCT (Carl Zeiss, Германия).

Параметры прибора Optovue: длина волны сканирующего луча – 840 ± 10 нм, частота сканирования – 26000 А-сканов в секунду, оптическое разрешение – 5 мкм.

Параметры прибора Visante OCT: длина волны сканирующего луча – 1300 нм, частота сканирования – 256 А-сканов в поперечном срезе, время получения одного снимка – 0,125 сек, оптическое разрешение – 10x3 мм.

Метод ОКТ является безопасным для пациента и выполняется бесконтактно, что является очень важной характеристикой в раннем послеоперационном периоде. Исследование проводили на всех сроках наблюдения за пациентом. Оценке подвергали следующие параметры: адаптация трансплантата к задней строме реципиента, равномерность трансплантата, общая толщина роговицы реципиента вместе с трансплантатом, толщина трансплантата в центральной зоне и на периферии.

Шаймпфлюг денситометрию выполняли с помощью ротационной Шаймпфлюг-камеры (Pentacam Scheimpflug system. Oculus, Inc., Германия). Для того, чтобы избежать появления возможных aberrаций из-за сухости поверхности роговицы, обследование проводили в затемненном помещении через 3 секунды после того, как пациент поморгает. Измерение оптической плотности роговицы выполняли в центральной зоне роговицы (0-2 мм) и парацентральной (2-6 мм) на сроках наблюдения 3, 6 и 12 месяцев. Регистрировали средние значения денситометрии всех слоев роговицы (total layer, TL). Роговица автоматически была разделена на три равные зоны по глубине. Передний слой (anterior layer, AL), который включал переднюю 1/3 роговицы, состоящую из эпителия и Боуменовой мембраны. Центральный слой (center layer, CL), представляющий собой 1/3 от общей толщины роговицы, сразу после переднего слоя, состоит только из стромы. Задний слой (posterior layer, PL) соответствовал оставшейся части роговицы вместе с трансплантатом. Дополнительно исследовали денситометрические показатели зоны интерфейса, которая имела следующие границы: нижняя – 2/3 от толщины трансплантата со стороны эндотелия, верхняя – на 100 мкм выше нижней.

Степень плотности хрусталика определяли, используя одну из наиболее широко применяемых классификаций LOCS III (Lens Opacities Classification System III)[80]. Классификация состоит из 6 изображений различной окраски ядра хрусталика (nuclear color – NC; 0,1-6,9), помутнений ядра хрусталика (nuclear

opalescence – NO; 0,1–6,9), которые можно визуализировать во время выполнения биомикроскопии, 5 изображений помутнений кортикальных слоев (cortical opacity – C; 0,1-5,9) и задних субкапсулярных (subcapsular opacity – P; 0,1-5,9), которые можно наблюдать при проведении ретроиллюминации.

Расчет ИОЛ выполняли с использованием IOL Master 700 (Carl Zeiss, Meditec, США). В случаях, когда получить данные по длине передне-задней оси глаза не было возможно, расчет ИОЛ выполняли по данным, полученным после проведения ультразвукового А-сканирования. Если длина глаза была менее 22 мм, то применяли формулу Hoffer Q, во всех остальных случаях использовали SRK/T. Учитывая вероятность наличия гиперметропического сдвига рефракции, расчет проводили с учетом сдвига в 1,5 дптр.

Результаты всех клинико-функциональных исследований заносили в сводные таблицы программы Excel пакета Microsoft Office 2010.

2.9. Методы статистических исследований

В качестве описательной статистики использовали среднее со стандартным отклонением ($M \pm SD$). Нормальность распределения имеющихся переменных оценивалась с использованием теста Шапиро-Уилка. Во время оценки полученных результатов статистически значимыми считали результаты при значениях $p \leq 0,05$. Статистическую обработку полученных данных и визуализацию результатов осуществляли с использованием программы GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, Inc., США).

ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ УЛЬТРАТОНКИХ ТРАНСПЛАНТАТОВ, ЗАГОТОВЛЕННЫХ С ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ПОВЕРХНОСТИ РОГОВИЦЫ ПРИ ПОМОЩИ НИЗКОЧАСТОТНОГО ФЕМТОСЕКУНДНОГО ЛАЗЕРА, В СРАВНИТЕЛЬНОМ АСПЕКТЕ С ВЫСОКОЧАСТОТНЫМ ФЕМТОСЕКУНДНЫМ ЛАЗЕРОМ

Целью этой главы является экспериментальное обоснование использования низкочастотного ФСЛ для заготовки ультратонкого донорского роговичного трансплантата для задней послойной кератопластикию.

Для этого был разработан в эксперименте *ex vivo* новый хирургический этап подготовки трансплантата, произведена оценка качества его поверхности, а также изучено воздействие фемтолазерной энергии на эндотелиальные клетки и кератоциты при заготовке трансплантата в сравнении с трансплантатами, подготовленными при помощи высокочастотного ФСЛ.

3.1. Разработка в эксперименте технологии заготовки ультратонкого донорского роговичного трансплантата при помощи низкочастотного фемтосекундного лазера

Для заготовки ультратонкого трансплантата использовали низкочастотную фемтолазерную установку с плоским аппланационным интерфейсом, который обуславливает равномерное уплощение донорской роговичной ткани (Alcon Wavelight FS 200).

Данный ФСЛ имеет возможность изменять мощность импульсов и расстояние между ними индивидуально, в зависимости от глубины реза и поставленных задач, – это дает возможность подобрать параметры работы лазера так, чтобы максимально снизить плотность излучаемой энергии на площадь роговичной поверхности ($\text{мкДж}/\text{мм}^2$). Фемтолазерная установка осуществляет свою работу на частоте 200 кГц с энергией импульса от 0,5 до 2,0 мкДж, расстояние между импульсами варьирует от 4 до 12 мкм.

Экспериментальный свиной корнеосклеральный диск, законсервированный в растворе для хранения роговичной ткани производства ООО «НЭП

Микрохирургия глаза» (Россия, ТУ 9393-013-29039336-2007, регистрационное удостоверение № ФСР2010106650), устанавливали в ИПК эндотелиальной поверхностью вверх (Рисунок 4). После закрывания механизма ИПК, выполняли ее заполнение сбалансированным солевым раствором при помощи подключения к ней инфузионной системы (Рисунок 5).

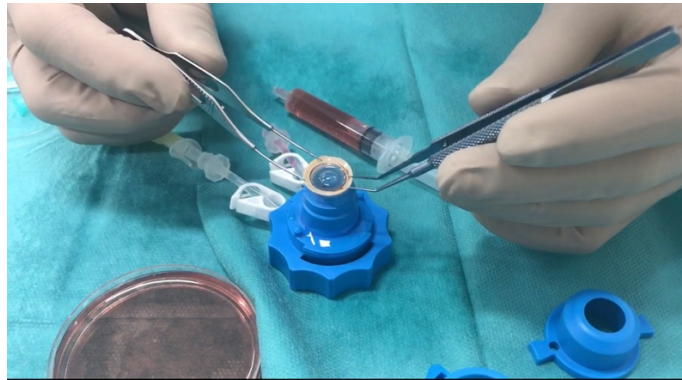


Рисунок 4 – Установка трансплантата эндотелием вверх на ИПК



Рисунок 5 – Подключение инфузионной системы к ИПК

Для этого располагали флакон с солевым раствором на штативе с фиксатором на высоте, обеспечивающей давление внутри системы равное 30 см вод. ст. Данное давление является минимальным для срабатывания датчика в ФСЛ, позволяющего выполнить срез. Эндотелиальную поверхность роговицы увлажняли путем нанесения на нее консервационной среды.

Готовую для работы роговицу, находящуюся в ИПК, помещали под аппланационный интерфейс лазера. После центровки выполняли процесс аппланации путем вращения джойстика ФСЛ, который, в свою очередь, оснащен электрическим сервоприводом (Рисунок 6).



А – Вид сбоку

Б – Вид с камеры ФСЛ

Рисунок 6 – Аппланация интерфейса к эндотелию свиной роговицы
низкочастотного ФСЛ

Далее, под контролем компьютерной программы, выполняли срез роговицы заданного профиля (Рисунок 7).

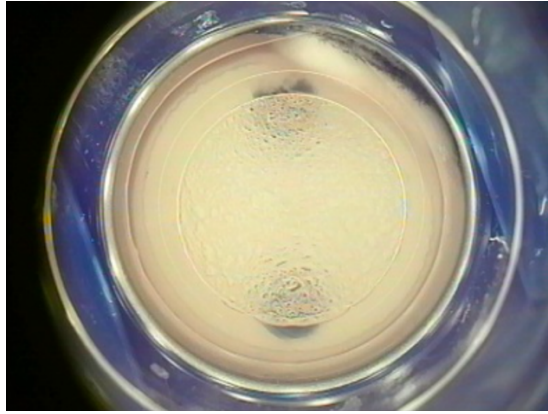


Рисунок 7 – Интерфейс лазера апплирован к эндотелию свиной роговицы, вид с камеры ФСЛ сразу после формирования среза

Первый срез проводили в ламеллярной плоскости на глубине 130 мкм, второй – в вертикальной плоскости с глубины 150 мкм кверху (в сторону эндотелия) диаметром 8,0 мм под углом 90°. В таком случае происходит перекрывание ламеллярного и вертикального среза друг другом что обеспечивает качественное отделение полученного трансплантата по краям среза. Для минимизации энергии, которая расходуется на единицу площади поверхности роговицы во время выполнения ламеллярного среза, наиболее оптимальными выявлены ниже представленные параметры ФСЛ: расстояние между точками – 8 мкм, между рядами – 8 мкм, энергия – 0,8 мкДж (Рисунок 8).

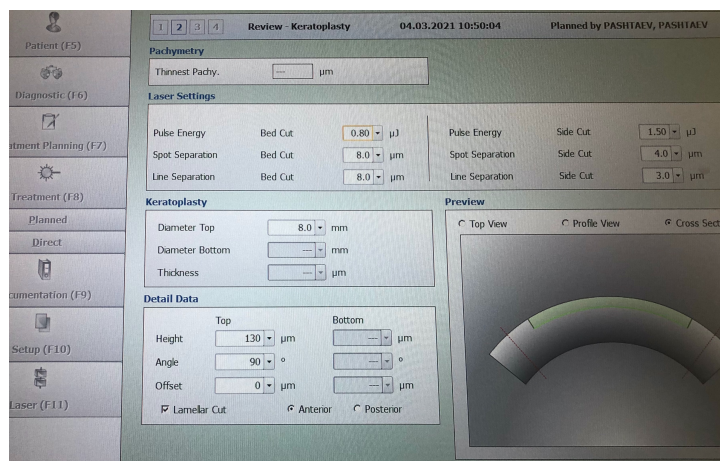


Рисунок 8 – Установка необходимых параметров на компьютере низкочастотного ФСЛ, вид с монитора

Растровый паттерн. Время формирования среза (контакта интерфейса ФСЛ с эндотелием) занимает 15 сек. Отделение полученного трансплантата от окружающих тканей производили при помощи шпателя. Оставшиеся коллагеновые перемычки во всех случаях были разрушены тупым способом.

Расчёт проводили по формуле:

$$W = 1000000/a \times b \times E,$$

где W – плотность энергии на площадь поверхности, мкДж/мм²; a – расстояние между импульсами, мкм; b – расстояние между рядами, мкм; E – энергия, мкДж; 1000000 – количество мкм² в 1 мм².

Таким образом, минимальным давлением для срабатывания датчика аппланации ФСЛ, позволяющего выполнить срез, а также снизить потерю эндотелиальных клеток за счет минимизации силы контакта с аппланационным интерфейсом, обеспечивающим равномерную аппланацию и предсказуемый этап фемтодиссекции, является давление внутри системы равное 30 см вод. ст.

При применении разработанных параметров (расстояние между точками – 8 мкм, между рядами – 8 мкм, энергия – 0,8 мкДж), плотность энергии на мм² поверхности стромы роговицы составила 12500 мкДж/мм², что в 2,5 раза меньше, чем этот параметр при использовании более низкой энергии импульса в 0,5 мкДж, что приводит к необходимости уменьшать расстояние между точками и рядами до 4 мкм, и соответственно, увеличивает энергетическую нагрузку до 31250 мкДж/мм² и удлиняет время контакта лазерного интерфейса с эндотелием в 3-4 раза. Для ФСЛ «Femto LDV Z8» этот показатель равняется 100000 мкДж/мм², что значительно превышает энергетическую нагрузку на ткани по сравнению с низкочастотным ФСЛ.

3.2. Экспериментальное исследование воздействия фемтолазерной энергии на эндотелиальные клетки и кератоциты при заготовке трансплантата

Экспериментальное исследование проводили в следующих направлениях: выполняли количественную оценку воздействия фемтосекундных лазерных систем

на эндотелиальные клетки роговицы и кератоциты методом прижизненного окрашивания с использованием флуоресцентного красителя.

3.2.1. Сравнительный анализ относительной потери эндотелиальных клеток при заготовке трансплантата при помощи двух различных фемтолазерных систем.

Подсчет эндотелиальных клеток свиной роговицы перед выполнением опыта проводили на Кератоанализаторе для Глазных банков (Konan, Япония), однако получить данные нам не удалось. Данное обстоятельство, возможно, связано с несколько отличной от человеческой морфологии эндотелиальных клеток свиной роговой оболочки. Учитывая отсутствие технической возможности подсчета плотности эндотелиальных клеток свиной роговицы перед проведением исследований, невозможно было оценить процент потери клеток. Однако остается возможным оценить остаточный процент живых и мертвых клеток в каждой группе. Полученные данные представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – среднее арифметическое, σ – стандартное отклонение, и отображены в таблицах 8 и 9.

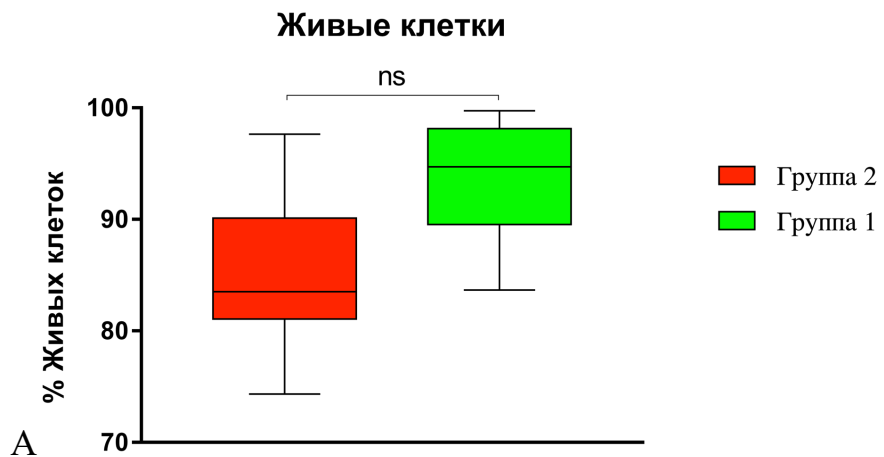
Таблица 8 – Процент остаточных живых эндотелиальных клеток, в зависимости от используемого ФСЛ

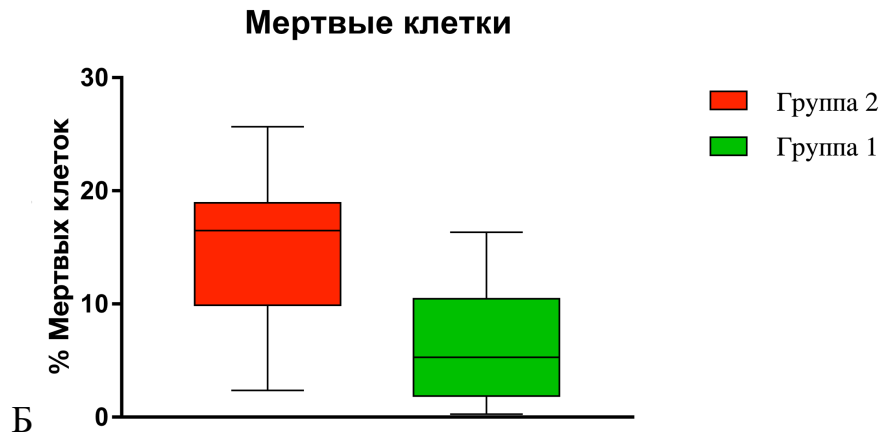
№ образца	Живые эндотелиальные клетки после выкраивания трансплантата на низкочастотном ФСЛ (%)	Живые эндотелиальные клетки после выкраивания трансплантата на высокочастотном ФСЛ (%)	p
1	92,7±3,3	87,0±3,6	p>0,05
2	90,3±0,7	84,8±3,8	p>0,05
3	85,1±2,4	80,9±2,2	p>0,05
4	97,0±1,0	80,3±4,6	p>0,05
5	99,2±0,5	94,5±3,9	p>0,05
В среднем, $M \pm \sigma$	93,2±5,4	85,3±6,3	p>0,05

Таблица 9 – Процент мертвых эндотелиальных клеток, в зависимости от используемого ФСЛ

№ образца	Мертвые эндотелиальные клетки после выкраивания трансплантата на низкочастотном ФСЛ (%)	Мертвые эндотелиальные клетки после выкраивания трансплантата на высокочастотном ФСЛ (%)	p
1	6,4±3,3	12,9±3,6	p>0,05
2	9,6±0,7	15,1±3,8	p>0,05
3	15,5±2,8	19,0±2,2	p>0,05
4	3,2±1,0	20,7±4,3	p>0,05
5	0,7±0,5	5,4±3,9	p>0,05
В среднем, М±σ	6,7±5,4	14,6±6,1	p>0,05

Проведенный статистический анализ не выявил значимые различия по остаточному проценту живых эндотелиальных клеток и мертвых между указанными группами (p>0,05) (Рисунок 9).





А – График, отражающий процент живых эндотелиальных клеток после заготовки трансплантата, в зависимости от вида используемого ФСЛ

Б – График, отражающий процент мертвых эндотелиальных клеток после заготовки трансплантата, в зависимости от вида используемого ФСЛ

Рисунок 9 – Количественная оценка воздействия двух ФСЛ на эндотелиальные клетки

Процент живых эндотелиальных клеток после выкраивания ультратонкого трансплантата с использованием низкочастотного ФСЛ составил в среднем $93,2 \pm 5,4\%$, мертвых – $6,7 \pm 5,4\%$ (Рисунок 10). В тех случаях, когда трансплантат заготавливался при помощи высокочастотного ФСЛ, процент живых эндотелиальных клеток был равен $85,3 \pm 6,3\%$, мертвых – $14,6 \pm 6,1\%$ (Рисунок 11).

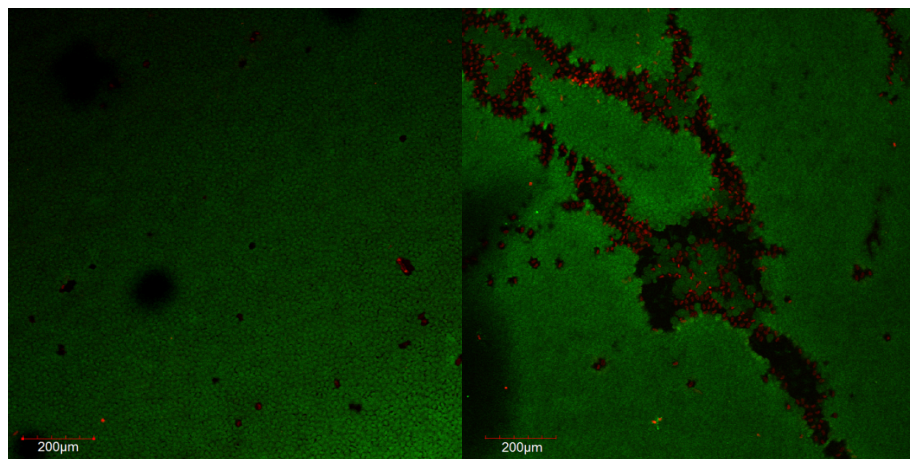


Рисунок 10 – Эндотелий свиной роговицы после выкраивания трансплантата с использованием низкочастотного ФСЛ, увеличение 10х

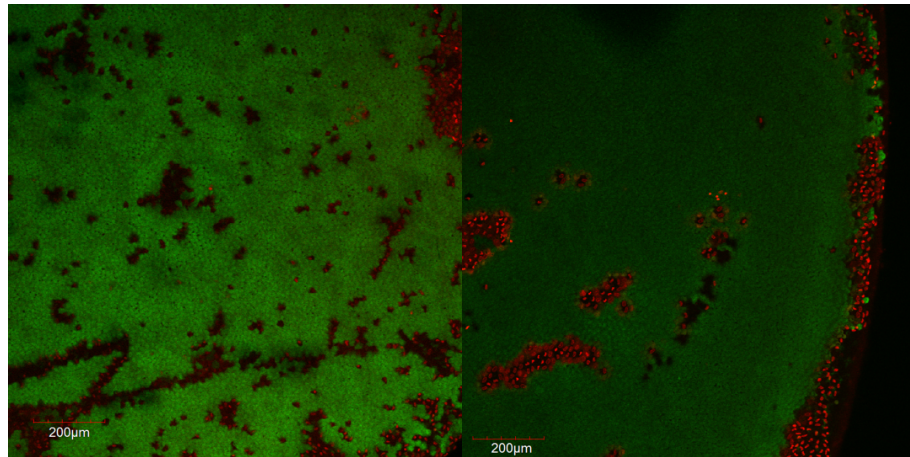


Рисунок 11 – Эндотелий свиной роговицы после выкраивания трансплантата с использованием высокочастотного ФСЛ, увеличение 10х

3.2.2. Экспериментальное изучение воздействия двух различных фемтолазерных систем на кератоциты при заготовке трансплантата для ЗПК

Оценивали глубину повреждения кератоцитов и их жизнеспособность. Полученные данные представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – среднее арифметическое, σ – стандартное отклонение, и отображены в таблицах 10 и 11, а также в процентном соотношении (Таблица 12, 13).

Таблица 10 – Количество живых кератоцитов, в зависимости от используемого ФСЛ

Глубина исследования, мкм	Группа 1 ($M \pm \sigma$)	Группа 2 ($M \pm \sigma$)	p
0	0	0	$p > 0,05$
13	$31,8 \pm 31,6$	$70,2 \pm 36,1$	$p < 0,05$
26	$93,0 \pm 57,7$	$187,5 \pm 62,2$	$p < 0,05$
39	$146,8 \pm 61,7$	$256,0 \pm 89,7$	$p < 0,05$
52	$237,3 \pm 52,6$	$302,7 \pm 76,4$	$p < 0,05$
65	$280,7 \pm 58,0$	$312,2 \pm 73,8$	$p > 0,05$
78	$316,0 \pm 68,8$	$335,0 \pm 38,3$	$p > 0,05$

91	332,9±72,4	345,5±40,2	p>0,05
104	361,0±62,7	302,4±75,1	p>0,05
117	302,2±79,2	286,4±53,0	p>0,05

Таблица 11 – Количество мертвых кератоцитов, в зависимости от используемого ФСЛ

Глубина исследования, мкм	Группа 1 (M±σ)	Группа 2 (M±σ)	p
0	214,1±76,8	161,0±45,3	p>0,05
13	262,8±83,1	212,9±69,1	p<0,05
26	273,0±72,3	158,8±47,1	p<0,05
39	216,5±42,5	85,3±60,8	p<0,05
52	132,8±41,4	58,0±57,8	p<0,05
65	74,5±40,8	27,3±16,6	p>0,05
78	49,4±32,4	11,4±15,8	p>0,05
91	34,9±30,0	9,1±14,9	p>0,05
104	20,2±23,1	6,5±12,9	p>0,05
117	10,0±13,0	1,8±5,6	p>0,05

Таблица 12 – Процентное соотношение живых и мертвых кератоцитов в зависимости от глубины их расположения, Группа 1

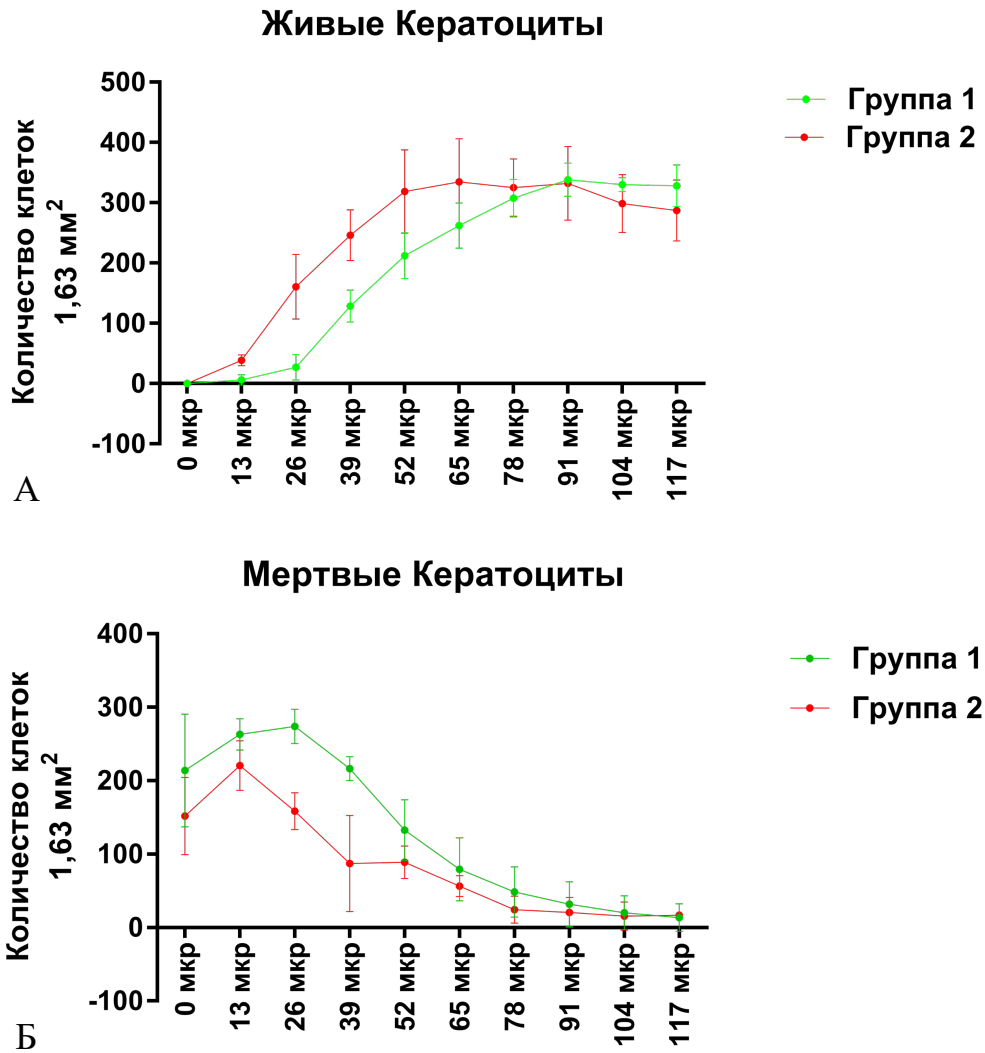
Глубина исследования, мкм	Количество живых кератоцитов, %	Количество мертвых кератоцитов, %
0	0	100
13	10,79	89,21
26	25,40	74,60
39	40,40	59,60

52	64,12	35,88
65	79,02	20,98
78	86,48	13,52
91	90,52	9,48
104	94,71	5,29
117	96,79	3,21

Таблица 13 – Процентное соотношение живых и мертвых кератоцитов в зависимости от глубины их расположения, Группа 2

Глубина исследования, мкм	Количество живых кератоцитов, %	Количество мертвых кератоцитов, %
0	0	100
13	24,79	75,21
26	54,14	45,86
39	75,0	25,0
52	83,92	16,08
65	91,95	8,05
78	96,71	3,29
91	97,43	2,57
104	97,89	2,11
117	99,37	0,63

Выполненный статистический анализ выявил статистически значимые отличия между группами только на глубине от 13 до 52 мкм ($p < 0,05$). В указанном диапазоне большая гибель кератоцитов наблюдалась в группе с применением низкочастотного ФСЛ (Рисунок 12).



А – График, отражающий количество живых кератоцитов в зависимости от глубины их залегания после заготовки трансплантата с использованием двух различных ФСЛ.

Б – График, отражающий количество мертвых кератоцитов в зависимости от глубины их залегания после заготовки трансплантата с использованием двух различных ФСЛ.

Рисунок 12 – Количественная оценка воздействия двух ФСЛ на кератоциты

В обеих группах непосредственно в зоне фемтолазерного среза живые клетки полностью отсутствовали, далее, с увеличением глубины, количество живых клеток возрастало до 91 мкм, после чего оставалось практически неизменным. Количество мертвых клеток увеличивалось с 0 до 26 мкм в группе 1 и до 13 мкм в группе 2, после чего в обеих группах постепенно уменьшалось и сходило на нет

при достижении 117 мкм. В группе 1 наибольшее количество мертвых клеток наблюдали на глубине 26 мкм – $273,0 \pm 72,3$ (74,59%) (Рисунок 13). В группе 2 это количество составляло $212,9 \pm 69,1$ клеток (75,20%) и соответствовало глубине в 13 мкм (Рисунок 14).

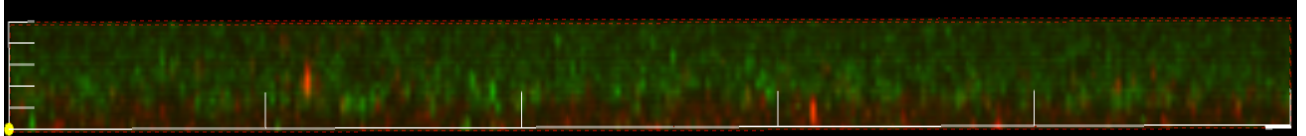


Рисунок 13 – «Цветовая карта» кератоцитов свиной роговицы после выкраивания трансплантата с использованием низкочастотного ФСЛ, 3D-модель стромы роговицы, увеличение 10х

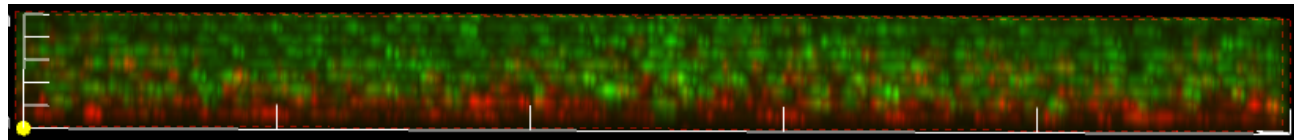


Рисунок 14 – «Цветовая карта» кератоцитов свиной роговицы после выкраивания трансплантата с использованием высокочастотного ФСЛ, 3D-модель стромы роговицы, увеличение 10х

Таким образом, методом прижизненного окрашивания эндотелиальных клеток свиной роговой оболочки с использованием флуоресцентного красителя, была дана количественная оценка состояния эндотелия после заготовки ультратонких трансплантатов с использованием низкочастотного ФСЛ в сравнительном аспекте с трансплантатами, полученными при применении высокочастотного ФСЛ. Статистически значимых различий между группами выявлено не было ($p > 0,05$). По результатам эксперимента, повреждающее воздействие фемтолазерной энергии вне зависимости от вида ФСЛ проникает внутрь стромы трансплантата от непосредственного места формирования среза на глубину до 117 мкм. Экспериментальное исследование воздействия фемтолазерной энергии на эндотелиальные клетки и кератоциты при заготовке трансплантата

демонстрирует безопасность и возможность клинического использования разработанной технологии задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера.

3.3. Экспериментальное изучение качества формируемой стромальной поверхности ультратонкого трансплантата после его заготовки с использованием двух различных фемтолазерных систем

Качество формируемой при помощи лазера поверхности является возможным оценить при помощи показателя RMS: чем он выше, тем трансплантат имеет более грубую поверхность, что, возможно, в дальнейшем может сказаться на зрительных функциях пациента.

В группе 1, в которой для выкраивания трансплантата использовался низкочастотный ФСЛ, значение RMS составило $18,55 \pm 4,59$ мкм (Рисунок 15).

В группе 2, в которой применялся высокочастотный ФСЛ, значение показателя RMS было равно $13,9 \pm 5,2$ мкм (Рисунок 16). Данные представлены в таблице 14.

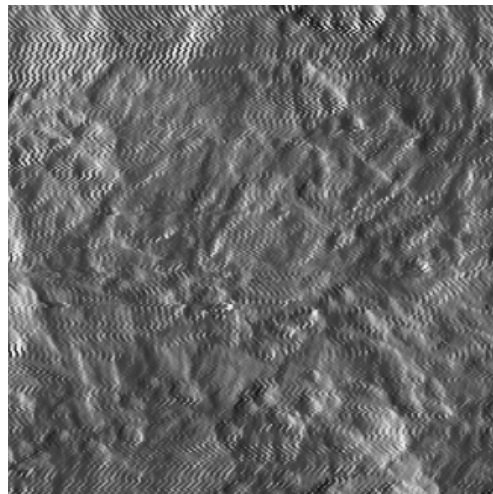


Рисунок 15 – Изображение образца группы 1, после воздействия низкочастотного ФСЛ, полученное методом АСМ, размер 5x5 мкм

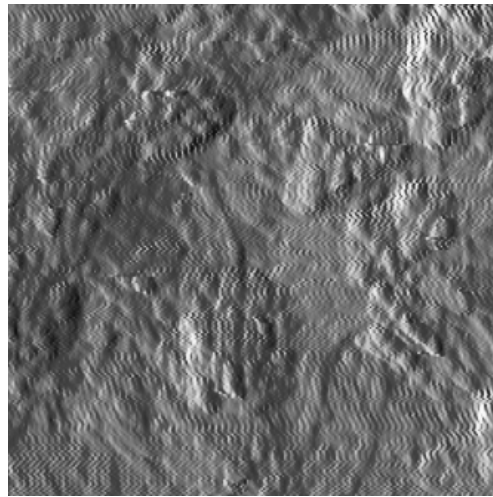


Рисунок 16 – Изображение образца группы 2, после воздействия высокочастотного ФСЛ, полученное методом АСМ, размер 5x5 мкм

Таблица 14 – Результаты атомно-силовой микроскопии

№ группы	Вид ФСЛ	Среднеквадратичная шероховатость поверхности (RMS), мкм, $M \pm \sigma$
1	Низкочастотный ФСЛ	$18,55 \pm 4,59$
2	Высокочастотный ФСЛ	$13,9 \pm 5,2$
p		$p < 0,05$

Таким образом, с использованием метода атомно-силовой микроскопии был выполнен анализ качества поверхностного рельефа стромальной стороны донорского трансплантата и вычислены величины его шероховатости, при заготовке с применением высокочастотного и низкочастотного лазеров.

По результатам оценки качества среза, значения среднеквадратичной шероховатости в обеих группах были на оптимально высоком уровне, однако показатель шероховатости после воздействия низкочастотного ФСЛ был больше в сравнении с высокочастотным ФСЛ ($p < 0,05$). Разработанная технология заготовки ультратонких трансплантатов для ЗПК при помощи низкочастотного ФСЛ позволяет достичь достаточно высокого качества поверхности трансплантата, что обеспечивает его возможность использования в клинической практике.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА НОВОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ И АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ДИСТРОФИЕЙ РОГОВИЦЫ ФУКСА И ПСЕВДОФАКИЧНОЙ БУЛЛЕЗНОЙ КЕРАТОПАТИЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДВУХ РАЗЛИЧНЫХ ФЕМТОЛАЗЕРНЫХ УСТАНОВОК

Целью данной главы является разработка хирургической техники и оценка клинико-функциональных результатов лечения пациентов с ДФ и ПБК технологией задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера в сравнительном аспекте с использованием высокочастотного ФСЛ.

Для этого было необходимо разработать в клинике хирургический этап новой технологии задней послойной кератопластики, а также на контрольных сроках – 1,3,6,12 месяцев после операции – провести оценку следующих показателей: количество и структуру осложнений, НКОЗ и КОЗ, кератометрию, послеоперационный астигматизм, ЦТР, ПЭК и процент их потери, результаты оптической когерентной томографии, индекс Ц:П, параметры денситометрии.

4.1. Разработка в клинике хирургического этапа комбинированной новой технологии задней послойной кератопластики с факоэмульсификацией катаркты и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок

Предоперационная подготовка заключалась в выполнении премедикации внутривенным введением Диазепама (0,5% - 2,0 мл). После чего осуществляли акинезию век по Ван-Линдту и ретробульбарную блокаду 2% раствором Лидокаина (2,0 мл). Все манипуляции выполняли по стандартной методике. Анестезию дополняли троекратной инстилляцией в конъюнктивальную полость анестетика Алкаина (0,5%) с пятиминутным интервалом.

Операционное поле обрабатывали раствором Бетадина, после чего лицо пациента накрывали одноразовой стерильной салфеткой. Ресницы отграничивали от операционного поля при помощи пленочной прозрачной наклейки Tegaderm.

Для улучшения визуализации во всех случаях проводили деэпителизацию при помощи скребца размером 7-9 мм.

Этап факоэмульсификации катаракты выполняли по стандартной методике с использованием техники «lolly-pop» при помощи хирургической системы Centurion Vision System (Alcon, США). Основной туннельный корнеосклеральный разрез во всех случаях располагали с височной стороны в лимбальной зоне размером 2,5 мм, на 3 часах для левого глаза и 9 – для правого, при помощи ножа Mani 2.0 мм (Япония). Два парацентеза выполняли на 12 и 3 часах, или на 12 и 9, в зависимости от оперируемого глаза пациента, в лимбальной зоне во фронтальной плоскости при помощи копьевидного ножа Mani 1.1 мм (Япония). Стоит пояснить, что парацентез на 12 часах осуществляли под углом в 45° к сагиттальной плоскости, причем выходящая в переднюю камеру часть сформированного канала имела ширину в $\frac{1}{2}$ от входящей (0,5-0,6 мм), это обеспечило надежную фиксацию ирригационной трубки и предсказуемость ирригационного потока (Рисунок 17).

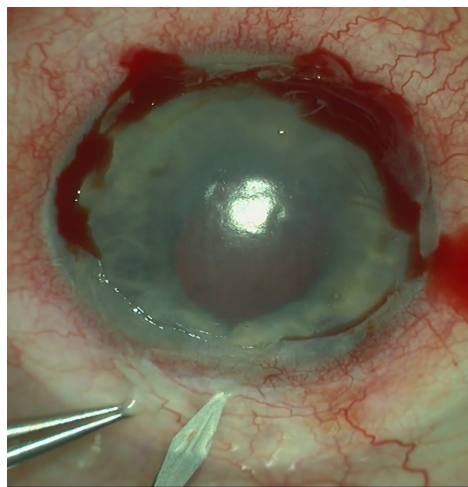


Рисунок 17 – Особенности формирования парацентеза на 12 часах, видно кровоизлияние из поверхностных сосудов после деэпителизации роговицы.

Снимок с камеры операционного микроскопа, увеличение 5х

Для прогнозируемости выполнения непрерывного капсулорексиса и стабильности передней камеры, осуществляли его проведение через парацентез при помощи цангового пинцета диаметром 4,5-5,0 мм, с целью избегания смещения

ИОЛ при выполнении дальнейших манипуляций во время имплантации трансплантата.

Факоемульсификацию проводили на установке Centurion с применением торсионного ультразвука для уменьшения воздействия на окружающие ткани. Если оперировали правый глаз, то рукоятку факоемульсификатора держали правой рукой, если левый, то в левой.

После завершения этапа факоемульсификации во всех случаях была имплантирована гидрофобная заднекамерная ИОЛ в капсульный мешок. Гидрофильные линзы не использовались, так как возможно их помутнение при контакте с пузырьком воздуха в передней камере [42, 98].

Заготовка ультратонкого трансплантата

Донорский корнеосклеральный диск диаметром 16 мм, законсервированный в растворе для хранения роговичной ткани (ООО «НЭП Микрохирургия глаза» Россия, ТУ 9393-013-29039336-2007, регистрационное удостоверение № ФСР2010106650), который предварительно был заготовлен в Глазном банке, устанавливали на искусственную переднюю камеру эндотелиальной поверхностью вверх. ИПК заполняли сбалансированным солевым раствором при помощи подключения к ней инфузионной системы. Флакон с солевым раствором на штативе располагали на высоте, обеспечивающей давление внутри системы равное 30 см вод. ст. Эндотелиальную поверхность роговицы увлажняли путем нанесения на нее консервационной среды.

Заготовка ультратонкого трансплантата выполнялась при помощи низкочастотного ФСЛ (Alcon Wavelight FS 200) следующим образом: готовую для работы роговицу, находящуюся в ИПК, помещали под аппланационный интерфейс лазера. После центровки выполняли процесс аппланации. Первый срез проводили в ламеллярной плоскости на глубине 130 мкм, второй – в вертикальной плоскости с глубины 150 мкм вверх (в сторону эндотелия) диаметром 8,0 мм под углом 90° (Рисунок 18). Настройки ФСЛ: расстояние между точками – 8 мкм, между рядами – 8 мкм, энергия – 0,8 мкДж. Формирование трансплантата заняло 15 секунд.

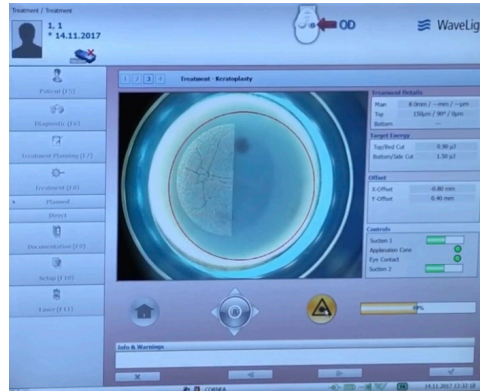


Рисунок 18 – Формирование горизонтального среза, вид с экрана ФСЛ с регулируемой мощностью и расстоянием между импульсами

Отделение полученного трансплантата от окружающих тканей производили при помощи шпателя. Оставшиеся коллагеновые перемычки во всех случаях были разрушены тупым способом. Готовый трансплантат окрашивали трипановым синим (Membrane Blue, Dorc, Нидерланды). Выкроенный трансплантат при помощи шпателя помещали в глайд Бузина, предварительно смоченный несколькими каплями раствора для хранения роговицы. На эндотелиальную поверхность трансплантата наносили тонкую полоску когезивного вискоэластика (Provisc, Alcon) для протекции эндотелиальных клеток во время последующего сгибания трансплантата. После этого, при помощи цангового пинцета без зубцов 23G (Alcon, США), трансплантат протягивали в основание глайда.

Этап ЗПК выполняли по наиболее распространенной методике через тоннельный роговичный разрез с помощью глайда Бузина. Первым этапом разметчиком диаметром 8,0 мм на роговице реципиента обозначали зону будущего десцеметорексиса. Переднюю камеру заполняли когезивным вискоэластиком (Provisc, Alcon) и выполняли десцеметорексис при помощи крючка Сински в пределах отмеченной области. Отслоенную ДМ удаляли цанговым пинцетом 23G (Alcon, США). Для исключения зрачкового блока пузырьком воздуха в послеоперационном периоде на 6 часах производили колобому радужки с помощью крючка Сински и загнутой иглы калибра 23G. На 12 часах устанавливали трубку для подачи ирригационной жидкости с хирургической установки Centurion

(Alcon, США) в переднюю камеру. Тщательно вымывали вискоэластик из передней камеры глаза с помощью аспирационной системы. Основной разрез, предназначенный для имплантации трансплантата, расширяли до 4,5 мм при помощи расслаивателя Mani (Япония). Трансплантат, изготовленный при помощи низкочастотного ФСЛ по разработанной технологии, помещали в глайд Бузина. Трансплантацию выполняли с использованием того же самого цангового пинцета, заведенного в переднюю камеру через противоположный парацентез от основного разреза, при поддержке активной ирригации, управляемой педалью. Для того чтобы снизить травму эндотелия трансплантата, кончик глайда заводили в основной разрез и пинцетом втягивали трансплантат в переднюю камеру (Рисунок 19).

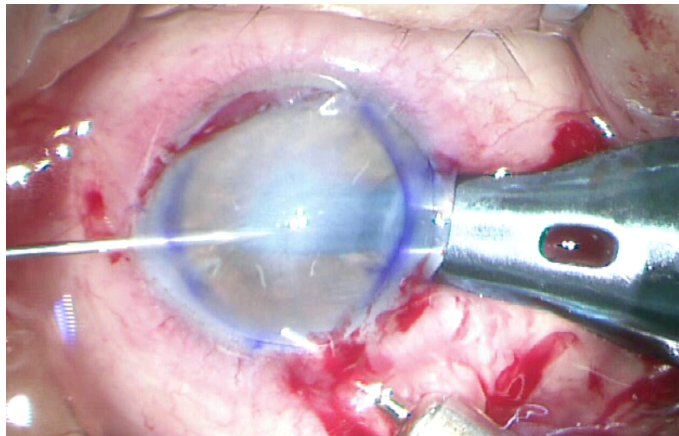


Рисунок 19 – Трансплантация с использованием глайда Бузина и цангового пинцета. Снимок с камеры операционного микроскопа, увеличение 5х

Расправление трансплантата осуществляли с помощью ирригационного потока. Основной разрез герметизировали двумя узловыми швами (нейлон 10-0). В переднюю камеру вводили стерильный воздух с использованием канюли 27G до полного прилегания трансплантата и легкой гипертензии. Воздух оставался в передней камере до полного рассасывания.

Операцию завершали инъекцией под конъюнктиву Дексаметазона (0,4%-0,5 мл) и закладыванием в конъюнктивальную полость геля Декспантенола 5% (Рисунок 20). На глаз накладывали асептическую монокулярную повязку. При

отсутствии противопоказаний внутривенно вводили раствор Дексаметазона (0,4%-2,0 мл).

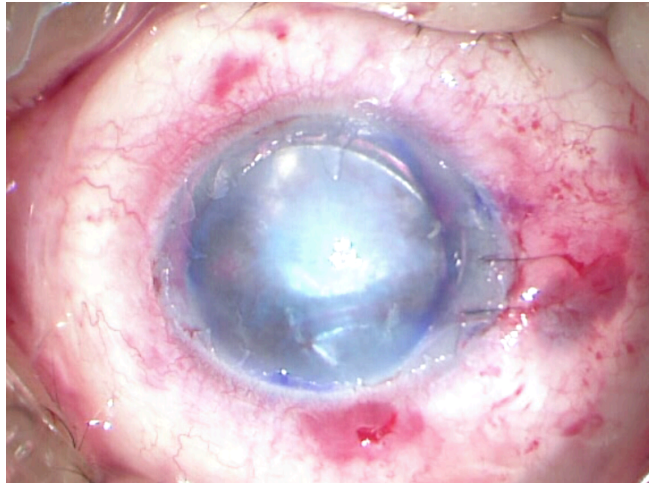


Рисунок 20 – Вид глаза в конце операции. Снимок с камеры операционного микроскопа, увеличение 5х

Технология проведения изолированной ФЛ-ЗПК на артефакичных глазах с ПБК не имела отличий от описанной выше комбинированной техники.

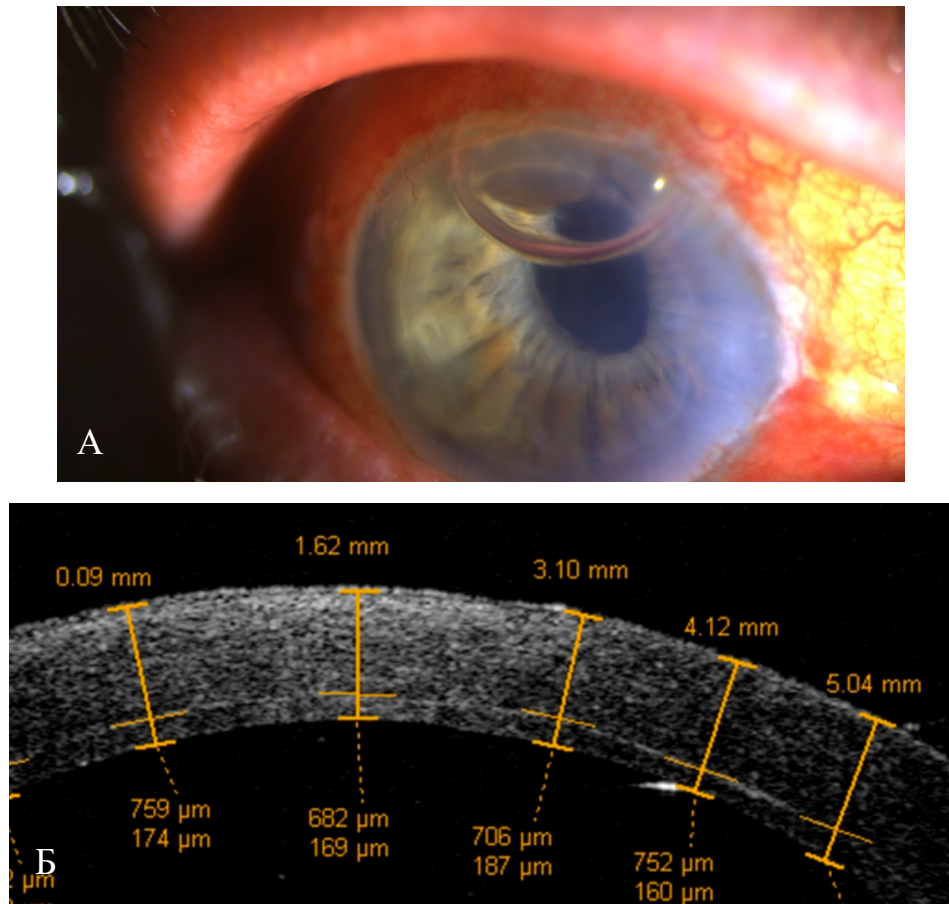
Послеоперационное ведение пациентов

Все пациенты были осмотрены спустя 3 часа после операции, после чего осмотр проводили ежедневно в течение их пребывания в стационаре. После выписки из стационара контрольный осмотр пациентов выполнялся на сроках 1, 3, 6 и 12 месяцев.

Медикаментозный режим включал в себя инстилляцию антибиотика – раствор Моксифлоксацина 0,5% по 1 кап 3 раза в день в течение 14 дней, кераторепаранта – гель Декспантенол 5% по 1 кап 4 раза в день в течение двух месяцев, стероидного противовоспалительного препарата по убывающей схеме – раствор Дексаметазона 0,1% (в первую неделю после операции – по 1 капле 4 раза в день, во вторую – 3 раза, в третью – 2 раза, с четвертой недели и до 6 месяцев – 1 раз в день). До момента эпителизации пациенты также получали

субконъюнктивальные инъекции раствора Дексаметазона 0,4% – 0,5 мл 1 раз в сутки.

В первые сутки после операции биомикроскопически наблюдали отек роговицы, адгезию трансплантата, воздух в передней камере, эпителизация чаще всего была начальная или отсутствовала (Рисунок 21).



А – Фото глаза пациента

Б – ОКТ глаза пациента, трансплантат полностью адаптирован, равномерный, слегка отечный

Рисунок 21 – Пациент Ф., 76 лет, первый день после операции ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного ФСЛ

ОКТ выполняли на первые сутки и перед выпиской из стационара, что подтверждало положительную динамику дегидратации стромы и полную адаптацию трансплантата. Послеоперационный период протекал практически без осложнений. Средняя продолжительность госпитализации составила 7 суток.

Таким образом, впервые в клинике была разработана технология комбинированной задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера, с факоэмульсификацией и имплантацией ИОЛ в капсульный мешок. Этапы предоперационной подготовки пациентов, обработки операционного поля и послеоперационного ведения не отличались от общепринятых. Этап факоэмульсификации выполнялся с учетом последующей ФЛ-ЗПК, исходя из этого основной туннельный корнеосклеральный разрез во всех случаях располагали с височной стороны в лимбальной зоне размером 2,5 мм, на 3 часах для левого глаза и 9 – для правого. Два парацентеза выполняли на 12 и 3 часах или на 12 и 9, в зависимости от оперируемого глаза пациента, в лимбальной зоне во фронтальной плоскости. Гидрофильные линзы не использовались. Процесс имплантации выкроенного трансплантата осуществляли через расширенный до 4,5 мм основной роговичный разрез с помощью глайда Бузина. Остальные этапы также не отличались от стандартной методики. Технология проведения изолированной ФЛ-ЗПК на артефакичных глазах с ПБК не имела отличий от комбинированной техники.

4.2. Клинико-функциональные результаты разработанной технологии ФЛ-ЗПК

Целью данной части работы явилось проведение анализа клинико-функциональных результатов технологии задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера, в сравнительном аспекте с результатами лечения пациентов методом ФЛ-ЗПК с применением высокочастотного ФСЛ.

Течение послеоперационного периода и послеоперационные осложнения

Во всех случаях операцию завершали полноценной адгезией и запланированной центровкой трансплантата, что свидетельствует об очень высокой предсказуемости и повторяемости ФЛ-ЗПК. Послеоперационный период протекал адекватно. Все пациенты получали стандартные послеоперационные назначения в виде инстилляций антибиотика, стероидного противовоспалительного препарата и кераторепаранта, а также субконъюнктивальные инъекции стероидного препарата.

Суммарно по всем группам, трем пациентам (2,9%) понадобилось дополнительное введение воздуха на следующие сутки после операции для дополнительной адгезии трансплантата по причине периферической отслойки трансплантата, еще в 4 случаях (3,9%) периферическая отслойка была незначительной и не требовала дополнительной пневмопексии, прослеживали положительную динамику самостоятельной адгезии трансплантата к строме реципиента. На сроках до 3 месяцев в группе 1Б в двух случаях была диагностирована первичная недостаточность трансплантата, в группе 2Б – в пяти случаях. Возможно, это связано с наличием сопутствующей патологии и ранее проведенными оперативными вмешательствами (оперированная отслойка сетчатки, оперированная глаукома, РКТ), в некоторых случаях – неоднократно. Такие случаи исключались из исследования, и всем пациентам проводили повторную ре-кератопластику. Таких возможных осложнений как дислокация трансплантата, гифема, зрачковый блок, тотальная отслойка трансплантата выявлено не было.

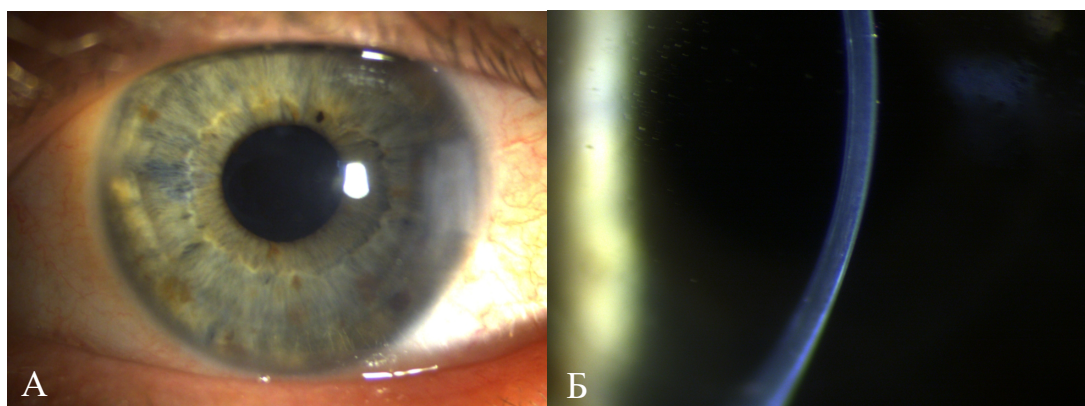
Качественная и количественная оценка по наиболее частым и возможным осложнениям после ЗПК представлена в таблице 15.

Таблица 15 – Структура осложнений после ФЛ-ЗПК по группам пациентов, %

Послеоперационные осложнения	Группа 1А (n=25)	Группа 1Б (n=24)	Группа 2А (n=27)	Группа 2Б (n=25)	p
Зрачковый блок	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	p>0,05

Тотальная отслойка трансплантата	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	p>0,05
Периферическая отслойка трансплантата	1 (4%)	2 (7,4%)	1(4,1%)	3 (12%)	p>0,05
Повторное введение воздуха	0 (0%)	1 (3,7%)	0 (0%)	2 (8%)	p>0,05
Дислокация трансплантата	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	p>0,05
Гифема	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	p>0,05
Первичная недостаточность трансплантата	0 (0%)	2 (7,4%)	0 (0%)	5 (20%)	p<0,05

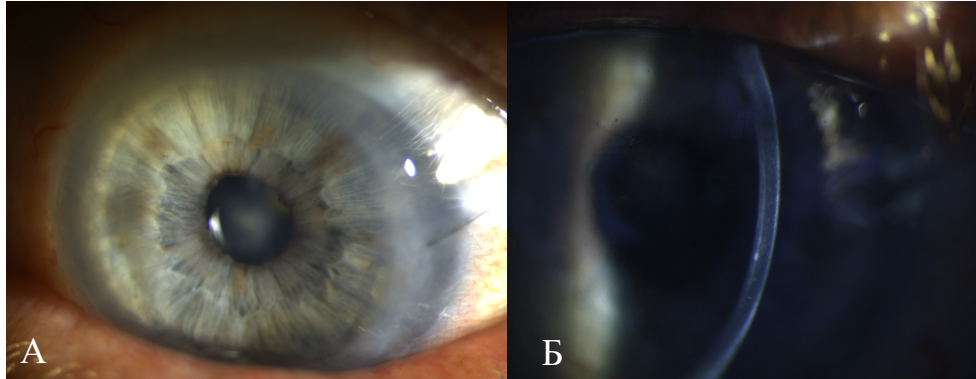
На сроке наблюдения 3 месяца после операции в группах пациентов с ДФ (1А, 2А) прозрачное приживление трансплантата было достигнуто во всех случаях (100%) (Рисунки 22, 23). В группах пациентов с ПБК (1Б, 2Б) прозрачное приживление наблюдали в 85,7% случаев. Во всех группах швы с основного разреза снимали на сроке наблюдения 3 месяца.



А – Фото глаза в прямой проекции

Б – Фото глаза, срез тонкой щели

Рисунок 22 – Пациент К., 55 лет, на сроке 3 месяца после ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного ФСЛ + ФЭК + имплантация ИОЛ в капсульный мешок

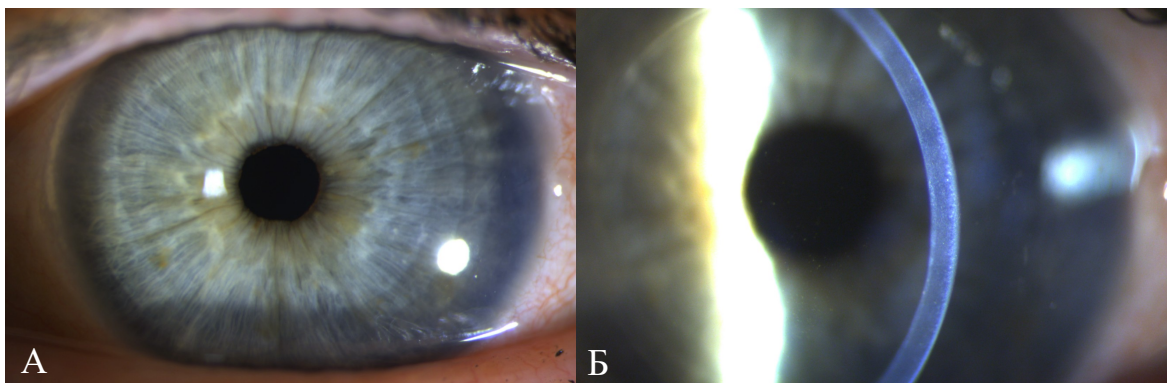


А – Фото глаза в прямой проекции

Б – Фото глаза, срез тонкой щели

Рисунок 23 – Пациент Д., 71 год, перед снятием швов на сроке 3 месяца после ФЛ-ЗПК с использованием высокочастотного ФСЛ + ФЭК + имплантация ИОЛ в капсульный мешок

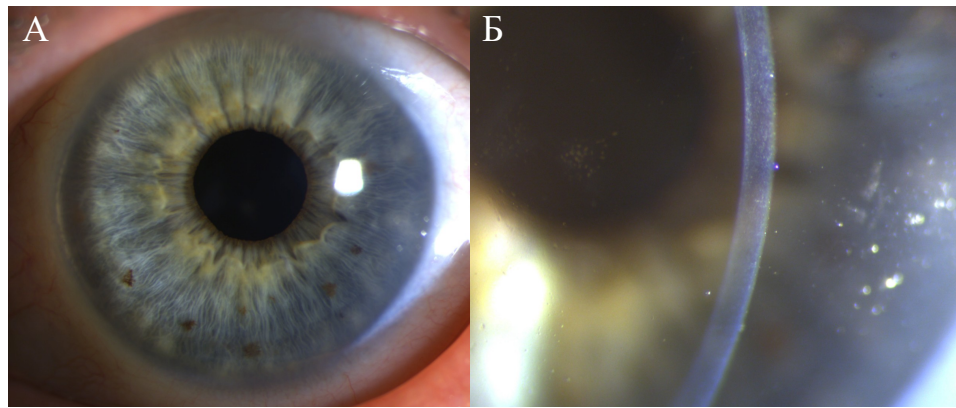
На сроках 6 и 12 месяцев роговица и трансплантат были прозрачны (рисунки 24, 25). К 12 месяцам отмечали прогрессирующее увеличение зрительных функций



А – Фото глаза в прямой проекции

Б – Фото глаза, срез тонкой щели

Рисунок 24 – Пациентка К., 60 лет, на сроке 12 месяцев после ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного ФСЛ + ФЭК + имплантация ИОЛ в капсульный мешок

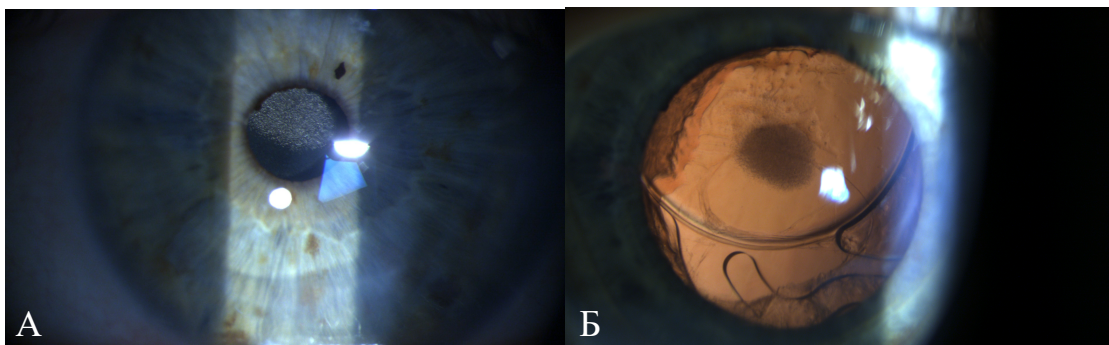


А – Фото глаза в прямой проекции

Б – Фото глаза, срез тонкой щели

Рисунок 25 – Пациентка С., 68 лет, на сроке 12 месяцев после ФЛ-ЗПК с использованием высокочастотного ФСЛ + ФЭК + имплантация ИОЛ в капсульный мешок

Стоит также отметить, что в одном случае в группе 1Б у пациента с уже имеющейся артефакцией на момент ФЛ-ЗПК на сроке 12 месяцев после операции было диагностировано помутнение ИОЛ (Рисунок 26). Помутнение располагалось в центре оптической зоны ИОЛ – именно в той области, в которой ИОЛ имеет возможность контактировать с пузырьком воздуха в раннем послеоперационном периоде. Так как первая операция по факоэмульсификации катаракты проводилась не в нашей организации, мы не располагаем информацией о модели и материале линзы. Однако, учитывая клиническую картину, можно предположить, что ИОЛ произведена из гидрофильного материала, что еще раз доказывает целесообразность выбора гидрофобных ИОЛ.



А – Фото глаза в прямой проекции, узкий зрачок, роговица и трансплантат прозрачны, визуализируется помутнение ИОЛ в центре оптической зоны.

Б – Фото глаза в прямой проекции, широкий зрачок, визуализируется помутнение ИОЛ в центре оптической зоны, а также отверстие в задней капсуле.

Рисунок 26 – Пациент К., 55 лет, на сроке 12 месяцев после изолированной ФЛ-ЗПК с использованием низкочастотного ФСЛ

Сравнительный анализ остроты зрения

Во всех группах в послеоперационном периоде на всех сроках наблюдения отмечали увеличение показателей **НКОЗ** по сравнению со значениями, полученными в дооперационном периоде ($p < 0,05$).

Статистически значимые различия НКОЗ между группами 1А и 2А ни на одном сроке наблюдения выявлены не были, в группах с ПБК (1Б и 2Б) статистически значимых различий также не выявили ($p > 0,05$). Полученные результаты НКОЗ по группам представлены в таблицах 16 и 17.

Таблица 16 – Сравнительная оценка величины НКОЗ вдаль у пациентов с ДФ в течение 12 месяцев после ФЛ-ЗПК, $M \pm \sigma$

	До операции	7 дней	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1А	0,05±0,03 n=25	0,07±0,05 n=24	0,13±0,09 n=25	0,16±0,08 n=25	0,19±0,11 n=23	0,22±0,16 n=25
Группа 2А	0,02±0,02 n=27	0,05±0,03 n=27	0,11±0,08 n=25	0,15±0,06 n=25	0,18±0,1 n=26	0,19±0,11 n=26
p	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Таблица 17 – Сравнительная оценка величины НКОЗ вдаль у пациентов с ПБК в течение 12 месяцев после ФЛ-ЗПК, $M \pm \sigma$

	До операции	7 дней	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1Б	0,03±0,04 n=24	0,06±0,05 n=24	0,12±0,05 n=22	0,16±0,05 n=24	0,17±0,11 n=22	0,2±0,16 n=23
Группа 2Б	0,03±0,07 n=25	0,04±0,05 n=25	0,1±0,07 n=23	0,13±0,09 n=24	0,16±0,13 n=25	0,18±0,12 n=25
p	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Значения **КОЗ** в послеоперационном периоде были значительно выше во всех группах по сравнению с дооперационными данными. К 3 месяцам наблюдения восстановление КОЗ было наиболее стремительным во всех исследуемых группах. На сроке 12 месяцев наилучшие показатели КОЗ были в группах с ДФ (1А и 2А) и составили 0,6, в группе 1А – у 7 пациентов и в группе 2А – у 5 соответственно. В группах с ПБК (1Б и 2Б) наилучшими показателями КОЗ так же было достижение 0,6, однако в меньшем количестве случаев: в группе 1Б – у 3 пациентов, в группе 2Б – у 2 пациентов.

В группе 1А качественный результат лечения пациентов на сроке наблюдения 1 год с получением КОЗ \geq 0,5 был получен в 28% случаев.

В группе 1Б такой же результат лечения пациентов на сроке наблюдения 1 год с получением КОЗ \geq 0,5 был получен лишь в 12,5% случаев.

В группе 2А результат лечения пациентов через 12 месяцев наблюдения с получением КОЗ \geq 0,5 был получен в 18,5% случаев.

В группе 2Б результат лечения пациентов через 12 месяцев наблюдения с получением КОЗ \geq 0,5 был получен в 8% случаев.

При этом статистически значимые различия КОЗ между группами 1А и 2А, а также 1Б и 2Б не были обнаружены ни на одном сроке наблюдения (p>0,05). Полученные данные представлены в таблицах 18 и 19.

Таблица 18 – Сравнительная оценка величины КОЗ вдаль у пациентов с ДФ в течение 12 месяцев после ФЛ-ЗПК, М \pm σ

	До операции	7 дней	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1А	0,06±0,03 n=25	0,12±0,03 n=24	0,15±0,08 n=25	0,23±0,13 n=25	0,28±0,11 n=23	0,33±0,16 n=25
Группа 2А	0,04±0,02 n=27	0,13±0,08 n=27	0,15±0,1 n=25	0,22±0,07 n=25	0,25±0,1 n=27	0,3±0,12 n=27
p	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Таблица 19 – Сравнительная оценка величины КОЗ вдаль у пациентов с ПБК в течение 12 месяцев после ФЛ-ЗПК, М±σ

	До операции	7 дней	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1Б	0,07±0,02 n=24	0,1±0,06 n=24	0,13±0,07 n=22	0,2±0,09 n=24	0,25±0,14 n=22	0,3±0,1 n=23
Группа 2Б	0,06±0,05 n=25	0,08±0,05 n=25	0,12±0,08 n=23	0,18±0,1 n=24	0,23±0,12 n=25	0,29±0,07 n=25
p	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Сравнительный анализ рефракционных результатов

В исследуемых группах был проведен сравнительный анализ рефракционных результатов между группами 1А и 2А, а также 1Б и 2Б. Между средними показателями кератометрии и послеоперационного роговичного астигматизма в послеоперационном периоде между группами статистически значимых различий выявлено не было ($p>0,05$) (Таблица 20). Достоверного уменьшения показателей средней кератометрии в послеоперационном периоде по сравнению с данными, которые были получены до операции, зафиксировано не было.

Таблица 20 – Результаты сравнительной оценки рефракционных результатов в исследуемых группах после ФЛ-ЗПК

Исследуемые параметры	Группа 1А n=25	Группа 1Б n=24	Группа 2А n=27	Группа 2Б n=25
Дооперационная кератометрия, дптр	43,2±2,12	44,53±1,67	43,73±1,8	45,23±1,42
Послеоперационная кератометрия, дптр	42,51±2,24	43,9±1,28	43,1±1,5	45,67±0,98
Дооперационный астигматизм, дптр	2,32±2,15	2,42±2,21	2,54±1,78	2,23±2,13
Послеоперационный астигматизм, дптр	1,67±1,25	1,8±1,59	2,1±1,53	1,9±1,64
p	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05

Сравнительный анализ потери плотности эндотелиальных клеток в послеоперационном периоде

Целью данного исследования является прижизненная оценка потери ПЭК на различных сроках наблюдения после оперативного лечения. В послеоперационном периоде во всех группах пациентов методом эндотелиальной микроскопии отмечали постепенное снижение ПЭК роговицы. На сроке наблюдения 1 месяц подсчет плотности клеток выполнить удавалось только в единичных случаях, поэтому динамику ПЭК регистрировали на сроках 3, 6 и 12 месяцев после операции (Таблицы 21-24).

Таблица 21 – Динамика потери ПЭК у пациентов с ДФ, кл/мм², M±σ

	ПЭК трансплантата	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1А (n=25)	2901,7±139,18	1909,5±210,4 n=25	1595,5±332,1 n=23	1397,4±348,7 n=25
Группа 2А (n=27)	2923,83±138,88	1654,8±311,3 n=25	1254,3±283 n=27	959,01±240,4 n=27

p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
---	-------	-------	-------	-------

Таблица 22 – Динамика потери ПЭК у пациентов с ДФ, %, М±σ

	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1А (n=25)	34,2±6 n=25	45±5,2 n=23	48,1±6,7 n=25
Группа 2А (n=27)	43,4±7,1 n=25	57,1±8 n=27	67,2±4,4 n=27
p	<0,05	<0,05	<0,05

В группах пациентов с ДФ наибольшая потеря ПЭК к сроку наблюдения 1 год наблюдалась в группе 2А, в которой трансплантат был заготовлен при помощи высокочастотного ФСЛ (Таблица 22). Также были выявлены статистически значимые различия в плотности эндотелиальных клеток между группами 1А и 2А на всех сроках наблюдения ($p < 0,05$). В группе 1А эти показатели были выше (Таблица 21).

Таблица 23 – Динамика потери ПЭК у пациентов с ПБК, кл/мм², М±σ

	ПЭК трансплантата	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1Б (n=24)	2930,15±145,13	1869,4±253,3 n=24	1538,3±233,6 n=22	1189,6±231,2 n=23
Группа 2Б (n=25)	2917,63±167,5	1499,6±230,4 n=24	1169,9±244,5 n=25	872,3±256,9 n=25
p	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Таблица 24 – Динамика потери ПЭК у пациентов с ПБК, %, М±σ

	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1Б (n=24)	36,2±3,3	47,5±7,2	59,4±8,1

	n=24	n=22	n=23
Группа 2Б (n=25)	48,6±6,8 n=24	59,9±5,3 n=25	70,1±7,8 n=25
p	<0,05	<0,05	<0,05

В процессе анализа динамики ПЭК в группах пациентов с ПБК были выявлены статистически значимые отличия ($p<0,05$). В группе 1Б, в которой использовали для заготовки трансплантата низкочастотный ФСЛ, на всех сроках наблюдения ПЭК была выше по сравнению с группой 2Б, в которой применяли высокочастотный ФСЛ (Таблицы 23, 24).

Таким образом, послеоперационный период во всех случаях протекал адекватно, в 1 случае в группе 1Б и в 2 случаях в группе 2Б потребовалось повторное введение воздуха. Такие осложнения как дислокация трансплантата, гифема, зрачковый блок, тотальная отслойка трансплантата выявлены не были. Значения НКОЗ и КОЗ в послеоперационном периоде значительно увеличились, по сравнению с дооперационными данными. Статистически достоверное уменьшение средней кератометрии, как и величины роговичного астигматизма в послеоперационном периоде по сравнению с дооперационными данными, выявлено не было. При помощи прижизненной эндотелиальной микроскопии в процессе исследования было выявлено, что ФЛ-ЗПК с использованием ультратонкого трансплантата, выкроенного при помощи низкочастотного ФСЛ, позволяет достичь более высоких показателей ПЭК и меньшей потери эндотелиальных клеток, по сравнению с ФЛ-ЗПК, где ультратонкий трансплантат заготавливался при помощи высокочастотного ФСЛ ($p<0,05$).

4.3. Сравнительный анализ результатов оптической когерентной томографии и оптической плотности роговицы после выполненной ФЛ-ЗПК

В данной части работы выполняли анализ результатов, которые были получены методом оптической когерентной томографии и методом денситометрии

с помощью ротационной Шаймпфлюг-камеры в исследуемых группах в динамике в послеоперационном периоде.

Оценка результатов оптической когерентной томографии

Изучались такие параметры, как ЦТР, которая включала в себя собственно роговицу реципиента + трансплантат, отдельно измерялась толщина трансплантата в центральной зоне и на периферии, индекс Ц:П (Рисунки 27, 28).

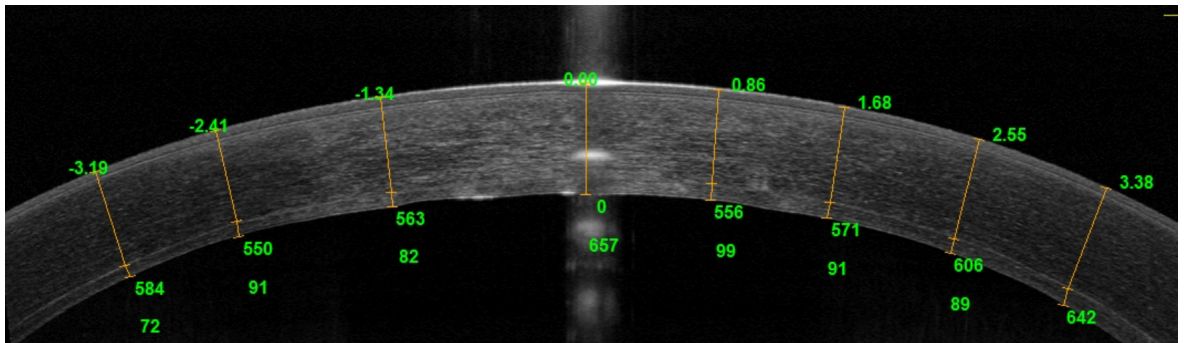


Рисунок 27 – ОСТ пациентки М., 53 года, на сроке год после операции ФЛ-ЗПК с применением низкочастотного ФСЛ + ФЭК + ИОЛ

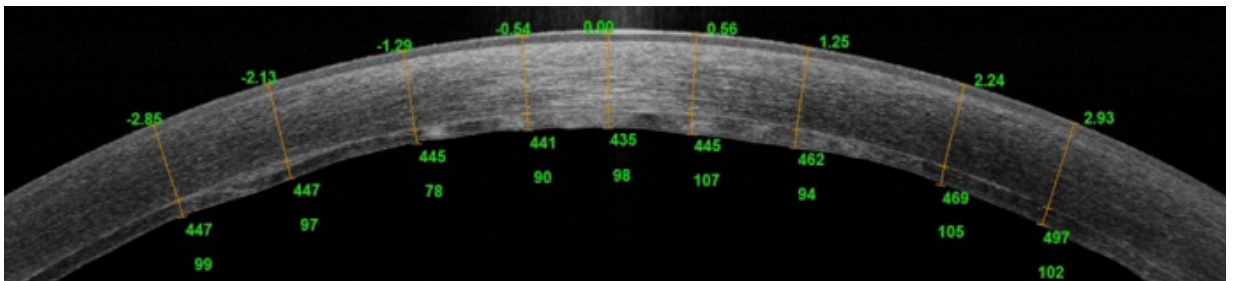


Рисунок 28 – ОСТ пациентки С., 65 лет, на сроке год после операции ФЛ-ЗПК с применением высокочастотного ФСЛ + ФЭК + ИОЛ

На сроке наблюдения 12 месяцев во всех группах регистрировали достоверное уменьшение толщины ЦТР по сравнению с дооперационными данными ($p < 0,05$). Статистически значимые различия в группах с ДФ (1А, 2А) выявлены не были ($p > 0,05$). Динамика изменения ЦТР в группах с ДФ представлена в таблице 25.

Таблица 25 – Динамика ЦТР (роговица реципиента + трансплантат), по данным ОКТ у пациентов с ДФ, $M \pm \sigma$

	До операции	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1А n=25	673±54 n=25	580±35,4 n=25	554±20,2 n=25	541±31,7 n=23	539±25,3 n=25
Группа 2А n=27	632±61 n=27	591±24,8 n=25	560±27,1 n=25	543±32,4 n=27	544±28,9 n=27
p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

В группах пациентов с ПБК (1Б и 2Б) статистически достоверные различия также выявлены не были ($p > 0,05$). Динамика изменения ЦТР в группах с ПБК представлена в таблице 26.

Таблица 26 – Динамика ЦТР (роговица реципиента + трансплантат), по данным ОКТ у пациентов с ПБК, $M \pm \sigma$

	До операции	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Группа 1Б n=24	771±147 n=24	623±44,8 n=22	572±40,2 n=24	559±30,1 n=22	546±19,4 n=23
Группа 2Б n=25	809±153 n=25	635±32,4 n=23	581±21,1 n=24	560±22,5 n=25	545±25,6 n=25
p	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Значения центральной толщины трансплантата на сроке наблюдения 12 месяцев, а также анализ равномерности полученных ультратонких трансплантатов при помощи индекса Ц:П, где Ц – центральная толщина трансплантата, а П – средняя периферическая толщина трансплантата, представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Сравнительный анализ значений центральной толщины трансплантата и индекса Ц:П

Исследуемые параметры	Группа 1А n=25	Группа 2А n=27	Группа 1Б n=24	Группа 2Б n=25	р
Центральная толщина трансплантата, мкм	75±15,4	81±16,7	77±12,5	82±10,8	>0,05
Индекс Ц:П	0,93±0,07	0,92±0,05	0,91±0,06	0,94±0,09	>0,05

Во всех случаях на сроке 12 месяцев после операции регистрировали уменьшение толщины трансплантата. Между исследуемыми группами не были выявлены достоверные различия ($p>0,05$), во всех случаях полученные ультратонкие трансплантаты были равномерными (индекс Ц:П стремился к 1,0).

Оценка оптической плотности роговицы

Оценка и сравнительный анализ данных оптической плотности роговицы и их изменения в исследуемых группах проводились методом денситометрии с помощью ротационной Шаймпфлюг-камеры (Pentacam HR) (Рисунок 29).

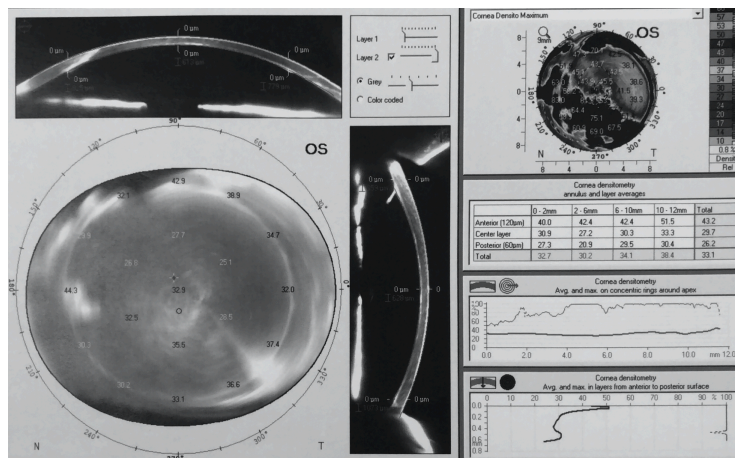


Рисунок 29 – Определение оптической плотности роговицы методом денситометрии с помощью ротационной Шаймпфлюг-камеры

Статистически значимые различия показателей оптической плотности переднего, среднего, заднего слоев, а также условленной зоны интерфейса между группами 1А и 2А, 1Б и 2Б выявлены не были ($p > 0,05$) (Таблица 29).

Таким образом, метод ОКТ дал возможность измерить толщину как всей роговицы в целом, так и ультратонкого трансплантата в отдельности. Его измерение в центральной зоне и на периферии позволило оценить равномерность и симметричность донорской линтикулы. Во всех случаях полученные ультратонкие трансплантаты были равномерными, о чем свидетельствует индекс Ц:П, который во всех группах был больше 0,9 и стремился к 1,0. Методом ОКТ роговицы были изучены параметры роговицы реципиента и трансплантата. В исследовании была определена прогрессирующая дегидратация во всех группах как всей ЦТР, так и ультратонкого равномерного трансплантата в отдельности. Это говорит о высокой эффективности, воспроизводимости и предсказуемости применения исследуемых фемтолазерных систем для заготовки трансплантатов при проведении ЗПК. На сроке наблюдения 12 месяцев после проведенного оперативного лечения во всех группах величина оптической плотности роговицы была максимально приближена к нормальным значениям денситометрии – это свидетельствует о достаточно высоком качестве формируемой поверхности ультратонкого трансплантата, выкроенного при помощи низкочастотного и высокочастотного ФСЛ, и демонстрирует высокую биологическую эффективность методики ФЛ-ЗПК с применяемыми в исследовании фемтолазерными установками.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наибольшее распространение среди различных видов эндотелиальных кератопластик получили трансплантация ДМ с эндотелием, как наиболее физиологическая процедура с самыми высокими клинико-функциональными результатами, и ЗАПК, при которой эндотелиальные клетки расположенные на ДМ пересаживаются с частью остаточной стромы донора [200, 209]. Однако методика ТДМ является технически сложной для освоения и воспроизводимостью ее хирургами вызывает затруднения по причине выбраковки донорского материала [170, 198]. ЗАПК с применением автоматизированного микрокератома является наиболее стандартизированной методикой, что обусловило ее широкое распространение [200].

Несмотря на это, ЗАПК обладает и рядом недостатков, к которым относятся: неравномерная толщина трансплантата, что может сопровождаться гиперметропическим сдвигом рефракции; толстый край может провоцировать дезадаптацию и дислокацию трансплантата в послеоперационном периоде; высокий риск перфорации во время выкраивания ультратонкого трансплантата и дальнейшая выбраковка материала [138, 213, 221].

В процессе поиска альтернативной технологии заготовки ультратонкого трансплантата для ЗПК распространение получил ФСЛ. Выкраивание ультратонкого трансплантата при помощи ФСЛ с эндотелиальной поверхности роговицы позволяет получить равномерную линтикулу заданной толщины без риска ее перфорации [124, 158, 166]. Но достичь высокой остроты зрения представляется возможным не во всех случаях, а процент потери эндотелиальных клеток превышает показатели стандартной ЗАПК [35, 37].

Это демонстрирует актуальность поиска более перспективной фемтолазерной технологии и формирует цель настоящего исследования – разработать в эксперименте и изучить в клинике методику задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого донорского роговичного трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера.

Работа состояла из экспериментального и клинического исследований. В эксперименте была разработана новая методика заготовки ультратонкого трансплантата для ЗПК с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного ФСЛ (патент № 2689884 от 29.05.2019).

Экспериментальная часть заключалась в изучении сохранности эндотелиальных клеток и кератоцитов после выкраивания ультратонких трансплантатов при помощи двух различных ФСЛ с использованием прижизненного окрашивания клеток, а также в исследовании качества полученной стромальной поверхности формируемой лентикулы при помощи атомно-силовой микроскопии.

В ходе клинического этапа работы проведена сравнительная оценка в динамике клинико-функциональных показателей пациентов с ДФ и ПБК после выполнения ЗПК с использованием ультратонких трансплантатов, заготовленных при помощи двух различных ФСЛ. На контрольных сроках – 1, 3, 6, 12 месяцев после операции – оценивали следующие параметры: количество и структуру осложнений, НКОЗ и КОЗ, кератометрию, послеоперационный астигматизм, ЦТР, ПЭК и процент их потери, результаты оптической когерентной томографии, индекс Ц:П, параметры денситометрии.

В процессе экспериментального этапа работы для исследования безопасности использования низкочастотного ФСЛ для эндотелиальных клеток роговицы, проводили количественную оценку потери ЭК после выкраивания трансплантата с эндотелиальной поверхности роговицы в сравнительном аспекте с применением высокочастотного ФСЛ. В эксперименте участвовали 10 свиных корнеосклеральных дисков с жизнеспособным эндотелием, которые были законсервированы в растворе для хранения роговицы производства ООО «НЭП Микрохирургия глаза». Были сформированы две экспериментальные группы, включающие по 5 свиных роговиц. В группе 1 ультратонкие трансплантаты были заготовлены при помощи низкочастотного ФСЛ, в группе 2 – с использованием высокочастотного ФСЛ. Для определения жизнеспособности эндотелия роговицы применяли флуоресцентный краситель Live and Dead (Abcam).

Оценить процент потери ЭК было технически сложно, так как подсчет эндотелиальных клеток свиной роговицы перед выполнением опыта на Кератоанализаторе для Глазных банков (Konan, Япония) провести не удалось, что, вероятно, связано с несколько отличной от человеческой морфологией эндотелиальных клеток свиной роговой оболочки. Учитывая этот факт, остается возможным оценить остаточный процент живых клеток и мертвых в каждой группе. Процент живых эндотелиальных клеток после выкраивания ультратонкого трансплантата с использованием низкочастотного ФСЛ составил в среднем $93,2 \pm 5,4\%$, мертвых – $6,7 \pm 5,4\%$. В тех случаях, когда трансплантат заготавливался при помощи высокочастотного ФСЛ, процент живых эндотелиальных клеток был равен $85,3 \pm 6,3\%$, мертвых – $14,6 \pm 6,1\%$. Однако проведенный статистический анализ не выявил значимых различий по остаточному проценту живых и мертвых эндотелиальных клеток между указанными группами ($p > 0,05$). Если расценивать процент остаточных мертвых клеток как процент потери ЭК при выкраивании трансплантата, то полученные данные сопоставимы с опубликованными ранее результатами. Liu Y.C. с соавт. в 2014 году опубликовали процент потери ЭК при выкраивании трансплантата толщиной 90 мкм с эндотелиальной поверхности роговицы при помощи ФСЛ Femto LDV Z6 – $22,0 \pm 3,7\%$ [158]. В отечественной литературе Шилова Н.Ф. в своей диссертации продемонстрировала следующие показатели потери ЭК после использования ФСЛ Femto LDV Z8 – $17,2 \pm 2,7\%$ и $16,5 \pm 3,1\%$ [35]. Также полученные результаты в данной работе были сопоставимы с потерей ЭК при заготовке ультратонкого трансплантата при помощи отечественного ФСЛ «Визум» $12,2 \pm 4,5\%$, которую представил в своей работе Катмаков К.И. (2021) [11].

В результате изучения воздействия двух различных фемтолазерных систем на кератоциты было зафиксировано повреждающее воздействие фемтолазерной энергии (мертвые кератоциты) вне зависимости от вида ФСЛ на глубину до 117 мкм. Выполненный анализ выявил статистически значимые отличия между группами только на глубине от 13 до 52 мкм ($p < 0,05$). В указанном диапазоне большая гибель кератоцитов наблюдалась в группе с применением

низкочастотного ФСЛ – $273,0 \pm 72,3$ клеток, что соответствовало глубине в 26 мкм. Максимальная гибель кератоцитов в группе с высокочастотным ФСЛ была зафиксирована на глубине 13 мкм – $212,9 \pm 69,1$ клеток. Это свидетельствует о том, что уменьшение толщины трансплантата менее 100 мкм не является целесообразным, учитывая встречаемость мертвых кератоцитов до глубины 117 мкм от места формирования среза, при ее уменьшении, вероятно, может оказываться губительное воздействие и на эндотелиальные клетки.

Полученные результаты не имеют аналогов в иностранной или отечественной литературе, данное направление, безусловно, требует дальнейшего изучения.

Вторая часть экспериментального этапа заключалась в сравнительной оценке качества стромальной поверхности трансплантатов, полученных при использовании двух различных ФСЛ, методом АСМ. Исследовали 20 образцов (донорских роговичных дисков). Группа 1 включала в себя образцы после заготовки трансплантата с применением низкочастотного ФСЛ. Группа 2 состояла из образцов после выкраивания трансплантата при помощи высокочастотного ФСЛ. Сканированию подвергали поверхность стромального роговичного диска, конгруэнтную поверхности трансплантата для ЗПК. По результатам оценки качества среза, шероховатость после воздействия низкочастотного ФСЛ была больше в сравнении с высокочастотным ФСЛ ($p < 0,05$). Важно отметить, что полученный уровень шероховатости в группе 1 по наиболее свежим литературным данным не отличается от показателя RMS (среднеквадратичной шероховатости поверхности) трансплантата, заготовленного при помощи автоматического механического микрокератома ($22,3 \pm 18,3$ мкм), а также ФСЛ мегагерцового диапазона ($18,7 \pm 12,0$ мкм) [11, 29]. Это позволило сделать заключение о высоких оптических свойствах трансплантатов, полученных при помощи исследуемых фемтолазерных систем.

Клинический этап работы был основан на анализе клинико-функциональных результатов лечения 104 глаз 104 пациентов методом ФЛ-ЗПК с применением двух различных ФСЛ, по поводу ДФ и ПБК. Все пациенты были разделены на 4 группы.

Пациенты с наличием верифицированных диагнозов ДФ составили группы 1А и 2А, с ПБК – 1Б и 2Б. Проведение сравнительной характеристики сформированных групп на дооперационном этапе продемонстрировало их однородность и возможность дальнейшего сравнительного статистического анализа в послеоперационном периоде.

Послеоперационный период во всех случаях протекал адекватно. Осложнением, которое возникло в раннем послеоперационном периоде, была периферическая отслойка ультратонкого трансплантата. Суммарно по всем группам только трём пациентам (2,9%) понадобилось дополнительное введение воздуха на следующие сутки после операции для дополнительной адгезии трансплантата по причине периферической отслойки трансплантата, еще в четырех случаях (3,9%) периферическая отслойка была незначительной и наблюдали положительную динамику самостоятельной адгезии трансплантата к строме реципиента. Полученные результаты сопоставимы с данными литературы, которые свидетельствуют о том, что дислокация или неприлегание трансплантата после ЗПК может варьироваться от 0 до 82% [86], в то время как процент повторного введения воздуха в переднюю камеру находится в диапазоне от 0 до 20% [222]. На сроках до 3 месяцев в группе 1Б в двух случаях (7,4%) была диагностирована первичная недостаточность трансплантата, в группе 2Б – в пяти (20%) случаях, что может быть связано с наличием сопутствующей патологии и ранее проведенными оперативными вмешательствами (оперированная отслойка сетчатки, оперированная глаукома, РКТ), в некоторых случаях – неоднократно. Такие случаи исключались из исследования и всем пациентам проводили повторную кератопластику. Процент этого осложнения также сопоставим с данными мировой литературы, которая описывает вероятность возникновения первичной недостаточности трансплантата до 29% [86]. Такие возможные осложнения, как дислокация трансплантата, гифема, зрачковый блок, тотальная отслойка трансплантата, выявлены не были.

В послеоперационном периоде было зарегистрировано улучшение показателей НКОЗ и КОЗ во всех группах наблюдения в сравнении с

дооперационными значениями ($p < 0,05$). Лучшие показатели остроты зрения отмечали в группах пациентов с ДФ (1А, 2А). Статистически значимые различия НКОЗ и КОЗ между различными методиками ФЛ-ЗПК, в зависимости от используемого вида ФСЛ, выявлены не были ($p > 0,05$). Полученные данные были сопоставимы на сроке наблюдения 12 месяцев после операции.

За исключением случаев, в которых была зарегистрирована первичная недостаточность трансплантата, что потребовало ре-кератопластики, во всех остальных было достигнуто прозрачное приживление, а значит, и положительный биологический результат операции.

В группе 1А качественный результат лечения пациентов на сроке наблюдения 1 год с получением $КОЗ \geq 0,5$ был получен в 28% случаев. В группе 1Б такой же результат лечения пациентов на сроке наблюдения 1 год с получением $КОЗ \geq 0,5$ был получен лишь в 12,5% случаев. В группе 2А результат лечения пациентов через 12 месяцев наблюдения с получением $КОЗ \geq 0,5$ был получен в 18,5% случаев. В группе 2Б результат лечения пациентов через 12 месяцев наблюдения с получением $КОЗ \geq 0,5$ был получен в 8% случаев.

По самым последним данным литературы, КОЗ после ФЛ-ЗПК недостаточно высока – это мы можем наблюдать и в нашем исследовании. В 2017 г. Яковлевой С.С. были опубликованы результаты лечения 49 пациентов инвертной техникой FS DSEK с применением высокочастотного ФСЛ: на сроке наблюдения 24 месяца КОЗ составила $0,33 \pm 0,11$ [37]. В 2019 г. Шилова Н.Ф. представила результаты сравнительного анализа ЗПК с использованием микрокератома и высокочастотного ФСЛ. КОЗ 0,5 и выше была достигнута после ФЛ-ЗПК, комбинированной с ФЭК и имплантацией ИОЛ, в 23%, а после изолированной ФЛ-ЗПК у пациентов с ПБК – в 8% случаев. В 2021 г. Катмаков К.И. продемонстрировал результаты лечения пациентов методом ФЛ-ЗПК с применением отечественного ФСЛ мегагерцового диапазона. В зависимости от исходной патологии острота зрения 0,5 и выше была достигнута в 16 и 6% случаев.

На полученные показатели КОЗ могла оказать свое влияние длительность патологического процесса в роговице, приведшая к выраженным изменениям

стромы, по причине позднего обращения пациентов и длительного срока ожидания операции в связи с дефицитом донорского материала. Относительно невысокая полученная острота зрения может быть обоснована наличием сопутствующей патологией, присутствующей во всех исследуемых группах, такой как патология сетчатки и зрительного нерва, многократные хирургические вмешательства, развитая и далеко зашедшая глаукома, и другие инволюционные изменения различных структур глазного яблока. Все это может препятствовать полноценному восстановлению остроты зрения.

Не менее важное значение для достижения высокой остроты зрения имеет общая толщина роговицы, что может демонстрировать резорбцию отека, а также толщина и равномерность трансплантата. Во всех группах наблюдения на сроке 12 месяцев регистрировали достоверное уменьшение ЦТР по сравнению с дооперационными данными ($p < 0,05$). Эти данные соответствовали показателям здоровой роговицы и составляли: в группе 1А – $539 \pm 25,3$ мкм, 1Б – $546 \pm 19,4$ мкм, 2А – $544 \pm 28,9$ мкм и 2Б – $545 \pm 25,6$ мкм. Во всех случаях на сроке 12 месяцев после операции также регистрировали уменьшение и толщины трансплантата, которая была следующей: 1А – $75 \pm 15,4$ мкм, 1Б – $77 \pm 12,5$ мкм, 2А – $81 \pm 16,7$ мкм, 2Б – $82 \pm 10,8$ мкм. Статистически значимые различия в группах выявлены не были ($p > 0,05$). Полученные результаты были сопоставимы с имеющимися литературными и соответствовали критериям ультратонкого трансплантата [35, 71].

Симметричность и равномерность полученного ультратонкого трансплантата определяется индексом центр-периферия (Ц:П). Если его значение близко к 1,0, то искомая линтика является максимально равномерной, при приближении значений к 0,5, говорят о «менископодобной» форме, что демонстрирует преобладание периферической толщины над центральной практически в два раза. Доказано, что равномерный трансплантат имеет незначительный гиперметропический сдвиг рефракции и обладает лучшим оптическим результатом: так при индексе Ц:П=0,92 гиперметропический сдвиг составит +0,33 дптр [125, 158, 259]. В нашем исследовании во всех случаях

полученные ультратонкие трансплантаты были равномерными, о чем свидетельствует индекс Ц:П, который во всех группах был больше 0,9 и стремился к 1,0, что также соответствует опубликованным ранее данным [35].

Измерение оптической плотности (density) проводилось при помощи Шаймпфлюг денситометрии (Pentacam Scheimpflug system. Oculus Inc., Германия). Система Pentacam обладает способностью оценивать рассеяние света и, следовательно, непрозрачность тканей/помутнение роговицы методом денситометрии Шаймпфлюга. Этот метод используется в качестве индикатора прозрачности роговицы, чтобы объективно измерить реакцию на инфекцию или мониторинг ответа роговицы на лечение методом эксимерлазерной кератэктомии, кросслинкинга коллагена или для оценки уменьшения отека роговой оболочки после проведенной селективной кератопластики [113, 162, 190, 91].

В ходе исследования в послеоперационном периоде на различных сроках наблюдения статистически значимые отличия показателей общей оптической плотности роговицы (TL) в группах 1А ($18,5 \pm 6,3$ у.е.) и 2А ($19,2 \pm 4,01$ у.е.) выявлены не были, так же, как и в группах 1Б ($20,6 \pm 7,5$ у.е.) и 2Б ($21,3 \pm 5,8$ у.е.) ($p > 0,05$). Полученные результаты сопоставимы с данными ряда исследований. Так в 2017 г. Яковлева С.С. продемонстрировала результаты лечения пациентов инвертной техникой FS DSEK, используя высокочастотный ФСЛ (Femto LDV Z6). На сроке 12 месяцев после операции среднее значение оптической плотности всей толщины роговицы составило $20,8 \pm 4,8$ у.е. у пациентов с ДФ и $24,5 \pm 6,5$ у.е. – у пациентов с ПБК [37].

В 2018 г. Droutsas К. с соавт. представил результаты сравнения показателей денситометрии на сроке 24 месяца после выполнения DSAEK ($21,2 \pm 2,5$ у.е.) и DMEK ($19,2 \pm 2,7$ у.е.), значимая разница на отдаленных сроках выявлена не была ($p > 0,05$) [91]. В 2019 г. Шилова Н.Ф. опубликовала значения денситометрии пациентов после проведенного лечения методом ФЛ-ЗПК с использованием высокочастотного лазера (Femto LDV Z8): у пациентов с ДФ – $16,8 \pm 6,4$ у.е., ПБК – $18,4 \pm 5,8$ у.е., что также соотносится с нашими результатами [35].

Отдельно была подвержена исследованию зона интерфейса. Статистически значимые различия показателей оптической плотности переднего, среднего, заднего слоев, а также условленной зоны интерфейса между группами 1А и 2А, 1Б и 2Б выявлены не были ($p > 0,05$). Эти данные соответствуют значениям оптической плотности здоровой роговицы [190] и сопоставимы с литературными источниками [11, 35]. Это говорит нам о высоком качестве полученных нами ультратонких трансплантатов и высокой биологической эффективности методики ФЛ-ЗПК с применением двух изучаемых ФСЛ.

Оценка плотности эндотелиальных клеток и ее динамической потери в послеоперационном периоде относится к одним из наиболее важных показателей эффективности кератопластики и является прогностическим критерием долгосрочности биологического и рефракционного результатов лечения.

Динамическая потеря ПЭК присутствует после любого метода кератопластики. По данным литературы, после DSAEK на сроке 12 месяцев после операции потеря ПЭК может составлять от 24 до 61 % [51, 68, 71, 85]. После ФЛ-ЗПК при выкраивании трансплантата с эндотелиальной поверхности роговицы этот показатель может достигать 68% [35, 37]. В данном исследовании были получены сопоставимые результаты. При этом применение низкочастотного ФСЛ позволило достичь более высоких значений ПЭК и меньшей потери эндотелиальных клеток на всех сроках наблюдения ($p < 0,05$). На сроке 12 месяцев после операции потеря ПЭК составила в группе 1А – $48,1 \pm 6,7\%$, в группе 1Б – $59,4 \pm 8,1\%$, в 2А группе – $67,2 \pm 4,4\%$, 2Б – $70,1 \pm 7,8\%$.

Таким образом, новая технология задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера, продемонстрировала свою безопасность в эксперименте и эффективность в клинике.

Выполненный сравнительный анализ клинико-функциональных результатов лечения пациентов с ДФ и ПБК методом ФЛ-ЗПК с применением низко- и высокочастотного ФСЛ продемонстрировал лучшие показатели во всех группах

наблюдения в послеоперационном периоде, по сравнению с дооперационными данными. Такие показатели, как НКОЗ, КОЗ, ЦТР, толщина трансплантата и его равномерность, оптическая плотность роговицы были сопоставимы. Однако применение методики с использованием низкочастотного ФСЛ позволило добиться более высоких значений ПЭК и меньшей потери эндотелиальных клеток на сроке 12 месяцев после операции, что обеспечивает более длительный биологический и рефракционный эффект лечения.

ВЫВОДЫ

1. Новый метод заготовки ультратонкого роговичного трансплантата для задней послойной кератопластики с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера с применением разработанных параметров (расстояние между точками – 8 мкм, между рядами – 8 мкм, энергия – 0,8 мкДж) позволяет достичь качественного формирования трансплантата без риска его перфорации и получить лентикуну предсказуемой толщины и формы.
2. Анализ воздействия фемтолазерной энергии на эндотелиальные клетки роговицы в эксперименте продемонстрировал безопасность методики ФЛ-ЗПК, причем статистически значимая разница между используемыми ФСЛ не была выявлена ($p > 0,05$): процент живых клеток после выкраивания с помощью низкочастотного и высокочастотного ФСЛ составил $93,2 \pm 5,4\%$ и $85,3 \pm 6,3\%$ соответственно; мертвые кератоциты вне зависимости от типа ФСЛ встречаются до глубины 117 мкм от непосредственного места формирования среза, значимые отличия между ФСЛ встречаются только на глубине от 13 до 52 мкм ($p < 0,05$): в указанном диапазоне большая гибель кератоцитов наблюдалась в группе с применением низкочастотного ФСЛ.
3. Сравнительный анализ результатов атомно-силовой микроскопии продемонстрировал, что качество поверхности ультратонкого трансплантата после воздействия низкочастотного ФСЛ было статистически значимо ниже в сравнении с высокочастотным ФСЛ ($p < 0,05$).
4. Разработан в клинике хирургический этап технологии задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера.
5. В результате проведения пациентам ФЛ-ЗПК во всех группах отмечали положительную динамику клинико-функциональных показателей. На сроке 12 месяцев после операции наилучший показатель КОЗ во всех группах составил 0,6, при этом наличие КОЗ зрения $\geq 0,5$ было достигнуто в 28% случаев в группе 1А, 12,5% – в 1Б, 18,5% – в 2А и 8% случаев в группе 2Б, статистически

значимые различия КОЗ в послеоперационном периоде в группах пациентов с ДФ, а также с ПБК выявлены не были ($p>0,05$). Применение низкочастотного ФСЛ позволяет достичь более высоких показателей ПЭК (к 12 мес. $1397,4\pm348,7$ кл/мм² – ДФ, $1189,6\pm231,2$ кл/мм² – БК) и меньшей потери эндотелиальных клеток (к 12 мес. $48,1\pm6,7$ % – ДФ, $59,4\pm8,1$ – БК) на всех сроках наблюдения ($p<0,05$).

6. Во всех группах в послеоперационном периоде методом ОКТ наблюдали равномерную толщину трансплантата, а также уменьшение ЦТР – между исследуемыми группами не были выявлены статистически значимые различия ($p>0,05$). Показатели оптической плотности роговицы на сроке наблюдения 12 месяцев были сопоставимы между методиками ($p>0,05$) и максимально приближены к нормальным значениям денситометрии здоровой роговицы (TL в центральной зоне в группе 1А – $18,5\pm6,3$, 2А – $19,2\pm4,01$, 1Б – $20,6\pm7,5$, 2Б – $21,3\pm5,8$), что говорит о высоком качестве формируемой поверхности ультратонкого трансплантата, выкроенного при помощи низкочастотного и высокочастотного ФСЛ, а также о высокой биологической эффективности предложенной технологии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для обеспечения предсказуемости процесса аппланации и выкраивания трансплантата, а также минимизации силы контакта стыковочного конуса низкочастотного ФСЛ и эндотелия, следует применять следующую методику: донорский корнеосклеральный диск фиксируют в искусственную переднюю камеру эндотелием вверх, давление внутри камеры должно соответствовать 30 см вод. ст., за счет использования флакона с сбалансированным солевым раствором на штативе с фиксатором на высоте 30 см от уровня искусственной камеры.
2. Для выкраивания ультратонкого трансплантата для ЗПК при помощи низкочастотного ФСЛ оптимальными являются следующие параметры: глубина – 130 мкм, энергия – 0,8 мкДж, расстояние между точками – 8 мкм, между рядами – 8 мкм. Эти параметры позволяют получить равномерный по толщине и форме ультратонкий трансплантат с качественной поверхностью.
3. Уменьшение толщины трансплантата менее 100 мкм не является целесообразным, так как повреждающее действие фемтолазерной энергии (мертвые кератоциты) встречается до глубины 117 мкм от места формирования среза и, следовательно, при уменьшении толщины может оказывать губительное воздействие и на эндотелиальные клетки.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БК – буллезная кератопатия

ПБК – псевдофакичная буллезная кератопатия

ВГД – внутриглазное давление

ВМД – возрастной макулярной дегенерации

ДМ – Десцеметова мембрана

ДР – десцеметорексис

ДФ – эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса

ЗАПК – задняя автоматизированная послойная кератопластика с предварительным удалением Десцеметовой мембраны

ЗЛК – задняя ламеллярная кератопластика

ЗПК – задняя послойная кератопластика с предварительным удалением Десцеметовой мембраны

ИОЛ – интраокулярная линза

ИПК – искусственная передняя камера глаза

ИХД – иридо-хрусталиковая диафрагма

КОЗ – скорректированная острота зрения

МКОЗ – максимальной скорректированной остроты зрения

НКОЗ – нескорректированная острота зрения

ОКТ – оптическая когерентная томография

ПГПК – передняя глубокая послойная кератопластика

ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома

ПЭК – плотность эндотелиальных клеток

РКТ – радиальная кератотомия

СКП – сквозная кератопластика

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТДМ – трансплантация эндотелия с Десцеметовой мембраной

УТ-ЗАПК – задняя автоматизированная послойная кератопластика с ультратонким трансплантатом с предварительным удалением Десцеметовой мембраны

ФЛ-ЗПК – задняя послойная кератопластика с применением фемтосекундного лазера

ФСЛ – фемтосекундный лазер

ФЭК – факоэмульсификация катаракты

Ц:П – коэффициент «центр-периферия»

ЦТР – центральная толщина роговицы

ЭК – эндотелиальные клетки

CHED – Congenital Hereditary Endothelial Dystrophy

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

DMET – Descemet Membrane Endothelial Transfer

ICE – Iridocorneal Endothelial Syndrome

IC3D – International Committee for Classification of Corneal Dystrophies

FECD – Fuch's Endothelial Corneal Dystrophy

FELEK – Femtosecond and excimer lasers-assisted endothelial keratoplasty

Femto-PLAK – Femto Posterior Lamellar Keratoplasty

FS-DSEK – Femtosecond laser-assisted Descemet's stripping endothelial keratoplasty

LOCS III – Lens Opacities Classification System III

NT-DSAEK – Nanothin Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty

PBS – Phosphate-Buffered Saline

PDEK – pre-Descemet's endothelial keratoplasty

PPCD – Posterior Polymorphous Corneal Dystrophy

RMS – среднеквадратичная шероховатость поверхности

SCUBA – submerged cornea using backgrounds away

UT-DSAEK – Ultrathin Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Басов Н.Г. Квантовый генератор в вакуумной области спектра при возбуждении жидкого ксенона электронным пучком / Н.Г. Басов, В.А. Данилычев, Ю.М. Попов, Д.Д. Ходкевич – Текст: непосредственный // Письма в ЖЭТФ. – 1970 – Т. 12. – No 10. – С. 473–474.
2. Бойко А.В. Задняя частичная послойная кератопластика при посттравматических изменениях переднего отрезка: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Бойко А. В. – Москва, 1978. – С. 20. – Текст: непосредственный.
3. Волков В.В. К разработке хирургического метода лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы / В.В. Волков, М.М. Дронов – Текст: непосредственный // I съезд офтальмологов республик Закавказья. – Сухуми, 1976.
4. Горгиладзе Л.Т. Сквозная кератопластика с криопексией в лечении буллезной кератопатии: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Горгиладзе Л. Т. – Москва, 1987. – С. 7. – Текст: непосредственный.
5. Горгиладзе Т.У. Причины, механизм развития и клинико-анатомическая классификация буллезной кератопатии / Т.У. Горгиладзе, Е.В. Ивановская, Л.Т. Горгиладзе. – Текст: непосредственный // Офтальмологический журнал. – 1992. – No 3. – С. 129–133.
6. Гундорова Р.А. Пересадка задних слоев роговицы при посттравматическом врастании эпителия / Р.А. Гундорова, А.В. Бойко – Текст: непосредственный // 3-я научная конф. Офтальмологов Грузии. – Тбилиси. 1974. – С. 241–274.
7. Дроздов И.В. Хирургическое лечение эпителиально-эндотелиальной дистрофии роговицы методом задней автоматизированной послойной

- кератопластики с использованием ультратонких трансплантатов: специальность 14.01.07 «Глазные болезни»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Дроздов Иван Владимирович. – Москва, 2013. – С 34. – Место защиты: ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова. – Текст: непосредственный.
8. Дронов М.М. Глубокая дистрофия роговой оболочки и методы ее лечения: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Дронов М. М. – Ленинград, 1978. – 56 с. – Текст: непосредственный.
9. Ермаков Н.В. Диагностическое и прогностическое значение зеркальной микроскопии эндотелия при трансплантации роговицы: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Ермаков Н. В. – Москва, 1988. – 26 с. – Текст: непосредственный.
10. Каспаров А.А. Эндотелий трансплантата донора после сквозной кератопластики / А.А. Каспаров, Н.В. Ермаков, Ю.М. Раппопорт. – Текст: непосредственный // Вестн. офтальмологии. – 1990. – Т. 106. – No 5. – С. 12–17.
11. Катмаков К.И. Клинико-экспериментальное обоснование подготовки ультратонкого трансплантата для задней послойной кератопластики со стороны эндотелия роговицы с помощью отечественной фемтолазерной установки мегагерцового диапазона: специальность 14.01.07 «Глазные болезни»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Катмаков Константин Игоревич. – Москва, 2021. – С. 58. – Место защиты: ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова. – Текст: непосредственный
12. Ковшун Е.В. Хирургическое лечение вторичной послеоперационной эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы на основе сквозной кератопластики: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Ковшун Евгения Владимировна. – Москва, 1992. – С. 15. – Место защиты: ГУ МНТК «Микрохирургия глаза». – Текст: непосредственный

13. Комах Ю.А. Клинико-цитохимические аспекты прогнозирования и профилактики помутнения трансплантата после кератопластики: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Комах Юрий Алексеевич. – Москва, 1995. – 20 с. – Текст: непосредственный
14. Копаева В.Г. Астигматизм в трансплантате роговицы / В.Г. Копаева. – Текст: непосредственный // Федоровские чтения: Сб. науч. тр. – М., 2004. – С. 220–228.
15. Копаева В.Г. Современные аспекты сквозной субтотальной кератопластики: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Копаева Валентина Григорьевна. – Москва, 1982. – 32 с. – Место защиты: Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца. – Текст: непосредственный.
16. Малюгин Б.Э. Изучение процессов миграции эндотелиоцитов роговицы человека в зону ятрогенного дефекта в условиях эксперимента *ex vivo* / Б.Э. Малюгин, Е.А. Малютина, Х.Д. Тонаева, С.А. Борзенков, Д.С. Островский. – Текст: непосредственный // Практическая медицина. 2018. № 5. С. 151-157.
17. Малюгин Б.Э. Клинико-генетические аспекты наследственных дистрофий роговицы / Б.Э. Малюгин., О.П. Антонова. – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 2015. – № 4. – С.98.
18. Малюгин Б.Э. 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. Борзенков, И.В. Дроздов и др. – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 2013. – № 3. – С. 12–16.

19. Малюгин Б.Э. Результаты изучения генетических маркеров, ассоциированных с первичной эндотелиальной дистрофией роговицы (Фукса) / Б.Э. Малюгин, О.П. Антонова, Л.О. Скородумова, Л.И. Шарова, О.В. Селезнева и др. – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 2016. – № 4. – С.44–50.
20. Малюгин Б.Э. Сравнительный анализ клинико-функциональных результатов традиционной и фемтолазер-ассистированной факоемульсификации / Б.Э. Малюгин, Н.П. Паштаев, И.В. Куликов, С.М. Пикусова, И.М. Крестова, Д.С. Крестов. – Текст: непосредственный // Вестник офтальмологии. – 2019. – Т. 135. № 5. – С. 54–60.
21. Малюгин Б.Э. Сравнительный анализ клинико-функциональных результатов задней послойной кератопластики с использованием фемтосекундного лазера и микрокератома / Б.Э. Малюгин, Н.Ф. Шилова, О.П. Антонова, Н.С. Анисимова, И.Н. Шормаз. – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 2019. – № 1. – С. 20–26.
22. Малюгин Б.Э. Тканесберегающая методика трансплантации Десцеметовой мембраны с монослоем эндотелиальных клеток для лечения эндотелиальной дисфункции / Б.Э. Малюгин, А.М. Гелястанов, О.П. Антонова. – Текст: непосредственный // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2019. – Т. 21. – №5. – С. 157.
23. Малюгин Б.Э. Трансплантация эндотелия и Десцеметовой мембраны / Б.Э. Малюгин, Н.Ф. Шилова, Н.С. Анисимова, О.П. Антонова. – Текст: непосредственный // Вестник офтальмологии. – 2019. – Т. 135. № 1. – С. 98–103.
24. Малюгин Б.Э. Хирургическая коррекция астигматизма после сквозной кератопластики: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Малюгин Борис Эдуардович. – Москва, 1994. – С.166. – Место защиты: МНТК «Микрохирургия глаза». – Текст: непосредственный.

25. Мороз З.И. Лечение послеоперационной дистрофии роговицы методом задней послойной кератопластики / З.И. Мороз, Т.Д. Тоцкая, Т.Н. Григорьянц. – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 1992. – No 1. – С. 59–63.
26. Мороз З.И. Современные аспекты кератопластики / З.И. Мороз, Х.П. Тахчиди, Ю.Ю. Калинин и др. – Текст: непосредственный // Федоровские чтения: Сб. науч. тр. – М., 2004. – С. 280–288.
27. Мороз З.И. Экспериментальная модель эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговой оболочки глаза. / З.И. Мороз, Р.Н. Решетнёва – Текст: непосредственный // Материалы итоговой конференции научно-исследовательских лабораторий ММСИ. – М., 1973. – С. 38–39.
28. Нероев В.В. Первый опыт и краткосрочные результаты фемтолазерной задней послойной кератопластики (DSEK) с формированием трансплантата с эндотелиальной стороны/ В.В.Нероев, Р.А. Гундорова, А.В. Степанов, В.П. Быков. – Текст: непосредственный // Российский медицинский журнал. – 2013. – No 5. – С. 44–46.
29. Паштаев А.Н. Реабилитация пациентов с дистрофией роговицы Фукса и буллезной кератопатией на основе задней послойной кератопластики с применением различных лазерных систем: специальность 14.01.07 «Глазные болезни»: диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Паштаев Алексей Николаевич. – Москва, 2021. – Место защиты: ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова. – Текст: непосредственный.
30. Плескова А.В. Помутнения роговицы у детей: особенности клиники, диагностика и хирургическое лечение: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Плескова Алла Вячеславовна. – Москва, 2008. – 45 с. – Текст: непосредственный.
31. Погорелова С.С. Анализ плотности эндотелиальных клеток в среднесрочный период наблюдения после эндотелиальной кератопластики

- с формированием трансплантата фемтосекундным лазером со стороны эндотелия / С.С. Погорелова, А.А. Грдиканьян, Е.В. Ченцова и др. – Текст: непосредственный // Российский медицинский журнал. – 2016. – No 1. – С.10–13.
32. Руднева М.А. Современные технологии кераторефракционной хирургии от CarlZeiss. Эксимерный лазер MEL 80 и фемтосекундный лазер Visumax / М.А. Руднева. – Текст: непосредственный // Рефракционная хирургия и офтальмология. – 2007. – No 3. – С. 15–16.
33. Фейгин Ф. Пересаживание роговицы / Ф. Фейгин – Текст: непосредственный // Воен. мед. журн. – 1867. – Т. 99. – С. 176–217.
34. Филатов В.П. Роговица трупа как материал для пересадки / В.П. Филатов – Текст: непосредственный // Сов. вест, офтальмологии. – 1934. – No 2. – С. 222–224.
35. Шилова Н.Ф. Сравнительный анализ результатов задней послойной кератопластики с использованием фемтосекундного лазера и микрокератома: специальность 14.01.07 «Глазные болезни»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Шилова Наталья Федоровна. – Москва, 2019. – С.112. – Место защиты: ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова. – Текст: непосредственный
36. Шимановский А. Пересадка переднего отдела глаза / А. Шимановский – Текст: непосредственный // Вестн. офтальмологии. – 1912. – No 29. – С. 711–738.
37. Яковлева С.С. Инвертное фемтолазерное формирование трансплантата для задней кератопластики: специальность 14.01.07 «Глазные болезни»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Яковлева Светлана Сергеевна. – Москва, 2017. – С.56. – Место защиты: ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца». – Текст: непосредственный

38. Abou-Jaoude E.S. Spontaneous wound dehiscence after removal of single continuous penetrating keratoplasty suture / E.S. Abou-Jaoude, M. Brooks, D.G. Katz, W.S. van Meter. – Text: immediate // *Ophthalmology*. – 2002. – Vol. 109. – No 7. – P. 1291–1296.
39. Adamis A.P. Fuchs' endothelial dystrophy of the cornea / A.P. Adamis, V. Filatov, B.J. Tripathi, R.C. Tripathi. – Text: immediate // *Surv. Ophthalmol.* – 1993. – Vol. 38. – No 2. – P. 147–168.
40. Afshari N.A. Clinical study of Fuchs corneal endothelial dystrophy leading to penetrating keratoplasty. A 30-year experience / N.A. Afshari, A.B. Pittard, B.S. Siddiqui, G.K. Klintworth. – Text: immediate // *Arch. Ophthalmol.* - 2006. - Vol. 124. – 6. – P. 777–780.
41. Agarwal A. Pre-Descemets Endothelial Keratoplasty (PDEK) / A Agarwal, H.S. Dua, P. Narang, D.A. Kumar [et. al.]. – Text: immediate // *J Ophthalmologica*. – 2014. – Vol. 98. – P. 1181–1185.
42. Ahad M.A. Intraocular lens opacification after descemet stripping automated endothelial keratoplasty / M.A. Ahad, K. Darcy, S.D. Cook, D.M. Tole. – Text: immediate // *Cornea*. – 2014. – Vol. 33, № 12. – P. 1307–1311.
43. Al-Yousuf N. Penetrating keratoplasty: indications over a 10 year period / N Al-Yousuf, L. Mavrikakis, E. Mavrikakis [et al.]. – Text: immediate // *Br. J. Ophthalmol.* – 2004. – Vol. 88. – No 8. – P. 998 – 1001.
44. Aldave A.J. No pathogenic mutations identified in the COL8A1 and COL8A2 genes in familial Fuchs corneal dystrophy / A.J. Aldave, S.A. Rayner, A.K. Salem, G.L. Yoo [et. al.]. – Text: immediate // *Investigative ophthalmology & visual science*. – 2006. – T. 47. – No 9. – C. 3787–3790.
45. Alvarez J. Techniques of isolating human Descemet's membrane and endothelium for endothelial keratoplasty (DMEK) / J. Alvarez, M. De Toledo, De la Paz R.I. Barraquer. – Text: electronic // XXVII Congress of the European Society of cataract and refractive surgeons. – Barcelona (Spain), 2009. – 1 compact disc (CD-ROM).

46. Anshu A. Endothelial Keratoplasty: A Revolution in Evolution / A. Anshu, M.O. Price, DTH. Tan, F.W. Price. – Text: immediate // *Surv Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 57. – No 3. – P. 236–252.
47. Anwar M. Deep lamellar keratoplasty: surgical techniques for anterior lamellar keratoplasty with and without baring of Descemet's membrane / M. Anwar, K. Teichmann. – Text: immediate // *Cornea.* – 2002. – Vol. 21. – No 4. – P. 374–383.
48. Arbelaez J.G. Long-term follow-up and complications of stripping descemet membrane without placement of graft in eyes with Fuchs endothelial dystrophy / J.G. Arbelaez, M.O. Price, F.W. Price. – Text: immediate // *Cornea.* – 2014. – Vol.33. – P. 1295–1299.
49. Arnalich-Montiel F. Comparison of corneal haze and visual outcome in primary DSAEK versus DSAEK following failed DMEK / F. Arnalich-Montiel, J.L. Hernández-Verdejo, N. Oblanca, F.J. Muñoz-Negrete, M.P. De Miguel. – Text: immediate // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 251. – No 11. – P. 2575–84.
50. Bae S.S. Nomogram to Predict Graft Thickness in Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty: An Eye Bank Study / S.S. Bae, I. Menninga, R. Hoshino. – Text: immediate // *Cornea.* – 2018. – Vol. 36. – No 7. – P. 697–690.
51. Bahar I. Busin glide vs forceps for the insertion of the donor lenticule in Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty / I. Bahar, I. Kaiserman, W. Sansanayudh. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 147. – № 2. – P. 220–226.
52. Balachandran C. Spontaneous corneal clearance despite graft detachment in descemet membrane endothelial keratoplasty / C. Balachandran, L. Ham, C.A. Verschoor [et al.]. – Text: immediate // *Am J Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 148. – P. 227–234.
53. Baratz K.H. Corneal haze determined by confocal microscopy 2 years after descemet stripping with endothelial keratoplasty for fuchs corneal dystrophy / K.H. Baratz, J.W. McLaren, L.J. Maguire, S.V. Patel. – Text: immediate // *Arch Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 130. – P. 868–874.

54. Baratz K.H. E2-2 protein and Fuchs's corneal dystrophy / K.H. Baratz, N. Tocakulwong, E. Ryu [et. al.]. – DOI 10.1056/NEJMoa1007064. – Text: electronic // *New England Journal of Medicine*. – 2010. – T. 363. – № 11. – P. 1016–1024.
55. Barraquer J.I. Lamellar keratoplasty. Special techniques / J.I. Barraquer // *Ann Ophthalmol*. – 1972. – Vol. 4. – P. 437–469.
56. Barraquer J.I. Queratoplastia: Problemas qui plantea la fijacion del injerto / J.I. Barraquer // 16th Consilium Ophthalmologicum. London: British Medical Association. – 1951. – Vol. 2. – P. 999–1004.
57. Binder P.S. The effect of suture removal on keratoplasty astigmatism / P.S. Binder. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol*. – 1988. – Vol. 105. – No 6. – P. 637–645.
58. Birbal R.S. Descemet Membrane Endothelial Transfer: Ultimate Outcome / R.S. Birbal, J. Parker, M. Dirisamer, A. Janićijević [et. al.]. – Text: immediate // *Cornea*. – 2017. – Vol. 0. – P. 1–4.
59. Birbal R.S. Quarter-Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: One- to Two-Year Clinical Outcomes / R.S. Birbal, S. Ni Dhubhghaill, L. Baydoun, L. Ham [et. al.]. – Text: immediate // *Cornea*. – 2020. – Vol. 39. – No 3. – P. 277–282.
60. Biswas S. Missense mutations in COL8A2, the gene encoding the $\alpha 2$ chain of type VIII collagen, cause two forms of corneal endothelial dystrophy / S. Biswas, F.L. Mumier, J. Yardley, N. Hart-Holden [et. al.]. – DOI 10.1093/hmg/10.21.2415. – Text: electronic // *Human molecular genetics*. – 2001. – T. 10. – № 21. – P. 2415–2423.
61. Bleyen I. Spontaneous corneal clearing after Descemet's stripping / I. Bleyen, I.E. Saelens, B.T. van Dooren [et. al.]. – Text: immediate // *Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 120. – P. 215.
62. Bloembergen N. Laser-induced optical breakdown in solids / N. Bloembergen // *IEEE J. Quantum Electron*. – 1974. – Vol. 10. – P. 375-386.

63. Borkar D.S. Treatment of Fuchs endothelial dystrophy by descemet stripping without endothelial keratoplasty / D.S. Borkar, P. Veldman, K.A. Colby. – Text: immediate // *Cornea*. – 2016. – Vol. 35. – P. 1267–1273.
64. Bourne W.M. Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period / W.M. Bourne, L.R. Nelson, D.O. Hodge. - DOI: 10.1016/s0002-9394(14)70810-4. – Text: electronic // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 1997. – Vol. 38. – P. 779–782.
65. Bourne W.M. Clinical estimation of corneal endothelial pump function / W.M. Bourne. – Text: immediate // *Trans Am. Ophthalmol Soc*. – 1998. – Vol. 96. – P. 229–239.
66. Braunstein R.E. Corneal edema resolution after “descemetorhexis” / R.E. Braunstein, S. Airiani, M.A. Chang [et al.]. – Text: immediate // *J Cataract Refract Surg*. – 2003. – Vol. 29. – P. 1436–1439.
67. Buratto L. The use of femtosecond laser in penetrating keratoplasty / L. Buratto, E. Bohm. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol*. – 2007. – Vol. 143. – No 5. – P. 737–742.
68. Busin M. A modified technique for Descemet membrane stripping automated endothelial keratoplasty to minimize endothelial cell loss / M. Busin, P.R. Bhatt, V. Scorcia. – Text: immediate // *Arch Ophthalmol*. – 2008. – Vol. 126. – No 8. – P. 1133–1137.
69. Busin M. Endokeratoplasty as an alternative to penetrating keratoplasty for the surgical treatment of diseased endothelium: initial results / M. Busin, R.C. Arffa, A. Sebastiani. – DOI 10.1016/s0161-6420(00)00371-7. – Text: electronic // *Ophthalmology*. – 2000. – Vol. 107. – P. 2077–2082.
70. Busin M. Microkeratome-assisted preparation of ultrathin grafts for descemet’s stripping automated endothelial keratoplasty / M. Busin, A.K. Patel, V. Scorcia. – Text: immediate // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. – 2012. – Vol. 53. – P. 521–524.
71. Busin M. Ultrathin descemet’s stripping automated endothelial keratoplasty with the microkeratome double-pass technique: Two-year outcomes / M. Busin, S.

- Madi, P. Santorum, V. Scorgia. – Text: immediate // *J Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 120. – No 6. – P. 1186–1194.
72. Carlson K.H. Variations in human corneal endothelial cell morphology and permeability to fluorescein with age / K.H. Carlson, W.M. Bourne, J.W. McLaren, R.F. Brubaker. – Text: immediate // *Exp Eye Res*. – 1988. – Vol. 47. – № 1. – P. 27–41.
73. Castroviejo R. Penetrating keratoplasty. Regrafting in unusual cases / R. Castroviejo // *The World cornea Congress - Washington: Butterworths, 1965*–P. 553.
74. Castroviejo R. Total penetrating keratoplasty; a preliminary report / R. Castroviejo. – DOI 10.1016/0002-9394(51)90035-9. – Text: electronic // *Am. J. Ophthalmol.* – 1951. – Vol. 34. – No 12. – P. 1697–1706.
75. Chang S.D. A new method of harvesting Descemet membrane endothelium complex approaching from the suprachoroidal space for Descemet membrane endothelial keratoplasty: an experimental animal study / S.D. Chang, J.H. Jun, K.H. Hong. – Text: immediate // *Cornea*. – 2010. – Vol. 29. – No 8. – P. 904–909.
76. Cheng Y.Y. Femtosecond laser assisted Descemet's stripping endothelial keratoplasty / Y.Y. Cheng, E. Pels, R.M. Nuijts – Text: immediate // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2007. – Vol. 33. – No 1. – P. 152–155.
77. Cheng Y.Y. 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. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 152. – P. 556–566.
78. Cheung A.Y. Technique for Preparing Ultrathin and Nanothin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty Tissue / A.Y. Cheung, J.H. Hou, P. Bedard. – Text: immediate // *Cornea*. – 2018. – Vol. 37. – No 5. – P. 661–666.
79. Christo C.G. Suture related complications following keratoplasty: A 5 year retrospective study / C.G. Christo, J. Van Rooij, A. Geerards [et al.]. – Text: immediate // *Cornea*. – 2001. – Vol. 20. – No 8. – P. 816–819.

80. Chylack L.T. 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. – No 6. – P. 831–836.
81. Crawford G.J. The triple procedure. Analysis of outcome, refraction and intraocular lens power calculation / G.J. Crawford, R.D. Stulting, G.O. Waring [et al.]. – Text: immediate // Ophthalmology. – 1986. – Vol. 93. – No 6. – P. 817–824.
82. Cross H.E. Inheritance of Fuchs' endothelial dystrophy / H.E. Cross, A.E. Maumenee, S.J. Cantolino. – DOI 10.1001/archophth.1971.00990050270002. – Text: electronic // Arch. Ophthalmol. – 1971. – Vol. 85. – P. 268–272.
83. Cursiefen C. Changing indications for penetrating keratoplasty: histopathology of 1 250 corneal buttons / C Cursiefen, M. Kuchle, G.O. Naumann. – Text: immediate // Cornea. – 1998. – Vol. 17. – No 5. – P. 468–470.
84. Dandona L. Survival analysis and visual outcome in a large series of corneal transplants in India / L. Dandona, T.J. Naduvilath, M. Janarthanan [et al.]. – Text: immediate // Br. J. Ophthalmol. – 1997. – Vol. 81. – No 9. – P. 726–731.
85. Dapena I. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK): two year results / I. Dapena, L. Ham, J. Lie, J. van der Wees, G. Melles. – Text: immediate // Arch. Soc. Esp. Ophthalmol. – 2009. – Vol. 84. – No 5. – P. 237–243.
86. Dapena I. Endothelial keratoplasty: DSEK/DSAEK or DMEK – the thinner the better? / I. Dapena, L. Ham, G. Melles. – Text: immediate // Curr. Opin. Ophthalmol. – 2009. – Vol. 20. – No 4. – P. 299–307.
87. Dapena I. Standardized — no-touch technique for Descemet membrane endothelial keratoplasty / I. Dapena, K. Moutsouris, K. Droutsas. – Text: immediate // Arch. Ophthalmol. – 2011. – Vol. 129. – P. 88–94.
88. Davis Boozer D.L. Descemet's membrane endothelial keratoplasty (DMEK): endothelial cell loss resulting from two methods of donor tissue preparation / D.L. Davis Boozer, N. Shamie, A.K. Shah, M.A. Terry. – Text: immediate // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2009. – Vol. 50, Abstract 607.

89. Dirisamer M. Descemet Membrane Endothelial Transfer: “Free-Floating” Donor Descemet Implantation as a Potential Alternative to “Keratoplasty” / M. Dirisamer, L. Ham, I. Dapena, K. van Dijk, G.R. Melles. – Text: immediate // *Cornea*. – 2012. – Vol. 31. – No 2. – P. 194–197.
90. Dirisamer M. Patterns of Corneal Endothelialization and Corneal Clearance after Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty for Fuchs Endothelial Dystrophy / M. Dirisamer, I. Dapena, L. Ham, K. Dijk, O. Ogan, L.E. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 152. – No 4. – P. 543–555.
91. Droutsas K. 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, No 4. – P. 455–461.
92. Duke-Elder S., Leigh A.C. Diseases of the outer eye (Pt. 2) / in Duke- Elder S. eds.: *System of ophthalmology* / St. Louis: C.V. Mosby Company, 1965 - Vol. I.
93. Eghrari A.O. Fuchs corneal dystrophy / A.O. Eghrari, S.A. Riazuddin, J.D. Gottsch. – Text: immediate // *Prog Mol Biol Transl Sci.* – 2015. – Vol. 134. – P. 79–97.
94. Elschinig A. Keratoplasty / A. Elschinig. – Text: immediate // *Arch. Ophthalmol.* – 1930. – Vol. 4. – P. 165–173.
95. Engelmann K. Prospects for endothelial transplantation / K. Engelmann, J. Bednarz, M. Valtink. - DOI: 10.1016/s0014-4835(03)00209-4. – Text: electronic // *Exp Eye Res.* – 2004. – Vol. 78. – P. 573–578.
96. Eye Bank Association of America. Surgical Use and Indications for Corneal Transplant Statistical Report Analysis. Washington, DC: Eye Bank Association of America; 2019.
97. Farid M. Femtosecond laser-assisted corneal surgery / M. Farid, R.F. Steinert. – Text: immediate // *Curr Opin Ophthalmol.* – 2010. – Vol. 21. – No 4. – P. 288–92.
98. Fellman M.A. 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. – Text: immediate // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2013. – Vol. 39. – No 5. – P. 799–803.
99. Feng M.T. Effect of Donor Preparation-to-Use Times on Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Outcomes / M.T. Feng, Z.N. Burkhart, F.W. Price. – Text: immediate // *Cornea.* – 2013. – Vol. 32. – No 8. – P. 1080–1082.
100. Filatov V.P. Remarks concerning the amelioration of leucomas and corneal transplantation / V.P. Filatov. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 1937. – Vol. 20. – No 6. – P. 1283.
101. Fine M. Corneal transplantation and rejection / M. Fine. – Text: immediate // *Doc. Ophthalmol. Proc. Series.* – 1978. – Vol. 20. – P. 109–114.
102. Foster J.B. Early Results From a No-fold Small-incision Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty Allograft Delivery System (endosaver) / J.B. Foster, K.A. Walter. – Text: immediate // *Techniques in Ophthalmology.* – 2010. – Vol. 8. – No 1. – P. 15–17.
103. Foster J.B. Three-millimeter incision descemet stripping endothelial keratoplasty using sodium hyaluronate (healon): a survey of 105 eyes / J.B. Foster, R. Vasan, K.A. Walter. – Text: immediate // *Cornea.* – 2011 – Vol. 30. – No 2. – P. 150–153.
104. Friedenwald H. Epithelial dystrophy of the cornea / H. Friedenwald, J.S. Friedenwald. – DOI 10.1136/bjo.9.1.14. – Text: electronic // *Br J Ophthalmol.* – 1925. – Vol. 9. – No 1. – P. 14–20.
105. Fuchs E. Dystrophia epithelialis corneae / E. Fuchs // *Albrecht Von Graefe Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* – 1910. – Vol. 76. – P. 478–508.
106. Gabbay I.E. Comparison of Descemet stripping under continuous air flow, manual air injection and balanced salt solution for DMEK: a pilot study / I.E. Gabbay, I. Bahar, Y. Nahum, E. Livny. – Text: immediate // *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 2017. – Vol. 255. – No 8. – P. 1605–1611.
107. Galvis V. Descemetorhexis without endothelial graft in Fuchs dystrophy / V. Galvis, A. Tello, R.D. Berrospi [et al.]. – Text: immediate // *Cornea.* – 2016. – Vol. 35. – P. 26–28.

108. Gardea E. D'endothelio Descemet chez un patient atteint d'une dystrophie de Fuchs / E. Gardea, P. Adam, G. Brasseur, M. Muraine. – Text: immediate // J. Fr. Ophthalmol. – 2007. – Vol. 30. – No 6. – P. 658–659.
109. Gerber-Hollbach N. Clinical outcome of rebubbling for graft detachment after Descemet membrane endothelial keratoplasty / N. Gerber-Hollbach, L. Baydoun, E.F. López [et al.]. – Text: immediate // Cornea. – 2017. – Vol. 36. – P. 771–776.
110. Gorovoy M.S. Descemet-stripping automated endothelial keratoplasty / M.S. Gorovoy. – Text: immediate // Cornea. – 2006. – Vol. 25. – No 8. – P. 886–889.
111. Gottsch J.D. Analysis and documentation of progression of Fuchs corneal dystrophy with retroillumination photography / J.D. Gottsch, O.H. Sundin, E.V. Rencs, D.G. Emmert [et al.]. – Text: immediate // Cornea. – 2006. – Vol. 25. – No 4. – P. 485–489.
112. Gottsch J.D. Inheritance of a novel COL8A2 mutation defines a distinct early-onset subtype of fuchs corneal dystrophy / J.D. Gottsch, O.F. Sundin, S.H. Liu [et al.]. – DOI 10.1167/iovs.04-0937. – Text: electronic // Investigative ophthalmology & visual science. – 2005. – T. 46. – No 6. – P. 1934–1939.
113. Greenstein S.A. Natural history of corneal haze after collagen crosslinking for keratoconus and corneal ectasia: Scheimpflug and biomicroscopic analysis / S.A. Greenstein, K.L. Fry, J. Bhatt, P.S. Hersh. – Text: immediate // J Cataract Refract Surg. – 2010. – Vol. 36. – P. 2105–2114.
114. Grewal D.S. Correlation of nuclear cataract lens density using Scheimpflug images with Lens Opacities Classification System III and visual function / D.S. Grewal, G.S. Brar, S.P. Grewal. – Text: immediate // Ophthalmology. – 2009. – Vol. 116. – P. 1436–1443.
115. Groeneveld-Van Beek E.A. Standardized “no-touch” donor tissue preparation for DALK and DMEK: Harvesting undamaged anterior and posterior transplants from the same donor cornea / E.A. Groeneveld-Van Beek, J.T. Lie, J.

- Van Der Wees , G.R.J. Melles. – Text: immediate // *Acta Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 91. – No 2. – P. 145–150.
116. Guerra F.P. Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty: Prospective Study of 1- Year Visual Outcomes, Graft Survival, and Endothelial Cell Loss / F.P. Guerra, A. Anshu, M.O. Price, A.W. Giebel, F.W. Price. – Text: immediate // *Ophthalmology.* – 2011. – Vol. 118. – No 2. – P. 2368–2373.
117. Guerra F.P. Descemet's membrane endothelial keratoplasty: Prospective study of 1-year visual outcomes, graft survival, and endothelial cell loss / F.P. Guerra, A. Anshu, M.O. Price [et al.]. – Text: immediate // *Ophthalmology.* – 2011. – Vol. 118. – P. 2368–2373.
118. Guerra F.P. Endothelial keratoplasty: Fellow eyes comparison of Descemet stripping automated endothelial keratoplasty and Descemet membrane endothelial keratoplasty / F.P. Guerra, A. Anshu, M.O. Price, F.W. Price. – Text: immediate // *Cornea.* – 2011. – Vol. 30. – P. 1382–1386.
119. Gundorova R.A. Transplantation of the post-traumatic epithelial invasion / R.A. Gundorova, A.V. Bojko // *Ceskoslovenska Oftalmologie.* – 1977. – Vol. 33. – № 1. – P. 21–24.
120. Ham L. Causes of Primary Donor Failure in Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty / L. Ham, J. van der Wees, G.R.J. Melles. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 2008. – Vol. 145. – No 4. – P. 639–644.
121. Hashemi H. Microkeratome-assisted posterior lamellar keratoplasty in pseudophakic and aphakic corneal edema / H. Hashemi, J.Noori, M.A. Zare, F. Rahimi. – Text: immediate // *J. Refract. Surg.* – 2007. – No 3. – P. 272–278.
122. Heidemann D.G. Comparison of deep lamellar endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty in patients with Fuchs endothelial dystrophy / D.G. Heidemann, S.P. Dunn, C.Y. Chow. – Text: immediate // *Cornea.* – 2008. – Vol. 27. – No 2. – P. 161–167.
123. Heinzelman S. Correlation between visual acuity and interface reflectivity measured by pentacam following DSAEK / S. Heinzelman, P.C. Maier, T.

- Reinhard. – Text: immediate // *Acta Ophthalmologica*. – 2013. – Vol. 92. – No 1. – P. 1–4.
124. Hjortdal J. Inverse cutting of posterior lamellar corneal grafts by a femtosecond laser / J. Hjortdal, E. Nielsen, A. Vestergaard, A. Søndergaard. – Text: immediate // *Open Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 6. – P. 19–22.
125. Hwang R.Y. 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/iovs.10-5839. – Text : electronic // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2011. – Vol. 52. – No 2. – P. 1043–1054.
126. Iliff B.W. The genetics of Fuchs' corneal dystrophy / B.W Iliff, S.A. Riazuddin, J.D. Gottsch. – Text: immediate // *Expert review of ophthalmology*. – 2012. – T. 7. – No 4. – P. 363–375.
127. Ing J.J. Ten year postoperative results of penetrating keratoplasty / J.J. Ing, H.H. Ing, L.R. Nelson [et al.]. – Text: immediate // *Ophthalmology*. – 1998. – Vol. 105. – No 10. – P. 1855–1865.
128. Iovieno A.L. Descemetorhexis Without Graft Placement for the Treatment of Fuchs Endothelial Dystrophy: Preliminary Results and Review of the Literature / A.L. Iovieno, A. Neri, A.M. Soldani, C. Adani, L. Fontana. – Text: immediate // *Cornea*. – 2017. – Vol. 36. – No 6. – P. 637–641.
129. Iwamoto T. Electron microscopic studies on Fuchs' combined dystrophy I. Posterior portion of the cornea / T. Iwamoto, A. G. DeVoe. – Text: immediate // *Invest. Ophthalmol.* – 1971. – Vol. 10. – No 1. – P. 9–29.
130. Jacobi C. Evidence of Endothelial Cell Migration after Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty / C. Jacobi, A. Zhivov, J. Korbmacher, K. Falke, R. Guthoff, U. Schlotzer-Schrehardt. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 152. – No 4. – P. 537–542.
131. Jalimarada S.S. Loss of ion transporters and increased unfolded protein response in Fuchs' dystrophy / S.S. Jalimarada, D.G. Ogando, J.A. Bonanno. – Text: immediate // *Molecular vision*. – 2014. – T. 20. – P. 1668.

132. Jardine G.J. Eye bank-prepared femtosecond laser-assisted automated descemet membrane endothelial grafts cornea / G.J. Jardine, J.D. Holiman, J.D. Galloway. – Text: immediate // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2015. – Vol. 34. – No 7. – P. 838–843.
133. Jonas J.B. Immunologic graft reactions after allogenic penetrating keratoplasty / J.B. Jonas, R.M. Rank, W.M. Budde. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 2002. – Vol. 133. – No 4. – P. 437–443.
134. Jones D.T. Endothelial lamellar keratoplasty (ELK) / D.T. Jones, W.W. Culbertson. – Text: immediate // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1998. – Vol. 39. – P. 76.
135. 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. – No 4. – P. 645–55.
136. Joyce N.C. Expression of cell cycle- associated proteins in human and rabbit corneal endothelium in situ / N.C. Joyce, S.E. Navon, S. Roy, J.D. Zieske. – Text: immediate // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1996. – Vol. 37. – No 8. – P. 1566–1575.
137. Juhasz T. Time-resolved observations of shockwaves and cavitation bubbles generated by femtosecond laser pulses in corneal tissue and water / T. Juhasz, G.A. Kastis, C. Suárez // *Lasers Surg. Med.* – 1996. – Vol. 19. – No 1. – P. 23–31.
138. Jun B. Refractive change after descemet stripping automated endothelial keratoplasty surgery and its correlation with graft thickness and diameter / B. Jun, A.N. Kuo, N.A. Afshari, A.N. Carlson. – Text: immediate // *Cornea.* – 2009. – Vol. 28. – No 1. – P. 19–23.
139. Kang H.M. A retained lens fragment induced anterior uveitis and corneal edema 15 years after cataract surgery / H.M. Kang, J.W. Park, E.J. Chung. - DOI: 10.3341/kjo.2011.25.1.60. – Text: electronic // *Korean J Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 25. – No 1. – P. 60–62.

140. Kaufman H.E. The human corneal endothelium / H.E. Kaufman, J.A. Capella, J.E. Robbins. – DOI 10.1016/0002-9394(66)90921-4. – Text: electronic // *Am J Ophthalmol.* – 1966. – Vol. 61. – P. 835–841.
141. Khor W.B. Descemet stripping automated endothelial keratoplasty with a graft insertion device: Surgical technique and early clinical results / W.B. Khor, J.S. Mehta, D.T.H. Tan. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 151. – No 2. – P. 223–233.
142. Kimakura M. Stromal bed quality and endothelial damage after femtosecond laser cuts into the deep corneal stroma / M. Kimakura, O. Sakai, S. Nakagawa. – Text: immediate // *Br. J. Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 97 – P. 1404–1409.
143. Ko W. Experimental posterior lamellar transplantation of the rabbit cornea / W. Ko, B. Freuh, C. Shield, M.L. Costello, S.T. Feldman. – Text: immediate // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1993. – Vol. 34. – № 4. – P. 1102.
144. Koenig S.B. Long-term corneal clarity after spontaneous repair of an iatrogenic descemetorhexis in a patient with Fuchs dystrophy / Koenig S.B. – Text: immediate // *Cornea.* – 2013. – Vol. 32. – P. 886–888.
145. Koenig S.B. Planned descemetorhexis without endothelial keratoplasty in eyes with Fuchs corneal endothelial dystrophy / Koenig S.B. – Text: immediate // *Cornea.* – 2015. – Vol. 34. – P. 1149–1151.
146. Koenig S.B. Simple technique to unfold the donor corneal lenticule during Descemet's stripping and automated endothelial keratoplasty / S.B. Koenig, W.J. Dupps, D.J. Covert, D.M. Meisler. – Text: immediate // *J Cataract Refract Surg.* – 2007. – Vol. 33 – No 2. – P.189–190.
147. Kotulak J.C. Age-related changes in the cornea / J.C. Kotulak, T. Brungardt. // *J Am Optom Assoc.* – 1980. – Vol. 51. – No 8. – P. 761–765.
148. Krachmer J.H. Corneal endothelial dystrophy. A study of 64 families / J.H. Krachmer, J.J.Jr Purcell, C.W. Young, K.D. Bucher. – Text: immediate // *Arch. Ophthalmol.* – 1978. – Vol. 96. – P. 2036–2039.
149. Kuchle M. Risk factors for corneal allograft rejection: intermediate results of a prospective normal risk keratoplasty study / M. Kuchle, C. Cursiefen, N.X.

- Nguyen. – Text: immediate // Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. – 2002. – Vol. 240. – No 7. – P. 580–584.
150. Kurtz R.M. Lamellar refractive surgery with scanned intrastromal picosecond and femtosecond laser pulses in animal eyes / R.M. Kurtz, C. Horvath, H.H. Liu. – Text: immediate // J. Refract. Surg. – 1998. – Vol. 14. – No 5. – P. 541–548.
151. Laing R.A. Endothelial mosaic in Fuchs' dystrophy. A qualitative evaluation with the specular microscope / R.A. Laing, H.M. Leibowitz, S.S. Oak, R. Chang [et.al.]. – DOI 10.1001/archophth.1981.03930010082007. – Text: electronic // Arch. Ophthalmol. – 1981. – Vol. 99. – No 1. – P. 80–83.
152. Lam F.C. Hemi-descemet membrane endothelial keratoplasty transplantation: A potential method for increasing the pool of endothelial graft tissue/ F.C. Lam, L. Baydoun, M. Dirisamer, J. Lie, I. Dapena, G.R.J. Melles. – Text: immediate // JAMA Ophthalmol. – 2014. – Vol. 132. – No 12. – P. 1469–1473.
153. Lambrou F.H. Wound dehiscence following cataract surgery / F.H. Lambrou, A. Kozarsky. – Text: immediate // Ophthalmic Surg. – 1987. – Vol. 18. – No 10. – P. 738–740.
154. Lee H.J. Eventual endothelial failure after initial corneal clearing after a detached endothelial graft in Fuchs dystrophy / H.J. Lee, W.M. Munir. – Text: immediate // Cornea. – 2017. – Vol. 36. – P. 241–243.
155. Lee J.R. Intraocular lens implantation in combination with keratoplasty / J.R. Lee, C.H. Dohlman. // Ann. Ophthalmol. – 1977. – Vol. 9. – No 4. – P. 513–518.
156. Lie J.T. Donor tissue preparation for Descemet membrane endothelial keratoplasty / J.T. Lie, R. Birbal, L. Ham. – Text: immediate // Cataract Refract. Surg. – 2008. – Vol. 34. – No 9. – P. 1578–1583.
157. Lie J.T. More efficient use of donor corneal tissue with Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK): Two lamellar keratoplasty procedures with one donor cornea / J.T. Lie, E.A. Groeneveld-van Beek, L. Ham [et al.]. – Text: immediate // Br J Ophthalmol. – 2010. – Vol. 94. – P. 1265–1266.

158. Liu Y.C. Endothelial approach ultrathin corneal grafts prepared by femtosecond laser for descemet stripping endothelial keratoplasty / Y.C. Liu, E.P. Teo, K.B. Adnan, G.H. Yam, G.S. Peh, D.T. Tan, J.S. Mehta. – Text: immediate // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 2014. – Vol. 55. – No 12. – P. 8393–401.
159. Lombardo M. Surface quality of femtosecond dissected posterior human corneal stroma investigated with atomic force microscopy / M. Lombardo, M.P. De Santo, G. Lombardo. – Text: immediate // *Cornea.* – 2012. – Vol. 31. – P. 1369–1375.
160. Magovern M. Inheritance of Fuchs' combined dystrophy / M. Magovern, G.R. Beauchamp, J.W. McTigue [et al.]. – DOI 10.1016/s0161-6420(79)35340-4. – Text: electronic // *Ophthalmology.* – 1979. – Vol. 86. – No 10. – P. 1897–1920.
161. Mamalis N. Changing trends in the indications for penetrating keratoplasty / N. Mamalis, C.W. Anderson, K.R. Kreisler [et al.]. – DOI 10.1001/archophth.1992.01080220071023. – Text: electronic // *Arch. Ophthalmol.* – 1992. – Vol. 110. – No 10. – P. 1409–1411.
162. Matsuda J. Quantification of corneal opacity after refractive corneal surgery using the anterior segment analyzer / J. Matsuda, O. Hieda, S. Kinoshita. – Text: immediate // *Nihon Ganka Gakkai Zasshi.* – 2007. – Vol. 111. – P. 447–453.
163. Maurice D.M. The location of the fluid pump in the cornea / D.M. Maurice. – DOI 10.1113/jphysiol.1972.sp009737. – Text: electronic // *J Physiol.* – 1972. – Vol. 221. – P. 43.
164. McCauley M.B. Descemet membrane automated endothelial keratoplasty. Hybrid technique combining DSAEK stability with DMEK visual results / M.B. McCauley, F.W. Price, M.O. Price. – Text: immediate // *J. Cataract Refract Surg.* – 2009. – Vol. 35. – No 10. – P. 1659–1664.
165. McNeill J.I. Long-term results of single continuous suture adjustment to reduce penetrating keratoplasty astigmatism / J.I. McNeill, V.J. Aaen. – Text: immediate // *Cornea.* – 1999. – Vol. 18. – No 1. – P. 19–24.

166. Mehta J.S. Femtosecond laser creation of donor cornea buttons for Descemet-stripping endothelial keratoplasty / J.S. Mehta, R. Shilbayeh, Y.M. Por. – Text: immediate // *J.Cataract Refract. Surg.* – 2008. – Vol. 34. – No 11. – P. 1970–1975.
167. Mehta J.S. Glide insertion technique for donor cornea lenticule during Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty. / J.S. Mehta, Y.M. Por, R.W. Beuerman, D.T. Tan. – Text: immediate // *J Cataract Refract Surg.* – 2007. – Vol. 33. – No 11. – P. 1846–1850.
168. Melles G.R. 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. – No 6. – P. 618–626.
169. Melles G.R. A technique to excise the descemet's membrane from a recipient cornea (descemetorhexis) / G.R. Melles, R.H. Wijdh, C.P. Nieuwendaal. – DOI: 10.1097/00003226-200404000-00011. – Text: electronic // *Cornea.* – 2004. – Vol. 23. – P. 286–288.
170. Melles G.R. Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) / G.R. Melles, S. Ong, B. Ververs, J. Van der Wees. – Text: immediate // *Cornea.* – 2006. – Vol. 25. – No 8. – P. 987–990.
171. Melles G.R. Posterior lamellar keratoplasty: DLEK to DSEK to DMEK . G.R. Melles. – Text: immediate // *Cornea.* – 2006. – Vol. 25. – No 8. – P. 879–881.
172. Melles G.R. Sutureless posterior lamellar keratoplasty / G.R. Melles, F. Lander, C.P. Nieuwendaal. – Text: immediate // *Cornea.* – 2002. – Vol. 21. – No 3. – P. 325–327.
173. Melles G.R. Techniques for posterior lamellar keratoplasty through a scleral incision / G.R. Melles, N. Kamminga. – Text: immediate // *Ophthalmologie.* – 2003. – Vol. 100. – No 9. – P. 689–695.
174. Meyer R.F. Assessment of success and complications of triple procedure surgery / R.F. Meyer, D.C. Musch. – DOI 10.1016/0002-9394(87)90410-7. – Text: electronic // *Am. J. Ophthalmol.* – 1987. – Vol. 104. – No 3. – P. 233–240.

175. Meyer R.F. Penetrating keratoplasty in pseudophakic bullous keratopathy / R.F. Meyer, A. Sugar. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 1980. – Vol. 90. – No 5. – P. 677–681.
176. Mishima S. Corneal thickness / S. Mishima. – Text: immediate // *Surv. Ophthalmol.* – 1968. – Vol. 13. – P. 57–96.
177. Mohan M. Penetrating keratoplasty for vascularised cornea / M. Mohan, A. Panda, T. Sankar Kumar. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 1990. – Vol. 22. – P. 235–238.
178. Mok J.W. Q455V mutation in COL8A2 is associated with Fuchs' corneal dystrophy in Korean patients / J.W. Mok, H.S. Kim, C.K. Joo. – Text: immediate // *Eye.* – 2009. – Vol. 23. – No 4. – P. 895–903.
179. Moloney G. Descemetorhexis for Fuchs' dystrophy / G. Moloney, U.T. Chan, A. Hamilton [et al.]. – Text: immediate // *Can J Ophthalmol.* – 2015. – Vol. 50. – P. 68–72.
180. Moloney G. Descemetorhexis without grafting for Fuchs endothelial dystrophy-supplementation with topical ripasudil / G. Moloney, C. Petsoglou, M. Ball [et al.]. – Text: immediate // *Cornea.* – 2017. – Vol. 36. – No 6. – P. 642–648.
181. Mootha V.V. Comparative study of descemet stripping automated endothelial keratoplasty donor preparation by Moria CBm microkeratome, horizon microkeratome, and Intralase FS60 / V.V. Mootha, E. Heck, S.M. Verity. – Text: immediate // *Cornea.* – 2011. – Vol. 30. – № 3. – P. 320–324.
182. Morishige N. Effect of preoperative duration of stromal edema in bullous keratopathy on early visual acuity after endothelial keratoplasty / N. Morishige, T. Chikama, N. Yamada [et al.]. – DOI 10.1016/j.jcrs.2011.08.032. – Text: electronic // *J Cataract Refract Surg.* – 2012. – Vol. 38. – No 2. – P. 303–308.
183. Müller T.M. Case Report of Quarter-Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty for Fuchs Endothelial Dystrophy / T.M. Müller, I. Lavy, L. Baydoun, J.T. Lie, I. Dapena, G.R. Melles. – Text: immediate // *Cornea.* – 2017. – Vol. 36. – No 1. – P. 104–107.

184. Muraine M. Novel technique for the preparation of corneal grafts for descemet membrane endothelial keratoplasty / M. Muraine, J. Gueudry, S. Piselli, S. Lefevre. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 156. – No 5. – P. 851–859.
185. Neff K. Comparison of central corneal graft thickness to visual acuity outcomes in endothelial keratoplasty / K. Neff, J. Biber, E. Holland. – DOI 10.1097/ICO.0b013e3181f236c6. – Text: electronic // *Cornea.* – 2011. – Vol. 30. – No 4. – P. 388–391.
186. O'Donnell C. Agreement and repeatability of central thickness measurement in normal corneas using ultrasound pachymetry and the OCULUS Pentacam / C. O'Donnell, C. Maldonado-Codina. – Text: immediate // *Cornea.* – 2005. – Vol. 24. – P. 920–924.
187. Oganessian O.G. Five Keratoplasties From One Donor Cornea / O.G. Oganessian, V.V. Neroev, A.A. Grdikanyan [et al.]. – Text: immediate // *Cornea.* – 2018. – Vol. 37. – No 5. – P. 667–671.
188. Okumura N. Involvement of ZEB1 and Snail1 in excessive production of extracellular matrix in Fuchs endothelial corneal dystrophy / N. Okumura, R. Minamiyama, L. Ty Ho [et al.]. – Text: immediate // *Laboratory Investigation.* – 2015. – Vol. 95. – No 11. – P. 1291–1304.
189. Olsen T. Long-term results of corneal grafting in Fuchs' endothelial dystrophy / T. Olsen, N. Ehlers, E. Favini. – DOI 10.1111/j.1755-3768.1984.tb08424.x. – Text: electronic // *Acta Ophthalmol.* – 1984. – Vol. 62. – No 3. – P. 445–452.
190. Otri A.M. Corneal densitometry as an indicator of corneal health. / A.M. Otri, U. Fares, M.A. Al-Aqaba, H.S. Dua. – Text: immediate // *Ophthalmology.* – 2012. – Vol. 119. – P. 501–508.
191. Parker J. Histopathology of failed Descemet membrane endothelial transfer / J. Parker, R.M. Verdijk, T.M. Müller [et al.] – Text: immediate // *Eye Contact Lens.* 2017 [Epub ahead of print].

192. Paugh J.R. Polymorphic corneal abnormalities / J.R. Paugh, T.G. Quinn. – Text: immediate // J Am Optom Assoc. – 1984. – Vol. 55. – No 5. – P. 347–352.
193. Perry H.D. Expulsive choroidal hemorrhage following suture removal after penetrating keratoplasty / H.D. Perry, E.D. Donnenfeld. – Text: immediate // Am. J. Ophthalmol. – 1988. – Vol. 106. – No 1. – P. 99–100.
194. Pettinelli D.J. Late traumatic corneal wound dehiscence after penetrating keratoplasty / D.J. Pettinelli, C.E. Starr, W.J. Stark. – Text: immediate // Arch. Ophthalmol. – 2005. – Vol. 123. – No 6. – P. 853–856.
195. Phillips P.M. “Ultrathin” DSAEK tissue prepared with a low-pulse energy, high- frequency femtosecond laser / P.M. Phillips, L.J. Phillips, H.A. Saad. – Text: immediate // Cornea. – 2013. – Vol. 32. – No 1. – P. 81–86.
196. Polse K.A. Age differences in corneal hydration control / K.A. Polse, R. Brand, R. Mandell, D. Vastine, D. Demartini, R. Flom. – Text: immediate // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 1989. – Vol. 30. – P. 392.
197. Price F.W. Five year corneal graft survival. A large, singlecenter patient cohort / F.W. Price, W.E. Whitson, K.S. Collins [et al.]. – Text: immediate // Arch. Ophthalmol. – 1993. – Vol. 111. – No 6. – P. 799–805.
198. Price M.O. Descemet's membrane endothelial keratoplasty / M.O. Price, A.W. Giebel, K.M. Fairchild, F.W. Price. – Text: immediate // Ophthalmology. – 2009. – Vol. 116. – No 12. – P. 2361–2368.
199. Price M.O. Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty outcomes compared with penetrating keratoplasty from the cornea donor study / M.O. Price, M. Gorovoy, B.A. Benetz. – Text: immediate // Ophthalmology. – 2010. – Vol. 117. – No 3. – P. 438–444.
200. Price M.O. Descemet's Stripping with Endothelial Keratoplasty. Comparative Outcomes with Microkeratome-Dissected and Manually Dissected Donor Tissue / M.O. Price, F.W. Price. – Text: immediate // Ophthalmology. – 2006. – Vol. 32. – No 3. – P. 411–418.

201. Price M.O. Endothelial keratoplasty technique for aniridic aphakic eyes / M.O. Price, F.W. Price, R. Trespalacios. – Text: immediate // *Cataract Refract. Surg.* – 2007. – Vol. 33. – № 3. – P. 376–379.
202. Rao R. Descemet membrane endothelial keratoplasty after failed Descemet stripping without endothelial keratoplasty / R. Rao, D.S. Borkar, K.A. Colby [et al.]. – Text: immediate // *Cornea.* – 2017. – Vol. 36. – P. 763–766.
203. Riazuddin S.A. Linkage of a mild late-onset phenotype of Fuchs corneal dystrophy to a novel locus at 5q33.1-q35.2 / S.A. Riazuddin, A.O. Eghrari, A. Al-Saif, L. Davey [et al.]. – Text: immediate // *Investigative ophthalmology & visual science.* – 2009. – T. 50. – No. 12. – C. 5667–5671.
204. Riazuddin S.A. Mutations in *AGBL1* cause dominant late-onset Fuchs corneal dystrophy and alter protein-protein interaction with *TCF4* / S.A. Riazuddin, S. Vasanth, N. Katsanis, J.D. Gottsch – Text: immediate // *The American Journal of Human Genetics.* – 2013. – T. 93. – No. 4. – C. 758–764.
205. Riazuddin S.A. Replication of the *TCF4* intronic variant in late-onset Fuchs corneal dystrophy and evidence of independence from the *FCD2* locus / S.A. Riazuddin, E.L. McGlumphy, W.S. Yeo [et al.]. – Text: immediate // *Investigative ophthalmology & visual science.* – 2011. – T. 52. – No. 5. – C. 2825–2829.
206. Riddle H. Management of postkeratoplasty astigmatism / H. Riddle, D. Parker, F. Price – Text: immediate // *Curr. Opin. Ophthalmol.* – 1998. – Vol. 9. – No 4. – P. 15–28.
207. Riley M.V. Regulation of corneal endothelial barrier function by adenosine, cyclic AMP, and protein kinases / M.V. Riley, B.S. Winkle, C.A. Starnes, M.I. Peters, L. Dang – Text: immediate // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1998. – Vol. 39. – P. 2076.
208. Robin J.B. An update of the indications for penetrating keratoplasty 1979-1983 / J.B. Robin, I.U. Gindi, K. Kok – Text: immediate // *Arch. Ophthalmol.* – 1986. – Vol. 104. – No 1. – P. 87–89.
209. Rodríguez-Calvo-De-Mora M. Clinical outcome of 500 consecutive cases undergoing Descemet's membrane endothelial keratoplasty / M. Rodríguez-

- Calvo-De-Mora, R. Quilendrino, L. Ham – Text: immediate // *Ophthalmology*. – 2015. – Vol. 122. – No 3. – P. 464–470.
210. Rosenblum P. Hereditary Fuchs' Dystrophy / P. Rosenblum, W.J. Stark, I.H. Maumenee, L.W. Hirst, A.E. Maumenee – Text: immediate // *Am J Ophthalmol*. – 1980. – Vol. 90. – P. 455–462.
211. Santo R.M. Clinical and histopathologic features of corneal dystrophies in Japan / R.M. Santo, T. Yamaguchi, A. Kanai, S. Okisaka, A. Nakajima – Text: immediate // *Ophthalmology*. – 1995. – Apr; 102(4):557–67.
212. Sarayba M.A. Femtosecond laser keratome creation of partial thickness donor corneal buttons for lamellar keratoplasty / M.A. Sarayba, E. Maguen, J. Salz – Text: immediate // *J. Refract. Surg.* – 2007. – Vol. 23. – P. 58–65.
213. Scorgia V. Pentacam Assessment of Posterior Lamellar Grafts to Explain Hyperopicization after Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty / V. Scorgia, S. Matteoni, G.B. Scorgia, G. Scorgia, M. Busin – Text: immediate // *Ophthalmology*. – 2009. – Vol. 116. – No 9. – P. 1651–1655.
214. Seitz B. Impact of graft diameter on corneal power and the regularity of postkeratoplasty astigmatism before and after suture removal / B. Seitz, A. Langenbucher, M. Kuchle, G.O. Naumann – Text: immediate // *Ophthalmology*. – 2003. – Vol. 110. – No 11. – P. 2162–2167.
215. Seitz B. Nonmechanical posterior lamellar keratoplasty using the femtosecond laser (femto-PLAK) for corneal endothelial decompensation / B. Seitz, A. Langenbucher, C. Hofmann-Rummelt – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 2003. – Vol. 136 – P. 769–772.
216. Serrao S. Optimal parameters to improve the interface quality of the flap bed in femtosecond laser-assisted laser in situ keratomileusis / S. Serrao, L. Buratto, G. Lombardo – Text: immediate // *J. Cataract Refract. Surg.* – 2012. – Vol. 38. – No 8. – P. 1453–1459.
217. Shah R.D. Spontaneous corneal clearing after Descemet's stripping without endothelial replacement / R.D. Shah, J.B. Randleman, H.E. Grossniklaus – Text: immediate // *Ophthalmology*. – 2012. – Vol. 119. – P. 256–260.

218. Shilova N. Refractive Outcomes Following Cataract Combined with Lamellar Keratoplasty: Femtosecond-DSEK Versus Microkeratome-DSAEK / N. Shilova, E. Livny, N. Anisimova, O. Antonova, B. Malyugin B – DOI 10.1007/s10792-020-01619-7 – Text : electronic // *Int. Ophthalmology*. – 2021. – Vol. 41. – No 2. – P. 639–647.
219. Shilova N.F. Comparative analysis of biomechanical parameters of the corneas following Descemet membrane endothelial keratoplasty and contralateral healthy corneas / N.F. Shilova, B.E. Malyugin, N.S. Anisimova, Y. Nahum Y. [et al.]. – Text: immediate // *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. – 2019. – Vol. 257. – No 9. – P. 1925–1929.
220. Sikder S. Femtosecond laser preparation of donor tissue from the endothelial side / S. Sikder, R.W. Snyder – Text: immediate // *Cornea*. – 2006. – Vol. 25. – P. 416–422.
221. Sikder S. Ultra-thin donor tissue preparation for endothelial keratoplasty with a double-pass microkeratome / S. Sikder, R.N. Nordgren, S.R. Neravetla, M. Moshirfar - DOI: 10.1016/j.ajo.2011.01.051 – Text : electronic // *Am. J. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 152. – No 2. – P. 202–208.
222. Singh A. 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. – No 11. – P. 1437–1443.
223. Singh K. Preparing uniform-thickness corneal endothelial grafts from donor tissues using a non-amplified femtosecond laser / K. Singh, N. Haydari, I. Brunette – Text: immediate // *PLoS One*. – 2013 – Vol. 8. – No 12. – P. e83185.
224. Skorodumova L.O. CTG18.1 expansion is the best classifier of late-onset Fuchs' corneal dystrophy among 10 biomarkers in a cohort from the European part of Russia / L.O. Skorodumova, A.V. Belodedova, O.P. Antonova. [et al.]. – Text: immediate // *Investigative Ophthalmology and Visual Sciences*. – 2018. –

- Vol. 59. – P. 4748–4754.
225. Smolin G. Endothelial function. In: *The Cornea: Scientific Foundations and Clinical Practice* / G. Smolin, R.A. Thoft, C.H. Dohlman – Text: immediate // 3rd ed. Lippincott William & Wilkins. – 1994:635–643.
226. Soong K.H. Posterior chamber IOL implantation during keratoplasty for aphakic or pseudophakic corneal edema / K.H. Soong, R.F. Meyer, A. Sugar – Text: immediate // *Cornea*. – 1987. – Vol. 6. – No 4. – P. 306–312.
227. Studeny P. Descemet membrane endothelial keratoplasty with a stromal rim (DMEK-S) / P.Studeny, A. Farkas, M. Vokrojova – Text: immediate // *Br J Ophthalmol*. – 2010. – Vol. 94. – No 7. – P.909–914.
228. Sugar A. Techniques in penetrating keratoplasty: a quarter century of development / A. Sugar, J. Sugar – Text: immediate // *Cornea*. – 2000. – Vol. 19. – No 5. – P. 603–610.
229. Sundin O.H. A common locus for late-onset Fuchs corneal dystrophy maps to 18q21. 2-q21. 32 / O.H. Sundin, K.W. Broman, H.H. Chang. [et al.]. – Text: immediate // *Investigative ophthalmology & visual science*. – 2006. – Vol. 47. – No. 9. – P. 3919–3926.
230. Talamo J.H. Reproducibility of flap thickness with IntraLase FS and Moria LSK-1 and M2 microkeratomes / J.H. Talamo, J. Meltzer, J. Gardner – Text: immediate // *J. Refract. Surg.* – 2006. – Vol. 22. – P. 556–561.
231. Tappin M. A method for true endothelial cell (Tencell) transplantation using a custommade cannula for the treatment of endothelial cell failure / Tappin M. – Text: immediate // *Eye*. – 2007. – Vol. 21. – No 6. – P. 775–779.
232. Taylor D.M. Pseudophakic bullous keratopathy / D.M. Taylor, B.F. Atlas, K.G. Romanchuk, A.L. Stern – Text: immediate // *Ophthalmology*. – 1983. – Vol. 90. – No 1. – P . 19–24.
233. Terraz C. δ EF1 binds to a far upstream sequence of the mouse pro- α 1 (I) collagen gene and represses its expression in osteoblasts / C. Terraz, D. Toman, M. Delauche, P. Ronco, J Rossert – Text: immediate // *Journal of Biological Chemistry*. – 2001. – T. 276. – No. 40. – P. 37011–37019.

234. Terry M.A. Deep lamellar endothelial keratoplasty. A new surgical cure for bullous keratopathy following cataract surgery / M.A. Terry – Text: immediate // *Cataract Refract. Surg. Today.* – 2004. – No 2 – P. 20–24.
235. Terry M.A. Endothelial replacement without surface corneal incisions or sutures: topography of the deep lamellar endothelial keratoplasty procedure / M.A. Terry, P.J. Ousley - DOI 10.1097/00003226-200101000-00002. – Text : electronic // *Cornea.* – 2001. – Vol. 20. – P. 14–18.
236. Terry M.A. Replacing the endothelium without surface corneal incisions or sutures: first US clinical series with the deep lamellar endothelial keratoplasty procedure / M.A. Terry, P.J. Ousley – Text: immediate // *Ophthalmology.* – 2003;110:755–764.
237. Terry M.A. Standardized DMEK Technique: Reducing Complications Using Prestripped Tissue, Novel Glass Injector, and Sulfur Hexafluoride (SF 6) Gas./ M.A. Terry, M.D. Straiko, P.B. Veldman – Text: immediate // *Standardized Cornea.* – 2015. – Vol. 34. – No 8. – P. 845–852.
238. Thompson R.W. Long-term graft survival after penetrating keratoplasty / R.W. Thompson, M.O. Price, P.J. Bowers, F.W. Price – Text: immediate // *Ophthalmology.* – 2003. – Vol. 110. – No 7. – P. 1396–1402.
239. Tillett C.W. Posterior lamellar keratoplasty / C.W. Tillett – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 1956. – No 3. – P. 530–533.
240. Tong C.M. Where is endothelial keratoplasty going: from Descemet stripping (automated) endothelial keratoplasty to Descemet membrane endothelial keratoplasty to Descemet membrane endothelial transfer? / C.M. Tong, G.R. Melles – Text: immediate // *Can. J. Ophthalmol.* – 2012. Vol. 47. – P. 197–200.
241. Tragakis M.P. The significance of anterior synechiae after corneal transplantation / M.P. Tragakis M, S.I. Brown – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 1972. – Vol. 74. – No 3. – P. 532–533.
242. Trinh L. A new technique of endothelial graft: the femtosecond and excimer lasers- assisted endothelial keratoplasty (FELEK) / L. Trinh, B. Saubaméa, F.

- Auclin – Text: immediate // *Acta Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 91. – No 6 – P. 497–499.
243. Tsatsos M. Comparison of the Endosaver with noninjector techniques in Descemet’s stripping endothelial keratoplasty / M. Tsatsos, I. Athanasiadis, N. Kopsachilis, R. Krishnan, P. Hossain – Text: immediate // *Indian J. Ophthalmol.* 2017. – Vol. 65. – No 11. – P.1133–1137.
244. Vajpayee R.B. Modification in Descemet-stripping automated endothelial keratoplasty: “Hitch suture” technique / R.B. Vajpayee, T. Agarwal, V. Jhanji, N. Sharma – Text: immediate // *Cornea.* – 2006. – Vol. 25. – No 9. – P.1060–1062.
245. Vogt A. Weitere Ergebnisse der Spaltlampenmikroskopie des vorderen Bulbusabschnittes / A. Vogt – Text: immediate // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* – 1921. – Vol. 106. – P. 6–103.
246. Volkov V.V. Posterior layer keratoplasty in the treatment of endothelial and epithelial dystrophy of the cornea / V.V. Volkov – Text: immediate // *Czechoslovak congress of ophthalmology with international participation. Praha.* – 1976. – P. 73–73.
247. Waring G.O. Corneal dystrophies. II. Endothelial dystrophies. / G.O. Waring, M.M. Rodrigues, P.R. Laibson – Text: immediate // *Surv Ophthalmol.* – 1978. – Vol. 23. – No 3. – P. 147–168.
248. Waring G.O. Penetrating keratoplasty for pseudophakic corneal edema with exchange of intraocular lenses / G.O. Waring, R.D. Stulting, D. Street – Text: immediate // *Arch. Ophthalmol.* – 1987. – Vol. 105. – No 1. – P. 58–62.
249. Waring G.O. Posterior collagenous layer of the cornea. Ultrastructural classification of abnormal collagenous tissue posterior to Descemet's membrane in 30 cases / G.O. Waring – Text: immediate // *Arch. Ophthalmol.* – 1982. – Vol. 100. – No 1. – P. 122–134.
250. Waring G.O. Results of penetrating keratoplasty in 123 eyes with pseudophakic or aphakic corneal edema / G.O. Waring, S.N. Welch, H.D. Cavanagh, L.A. Wilson – Text: immediate // *Ophthalmology.* – 1983. – Vol. 90. – No 1. – P.25–33.

251. Watson SL, Abiad G, Coroneo MT. Spontaneous resolution of corneal oedema following Descemet's detachment / S.L. Watson, G. Abiad, M.T. Coroneo – Text: immediate // *Clin Exp Ophthalmol.* – 2006. – Vol. 34. – P. 797–799.
252. Weiss J.S. IC3D classification of corneal dystrophies—edition 2 / J.S. Weiss, H.U. Moller, A.J. Aldave – Text: immediate // *Cornea.* – 2015. – Vol. 34. – No. 2. – P. 117–159.
253. Weiss J.S. The IC3D classification of the corneal dystrophies / J.S. Weiss, H.U. Moller, W. Lisch – Text: immediate // *Cornea.* – 2008 Dec;27 Suppl 2:S1–83.
254. Williams K.A. How successful is corneal transplantation? A report from the Australian corneal graft register / K.A. Williams, S.M. Muehlberg, R.F. Lewis – Text: immediate // *Eye.* – 1995. – Vol. 9. – P. 219–227.
255. Williams K.A. Long-term outcome after corneal transplantation. Visual result and patient perception of success / K.A. Williams, J.K. Ash, P. Pararajasegaram P. [et al.] – Text: immediate // *Ophthalmology.* – 1991. – Vol. 98. – No 5. – P. 651–657.
256. Williams K.A., Muehlberg S.M., Lewis R.F. et al. Long-term outcome in corneal allotransplantation. The Australian corneal graft registry / K.A. Williams, S.M. Muehlberg, R.F. Lewis. [et al.] – Text: immediate // *Transplant. Proc.* – 1997. – Vol. 29. – P. 983.
257. Wilson S.E. Graft failure after penetrating keratoplasty / S.E. Wilson, H.E. Kaufman – Text: immediate // *Surv. Ophthalmol.* – 1990. – Vol. 34. – No 5. – P. 325–356.
258. Woodward M.A. Effect of microkeratome pass on tissue processing for descemet stripping automated endothelial keratoplasty / M.A. Woodward, M.S. Titus, R.M. Shtein – Text: immediate // *Cornea.* – 2014. – Vol. 33. – No 5. – P. 507–509.

259. Yoo S.H. One-year results and anterior segment optical coherence tomography findings of descemet stripping automated endothelial keratoplasty combined with phacoemulsification / S.H. Yoo, G.D. Kymionis, A.A. Deobhakta – Text: immediate // Arch Ophthalmol. – 2008. – No 8. – P.1052–1055.
260. Zafirakis P. Corneal graft detachment without corneal edema after descemet stripping automated endothelial keratoplasty / P. Zafirakis, G.D. Kymionis, M.A. Grentzelos. [et al.] – Text: immediate // Cornea. – 2010. – Vol. 29. – P. 456–458.
261. Zhang C. Interface quality of different corneal lamellar-cut depths for femtosecond laser-assisted lamellar anterior keratoplasty / C. Zhang, M. Bald, M. Tang – Text: immediate // J. Cataract Refract. Surg. – 2015. – Vol. 41. - No 4 – P. 827-835.
262. Ziaei M. Spontaneous corneal clearance despite graft removal in Descemet stripping endothelial keratoplasty in Fuchs endothelial dystrophy / M. Ziaei, A. Barsam, A. Mearza – Text: immediate // Cornea. – 2013. – Vol. 32. – P. 164–166.
263. Ziebarth N.M. Quality of corneal lamellar cuts quantified using atomic force microscopy / N.M. Ziebarth, J. Dias, V. Hürmeric – Text: immediate // J. Cataract Refract. Surg. – 2013. – Vol. 39. - No 5. – P. 110–117.