

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

ТКАЧЕНКО ИВАН СЕРГЕЕВИЧ

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ТЕХНОЛОГИИ ЗАЩИТЫ ЭНДОТЕЛИЯ РОГОВИЧНОГО
ТРАНСПЛАНТАТА В ХОДЕ ПРОВЕДЕНИЯ ЗАДНЕЙ ПОСЛОЙНОЙ
ФЕМТОКЕРАТОПЛАСТИКИ**

3.1.5 – Офтальмология

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН
Малюгин Борис Эдуардович

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Строение и функции заднего эпителия (эндотелия) роговицы.	12
1.2. Классификация эндотелиальных дистрофий роговицы	16
1.3. Эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса.	19
1.4. Буллезная кератопатия	20
1.5. Дисфункция эндотелия сквозного роговичного трансплантата	21
1.6. Методы лечения эндотелиальных дистрофий роговицы и буллезной кератопатии	23
1.6.1. Консервативное лечение	23
1.6.2. Сквозная кератопластика	25
1.6.3. Эндотелиальная кератопластика	28
1.6.4. Задняя автоматизированная послойная кератопластика.....	31
1.6.5. Трансплантация Десцеметовой мембраны с эндотелием	34
1.6.6. Характеристика viscoelasticов, используемых в ходе задней послойной кератопластики.....	42
1.6.7. Задняя послойная фемтокератопластика	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	53
2.1. Дизайн исследования.....	54
2.2. Материалы и методы экспериментального исследования	58
2.2.1. Отбор раствора viscoelasticа для защиты эндотелия при заготовке заднего послойного трансплантата ФСЛ.....	58
2.2.2. Изучение жизнеспособности и морфологических особенностей ультратонкого заднего послойного трансплантата, заготовленного ФСЛ по двум технологиям.....	58
2.2.3. Изучение жизнеспособности эндотелиальных клеток после прохождения ультратонкого заднего послойного трансплантата через устройства для имплантации	63

2.2.4. Экспериментальное моделирование технологии имплантации ультратонкого заднего послойного трансплантата.....	65
2.3. Материалы и методы клинической части исследования.....	65
2.3.1. Характеристика пациентов основной группы 1 (с вископротекцией эндотелия).....	67
2.3.2. Характеристика пациентов контрольной группы 2 без вископротекции эндотелия роговичного трансплантата	68
2.3.1. Клинико-функциональные методы обследования.....	69
2.4. Статистическая обработка данных.....	71
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ..	72
3.1. Результаты отбора раствора вискоэластика для этапа заготовки заднего послойного трансплантата с помощью ФСЛ	73
3.2. Результаты изучения жизнеспособности и морфологических особенностей ультратонкого заднего послойного трансплантата, заготовленного ФСЛ по двум технологиям.....	75
3.2.1. Результаты оценки аппланации по данным ОКТ ФСЛ.....	75
3.2.2. Результаты оценки относительной потери плотности ЭК после заготовки заднего послойного трансплантата ФСЛ.....	77
3.2.3. Результаты сравнительного анализа оценки жизнеспособности клеток трансплантата в исследуемых группах	78
3.2.4. Результаты сканирующей электронной микроскопии образцов задних послойных трансплантатов, выкроенных по методике ФЛ-ЗПК.....	86
3.3. Результаты разработки экспериментального образца устройства для имплантации заднего послойного трансплантата и изучения жизнеспособности ЭК после использования предложенного инжектора-глайда	88
3.3.1. Описание нового модифицированного инжектора-глайда	88
3.3.2. Результаты изучения относительной потери ПЭК заднего послойного трансплантата после прохождения через различные устройства для имплантации	90

3.3.3. Результаты изучения жизнеспособности ЭК заднего послойного трансплантата после прохождения через различные устройства для имплантации	92
3.4. Результаты экспериментального моделирования технологии имплантации ультратонкого заднего послойного трансплантата в переднюю камеру донорского глаза с помощью инжектора-глайда собственной разработки.....	94
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	97
4.1. Характеристика донорского материала	97
4.2. Клинико-функциональные показатели пациентов в предоперационном периоде.....	98
4.3. Клинико-функциональные результаты пациентов в послеоперационном периоде.....	100
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	110
ВЫВОДЫ.....	119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	121
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	123
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	125

ВВЕДЕНИЕ

За последние годы селективная кератопластика, в частности задняя послойная (ЗПК), вытеснила сквозную при лечении различных эндотелиальных дистрофий роговицы и псевдофакичной буллезной кератопатии (Lee W.B., 2009; Dunker S.L., 2021; Dubord P.J., 2013). В 2021 году согласно статистике Американской Ассоциации глазных банков, общее количество заготовок донорских роговичных трансплантатов составляло 79 641 ед., из них на долю трансплантатов для задних послойных кератопластик приходилось 35 532 ед. (2021 Eye banking Statistical report of Eye Bank Association of America). В том же году были приведены аналогичные данные Европейского регистра трансплантации роговицы и клеток, из которых следует, что преобладающим методом трансплантации роговицы в Европе является ЗПК (Dunker S. L., 2021).

На сегодняшний день глобальное распространение получили две методики выкраивания трансплантата для ЗПК: механический с использованием микрокератома – задняя автоматизированная послойная кератопластика (ЗАПК) (Dapena I. et al., 2009; Jun B. et al., 2009) и при помощи фемтосекундного лазера (ФЛ-ЗПК), производимая со стороны эндотелиальной поверхности роговицы (Gorovoy M.S., 2021).

Исходная плотность эндотелиальных клеток (ПЭК) трансплантата и динамика потери эндотелиальных клеток (ЭК) в ходе выкраивания и имплантации трансплантата, а также в послеоперационном периоде являются существенно важными с позиций обеспечения долгосрочной прозрачности пересаженной ткани. Рядом отечественных и зарубежных ученых проведен сравнительный анализ динамики потери ЭК в послеоперационном периоде после проведения ЗАПК и ФЛ-ЗПК. Из него следует, что потеря ЭК больше при формировании трансплантата с помощью ФСЛ, чем при использовании микрокератома (Малюгин Б.Э., 2019; Погорелова С.С. с соавт., 2016; Яковлева С.С., 2017; Hjortdal J., 2012), однако при технологии ЗАПК клинико-функциональный результат хуже из-за большой остаточной толщины трансплантата, непредсказуемости выкраивания ввиду риска перфорации и выбраковки ценного донорского материала (Woodward M.A. et al.,

2014). В этой связи активное распространение получили работы по сравнению различных отечественных и иностранных фемтолазерных систем и влияние величин энергии и частоты лазера на качество и потерю ЭК трансплантата (Паштаев А.Н. 2021; Кузьмичев К.Н., 2022; Катмаков К.И., 2020; Нероев В.В. 2013).

Среди возможных причин утраты клеток эндотелия при инвертной технике выкраивания (со стороны эндотелия) является факт непосредственного контакта интерфейса лазера с эндотелиальными клетками (аппланация) (Liu, Y.C., 2014), прямое воздействие лазерного излучения - при повышении энергии клетки страдают в большей степени (Sikder S., Snyder R.W., 2006), толщина трансплантата (при меньшей толщине травма клеток больше) (Малюгин Б.Э., 2013) и работа шпателем в интерфейсе с целью рассечения перемычек и тканевых мостиков, оставшихся после фемтодиссекции (Mehta, J. S., 2008). Также имеет место механическое повреждение клеток в процессе имплантации трансплантата в переднюю камеру через наиболее популярные глайды Бузина (Busin Glide spatula, Moria, France) или Тана (Tan EndoGlide, Coronet, UK) (Busin M., 2008; Bartlomiej J.K., 2013).

На сегодняшний день не предложено достаточно эффективных методов защиты эндотелия роговичного трансплантата в ходе фемтолазерной кератопластики, а также отсутствуют отечественные инжекторы для имплантации трансплантата. Последний имеет потенциал к дальнейшему техническому совершенствованию с учетом имеющихся недостатков наиболее часто применяемых на практике инжекторов.

В связи с вышесказанным представляется актуальным вопрос совершенствования этапов ФЛ-ЗПК, направленных на уменьшение потери ЭК трансплантата, улучшение клинико-функциональных результатов и долгосрочной прозрачности пересаженной роговичной ткани.

Цель исследования

Разработать, экспериментально и клинически обосновать технологию защиты эндотелия роговичного трансплантата в ходе задней послойной кератопластики с использованием фемтосекундного лазера.

Задачи исследования

1. В эксперименте *ex vivo* разработать технологию защиты эндотелия роговицы на этапе выкраивания заднего послойного трансплантата с помощью фемтосекундного лазера.

2. В эксперименте *ex vivo* на основании изучения жизнеспособности эндотелиальных клеток и кератоцитов, а также характера стромальной поверхности трансплантатов, с использованием витальных красителей и метода сканирующей электронной микроскопии, доказать безопасность и эффективность предложенной технологии защиты эндотелия роговицы от негативного воздействия фемтосекундного лазера.

3. Разработать инжектор-глайд, способствующий защите эндотелия заднего послойного трансплантата роговицы на этапе его имплантации в переднюю камеру глаза.

4. В эксперименте *ex vivo* доказать безопасность и эффективность данной конструкции путем моделирования прохождения заднего послойного трансплантата через предложенный инжектор-глайд на основании изучения жизнеспособности эндотелиальных клеток с помощью витальных красителей.

5. На основании анализа клинико-функциональных результатов оперативного лечения пациентов с эндотелиальной дисфункцией изучить безопасность и эффективность предложенной технологии защиты эндотелия роговичного трансплантата для задней послойной кератопластики с применением фемтосекундного лазера.

Научная новизна

1. Впервые в эксперименте *ex vivo* с помощью витальных красителей и метода сканирующей электронной микроскопии показано, что применение

защитного слоя 1% раствора гидроксипропилметилцеллюлозы на этапе аппланации в ходе заготовке заднего послойного трансплантата с помощью фемтосекундного лазера, обеспечивает эффективную защиту эндотелиальных клеток и не влияет на качество фемтолазерного разреза.

2. Впервые в эксперименте *ex vivo* с применением витальных красителей изучено повреждающее влияние лазерного излучения на кератоциты стромы при заготовке заднего послойного трансплантата и показано протективное воздействие вискоэластика (1% раствора ГПМЦ) на кератоциты в сравнительном аспекте со стандартной технологией и установлена отрицательная корреляционная связь между количеством мертвых кератоцитов и различными глубинами фемтолазерного разреза.

3. Впервые разработан и изготовлен экспериментальный образец инжектора-глайда для имплантации заднего послойного трансплантата роговицы, в эксперименте *ex vivo* при моделировании прохождения заднего послойного трансплантата через инжектор-глайд собственной разработки и глайд Бузина изучена жизнеспособность эндотелиальных клеток с помощью витальных красителей.

4. Впервые на большом клиническом материале изучены закономерности течения операции, послеоперационного периода и отслежены отдаленные результаты задней послойной кератопластики с фемтосекундным сопровождением выполненных по стандартной и усовершенствованной технологиям.

Практическая значимость

1. Разработанная технология защиты эндотелия роговицы на основе создания защитного слоя 1% раствора гидроксипропилметилцеллюлозы на поверхности эндотелиального слоя при заготовке заднего послойного трансплантата с помощью фемтосекундного лазера эффективно защищает эндотелиальные клетки от повреждения при их контакте и не влияет на формирование фемто-разреза, позволяя получить равномерный по толщине и форме ультратонкий трансплантат без риска его перфорации и без снижения

качества стромальной поверхности и обеспечивает высокие клинико-функциональные результаты оперативного лечения пациентов с эндотелиальной дисфункцией.

2. Разработанный инжектор-глайд для имплантации заднего послойного трансплантата обеспечивает стабилизацию передней камеры путем герметичного соединения с операционной раной, равномерное складывание и прохождение трансплантата в переднюю камеру и может быть рекомендован к применению в клинической практике.

Основное положение, выносимое на защиту

Разработанная и экспериментально-клинически обоснованная технология защиты эндотелия заднего послойного трансплантата роговицы на этапе его аппланации и контакта с интерфейсом фемтосекундного лазера, заключающаяся в создании защитного слоя 1% раствора гидроксипропилметилцеллюлозы на поверхности трансплантата, а также использование на этапе имплантации разработанной модели инжектора-глайда, обеспечивающего стабилизацию и равномерное введение трансплантата в переднюю камеру, позволяют снизить повреждение эндотелия на этапах заготовки и имплантации заднего послойного трансплантата и обеспечивают долгосрочную клинико-функциональную эффективность лечения пациентов с первичными и вторичными эндотелиальными дистрофиями роговицы.

Внедрение в практику

Результаты исследований и разработанная технология 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 в Институте непрерывного профессионального образования ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Степень достоверности результатов проведенных исследований определяется достаточным количеством наблюдений, использованием адекватных методов исследования и подтверждена в процессе статистического анализа материала. Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Statistica 10 («StatSoft», США) и Microsoft Office Excel 2016 («Microsoft», США). Характер распределения данных оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, строго аргументированы и логически вытекают из результатов исследования.

Результаты работы доложены на: конференции молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии» в рамках XII съезда общества офтальмологов России (Москва, 2020 г.); республиканской научно-практической конференции «Новые технологии в офтальмологии» (Казань, 2021 г.); онлайн конференции «Лига молодых офтальмологов» (Уфа, 2021 г.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Федоровские чтения» (Москва, 2021, 2022 гг.); 21-м, 22-м и 23-м Всероссийских научно-практических конгрессах с международным участием «Современные технологии катарактальной, рефракционной и роговичной хирургии» (Москва, 2021, 2022, 2023 гг.); 26-м Конгрессе европейского общества катарактальных и рефракционных хирургов (ESCRS Winter Meeting) (Португалия, 2022 г.); I-м Дальневосточном офтальмологическом саммите (Владивосток, 2022 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 2 в рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей Аттестационной Комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, в том числе 1 статья в журнале, входящем в международную базу данных «Scopus», получены 2 патента Российской Федерации на изобретение: № 2758028 от 25.10.2021, № 2803860 от 21.09.2023.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Личный вклад автора состоит в ведении пациентов, а именно проведении до- и послеоперационной диагностики, ассистировании и непосредственном участии на операциях. Соискателем самостоятельно были проведены экспериментальные исследования, выкраивание роговичных трансплантатов и окраска гистологических препаратов. Автором освоены методики, применяемые для оценки результатов, выполнены описание и анализ результатов, полученных в ходе исследования, сформулированы выводы, практические рекомендации и основные положения, выносимые на защиту.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 160 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной характеристике материалов и методов исследования, двух глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и использованной литературы. Работа иллюстрирована 33 рисунками и 23 таблицами. Список использованной литературы содержит 310 источников, из них – 63 отечественных и 247 зарубежных.

Работа выполнена в ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации под руководством член-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, заместителя генерального директора по научной работе ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, профессора Б.Э. Малюгина.

Экспериментальная часть исследования выполнена на базе Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, руководитель – доктор медицинских наук, профессор С.А. Борзенко.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Строение и функции заднего эпителия (эндотелия) роговицы.

Роговица – передняя прозрачная часть наружной фиброзной оболочки глазного яблока. На пути проникновения света внутрь глаза это первая и наиболее сильная по оптическим свойствам биологическая линза, выполняющая ряд важнейших функций: светопроведения и светопреломления, которые обеспечиваются благодаря сферичности роговицы; опорную (формообразующую) и защитную, которые определяются ее механической прочностью и ответной физиологической реакцией на внешнее воздействие [9]; обеспечение высокой тактильной и болевой чувствительности, благодаря обильному субэпителиальному нервному сплетению [1, 58]; реэпителизация клеток за счет лимба и способности лимбальных эпителиальных стволовых клеток к самообновлению [91, 93, 94, 105].

В течение продолжительного времени концепция о строении роговицы основывалась на её пятислойной структуре, состоящей из эпителия, Боуменовой мембраны (БМ), стромы, Десцеметовой мембраны (ДМ) и эндотелия (заднего эпителия).

В 2013 году доктором Н. Дуа и соавт. был описан шестой или преддесцеметовый слой, находящийся между стромой и ДМ роговицы, названный слоем Дуа. По данным электронной микроскопии он имеет толщину в среднем $10,15 \pm 3,6$ мкм и состоит из 5–8 тонких пластин плотно упакованных коллагеновых пучков, упорядоченных в продольном, поперечном и косом направлениях. Эти пучки состоят в основном из коллагена I типа. При помощи иммуногистохимического (ИГХ) анализа в слое Дуа было выявлено отсутствие кератоцитов, что отличает его от вышележащей стромы, также путем пневмодиссекции выявлено, что данный бесклеточный слой обладает высокой прочностью и может выдерживать давление до 150-200 кПа [122].

Эндотелий роговицы представляет собой внутренний монослой высокодифференцированных гексагональных по форме эндотелиоцитов или эндотелиальных клеток (ЭК) плоского однослойного эпителия, развивающегося из нейрального гребня на этапе эмбриогенеза [227, 291, 250]. ЭК имеют диаметр 20

мкм, высоту 5-6 мкм [227, 250, 286, 259], среднее количество клеток у здорового человека составляет 300-350 тысяч [62]. ЭК плотно располагаются на ДМ, являющейся одновременно базальной мембраной эндотелия [95], посредством полудесмосом и запирающих пластинок, которые находятся на апикальной поверхности клеток, что способствует закрытию межклеточного пространства. Кроме того, ЭК имеют цитоплазматические выросты, которые вдавливаются в тела соседних клеток. Тем не менее, между плотно прилегающими клетками имеются щелевидные пространства, ширина которых составляет от 4 до 20 нм, что позволяет жидкости и малым молекулам свободно проникать путем диффузии в строму роговицы. Такое строение клеток и межклеточных контактов обеспечивает барьерную функцию [97, 162, 17]. ДМ имеет толщину около 4-6 мкм, к 40 годам ее толщина увеличивается и достигает в среднем 15 мкм. Анатомически ДМ состоит из двух пластин: передней и задней. Передняя пластина имеет «полосчатый» внешний вид, толщину около 2-4 мкм и синтезируется в период эмбрионального развития. Стоит также отметить, что связь ЭК между ДМ и прилежащей стромой с возрастом ослабевает, что способствует более легкому отделению ДМ и обуславливает предпочтение использования донорского материала у лиц старшей возрастной группы при операциях по трансплантации ДМ [169].

Считается, что плотность эндотелиальных клеток (ПЭК) снижается на протяжении всей жизни. При рождении ПЭК составляет от 3 500 до 5 000 кл/мм², затем снижение клеток происходит за счет увеличения площади роговицы и уменьшения количества ЭК. В среднем до 14 лет потеря клеток составляет 0,6% в год, далее до 2,9 %. В возрасте 50 лет средний показатель ПЭК составляет от 1400 до 3000 кл/мм² [86, 224, 260].

До недавнего времени считалось, что ЭК не способны к делению. В физиологических условиях эндотелиоциты человека находятся в нерепликативном состоянии, так как они блокируются в G1-фазе клеточного цикла, данный факт подтвердили в своем исследовании Joусе N. и соавт. в 1996 году [172]. В дальнейшем исследовании тех же авторов была прослежена взаимосвязь между контакт-зависимым ингибированием, которое играет первостепенную роль в

блокировании жизненного клеточного цикла, и трансформирующим фактором роста- $\beta 2$, который был обнаружен в водянистой влаге передней камеры глаза [173]. Было выявлено, что их взаимодействие поддерживает эндотелиальный слой роговицы в непролиферативном состоянии, а также доказано, что белок p27kip предотвращает переход эндотелиоцитов в S-фазу митоза, который является ингибитором циклин-зависимой киназы и активируется сильным контактным торможением [196].

Несмотря на вышперечисленное, известно, что активизация деления заднего эпителия роговицы *in vitro* возможна. А также, что эндотелиоциты человека потенциально способны и к митозу *in vivo*. Это подтверждается результатами ряда исследований, проведенных у больных с разными патологическими состояниями, при которых снимаются блокирующие кариокinez механизмы, вследствие изменения микроокружения клеток. Так Н. Kaufman и соавт., в 1966 г. впервые наблюдали процесс митоза в эндотелии неизменной роговицы донора, который умер от злокачественной опухоли [177].

Olsen E. с соавторами (1984) установили, что опухоли различной локализации усиливают пролиферативные способности эндотелиоцитов роговицы человека. У таких больных наблюдалась значительно большая ПЭК, чем у здоровых лиц [230].

В отечественных исследованиях, выполненных в МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова в 1993 году на плоскостных препаратах роговичного эндотелия у больных сахарным диабетом средней и высокой степени тяжести сканирующим электронным микроскопом (СЭМ), были выявлены различные фазы деления [55]. Однако, вопрос, почему происходит активация митоза клеток эндотелиоцитов роговицы у больных сахарным диабетом, до настоящего времени остаётся дискуссионным.

В экспериментальной работе проведенной Mimura T. (2006) было установлено, что в центральной 6,5 мм зоне роговицы наблюдается менее выраженный пролиферативный потенциал эндотелия, чем на периферии [216].

А по данным последнего исследования, представленного в 2012 году, стало известно, что ЭК, расположенные по периферии роговицы у лиц с эндотелиальной дистрофией роговицы (ЭДР), обладают высокой способностью к митотической и пролиферативной активности, что объясняется сохранением прозрачности периферической части роговицы у ряда пациентов с заболеваниями эндотелия [200].

Стоит отметить, что одной из основных функций эндотелия является насосная функция, заключающаяся в поддержании полупроницаемого барьера между роговицей и влагой передней камеры, а также транспорт электролитов и различных активных молекул [126]. Изучено, что ЭК роговой оболочки находятся на втором по величине энергетическом уровне обмена после фоторецепторов сетчатки, так как они содержат большое количество митохондрий на мембранах которых находятся $1,5 \times 10^6$ Na^+/K^+ АТФ-азных метаболических помп, обеспечивающих насосную функцию эндотелиального слоя роговицы [161, 125, 106, 53]. Благодаря этим функциям формируется оптимальная степень гидратации стромальной ткани (которая составляет 75–80%), и поддерживается абсолютная прозрачность роговицы [237].

В роговице также существует дополнительный путь транспорта жидкости, проходящий через транспортные каналы, которые имеют название «водные каналы» или аквапорины (AQP). Они являются протеинами, которые встроены в плазматическую мембрану клеток и, благодаря своему небольшому размеру, обеспечивают высокую селективность фильтрации молекул воды по осмотическому градиенту. AQP1, AQP2, AQP4, AQP5, AQP8 – отвечают за трансмембранное перемещение молекул воды, а «водные каналы» – AQP3, AQP7, AQP9 обеспечивают транспорт глицерола и других небольших молекул, в связи с чем они получили название акваглицеропорины. Аквапорины 1-го типа были обнаружены в эпителии, кератоцитах и эндотелии роговицы. Аквапорины 3-го и 5-го типов находятся в мембранах эпителиальных клеток роговицы [290, 51].

Повреждение ЭК или утрата ими барьерной функции ведет к образованию компенсаторных механизмов в ответ на большую нагрузку для каждой ЭК, что

осуществляется благодаря увеличению числа помп на мембранах клеток. Места дефектов, возникшие вследствие локальной утраты клеток, замещаются смыканием увеличившихся в размерах (полимегатизм) соседних эндотелиоцитов, что в свою очередь приводит к изменению формы оставшихся клеток (полиморфизм). ПЭК на уровне от 500 кл/мм² и ниже считается критической. Ниже этих значений развивается декомпенсация роговицы в виде её отёка [143, 281, 267].

Из всего вышеперечисленного следует, что особенности строения клеток эндотелия роговицы обеспечивают важнейшую роль в поддержании нормального гомеостаза и процессов динамического равновесия обмена жидкости между влагой передней камеры и роговицей, а также обеспечивают прозрачность роговицы.

1.2. Классификация эндотелиальных дистрофий роговицы

ЭД является основным патологическим звеном в развитии хронических и медленно прогрессирующих заболеваний роговицы [9, 26]. Этиология развития ЭД связана с врожденными (первичными или наследственно-обусловленными) и приобретенными (вторичными, посттравматическими, послеоперационными и пост-воспалительными) заболеваниями роговицы.

В отечественной литературе чаще используется термин эндотелиально-эпителиальная дистрофия (ЭЭД) роговицы. Однако, на современном этапе этот термин сменился на «эндотелиальная дистрофия роговицы (ЭДР)», который подчеркивает врожденную природу заболевания и употребляется чаще в отношении первичных эндотелиальных дистрофий таких, например, как дистрофия Фукса. Термин «псевдофакичная или афакичная буллезная кератопатия» (БК), применяется для описания вторичных заболеваний эндотелия.

Одна из наиболее часто используемых в практике классификаций эндотелиальных дистрофий роговицы предложена в 1978 году Волковым В.В. и Дроновым М.М. [16]. Она применима как к первичной ДФ, так и БК. Данная классификация основана на изменениях роговицы по глубине расположения повреждений и включает в себя пять стадий:

I стадия – эндотелиальная, характеризуется морфологическими изменениями ЭК, возможен локальный отек и единичные локально расположенные складки ДМ;

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

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 [65, 293]:

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. Характеризуется уменьшением болевого синдрома и буллезности.

Зарубежные авторы, изучающие ЭДРФ, чаще используют классификацию, предложенную Krachmer J. с соавторами в 1978 году [187]. Она основывается на обнаружении и подсчете количества гутт, располагающихся на задней поверхности роговицы, и включает 6 градаций:

- 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.

В связи с активным использованием конфокальной микроскопии в изучении заболеваний эндотелия роговицы сотрудниками Уфимского НИИ глазных болезней Бикбовым М.М. и соавт. (2014) предложена классификация, основанная на морфологическом анализе данных конфокальной микроскопии роговицы пациентов с БК, в результате исследования были выделены 3 стадии течения болезни [3]. При этом особое внимание авторы уделили оценке формы, размера и плотности клеток эпителия, состоянию БМ и ДМ, кератоцитов, нервных волокон, экстрацеллюлярного матрикса стромы, субэпителиального нервного сплетения и эндотелия.

Согласно последней зарубежной классификации роговичных дистрофий, предложенной в 2015 году (International Committee for Classification of Corneal Dystrophies – IC3D), к группе первичных относятся [299]:

1. Врождённая наследственная эндотелиальная дистрофия эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса (ЭДРФ) (FECD — Fuch's Endothelial Corneal Dystrophy);
2. Врождённая наследственная эндотелиальная дистрофия (CHED — Congenital Hereditary Endothelial Dystrophy);
3. Эндотелиальная дистрофия, связанная с X-хромосомой (XECD — X-linked Endothelial Corneal Dystrophy);

4. Задняя полиморфная дистрофия (PPCD — Posterior Polymorphous Corneal Dystrophy).

К вторичной буллезной кератопатии роговицы относят псевдофакичную или (афакичную) БК [52].

1.3. Эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса.

ЭДРФ является наиболее часто встречаемой генетически обусловленной дистрофией заднего эпителия роговицы [127, 246]. По данным ряда исследований ДФ встречается в среднем у 4,5% пациентов старше 50 лет [66, 187]. Соотношение по полу составляет 3:1 в пользу женщин [113,162]. Этиопатогенез развития данной патологии до конца является не изученным, однако известно, что ДФ является медленно прогрессирующим, двухсторонним дегенеративным заболеванием эндотелия роговицы с аутосомно-доминантным типом наследования, имеющим 100% пенетрантность с экспрессией и мутацией в различных генах таких как: COL8A2, SLC4A11, ZEB1, AGBL1 [299]. При этом выделяют две формы развития болезни: раннюю ДФ, проявляющуюся в возрасте 30 лет, которая характеризуется быстрым прогрессированием; и позднюю, медленно прогрессирующую ДФ, манифестация которой приходится на возраст 50 лет и более [113, 147, 162].

Впервые ЭДРФ была описана Е. Fuchs в 1902 году и изначально имела название «эпителиальная дистрофия роговицы», однако дальнейшие исследования выявили, что эпителий вовлекается в процесс вторично, вследствие декомпенсации эндотелиального слоя, в связи с чем данный термин потерял свою актуальность [65]. Позднее в 1930 году Vogt А. предложил термин «cornea guttata», характеризующий начальные клинические проявления заболевания, выявляемые при биомикроскопии, а именно образование так называемых «гутт» или «каплевидных наростов» (cornea guttata), имеющих округлую, или грибовидную форму и придающих роговице вид «запотелого стекла» или «булыжной мостовой». Стоит отметить, что данный признак является обязательным диагностическим критерием первичной ДФ [291, 144]. Наличие гутт напрямую коррелирует с потерей и дисфункцией ЭК и последующим развитием отека роговицы [128]. Гутты

имеют тенденцию появляться сначала в центральной области роговицы, а затем в ходе прогрессирования ЭД вовлекаются средняя и крайняя периферия, также гутты начинают сливаться между собой [65]. Помимо вовлеченности эндотелия в развитие ДФ, заболевание тесно связано с утолщением ДМ, в которой происходит формирование вместо двух физиологических слоев (переднего полосатого и гладкого), трех новых: задняя полосатая зона, фибриллярный коллагенозный и фиброклеточный [166, 294, 141, 189].

Патогенетически ДФ связана с отложением аномального экстрацеллюлярного матрикса клеток, развитием оксидативного стресса и, как следствие, повышенного апоптоза клеток [119]. Под влиянием генетических факторов ЭК приобретают морфологию и функции фибробластов, начинают вырабатывать коллагеновые фибриллы и вещество, аналогичное базальной мембране, приводя к утолщению и образованию трех дополнительных слоев ДМ.

В ряде случаев гиалиновые отложения округлой формы могут располагаться со стороны эндотелия по периферии роговицы и получили название тельца Хассала-Хенле (Hassal-Henle bodies/warst) [166, 185, 236]. Эти образования следует отличать от гутт, характерных для ЭДРФ.

Основные жалобы пациентов с ДФ связаны с ощущением тумана, проявляющегося преимущественно в утренние часы, что связано с колебаниями внутриглазного давления и накоплением жидкости в строме роговицы. Степень снижения зрения зависит от клинической формы, стадии и скорости прогрессирования потери ЭК. При возникновении стойкого отека роговицы острота зрения резко снижается. При этом пациентов нередко беспокоят болезненность, светобоязнь и слезотечение.

1.4. Буллезная кератопатия

Буллезная кератопатия (БК) является вторичным заболеванием роговицы. К наиболее частым причинам, способствующим развитию БК относят механическую травму ЭК роговицы во время проведения интраокулярных хирургических вмешательств, чаще всего после факоэмульсификации катаракты (ФЭК) с

имплантацией интраокулярной линзы (ИОЛ). Проведение данной операции может способствовать развитию псевдофакичной буллезной кератопатии (ПБК). Еще одной из вероятных причин развития БК является поздняя, медленно прогрессирующая форма ДФ [80], травмы и проникающие ранения глазного яблока. Неспецифическое воспаление, такое как послеоперационный или посттравматический иридоциклит, а также увеит, вызванный другими причинами, могут обуславливать нарушение функции эндотелия [11, 176]. К развитию БК и хроническому отеку роговицы часто приводят герпетический дисковидный кератит и реакция гистонесовместимости после кератопластики, в особенности сквозной (СКП). В этих случаях ЭК являются непосредственными мишенями аутоиммунного воспалительного процесса.

Клинически БК сопровождается развитием стойкого хронического отека – при этом на начальном этапе в большей степени присутствует отек стромы, к которому впоследствии присоединяется отек эпителия с образованием его отслоек – булл. Буллез эпителия представляет собой скопления жидкости в подэпителиальном слое с образованием микрокист, самопроизвольное вскрытие которых вызывает значительный болевой эффект у пациентов [221]. На месте лопнувшей буллы образуется стойкий эрозивный дефект, сопровождающийся корнеальным синдромом. Дефект может служить входными воротами для инфекции.

1.5. Дисфункция эндотелия сквозного роговичного трансплантата

Дисфункция эндотелия роговичного трансплантата является довольно частым следствием реакции отторжения пересаженной ткани и приводит к возникновению БК. По данным ряда авторов, СКП демонстрирует худшую долгосрочную выживаемость трансплантата (порядка 21-70%) [300, 282, 298, 68, 72, 83, 234]. Исследование М. Ang с соавторами (2014) показало, что на глазах с БК после неудачной СКП, эндотелиальная кератопластика обеспечивала высокую выживаемость трансплантата в сроки до 5 лет [70].

Низкие клинико-функциональные результаты и риск развития эндотелиальной декомпенсации сквозного трансплантата вследствие агрессивного иммунологического ответа препятствуют широкому распространению повторной СКП. При изучении динамики снижения ПЭК роговицы после СКП с применением конфокальной биомикроскопии для прогноза отторжения роговичного трансплантата, было выявлено, что в течение 12 месяцев ПЭК имеет тенденцию к снижению при изначально сопоставимой величине ЭК в донорском материале. Максимальное снижение ПЭК наблюдается через месяц после операции: 12,4 % — при прозрачном приживлении трансплантата и 38 % — при его помутнении, количество эндотелиоцитов составило 2248 кл/мм² и 1569 кл/мм² соответственно. В течение 6 – 12 месяцев после операции снижение уровня ЭК существенно меньше и составляет в среднем 26,7 % от исходного количества ($p \leq 0,05$), то есть 0,7 % ежемесячно. Через 18 месяцев после операции ПЭК составляет 0,1 % ежемесячно [37].

Болезнь трансплантата или несостоятельность трансплантата роговицы может быть обусловлена иммунными или неиммунными механизмами [153]. При этом основной мишенью иммунного ответа организма (в 30% случаев) является пересаженный эндотелий [139, 178, 202, 272]. По некоторым данным посткератопластическая потеря ЭК является ведущим фактором отторжения трансплантата в 29-49% случаев [235]. Эндотелиальная декомпенсация при потере донорских ЭК проявляется либо после необратимого эпизода острого отторжения трансплантата, либо через какое-то время в результате одного или нескольких эпизодов отторжения, которые были купированы терапией [202]. Эндотелиальная реакция при болезни трансплантата после СКП встречается в 44% случаев в среднем на сроке от 8 месяцев и более.

На скорость снижения ПЭК трансплантата несомненно влияют сопутствующие патологии органа зрения такие как: глаукома, дистрофия радужной оболочки, воспалительные и дегенеративные заболевания. У такой категории пациентов скорость снижения ПЭК трансплантата будет значительно выше [165]. Необходимо проводить интенсивную терапию при развитии эндотелиальной

реакции со стороны роговицы для предупреждения необратимого помутнения трансплантата [193].

Тем не менее поздняя эндотелиальная недостаточность может возникнуть и через несколько лет после трансплантации роговицы. В многочисленных исследованиях показано, что поверхность транспантированного эндотелия роговицы содержит дендритные клетки, $CD4^+$ Т-хелперные клетки, $CD8^+$ -цитотоксические Т-клетки, $CD20^+$ В-лимфоциты, $CD68^+$ макрофаги и нейтрофилы [186, 232]. В эксперименте на кроликах с помощью лазерной сканирующей конфокальной микроскопии (ЛСКМ) были выявлены иммунные клетки, продуцирующие провоспалительные цитокины, в частности ФНО- α и ИФН- γ , являющиеся основными в развитии поздней эндотелиальной недостаточности. Также было исследовано что ЭК, расположенные вблизи с иммунными клетками, способствовали развитию апоптоза [186].

Болезнь трансплантата по причине эндотелиальной декомпенсации обычно проявляется отеком, помутнением трансплантата и развитием клеточной инфильтрации, при этом наблюдается опалесценция влаги передней камеры, преципитаты на эндотелии. Преципитаты располагаются беспорядочно или формируют патогномоничную цепочку – линию Ходадуста, состоящую из лейкоцитов. Линия начинается на крае трансплантата и идет к центру, помимо этого наблюдается ограниченный или распространённый отек стромы, складки ДМ. Происходит гиперплазия ЭК и нарушение межклеточных связей между ними. Позже их замещают мононуклеарные лейкоциты и фибробласты [170]. Пациенты предъявляют жалобы на сильный туман, значительное снижение остроты зрения и боль.

1.6. Методы лечения эндотелиальных дистрофий роговицы и буллезной кератопатии

1.6.1. Консервативное лечение

Консервативное лечение эффективно на ранних стадиях заболевания, однако, клинический эффект является непродолжительным [40]. Основной целью

консервативного лечения обычно выступает уменьшение отека роговицы и купирование болевого синдрома. При этом применяют различные кератопротекторы, гиперосмотические, слезозаменительные и антиоксидантные средства, а также терапевтические мягкие контактные линзы (МКЛ) и лазерную стимуляцию роговицы [8, 6, 16, 61]. Обязательным компонентом консервативного лечения ЭДР является контроль уровня внутриглазного давления, так как его повышение способствует усилению отека на фоне прогрессирующего повреждения эндотелиального слоя роговицы [52]. Магнитно-инфракрасно-лазерная терапия на сегодняшний день применяется не так часто, тем не менее доказано обладает положительным лечебным эффектом, такими как: противовоспалительный, иммуностимулирующий, десенсибилизирующий, бактерицидный и регенерирующий. Однако, данный способ не обеспечивает стабильных клинико-функциональных результатов [5, 12, 28].

Консервативное лечение БК по причине эндотелиальной дисфункции трансплантата связано, как правило, с назначением местных и системных кортикостероидов. Длительное (12 месяцев) местное профилактическое применение стероидов является наиболее целесообразным [248, 226]. При этом основными побочными эффектами длительного местного применения стероидов являются прогрессирование катаракты, повышение внутриглазного давления, замедление процессов регенерации эпителия, риск развития инфекционных кератитов [188]. Применение стероидной пульс-терапии при болезни трансплантата является эффективным [159, 111], однако системное использование кортикостероидов может вызывать такие осложнения, как остеопороз, диабет, ожирение.

Патогенетически ориентированными методами лечения ЭДР и БК в настоящее время являются хирургические методы, а именно проведение кератопластики роговицы [19].

1.6.2. Сквозная кератопластика

В 1824 году Reisinger впервые предложил термин «кератопластика». А уже в 1905-м г. Zirm E. провел первую в мире успешную сквозную кератопластику (СКП) – пересадку всех слоев роговицы [129]. Большое количество исследователей внесло значимый вклад в развитие метода кератопластики. Среди них были как отечественные – Филатов В.П., Шимановский А.Ф., Фейгин Ф.И., Копаева В.Г., Мороз З.И., так и зарубежные – Fuchs E., Elschinig A., Raufique L., Franceschetti A., Castroviejo R. [56, 57, 60, 102, 103, 133, 134, 137].

В течение длительного времени технология СКП была главной в плане хирургического лечения больных с необратимыми помутнениями роговицы, в том числе ДФ и БК. [10, 22, 24, 271]

С позиции современной офтальмохирургии операция СКП не представляет большой сложности для хирурга, а благодаря внедрению высокотехнологичного микрохирургического оборудования и развитию современной фармакотерапии значительно повысилась частота прозрачного приживления кератотрансплантата (от 35% до 95% случаев) [24, 23, 35, 39, 46]

Структура показаний к СКП разнообразна. На рубеже 70-80-х гг. прошлого века наиболее частым показанием к СКП была псевдофакичная буллезная кератопатия (17,5%), рекератопластика (15,1%), ЭД при афакии (10,9%), посттравматические исходы на роговице (9,3%), ДФ (9,1%) [215, 252, 268, 276, 295, 296]. В период с 1980 по 1991 гг. наиболее частыми показаниями к проведению кератопластики были: кератоконус (24,2%), ЭД (23%), рекератопластика СКП (13%), рубцы роговицы (8,2%) и ДФ (5,8%) [203]. Вплоть до 1995 г. около 40% СКП в США выполняли по причине дисфункции эндотелиального слоя роговицы [114].

В последние годы идет активный переход от СКП к выполнению селективных методов кератопластики. Общее количество выполненных СКП в 2005 г. в США составило 42 063 и к 2021 г. снизилось до 16 269, в то время как число эндотелиальных кератопластик, напротив, увеличилось с 1 398 до 30 098. В 2021 г. ДФ стала показанием для СКП только в 5,5% случаев от общего количества сквозных пересадок в стране и составила 52,7% случаев от всех выполненных

эндотелиальных кератопластик. Пациентам с диагнозом ДФ в 94,5% случае была проведена органосохраняющая селективная кератопластика [130].

Клинико-биологические исходы после СКП являются в большей мере положительными и напрямую обуславливаются характером первичного основного заболевания и, осложняющих его, сопутствующих патологий [23]. Тем не менее, успешно выполненная сквозная пересадка роговицы имеет шанс к неблагоприятному течению постоперационного периода и развитию болезни трансплантата. Главными факторами риска, приводящие к реакции отторжения трансплантата являются:

- офтальмогипертензия и глаукома [242, 302, 301],
- воспаление [303],
- передние синехии [242, 284]
- неоваскуляризация [13, 273, 170, 217]
- ксерофтальмия [124, 304],
- афакия [282, 303,301],
- наличие перенесенных трансплантаций в анамнезе и их количество [242, 282, 163].

К тому же длительное присутствие швов на роговице после кератопластики может спровоцировать развитие неоваскуляризации, что в свою очередь увеличивает риск развития реакции отторжения трансплантата [268].

Известно, что при каждой последующей трансплантации роговицы шансы за прозрачное приживление в несколько раз ниже, чем при предыдущей [242, 282]. К тому же, опираясь на различные научные труды, размер трансплантата, анализ главного комплекса гистосовместимости, возраст донора и срок хранения донорского материала не оказывают существенного влияния на биологический результат приживления сквозного трансплантата [170]. Отмечается, что у пациентов с кератоконусом и ДФ самые лучшие клинические результаты после проведения СКП [163, 230, 241, 287]. Прозрачное приживление трансплантата при ДФ, по данным одних авторов, составляет 61% при сроке наблюдения около 4 лет

после операции [230], но может достигать и 81-90% при сроке наблюдения до 10 лет, согласно другим источникам [163, 247].

Стоит отметить, что важными критериями оценки эффективности СКП являются не только биологические, но и функциональные результаты. На сегодняшний день для снижения проявлений иммунной реакции отторжения трансплантата, достаточной и равномерной адаптации интерфейса донорской роговицы и реципиента, с дальнейшей профилактикой возникновения постоперационного астигматизма и других причин, влияющих на биологический и функциональный результат кератопластики, хирургами было опробовано и внедрено в практику большое количество модификаций СКП, таких как грибовидная, ступенчатая, конусная и ряд других [21, 29, 36,39]. А современное развитие фемтосекундных технологий обеспечивает возможность выкраивания донорского материала и формирование ложа на глазу пациента в ходе СКП [96, 131]. Несмотря на вышеописанные современные методики, традиционная техника проведения СКП остается на сегодняшний день самой распространенной [26, 109].

Технология СКП имеет ряд недостатков. При ней заменяются все слои роговицы реципиента, и, следовательно, не учитывается глубина повреждений роговой оболочки глаза. Во время операции хирург может контролировать только диаметр трансплантата и его ложа на глазу пациента. Главная отличительная особенность СКП – это полная разгерметизация глаза, так называемая операция по типу «открытого неба», при которой многократно увеличивается риск развития интраоперационных осложнений. Сквозной трансплантат необходимо фиксировать шовным материалом, что способствует развитию индуцированного астигматизма различных степеней [25, 84, 206, 251]. Таким образом, даже если трансплантат прозрачен, и прошла его полная адаптация, не исключено, что функциональный результат операции может быть скудным или неудовлетворительным [20, 35, 255].

Также при выполнении одномоментной операции СКП с хирургией катаракты тяжело точно рассчитать оптическую силу интраокулярной линзы (ИОЛ), что приводит к непредсказуемости постоперационной рефракции [195, 214,

112]. Зона постоперационного рубца является слабым местом, в котором может нарушиться целостность глазного яблока, с возможными последующими осложнениями, такими как, выпадение оболочек, эндофтальмит, помутнение трансплантата, развитие синехий и вторичной глаукомы, отслойка сосудистой оболочки с кровотечением [64, 192, 238, 239, 269]. Все вышеперечисленные особенности течения и реабилитации после СКП ограничивают физическую активность пациентов, в том числе и в отдаленном постоперационном периоде, что в свою очередь снижает качество социальной и профессиональной адаптации.

1.6.3. Эндотелиальная кератопластика

В настоящее время задняя послойная кератопластика (ЗПК) широко используется мировыми хирургами для лечения эндотелиальной недостаточности роговицы. Согласно ассоциации глазных банков США (ЕВАА), доля эндотелиальных кератопластик, выполненных за период с 2005 по 2021 год, увеличилась с 3,2% до 44,5%, в то время как объем сквозных кератопластик уменьшился более чем в два раза с 94,9% до 38,1% за данный период [130]. Кроме того, согласно Европейскому реестру трансплантации роговицы и клеток, ЗПК является наиболее распространенным методом трансплантации роговой оболочки глаза в Европе, составляя более 46% всех трансплантаций роговицы к 2021 году [123].

Это отличается от ситуации, которая была до начала XXI века, когда СКП была основным хирургическим методом лечения пациентов с буллезной кератопатией и дистрофией роговицы Фукса. Видя недостатки этого метода, исследователи стали разрабатывать и изучать новые виды кератопластик, включая заднюю послойную кератопластику (ЗПК). В этом методе поврежденные слои роговицы, такие как эндотелий и ДМ, заменяются донорским послойным трансплантатом, состоящим из эндотелия с прилегающими ДМ и задними слоями стромы, оставляя передние слои роговицы пациента нетронутыми. [145, 156].

История селективной эндотелиальной кератопластики началась в 1951 году с представления Barraquer J.I. техники задней послойной (ламеллярной)

кератопластики (posterior lamellar keratoplasty – PLK) на XVI Международном конгрессе офтальмологов. Операция включала формирование квадратного лоскута на ножке из стромальных слоев роговицы с удалением патологически измененных задних слоев роговицы пациента и заменой их на здоровые слои донора с помощью швов [82]. Это показало, что существует патогенетически обоснованная хирургическая методика для лечения пациентов с эндотелиальной дисфункцией роговицы.

Позднее, в 1972 году, Barraquer J.I. предложил модифицированный вариант собственной методики, представленной ранее. В ней применялся модернизированный микрокератом с пневмофиксацией. Но данная методика имела ряд существенных недостатков, присущих СКП. Это и проведение операции по типу «открытого неба», и наложение большого количества швов с индицированием неправильного астигматизма, и др. В связи с этим данный вариант не получил широкого распространения и дальнейшего развития [81].

В 1956 г. Tillet C. предложил альтернативную технику замены задних слоев роговицы. В рамках этого метода формируется стромальное ложе с последующей заменой задних слоев. В лимбальной зоне выполняется разрез 12 мм, далее, при помощи шпателя-расслаивателя, отделяли передние слои стромы от задних с дальнейшим их удалением с помощью ножниц. Затем задний послойный трансплантат донорской роговицы укладывался в подготовленное ложе. Фиксация к строме производилась с помощью швов. Поверхностный лоскут роговицы также фиксировался в зоне первичного доступа, где формировался второй уровень швов [283].

Первое применение ЗЛК в отечественной офтальмологии было сделано Дроновым М.М. и Волковым В.В. в 1976 году для лечения заболеваний с повреждением эндотелия. Их метод заключался в использовании трех узловых швов для крепления донорского трансплантата, которые могли быть удалены через 1 месяц после операции [7, 292]. В том же году Гундорова Р.А. и Бойко А.В. также использовали ЗЛК для лечения посттравматического врастания эпителия [4, 14, 154].

В 1973 году Мороз З.И. и Тоцкая Т.Д. предложили бесшовный межслойный метод фиксации донорского трансплантата в задние слои роговицы реципиента. Они утверждали, что этот метод обеспечивает obtурирующие, клапанные и защитные функции [38].

В 1996 году Busin M. была предложена модифицированная техника задней ламеллярной кератопластики, в которой поверхностный лоскут собственных слоев роговицы формировался микрокератомом [99].

В 1993 году Ko W. с соавторами усовершенствовали метод с использованием корнеосклерального доступа, предложенный Tillet C., и применили его в эксперименте на животных [181]. После этого Melles G. использовал эту технику в клинической практике. В 1998 году он впервые предложил фиксировать трансплантат при помощи пузырька воздуха и уменьшить размер лимбального разреза до 8 мм. В последующих исследованиях основное внимание уделялось уменьшению размера разреза, снижению использования ш и улучшению заднего доступа [209].

В том же 1998 году Jones и Culberston впервые использовали термин "эндотелиальная послойная кератопластика" (endothelial lamellar keratoplasty – ELK) при описании своей методики, которая включала подшивание донорского трансплантата к задним слоям роговой оболочки [171].

В 2002 году Melles G. предложил использовать 5-мм склеральный доступ и формировать стромальное ложе непосредственно возле Десцеметовой мембраны. Поврежденные слои роговой оболочки удалялись при помощи закругленных ножниц, а трансплантат имплантировался в сложенном виде и фиксировался пузырьком воздуха [212].

В 2001 году Terry M. и Ousley P. разработали новую модифицированную методику ЗЛК, которую назвали "глубокой ламеллярной эндотелиальной кератопластикой" (deep lamellar endothelial keratoplasty – DLEK) [277, 278, 279]. Однако эта методика не получила широкого распространения из-за своей сложности, необходимости специальных инструментов и высокого риска повреждения радужки [157].

В 2003 г. Melles G. с соавт. впервые представили метод эндотелиальной кератопластикой с удалением Десцеметовой мембраны (Descemet's Stripping Endothelial Keratoplasty – DSEK), при котором выполнялось циркулярное удаление ДМ и эндотелия – десцеметорексис (ДР) [213, 210]. Эта техника имела кардинальное отличие от существовавших ранее и исключала этап ламеллярной диссекции роговой оболочки реципиента. Ее суть заключалась в проведении ДР при заполненной передней камеры глаза воздухом, ВЭ или сбалансированный молевым раствором [136, 138]. Данная методика снизила риск травматизации структур передней камеры глаза с сохранением целостности задних слоев стромы реципиента.

В 2005 г. Price M. предложил сворачивать донорский трансплантат при его имплантации в переднюю камеру глаза реципиента в виде дубликатуры в соотношении 40/60, что привело к уменьшению потери эндотелиальных клеток и улучшению расправления трансплантата в передней камере [245].

1.6.4. Задняя автоматизированная послойная кератопластика

Применение в 2006 году Gorovoy M. с соавт. микрокератома для выкраивания донорского роговичного трансплантата стало следующим этапом развития эндотелиальной кератопластики. Данная технология получила название задняя автоматизированная послойная кератопластика – ЗАПК или Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty (DSAEK), при которой донорский корнеосклеральный диск устанавливают в искусственную переднюю камеру (ИПК), далее с помощью микрокератома с головкой 300-350 мкм проводят стромальный срез, затем корнеосклеральный диск укладывают эндотелием вверх и выполняют трепанацию диаметром 9 мм. Имплантация трансплантата, сложенного в дубликатуру в соотношении 60/40, происходит через роговичный разрез 5 мм с использованием пинцета. Следующим этапом идет фиксация трансплантата в передней камере пузырьком воздуха [145]. Стандартизация технологии заготовки заднего послойного роговичного трансплантата привела к решению главных недостатков 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 [245].

Однако, методика ЗАПК имеет ряд недостатков. Один из них это в сравнении со СКП относительно большая потеря ПЭК трансплантата, которая может происходить во время выкраивания, имплантации и расправления в передней камере [244]. Чтобы снизить процент потери ЭК, различные авторы предложили свои варианты модификации техники имплантации.

В 2006 году Vajrayee R.V. с соавт. предложил накладывать перед этапом имплантации удерживающий шов со стороны стромы донорского трансплантата, после чего, используя обратный крючок Сински (DORC International), выполнять захват нити, что дает трансплантату расправиться в правильном положении [289].

В 2007 г. Koenig S. с соавт. предложили фиксировать край трансплантата при помощи иглы 30G со шприцом, наполненным воздухом [184]. В том же году Mehta J.S. с соавт. (2007) для имплантации заднего послойного трансплантата представили специальный глайд, который снижает потерю эндотелиальных клеток, в связи с отсутствием контакта трансплантата и роговицы в месте разреза на этапе имплантации [208].

В 2008 году Busin M. предложил использовать металлический глайд воронкообразной формы, который получил наибольшее распространение в клинической практике при выполнении DSAEK [98]. Доказано, что при применении Busin glide происходит меньшая потеря ЭК (25%), чем при использовании пинцета (34%) на этапе имплантации [77].

В 2010 г. Foster J. продемонстрировал результаты использования системы EndoSaver, оснащённой гибким дистальным концом, на котором располагается задний послойный трансплантат. При использовании данной системы используется роговичный разрез 4 мм. Однако диаметр донорского трансплантата не должен превышать 8 мм с толщиной не более 175 мкм [135]. Потеря ПЭК при использовании данной системы на сроке 12 месяцев составляет 29% [288].

Khor W. с соавт. в 2011 г. представили разработанный инжектор Endoglide, конструктивные особенности которого позволяли уменьшить разрез до 3 мм и потерю ПЭК до 15,6% через 12 месяцев после операции [179].

Развитие ЗАПК сопровождалось стремлением к уменьшению остаточной толщины заднего послойного трансплантата и достижению его равномерности, данные критерии имеют прямую взаимосвязь с повышением максимально скорректированной остроты зрения (МКОЗ) [175, 175]. При использовании микрокератома для выкраивания донорского материала, полученный трансплантат представляет собой вогнутую линтикулу, которая обладает различной толщиной на периферии и в центре, это обуславливается анатомическим строением роговицы и работой микрокератома. В результате возникает гиперметропический сдвиг рефракции (от +0,31 до +2,35 дптр) [175, 254].

Чтобы достичь более тонкого роговичного донорского трансплантата Busin M. с соавт. (2011) предложили использовать технологию double-pass, при которой выполнялись два последовательных реза микрокератома со стороны эпителия. 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 [100]. Все донорские задние послойные трансплантаты толщиной не более 130 мкм считаются ультратонкими [100, 15, 31, 225, 240, 264]. По данным Neff K. 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 [225].

В 2013 г. Малюгин Б.Э. и Дроздов И.В. представили методику double-pass, при которой средняя толщина заготовленного заднего послойного трансплантата равнялась 68 ± 19 мкм, а в 66% случаев МКОЗ повысилась до 0,8, при этом после отработки технологии заготовки донорского материала его выбраковка отсутствовала [15].

В том же году Busin M. с соавт. показали результаты методики UT-DSAEK на сроке наблюдения 24 месяца. МКОЗ составила 0,5 в 48,8% случаев, потеря ПЭК – $36,6 \pm 16\%$, процент осложнений, связанных с перфорацией донорской ткани во время проведения второго среза и формирования отверстия (buttonhole), составил 7,2% [101]. У другой группы авторов осложнения, связанные с перфорацией во время проведения второго среза, были в 18% случаев [264]. У Woodward M.A. в 2014 г. было 29% случаев, в которых произошла выбраковка донорского материала при использовании техники double-pass. Стремление получить ультратонкий задний послойный трансплантат часто приводит к перфорации донорского материала. Однако, при дефиците донорского материала, его выбраковка является совершенно недопустимой [305].

В 2018 г. Вае S. с соавт. предложили использовать специально разработанные номограммы для технологии double-pass, чтобы решить проблему перфорации донорского материала, использование которых позволяет предсказать итоговую толщину трансплантата и максимально снизить его выбраковку. Они позволили снизить перфорацию глубоких слоев роговицы до 1,5% [76].

Использование данных номограмм привело к возникновению методики Nano-thin Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (NT-DSAEK) с использованием нано-трансплантата толщиной всего 50 мкм, которую предложил Cheung A. с соавт. (2018). Толщина трансплантата у данной группы авторов была равна $41,1 \pm 6,4$ мкм, а выбраковка донорского материала составила лишь 4,8% [110]. Тем не менее, реализация данного подхода представляет собой задачу, обладающую высокой степенью технической сложности, и возникают существенные сомнения относительно ее потенциала для стандартизации и воспроизведения.

1.6.5. Трансплантация Десцеметовой мембраны с эндотелием

Стремление к уменьшению толщины готового для имплантации трансплантата и достижению наиболее близкой к физиологичной структуре роговицы, способной обеспечить максимально возможные клиническо-функциональные результаты, привело к развитию новой хирургической методики

– трансплантации эндотелия на ДМ (ТЭДМ) или Descemet's membrane endothelial keratoplasty (DMEK). Эта технология позволяет достичь полной структурной и функциональной реабилитации роговицы [262].

Впервые методику DMEK описал Melles G. с соавт. (2006) после ряда лет разработки в лабораторных условиях [211]. Первые клинические результаты были представлены в 2007 г. Tarrin M. В его варианте исполнения трансплантат ДМ диаметром 7,5 мм имплантировали через роговичный разрез шириной 8 мм при помощи специального инструмента (Altomed, Великобритания) [275]. 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 [253].

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% [71].

Стоит отметить, что техника DMEK обладает рядом недостатков. Одним из главных является ее высокая техническая сложность, которая требует очень высокой квалификации хирурга и намного большего времени освоения по сравнению с DSAEK [34]. Процедура заготовки донорского трансплантата для DMEK является наиболее сложным этапом операции, по причине высокого риска выбраковки трансплантата при его препаровке [69, 104, 197, 211, 243]. 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. 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 [150].

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 [223].

В 2009 г. McCauley M. с соавт. предложили использовать микрокератом при подготовке трансплантата, техника получила название DMAЕК (Descemet's membrane automated endothelial keratoplasty) [205, 243]. 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» [73]. 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 DSAEK. Расправление и фиксацию тр-та осуществляют аналогично методу DSAEK.

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 было подобным методике ПГПК [270].

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. (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 [243].

По результатам исследований, частота повреждения (разрыва) донорской ДМ при использовании техники «big bubble» достигает 30%, а техники SCUBA – 26% [118]. Price M. с соавт. представили данные о разрыве ДМ при технике SCUBA в 16% случаев [243]. Также есть авторы, которые указывают, что разрывы ДМ при использовании техники «big bubble» зависят исключительно от опыта хирурга [67].

Harminder Dua с соавт. в 2014 году продемонстрировали новую методику – трансплантацию предесцементового. 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 предесцементовым слоем (слоем Dua) и задними слоями стромы. Следующим этапом внутрь сформированного пузыря вводили раствор трипанового синего для прокрашивания ДМ, после этого ДМ иссекали при помощи ножниц [67]

Условия дефицита донорского материала привели к развитию новой методики – Hemi-DMEK, которая была внедрена в 2014 г. Melles G. 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 [191]. 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 [222]. 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 [85]. Применение данной технологии позволяет использовать один донорский материал на 5 реципиентов [229].

Стоит отметить, что такие модификации стандартной методики, как DMAЕК, 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), пипетку-инжектор Melles (Голландия) и модифицированную трубку 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 [280].

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 [197], 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 газоздушной смеси, которая более длительно может оставаться в передней камере и состоит из 10% смеси газа SF₆ или C₃F₈ и воздуха [117].

Основным осложнением методики DMEK, так же, как и DSAЕК является отслойка (неприлегание) трансплантата [115, 208, 211]. Самой главной причиной 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 [155]. 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%) [115, 132, 151, 211].

Во время регистрации случая неприлегания трансплантата была отмечена положительная динамика [120], 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 [30, 121, 167]. 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 ДМЕК [74, 183], это подтолкнуло на мысль выполнять изолированный десцеторексис без имплантации донорского материала для восстановления прозрачности при ДФ и БК. После чего стали появляться публикации разных авторов о применении только одного этапа десцеторексиса с различными результатами [78, 87, 90, 92, 140, 164, 218, 258, 297, 307, 309].

Можно сказать, что изолированный десцеторексис бросил вызов современной концепции эндотелиальной кератопластики и подверг сомнению необходимость трансплантации донорского материала после проведения этапа десцеторексиса. 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 [90, 164, 184, 219, 233, 249]. Эти исследования подтверждают, что методика DMET 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 [74]. Это может объяснить и механизм возникновения случаев преждевременной декомпенсации роговицы после DMEK, при наличии большого по площади стойкого неприлегания трансплантата [194].

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 [142].

В настоящий момент техника DMEK остается предпочтительным вариантом для долгосрочного лечения таких эндотелиальных патологий, как ДФ и БК [33]. 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 DMEK, небольшой опыт хирурга выполнения этой методики и в условиях дефицита донорского материала, многие хирурги также отдают предпочтение технике DSAEK.

1.6.6. Характеристика вискоэластиков, используемых в ходе задней послойной кератопластики

Вискоэластики (ВЭ) представляют собой фармакологически неактивные, прозрачные жидкости с высокой вязкостью и эластичностью, одновременно обладающие свойствами гелей и твердых тел [75]. Их свойства зависят от длины полимерной цепи (молекулярной массы) и концентрации, что определяет их поведение в процессе хирургического вмешательства. Однако зачастую ВЭ с одинаковым процентным содержанием гиалуроната натрия могут отличаться длиной полимерной цепи, распределением молекулярной массы и соответственно обладать различными физическими свойствами [45].

В стандартной технологии ЗПК используется довольно большое количество ВЭ и/или солевых растворов на разных этапах оперативного вмешательства, например: при сочетанной операции (ЗПК+ ФЭК+ИОЛ) для защиты эндотелия в момент непосредственной фактоэмульсификации катаракты и имплантации интраокулярной линзы (ИОЛ); протекции эндотелиальных клеток во время манипуляций с трансплантатом; на этапе протягивания сформированного трансплантата через глайд; для восполнения объема передней камеры и т.д. При фемтолазерном выкраивании трансплантата следует адекватно подходить к выбору раствора ВЭ и соблюдать баланс между защитой ЭК и соблюдением регулярности поверхности профиля роговицы в момент аппланации, которая влияет на качество фемтолазерного реза. В результате ряда экспериментальных работ, было обнаружено, что нанесение ВЭ на поверхность эндотелия сопровождается появлением складчатости роговицы при аппланации, следствием чего является формирование неравномерного по толщине трансплантата [48]. В другом исследовании по изучению различных ВЭ для защиты ЭК в момент аппланации было установлено, что использование ВЭ, в частности, 2% раствор ГПМЦ, уменьшает потерю ЭК до 6% [265].

Наиболее часто используемые вискоэластические растворы представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика основных вискоэластиков, используемых в кератопластике

Название	Состав	Свойства	Коэффициент вязкости	Молекулярный вес
Вискот® Viscoat® (Alcon)	Хондроитина сульфат (4,0%) и Натрия гиалуронат (3,0%)	Дисперсный с низкой вязкостью	40000 ± 20000 мПа.с	600 000 Дальтон
Окукоат® Осусоат® (Bausch & Lomb)	2% раствор ГПМЦ	Дисперсный с низкой вязкостью	4000±1500 мПа.с	92 000 Далтон
ДисКоВиск® DisCoVisc® (Alcon)	1,7% натрия гиалуроната 4,0% хондроитина сульфата	Дисперсный с высокой вязкостью	40000-110000 мПа.с	1 650 000 Дальтон
Хиалон® Healon GV® (Johnson & Johnson)	Натрия гиалуронат (1,4%)	Когезивный с высокой вязкостью	2500000 мПа.с	5 000 000 Дальтон
Провиск® Provisc® (Alcon)	Натрия гиалуронат (1,4%)	Когезивный с высокой вязкостью	<25000 мПа.с	2 500 000 Дальтон

1.6.7. Задняя послойная фемтокератопластика

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 [2].

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 пробои 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 микро-разрыву ткани [88]. 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 [50, 174].

В 1994 году Kurtz R. впервые предложил использовать ФСЛ в офтальмологии [190]. Наибольшее применение в офтальмологии ФСЛ получил в рефракционной хирургии, заменив собой использование микрокератома для формирования роговичного клапана [274]. Кроме этого, ФСЛ активно применяют в катарактальной хирургии [32]. 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 при послойной кератопластике [96, 131, 168, 220, 240].

Впервые в 2003 г. Seitz В. с соавторами применили ФСЛ при 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 [256].

В 2007 г. Cheng 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 [107]. В 2011 г. Cheng Y. с соавт. предоставили данные сравнения СКП и ЗПК с применением ФСЛ, в результате которого после СКП МКОЗ было немного выше [108].

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 [180]. Неоптимальное качество стромальной поверхности трансплантата значительно влияет на снижение контрастной чувствительности и качество зрительных функций [158]. 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 [308].

Ученые стремились улучшить качество поверхности получаемого трансплантата, и в 2008 г. Mehta J. 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 [207].

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 фемто-диссекции на глубине 400 мкм, при помощи ФСЛ IntraLase FS150 (США). 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 [285].

Помимо глубины реза, на качество среза и соответственно поверхности трансплантата влияют параметры работы лазера: уровень энергии импульса, частота, размер лазерного пятна [257].

В 2007 г. Sarayba M. с соавт., изучая качество поверхности на ФСЛ IntraLase, определили, что использование растрового паттерна ФСЛ позволяет достичь более гладкой поверхности, чем применение спирального паттерна [254].

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 [201].

В 2013 г. Ziebarth N. 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 [310].

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 [107].

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 [63, 160]. Инвертная техника была описана для нескольких фемтолазерных систем [160, 199, 207, 263].

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 [263].

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 обрывки нитей фибрилл во время воздействия фемтосекундного лазера и образования плазмы [160].

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 [266].

В 2014 г. Mehta J. 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 методом 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. с соавт [306]. 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 [199].

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 [41]. В 2015 г. результаты проведения инвертной FS DSEK на ФСЛ Femto LDV Z6 опубликовала Погорелова С.С. с соавт. МКОЗ достигла $0,2+0,16$; потеря ПЭК на сроке 3 месяца была равна 54% [47]. 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 эффективной. На сроке наблюдения 24 месяца МКОЗ составила $0,33+-11$, средний роговичный астигматизм составил $3+1,5$ Дптр, среднее значение оптической плотности всей толщины роговой оболочки было приближено к показателям после DSAEK и составило $20,8+4,8$ у пациентов с ДФ и $24,5+6,5$ у.е. у пациентов с ПБК, потеря ПЭК на сроке 1 год около 67% [63]. 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 [149, 228]. 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 [148, 204].

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 [231]. Разрушение коллагенового матрикса во время отека и в результате рубцевания роговицы может спровоцировать увеличение рассеяния света, которое клинически идентифицируется как роговичный «хейз» (помутнение) и приводит возникновению т.н. «disability glare». Данный термин, применяют в англоязычной литературе, и он не имеет точного перевода на русский язык. Термин 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 поля 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 [79].

В 2019 г. Шилова Н.Ф. представила результаты сравнительного анализа ЗПК с использованием микрокератома и ФСЛ Femto LDV Z8 (инвертная техника). Применение ФСЛ показало меньший гиперметропический сдвиг +0,12 Дптр, по сравнению с +1,33 Дптр после стандартной DSAЕК. Хотя лучшие показатели

МКОЗ были в группе DSAЕК, 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 DSAЕК 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 DSAЕК и после FS DSEK [59].

Стоит отметить, что научные труды, таких отечественных авторов как Б.Э. Малюгин, О.Г. Оганесян, С.В. Труфанов, Ю.Ю. Калинин, Паштаев А.Н, Измайлова С.Б., посвящены усовершенствованию и оптимизации проведения эндотелиальной кератопластики, в частности задней послойной для повышения постоперационных клиничко-функциональных результатов у пациентов [31, 43, 54, 18, 44].

Таким образом, на основе анализа литературных данных, очевидным является 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 [146, 151, 152, 198]. На протяжении XX века единственным этиопатогенетическим методом лечения этих заболеваний являлась сквозная кератопластика. На данном этапе развития 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 хирургической техники операции ЗПК, развитие ее различных модификаций и изучение клиничко-функциональных результатов. Условия дефицита донорского материала привели к появлению различных способов выкраивания донорского трансплантата с целью уменьшения процента выбраковки.

В настоящее время наиболее предпочтительным методом в физиологическом плане и с целью получения наивысших зрительных функций является методика ТДМ/DMEK. Но, к сожалению, в ряде осложненных случаев и при дефиците

донорского материала ее выполнение затруднительно. В силу этого многие хирурги отдают предпочтение методике ЗАПК/DSAЕК. Все преимущества и недостатки её достаточно хорошо изучены.

К наиболее важным недостаткам ЗАПК относят: неравномерность 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 предложено использовать фемтосекундный лазер в ходе заготовки донорского трансплантата (FS DSEK). Наибольшее распространение в клинической практике получил низкоэнергетический ФСЛ Femto LDV Z6/Z8 [41, 47, 59, 63, 199].

Применение этого ФСЛ позволяет снизить процент выбраковки донорского материала, получить ультратонкий, равномерный донорский материал, а также достичь хорошего биологического эффекта операции. Однако ПЭК на сроке наблюдения 12 месяцев после операции значительно уступает автоматизированной технологии с использованием микрокератома [34, 59, 63, 261].

Это свидетельствует об эффективности методики FS DSEK и решении ряда значительных недостатков DSAЕК, но низкие показатели ПЭК обуславливают дальнейший поиск оптимальных вариантов протекции эндотелиального слоя в ходе выкраивания роговицы ФСЛ и в ходе имплантации для повышения результативности оперативных вмешательств данного типа.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Данная глава разделена на четыре подраздела. Первый посвящен дизайну исследования. Второй представлен материалами и методами экспериментальной части работы, который посвящен:

а) отбору вискоэластика для защиты эндотелия при заготовке заднего послойного трансплантата с помощью фемтосекундного лазера;

б) изучению жизнеспособности ЭК и кератоцитов, а также характера стромальной поверхности после выкраивания ультратонкого заднего послойного трансплантата с помощью фемтосекундного лазера по предложенной технологии с предварительной защитой эндотелиального слоя роговицы и по стандартной технологии;

в) разработке экспериментального образца устройства для имплантации и изучению жизнеспособности ЭК при моделировании прохождения заднего послойного трансплантата через предложенный инжектор-глайд и через глайд Бузина;

г) моделированию технологии имплантации ультратонкого заднего послойного трансплантата в переднюю камеру донорского глаза с помощью инжектора-глайда собственной разработки.

Третий подраздел посвящен анализу клинико-функциональных исследований и хирургического лечения 58 (пациентов / глаз) с эндотелиальными дистрофиями роговицы в ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России в период с 2019 по 2022 годы.

Четвертый подраздел посвящен методам статистической обработки данных.

2.1. Дизайн исследования

Представленная часть работы основана на экспериментальном и клинико-функциональном исследовании с последующим сравнительным анализом полученных данных для обоснования безопасности и эффективности технологии защиты эндотелия роговицы на этапе заготовки заднего послойного трансплантата с помощью фемтосекундного лазера. На всех этапах исследования формирование роговичного трансплантата осуществляли с использованием высокочастотного, низкоэнергетического ФСЛ LDV Z8 (Ziemer, Швейцария). Дизайн проводимого исследования представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Дизайн исследования

I. Экспериментальные исследования	
<p>1.1. Экспериментальный этап отбора раствора вискоэластика для защиты эндотелия при заготовке заднего послойного трансплантата с помощью фемтосекундного лазера, n=15</p>	<p>1 группа – донорские корнеосклеральные диски (КСД), аппланация с интерфейсом головки ФСЛ с предварительным нанесением на эндотелий раствора Вискот® / Viscoat® (Alcon, США), n=3</p> <p>2 группа – донорские КСД, аппланация с интерфейсом головки ФСЛ с предварительным нанесением на эндотелий раствора Провиск® / Provisc® (Alcon, США), n=3</p>

	<p>3 группа – донорские КСД, аппланация с интерфейсом головки ФСЛ с предварительным нанесением на эндотелий раствора Оcuscoat® (Bausch & Lomb, США), n=3</p> <p>4 группа – донорские КСД, аппланация с интерфейсом головки ФСЛ с предварительным нанесением на эндотелий 2% раствора ГПМЦ «Визитон-ПЭГ» (ООО «НЭП Микрохирургии глаза», РФ), n=3</p> <p>5 группа – донорские КСД, аппланация с интерфейсом головки ФСЛ с предварительным нанесением на эндотелий 1% раствора ГПМЦ «Визитон-ПЭГ» (ООО «НЭП Микрохирургии глаза», РФ), n=3</p>
<p>1.2. Экспериментальное изучение жизнеспособности эндотелиальных клеток и кератоцитов, а также характера стромальной поверхности, после заготовки ультратонкого заднего послойного трансплантата ФСЛ по стандартной и предложенной технологиям, n=32</p>	<p>1 группа (опытная / основная) – свиные КСД, выкроенные с помощью ФСЛ с предварительным нанесением раствора 1% ГПМЦ на эндотелий роговицы на этапе аппланации, n=16</p> <p>2 группа (контрольная) – свиные КСД, выкроенные по стандартной технологии с помощью ФСЛ без</p>

	<p>предварительной вископротекции эндотелия роговичного трансплантата, n=16</p>
<p>1.3. Разработка и изготовление экспериментального образца устройства для имплантации и изучение жизнеспособности эндотелиальных клеток при моделировании прохождения ультратонкого заднего послойного трансплантата, заготовленного с помощью ФСЛ, через инжектор-глайд собственной разработки и через глайд Бузина, n=10</p>	<p>1 группа (опытная / основная) – трансплантаты из свиных КСД проведены через предложенный инжектор-глайд, n=5</p> <p>2 группа (контрольная) – трансплантаты из свиных КСД проведены через глайд Бузина, n=5</p>
<p>1.4. Экспериментальное моделирование технологии имплантации ультратонкого заднего послойного трансплантата в переднюю камеру донорского глаза с помощью инжектора-глайда собственной разработки, n=5</p>	<p>Имплантация ультратонких задних послойных трансплантатов в кадаверные донорские глаза, n=5</p>

II. Клинико-функциональные исследования

<p>Анализ клинико-функциональных результатов хирургического лечения пациентов с ДФ, ПБК и БТ после ФЛ-ЗПК с применением технологии защиты эндотелия роговицы на этапе заготовки заднего послойного трансплантата с помощью ФСЛ в сравнении со стандартной технологией, n=58 (пациентов / глаз)</p>	<p>1 группа (основная) с технологией вископротекции эндотелия роговичного трансплантата:</p> <p>Группа 1А – пациенты, которым была выполнена одномоментная ФЛ-ЗПК с ФЭК+ИОЛ в капсульный мешок, n=9 (пациентов / глаз)</p> <p>Группа 1Б – пациенты, которым была выполнена ФЛ-ЗАПК, n=22 (пациентов / глаз)</p>
	<p>2 группа (контрольная) без вископротекции эндотелия роговичного трансплантата:</p> <p>Группа 2А – пациенты, которым была выполнена одномоментная ФЛ-ЗПК с ФЭК+ИОЛ в капсульный мешок, n=6 (пациентов / глаз)</p> <p>Группа 2Б – пациенты, которым была выполнена ФЛ-ЗАПК, n=21 (пациентов / глаз)</p>

2.2. Материалы и методы экспериментального исследования

2.2.1. Отбор раствора вискоэластика для защиты эндотелия при заготовке заднего послойного трансплантата ФСЛ

Данный этап исследования проводился с использованием КСД донорских кадаверных глаз непригодных для трансплантации, показатель трансплантабельности по С.А. Борзенку – «ЗС» (n=15). Для выбора ВЭ с помощью ОКТ, интегрированного в ФСЛ LDV Z8 (Ziemer, Швейцария), проводили оценку равномерности распределения различных вискоэластических растворов на эндотелиальной стороне донорских роговиц и непрерывности профиля зоны соприкосновения между головкой лазерного интерфейса и клетками эндотелия в момент контакта с ФСЛ. Для аппланационного этапа отбора ВЭ были использованы 5 видов растворов: Провиск® / Provisc® (Alcon, США), Вискот® / Viscoat® (Alcon, США), Осуcoat® (Bausch & Lomb, США), 2% ГПМЦ «Визитон-ПЭГ» и 1% ГПМЦ «Визитон-ПЭГ» (ТУ 9398-008-29039336-2009, ООО «НЭП Микрохирургии глаза», РФ).

2.2.2. Изучение жизнеспособности и морфологических особенностей ультратонкого заднего послойного трансплантата, заготовленного ФСЛ по двум технологиям

Данная часть экспериментальной работы включала в себя изучение и сравнительный анализ потери ЭК в момент аппланации эндотелия с головкой высокочастотного низкоэнергетического ФСЛ. Для выполнения данной работы нами использованы 32 КСД, полученных из свежезнуклеированных глаз 16 свиней. Следует подчеркнуть, что до забора туши животных не подвергались термической или химической обработке. Время от забоя животного до энуклеации составило в среднем 5 минут, а от энуклеации до выкраивания КСД 6 ± 2 часа. После заготовки полученный материал помещали во флаконы со средой для хранения роговицы (ТУ 9393-013-29039336-2007, ООО «НЭП Микрохирургии глаза»). Один КСД каждого животного являлся контрольным, другой, парный, служил опытным образцом. Оценка жизнеспособности ЭК проводилась методом прижизненного окрашивания

с помощью флуоресцентного набора «Ab115347 – Live and Dead Cell Assay» («Живые и Мертвые») (Abcam, Великобритания). Для этого было сформировано 2 группы.

Группа 1 (опытная / основная) состояла из 16 свежезнуклеированных свиных глаз (КСД от одной пары глаз). Время нахождения дисков в среде для консервации роговиц до начала эксперимента составляло в среднем 12 ± 3 часа. Дальнейшие выкраивание трансплантата для ФЛ-ЗПК и другие манипуляции проводили в стерильных условиях в операционной. Опытную группу составили роговичные трансплантаты, выкроенные с предварительной защитой эндотелия 1% раствором ГПМЦ (подробная технология защиты эндотелия на этапе заготовки заднего послойного трансплантата описана ниже).

Группа 2 (контрольная) состояла также из 16 свежезнуклеированных свиных глаз (КСД от одной пары глаз). Время нахождения дисков в среде для консервации роговиц до начала эксперимента составляло в среднем 12 ± 3 часа. Дальнейшие выкраивание трансплантата для ФЛ-ЗПК и другие манипуляции проводили в стерильных условиях в операционной. Контрольную группу составили роговичные трансплантаты, выкроенные по стандартной технологии ФЛ-ЗПК без предварительной защиты ЭК.

Технология защиты эндотелия на этапе заготовки заднего послойного трансплантата с помощью фемтосекундного лазера

Послойный роговичный трансплантат формировали при помощи фемтосекундного лазера LDV Z8 с эндотелиальной стороны. В контрольной группе аппланацию с головкой ФСЛ проводили по стандартной методике с предварительным нанесением 1-2 капель раствора среды для консервации роговиц. В опытной группе, непосредственно перед аппланацией головки ФСЛ, на эндотелий донорской роговицы наносили 1% раствор ГПМЦ в количестве 2-3 капель. Выдерживали экспозицию 30 секунд для равномерного растекания и распределения его по поверхности роговицы. Затем плавно осуществляли контакт интерфейса лазера и роговицы путем вращения резьбового кольца на ИПК.

Производили контроль и оценку аппланации посредством интегрированной в лазер системы ОКТ. Трансплантат формировали послойным и циркулярным лазерными резами по предварительно запрограммированным параметрам: глубина залегания горизонтального реза составляла 125 мкм, а диаметр – 8 мм. После остановки лазера вращением кольца в обратном направлении плавно отсоединяли головку лазера от поверхности донорской роговицы. Роговицу, находящуюся в ИПК, помещали под операционный микроскоп Lumera-700 Rescan (Carl Zeiss Meditec, Германия), на ее поверхность наносили 1-2 капли трипанового синего Membraneblue-Dual® (DORC, Нидерланды). Тем самым осуществляли контроль нахождения остатков слоя ВЭ на поверхности эндотелия роговицы. Затем окрашенный ВЭ смывали плавной струей раствора для консервации роговиц. На поверхность роговицы дополнительно наносили несколько капель этого же красителя с целью оценки степени окрашивания эндотелиального слоя роговицы и, соответственно, его относительной жизнеспособности (при этом большая степень окраски свидетельствует о большой потере клеток, так как прокрашиваются не сами клетки, а участки оголенной ДМ). На следующем этапе смывали ТС несколькими каплями среды для хранения роговицы. Дополнительно верифицировали состоятельность послойного реза ФСЛ при помощи ОКТ, интегрированного в операционный микроскоп. На каждом этапе выполняли фото/видео регистрацию с помощью операционного микроскопа.

Технология окрашивания донорских роговичных трансплантатов для определения жизнеспособности клеток

После выкраивания и отделения, а также после моделирования прохождения трансплантата через инжектор и глайд Бузина оценивали жизнеспособность клеток. Для этого трансплантаты укладывали эндотелием вверх в пластиковые чашки Петри со стеклянным дном, перед непосредственным окрашиванием трансплантат трижды отмывали от консервационной среды по 5 минут стерильным раствором BSS с pH 7.4 (Balanced Salt Solution, Abbott, США). Затем выполняли непосредственно окрашивание эндотелиального слоя трансплантатов роговицы

флуоресцентными красителями. Для определения жизнеспособности ЭК роговицы применяли краситель с торговым названием «Ab115347 – Live and Dead Cell Assay» («Живые и Мертвые») (Abscam, Великобритания), которым заполняли всю чашку Петри – 5 мкл в 1 мл стерильного раствора (Phosphate-Buffered Saline, pH – 7.4, Thermo Fisher Scientific) так, чтобы жидкость полностью покрывала трансплантат. Затем производили инкубирование в течение 10 минут в темноте при комнатной температуре. Далее образцы трижды отмывали от красителя по 5 минут с помощью раствора BSS. Все описанные процедуры были выполнены в стерильных условиях в ламинарном шкафу.

Дальнейшая оценка образцов проводилась на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе Olympus FluoView FV10i (Olympus, Япония), при этом жизнеспособные клетки были окрашены зеленым цветом, мертвые – красным. С каждым образцом выполняли 3 серии снимков для более детального изучения жизнеспособности эндотелиальных клеток. Исследование проводили с обеих сторон эндотелиальной и стромальной. Площадь каждого снимка составляла 1,63 мм². После получения снимков эндотелиальных клеток чашки Петри извлекали из конфокального микроскопа и утилизировали. 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. Произведение подсчета 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.

Экспериментальное исследование относительной потери эндотелиальных клеток

Относительную потерю ЭК изучали как на различных этапах выкраивания, так и в эксперименте при сравнении двух моделей инжекторов. Исследование производили с помощью нанесения на эндотелий выкроенного трансплантата

0,15% раствора трипанового синего Membraneblue-Dual® (DORC, Нидерланды) на 1-2 минуты, после чего краску смывали консервационной средой и осуществляли фоторегистрацию трансплантатов. В ходе анализа данных изображения донорских трансплантатов переносили в программу ImageJ версии 2.0.0-rc-43/1.50e (National Institutes of Health, США), где проводили количественную оценку площади в %, которая окрашивалась в характерный синий цвет.

Сканирующая электронная микроскопия роговичных трансплантатов

Образцы трижды отмывали в 1 мл фосфатного буфера (PBS). Затем подвергали дегидратации в ацетоне восходящей концентрации с временем фиксации по 10 минут в каждом: 10%-20%-30%-50%-70%-90%-100% растворах ацетона. Полученные дегидратированные образцы двух роговиц помещались в микропористые капсулы CPD800A (Quorum Technologies Ltd., Великобритания) эпителием вверх. Затем проводили сушку в течение 30 минут в критической точке ($t=31^{\circ}\text{C}$, $P=7,39\text{МПа}$) в блоке сушки K850 (Quorum Technologies Ltd., Великобритания), в ходе которой ацетон в образцах замещался на жидкий CO_2 .

По окончании данного этапа образцы роговиц разделяли пополам и фиксировали на алюминиевых подставках при помощи карбонового скотча и токопроводящего клея. Далее в вакуумной напылительной установке Smart Coater (Structure Probe, Inc., США) происходило создание электронно-проводящего слоя на поверхности исследуемых роговичных дисков путем напыления 5 нм слоя золота (проба 999).

Полученные дегидратированные образцы фиксировали на алюминиевом столике с помощью токопроводящего скотча, с последующим напылением золота в высоком вакууме в течение 30 секунд (JEOL, Япония). Исследование образцов проводили на сканирующем электронном микроскопе JCM-6000 Plus (JEOL, Япония).

2.2.3. Изучение жизнеспособности эндотелиальных клеток после прохождения ультратонкого заднего послойного трансплантата через устройства для имплантации

На данном этапе были использованы ультратонкие задние послойные трансплантаты, выкроенные из свиных КСД по стандартной технологии с помощью ФСЛ. Толщина полученных трансплантатов составляла в среднем 125 мкм. **Группу 1 (опытная / основная)** составили трансплантаты, проведенные через предложенный инжектор-глайд (n=5), представленный подразделе 3.3.1. **Группу 2 (контрольную)** – трансплантаты, проведенные через глайд Бузина (n=5).

Для определения относительной потери ПЭК непосредственно перед проведением трансплантата через устройства и после осуществляли окрашивание трипановым синим Membraneblue-Dual® (DORC, Нидерланды). Фоторегистрацию проводили интраоперационно. В ходе анализа данных, изображения донорских трансплантатов переносили в программу ImageJ версии 2.0.0-rc-43/1.50e (National Institutes of Health, США), где проводили количественную оценку площади в %, которая окрашивалась в характерный синий цвет.

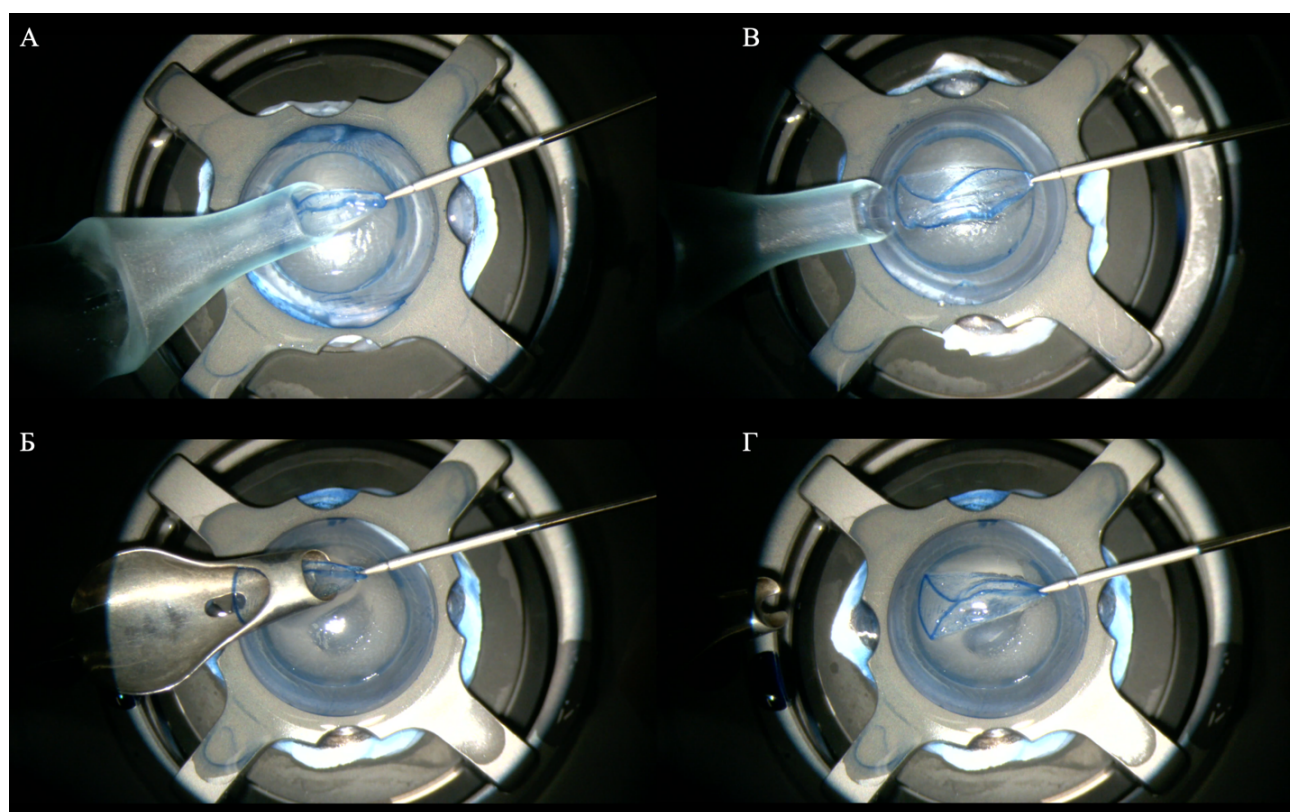
Далее оценку жизнеспособности ЭК проводили с использованием набора флуоресцентного набора «Ab115347 – Live and Dead Cell Assay» («Живые и Мертвые») (Abcam, Великобритания) согласно методике, представленной в подразделе 2.2.2.

Техника протягивания донорского ультратонкого заднего послойного трансплантата в эксперименте через инжектор-глайд

Донорский роговичный трансплантат, заготовленный при помощи микрокератома или ФСЛ (диаметром 7-8,5 мм, толщиной 110-130 мкм), перемещают при помощи пинцета на площадку эндотелием кверху (рисунок 18). На поверхность эндотелия наносят полоску когезивного вискоэластического препарата (1% гиалуронат натрия), служащего для защиты эндотелиального слоя роговицы. Инжектор фиксируют за выемки-упоры корпуса большим и указательным пальцами одной руки хирурга, в то время второй рукой в канал

наконечника заводят пинцет, который проходит через канал наконечника и воронки, попадая браншей в борозду, после чего трансплантат захватывают браншами пинцета и протягивают внутрь канала воронки и наконечника, трансплантат протягивают по каналу до того момента, пока края трансплантата не будут видны у скошенной части наконечника (рисунок 1).

При протягивании трансплантата через глайд типа Бузина, на поверхность эндотелия и в воронку глайда наносится полоска когезивного вискоэластического препарата (1% гиалуронат натрия) для защиты эндотелиального слоя роговицы, после чего трансплантат захватывают браншами пинцета и протягивают внутрь канала воронки, до тех пор, пока края трансплантата не будут видны у скошенной части наконечника (рисунок 1, Б-Г).



А – Опытная группа (экспериментальная модель инжектор-глайда),

Б – Контрольная группа (глайд Бузина),

В, Г – Общий вид скрученного трансплантата после прохождения через устройства для имплантации

Рисунок 1 – Техника протаскивания трансплантата

2.2.4. Экспериментальное моделирование технологии имплантации ультратонкого заднего послойного трансплантата

На данном этапе исследования проводили имплантацию ультратонких задних послойных трансплантатов в кадаверные донорские глаза (показатель трансплантабельности по С.А. Борзенку – «ЗС»), (n=5). Технология имплантации представлена ниже. Визуально оценивали особенности скручивания и прохождение трансплантатов через инжектор-глайд собственной разработки, а также стабильность передней камеры донорского глаза.

Технология имплантации донорского ультратонкого трансплантата в переднюю камеру донорского глаза в эксперименте

На роговице реципиента выполняют десцеметорексис в стандартной технике, формируется 4,0-5,5 мм туннельный роговичный или склеро-роговичный разрез в который вставляют наконечник инжектора 10 и заводят его на 0,5 мм вглубь передней камеры в условиях постоянного поддержания объема передней камеры (высота бутылки 50 мм вод. ст.) ирригационным потоком, пинцетом, введенным через парацентез роговицы, противоположный основному разрезу, трансплантат захватывают через паз, затягивают в переднюю камеру глаза пациента и фиксируют к задним слоям собственной роговицы пузырьком воздуха или газо-воздушной смеси. Операционные раны герметизируют наложением узловых швов (шёлк 10-0).

2.3. Материалы и методы клинической части исследования

В данной разделе представлена общая характеристика двух клинических групп пациентов. Исследование представляет собой сравнительный анализ данных клинико-функциональных исследований и результатов хирургического лечения 58 пациентов (58 глаз) с диагнозом дистрофия роговицы Фукса (ДФ), псевдофакичная буллезная кератопатия (ПБК) и болезнь сквозного трансплантата по причине дисфункции эндотелия роговицы (БТ). При двусторонней патологии выбирали глаза, худшие по остроте зрения. Всем пациентам была выполнена ФЛ-ЗПК или

одномоментная ФЛ-ЗПК с ФЭК+ИОЛ с применением ультратонких трансплантатов, заготовленных при помощи низкоэнергетического ФСЛ LDV Z8 (Ziemer, Швейцария). Вошедшие в исследование пациенты, обратились в головную организацию ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России в период с 2019 по 2022 годы. Все представленные операции были выполнены одним хирургом (член-корр. РАН, д.м.н., зам. генерального директора по научной работе ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, профессор Малюгин Б.Э.) Сбор жалоб, анамнеза, проведение и анализ результатов дооперационных и послеоперационных исследований выполнены автором.

Критерии включения пациентов в исследование:

- наличие эндотелиальной дистрофии роговицы развитой и далеко зашедшей стадий определяли по Волкову-Дронову (1978), которая также применима к первичной дистрофии роговицы Фукса и отражает поражение и вовлечение основных тканевых структур роговицы пациента.

Развитая стадия характеризуется стойким отеком стромы и эндотелия, складки ДМ. Центральная толщина роговицы (ЦТР) по данным пахиметрии >640 мкм. Далекозашедшая характеризуется выраженным диффузным отеком стромы с выходом жидкости под эпителий и формированием так называемых булл. ЦТР может быть от 700 до 1010 мкм.

- для групп 1А и 2А критерием включения служило дополнительное наличие возрастной катаракты;
- наличие БТ, вызванной эндотелиальной дисфункцией сквозного трансплантата;
- наличие информированного согласия пациента на участие в исследовании, согласие на хирургическое лечение и обследования.

Пациенты с выраженным роговичным синдромом до операции получали консервативное лечение в виде корнепротекторов и временного ношения мягкой контактной линзы.

Критерии исключения пациентов (общие и офтальмологические):

- наличие сопутствующей офтальмологической патологии: далеко зашедшая или терминальная стадии глаукомы, оперированная глаукома, амблиопия высокой степени, рубцовая форма возрастной макулярной дистрофии (ВМД), отслойка сетчатки, первичная и вторичная атрофии зрительного нерва;
- наличие выраженных фиброзных изменений в строме роговицы;
- недостаточность иридохрусталиковой диафрагмы;
- тяжелое общесоматическое состояние пациента, не позволяющее проводить лечение;
- добровольный отказ пациента от участия в исследовании.

**2.3.1. Характеристика пациентов основной группы 1 (с
вископротекцией эндотелия)**

В данную группу вошли пациенты с ДФ, ПБК и БТ. Распределение пациентов осуществлялось по выбранной тактике хирургического лечения. Группу 1А составили пациенты, которым была выполнена одномоментная ФЛ-ЗПК с ФЭК+ИОЛ (таблица 3). Группу 1Б составили пациенты, которым была выполнена одномоментная ФЛ-ЗПК (таблица 4).

Таблица 3 – Характеристика пациентов по половому и возрастному составу в группе 1А

Параметр	Показатели
Пациенты (глаза)	9 (9)
Возраст, лет М±σ	54±19
Пол, муж/жен %	78/22

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

Параметр	Показатели
Пациенты (глаза)	22 (22)
Возраст, лет $M \pm \sigma$	68 \pm 16
Пол, муж/жен %	68/32

2.3.2. Характеристика пациентов контрольной группы 2 без вископротекции эндотелия роговичного трансплантата

В данную группу вошли пациенты с ДФ, ПБК и БТ. Распределение пациентов осуществлялось по выбранной тактике хирургического лечения. Группу 2А составили пациенты, которым была выполнена одномоментная ФЛ-ЗПК с ФЭК+ИОЛ (таблица 5). Группу 2Б составили пациенты, которым была выполнена одномоментная ФЛ-ЗПК (таблица 6).

Таблица 5 – Характеристика пациентов по половому и возрастному составу в группе 2А

Параметр	Показатели
Пациенты (глаза)	6 (6)
Возраст, лет $M \pm \sigma$	54 \pm 12
Пол, муж/жен %	83/17

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

Параметр	Показатели
Пациенты (глаза)	21 (21)
Возраст, лет $M \pm \sigma$	68 \pm 7
Пол, муж/жен %	57/43

2.3.1. Клинико-функциональные методы обследования

Всем пациентам, включенным в исследование, было проведено до- и послеоперационное офтальмологическое обследование, включающее: биомикроскопию переднего отрезка глазного яблока, проверку остроты зрения без коррекции и с коррекцией, авторефрактометрию, тонометрию, биометрию, периметрию, ультразвуковое исследование заднего отрезка, ОКТ-переднего отрезка глазного яблока (пахиметрическая карта, сагиттальный срез), подсчет плотности эндотелиальных клеток (ПЭК), офтальмоскопию глазного дна, фоторегистрацию глаз.

Стандартные офтальмологические исследования:

1. **Биомикроскопию переднего отрезка глаза** проводили с использованием щелевой лампы модели SL-30 фирмы «Opton» (Германия). В первую очередь оценивали состояние придаточного аппарата глаз, отсутствие лагофтальма и деформации краев век. Далее производили оценку переднего отрезка глазного яблока, при осмотре роговицы наблюдались признаки дисфункции эндотелия такие как: множественные или сливные гутты, буллез и неравномерность эпителия, отечность роговицы, диффузный стромальный отек, утолщенный срез и неравномерность в виде складок ДМ. Далее оценивали глубину и равномерность передней камеры, состояние угла, целостности пигментной каймы зрачка, наличие колобом, состояние хрусталика (степень помутнения, локализацию, состояние связочного аппарата), в случае артефакции обращали внимание на целостность и положение ИОЛ, состояние задней капсулы, место фиксации.

2. **Визометрию** проводили с использованием проектора опто типов SZP 350 Zeiss (Германия) и набора очковых линз (MSD, Италия), в стандартных условиях, для достижения максимальной коррекции линзы подбирали эмпирически.

3. **Авторефраткметрию** выполняли на аппарате RC-5000 фирмы «Tomey» (Япония) в естественных условиях, погрешность измерения прибора составляет $\pm 0,25$ дптр.

4. **Тонometriю** выполняли на пневмотонометре фирмы «Торсон» (Япония) и контактным методом с помощью аппланационного тонометра Маклакова под местной анестезией раствором алкаина. При необходимости проводили тонографию.

5. **Ультразвуковое А- и В-сканирование** осуществили на аппарате «SONOMED» (США). Измерили следующие параметры: глубину передней камеры, толщину хрусталика, величину переднезадней оси глазного яблока. В ходе исследования исключали наличие гемофтальма, отслойки сетчатки и внутриглазных новообразований.

6. **Периметрию** проводили на проекционном периметре АППЗ-01 (Россия) по общепринятой методике с использованием объектов белого цвета разной величины и яркости в зависимости от исходной остроты зрения.

7. **ОКТ переднего отрезка глазного яблока** выполняли с помощью томографа Avanti xR (Optovue Inc., Fremont, California, USA) с длиной волны 1300 нм. Применяли панорамное сканирование переднего сегмента глаза размером 16х6мм и сканирование роговицы в зоне разреза с высоким разрешением размером 10х3 мм, частота сканирования 256 А-сканов в одном поперечном срезе, время получения одного снимка 0,125 сек. Данное исследование выполнялось всем пациентам как в дооперационном так и в послеоперационном периоде, при этом оценивалась толщина роговицы в центральной 3 мм зоне в режиме Pachymetry, сканирование роговицы в горизонтальном и вертикальном срезе в режимах Line и Cross-Line позволяло оценить наличие булл, выраженность помутнений и отека роговицы. После проведенного лечения оценивали адаптированность краев и прилегание центральную часть трансплантата, путем ручного измерения толщины трансплантата в центральной части роговицы в режиме Line.

8. **Подсчет плотности эндотелиальных клеток** и оценку динамики проводили на всех сроках наблюдения (до, 3, 6 и 12 месяцев) в центральной зоне и автоматическом режиме с помощью эндотелиального микроскопа Tomey EM-3000 (Япония).

9. **Расчет ИОЛ** выполняли с использованием IOL Master 700 (Carl Zeiss, Meditec, США). В случае невозможности определения данных по длине переднезадней оси глаза расчет ИОЛ выполняли по данным, полученным после проведения ультразвукового А-сканирования. При длине глаза была менее 22 мм, расчет ИОЛ осуществляли по формуле Hoffer Q, во всех остальных случаях использовали SRK/T. Учитывая вероятность наличия гиперметропического сдвига рефракции, расчет проводили с учетом сдвига в 1,5 дптр.

10. **Офтальмоскопию глазного дна** выполняли при достаточной прозрачности оптических сред переднего отрезка глаза с помощью линзы «Volk» 90 дптр фирмы «Volk Optical» (США), при этом оценивали состояние диска зрительного нерва, цвет, границы, форму и глубину экскавации, состояние макулярной зоны, калибр и ход сосудов глазного дна, макулярный рефлекс.

11. **Фоторегистрацию глаз пациентов** осуществляли при помощи фотощелевой лампы Haag-Streit BQ-900 (Швейцария).

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

2.4. Статистическая обработка данных

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Statistica 10 («StatSoft», США) и Microsoft Office Excel 2016 («Microsoft», США). Характер распределения данных оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Данные представлены в формате Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 и Q3 – нижний и верхний квартили соответственно, а также в виде $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD (Standard Deviation) – стандартное отклонение. Сравнение значений до и после операции проводили с использованием критерия Вилкоксона. Сравнение данных между группами проводили с использованием U-критерия Манна-Уитни или t-критерия Стьюдента для независимых выборок (в зависимости от характера распределения данных). Сравнение качественных признаков проводили с применением критерия Хи-квадрат. Статистически значимым принимали уровень достоверности (p) менее 0,05 ($p < 0,05$).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Данная глава посвящена результатам экспериментальных исследований и разделена на 4 подраздела.

Первый посвящен результатам отбора вискоэластического раствора для этапа заготовки заднего послойного трансплантата.

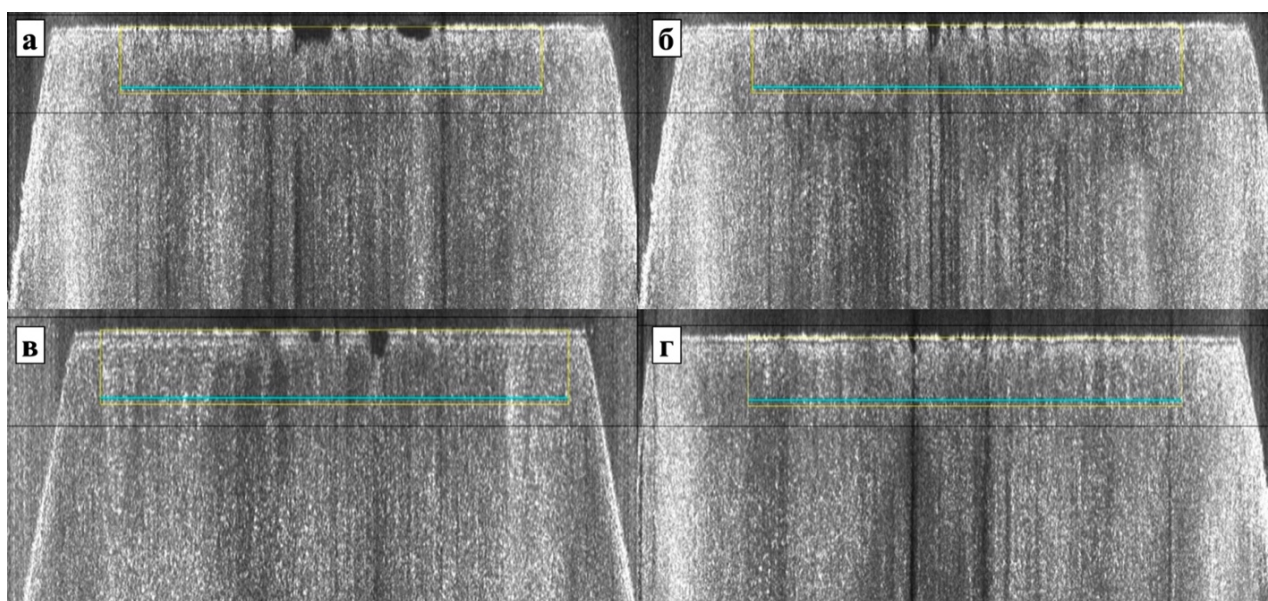
Во втором представлены результаты исследования жизнеспособности и морфологических особенностей трансплантатов из двух групп, сформированных с помощью ФСЛ с и без использования вископротекции эндотелия на этапе аппланации. Задачей данного эксперимента явилось изучить в сравнительном аспекте на КСД свиных роговицах: равномерность интерфейса в момент аппланации по данным ОКТ ФСЛ; относительную потерю ЭК с помощью ТС; жизнеспособность задних послойных трансплантатов и произвести подсчет потери ЭК; оценить снимки выполненные на СЭМ.

Целью третьего подраздела стали разработка и изготовление экспериментального образца устройства для имплантации заднего послойного трансплантата в ходе ЗПК, способствующего сохранению ЭК и удобству имплантации трансплантата в переднюю камеру роговицы реципиента; в подразделе также описана и проанализирована экспериментальная работа, направленная на сравнительное изучение жизнеспособности ЭК при имплантации ультратонкого трансплантата для ФЛ-ЗПК через предложенный инжектор-глайд и традиционно используемый глайд Бузина.

Четвертый подраздел посвящен экспериментальному моделированию технологии имплантации ультратонкого заднего послойного трансплантата в переднюю камеру донорского глаза с помощью инжектора-глайда собственной разработки.

3.1. Результаты отбора раствора вискоэластика для этапа заготовки заднего послойного трансплантата с помощью ФСЛ

По данным ОКТ ФСЛ, после использования Провиск® / Provisc® (Alcon), Вискот® / Viscoat® (Alcon), Осуcoat® (Bausch & Lomb) отмечалась неравномерность распределения ВЭ на поверхности эндотелия, которая приводила к множественной складчатости роговицы и ее неровностям в интерфейсе лазера на этапе аппланации. При использовании 2% ГПМЦ отечественного производства были отмечены единичные неравномерные скопления ВЭ в интерфейсе (рисунок 2). Однако, после использования ВЭ пониженной концентрации – 1 % ГПМЦ была отмечена равномерность распределение ВЭ по поверхности роговицы и непрерывность профиля аппланации по данным ОКТ ФСЛ (рисунок 3).



А – Provisc® (Alcon, США)

Б – Viscoat® (Alcon, США)

В – Осуcoat® (Bausch & Lomb, США)

Г – 2% ГПМЦ «Визитон-ПЭГ» (ООО «НЭП Микрохирургии глаза», РФ)

Рисунок 2 – Снимки ОКТ, интегрированного в ФСЛ в момент аппланации донорской роговицы с нанесенным ВЭ

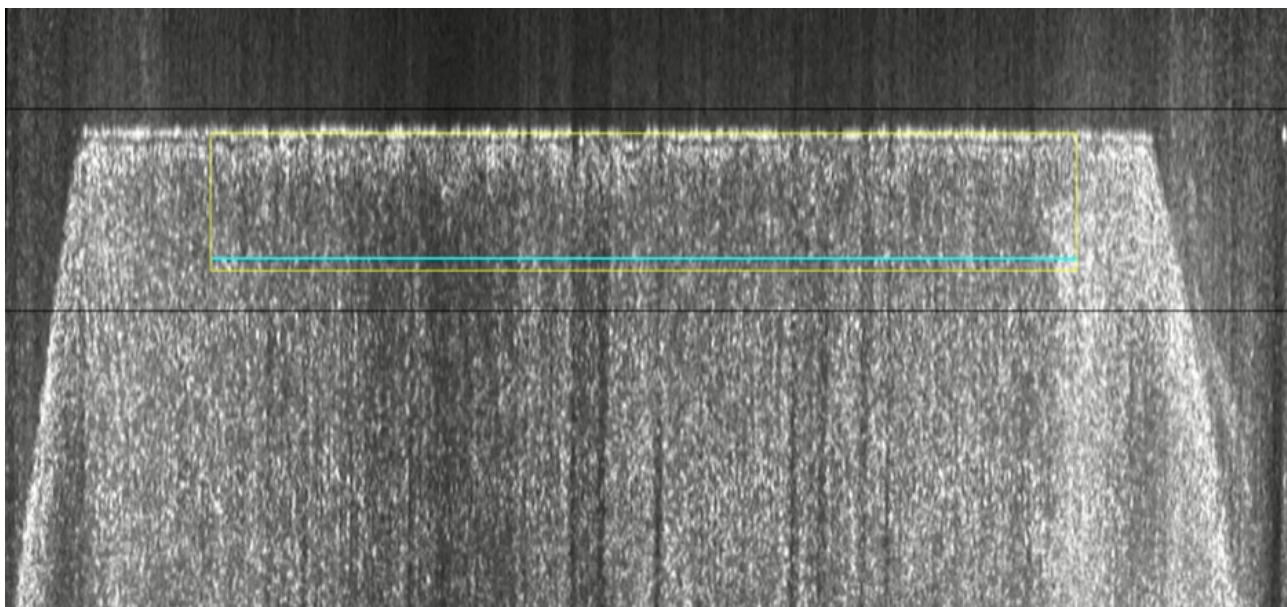


Рисунок 3 – Снимок ОКТ, интегрированного в ФСЛ в момент аппланации донорской роговицы с нанесенным 1% ГПМЦ (ООО «НЭП Микрохирургии глаза», РФ)

В итоге основываясь на указанном этапе отбора ВЭ для проведения данной экспериментальной и клинической работы был выбран «Визитон-ПЭГ», представляющий собой 1% раствор гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ) (ТУ 9398-008-29039336-2009, ООО «НЭП Микрохирургии глаза», РФ), который представляет собой дисперсивный, изотонический, апиrogenный, вязкоупругий, высокоочищенный гипоаллергенный раствор. 1% ГПМЦ широко используется в хирургии катаракты и глаукомы и достаточно легко удаляется с поверхности ткани. Вискоэластик 1% р-р ГПМЦ при выкраивании и аппланации роговицы в ходе ЗПК, показал наиболее оптимальные результаты по вязкости, толщине и степени стекания с поверхности роговицы, заполнения неравномерностей интерфейса при аппланации в сравнении с другими вышеперечисленными ВЭ (таблица 2).

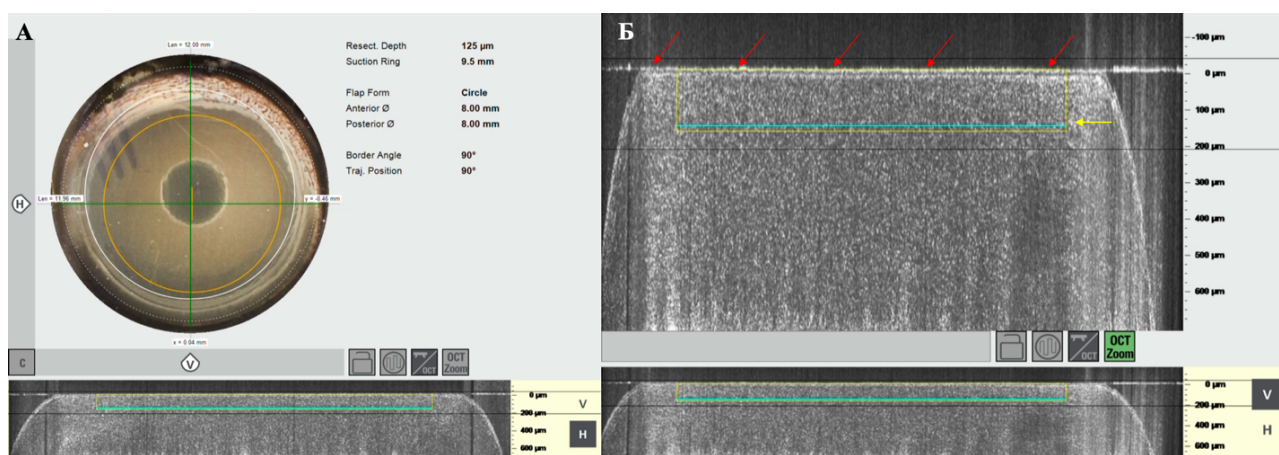


Рисунок 4 – Общий вид упаковки «Визитон ПЭГ» 1% раствора ГПМЦ, используемого для защиты клеток эндотелия при аппланации с ФСЛ

3.2. Результаты изучения жизнеспособности и морфологических особенностей ультратонкого заднего послойного трансплантата, заготовленного ФСЛ по двум технологиям

3.2.1. Результаты оценки аппланации по данным ОКТ ФСЛ

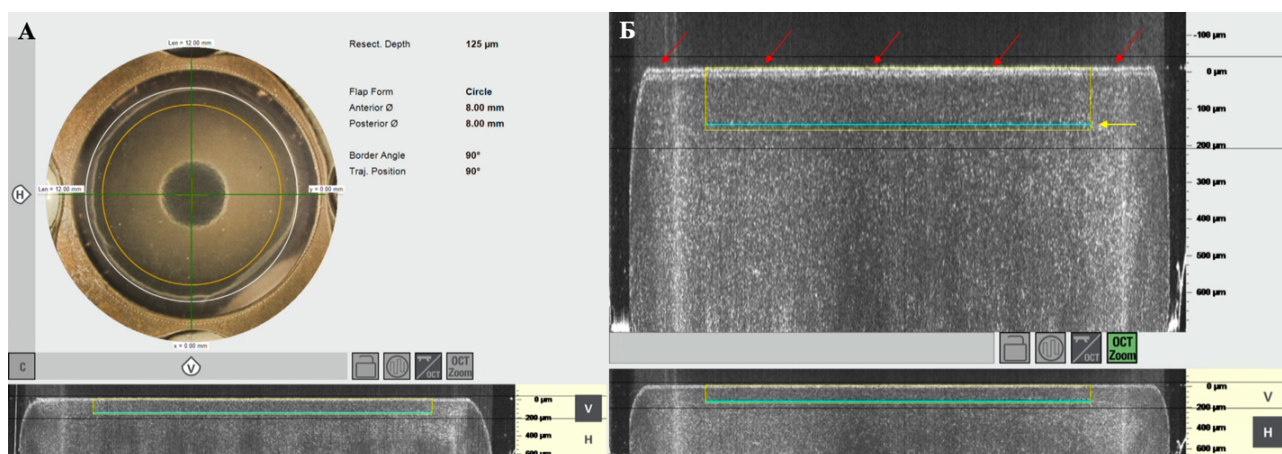
По данным ОКТ ФСЛ во время аппланации во всех образцах опытной и контрольной групп отмечался ровный непрерывный профиль зоны контакта между головкой лазерного интерфейса и клетками эндотелия (рисунки 5-6).



А – параметры лазерного реза и горизонтальный снимок ОКТ,

Б – вертикальный снимок ОКТ

Рисунок 5 – Снимок экрана лазера с интегрированным ОКТ в момент аппланации ксенороговицы опытной группы с нанесенным 1% ГПМЦ перед непосредственной аппланацией



А – параметры лазерного реза и вертикальный снимок ОКТ,

Б – вертикальный снимок ОКТ

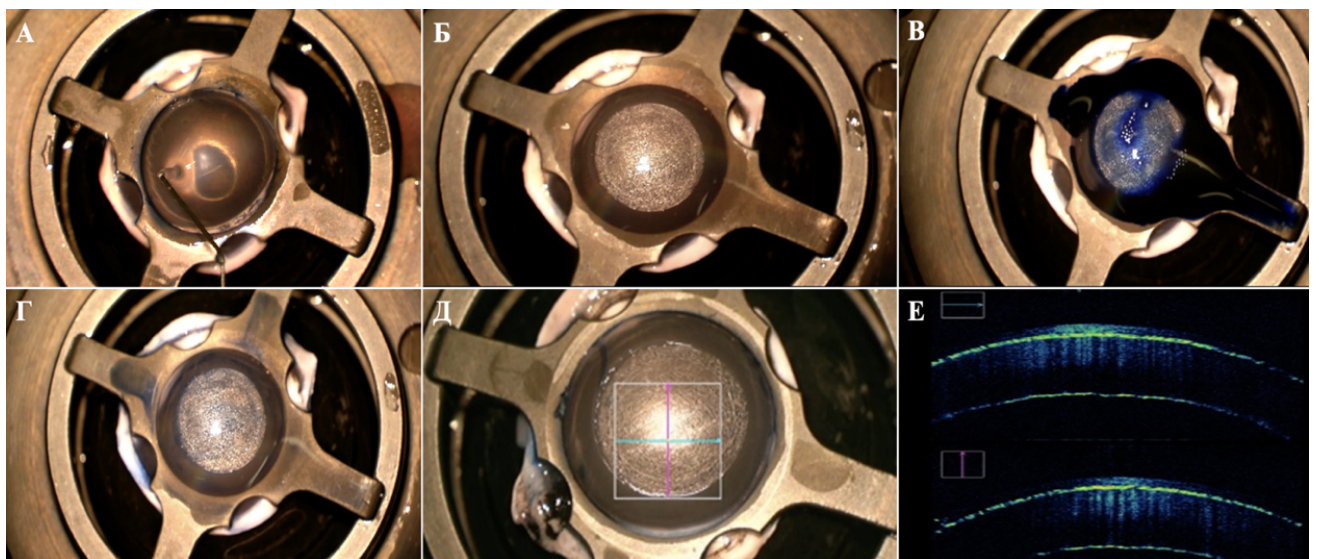
Рисунок 6 – Снимок экрана лазера с интегрированным ОКТ в момент аппланации ксенороговицы контрольной группы без предварительной защиты эндотелия

Также не выявляли складок эндотелия и стромы роговицы. Существенных различий между группами выявлено не было. На снимках виден плоский интерфейс роговицы и непрерывный плотный контакт эндотелиальной стороны

донорской роговицы с лазером (указано красными стрелками), уровень горизонтального реза изображен также отмечен желтой стрелкой (рисунки 5-6).

3.2.2. Результаты оценки относительной потери плотности ЭК после заготовки заднего послойного трансплантата ФСЛ

Использование ТС для исследования относительной потери плотности ЭК после выкраивания трансплантата также не показало визуальных отличий в опытной и контрольных группах. После работы лазера визуализировался ровный ламеллярный разрез ФСЛ. На интраоперационном ОКТ в группах визуализировали состоятельный и непрерывный горизонтальный лазерный разрез, который был параллелен относительно эндотелиальной поверхности трансплантата (рисунки 7-8). Существенных различий между группами выявлено не было.



А – нанесение 1% вискоэластика перед аппланацией,

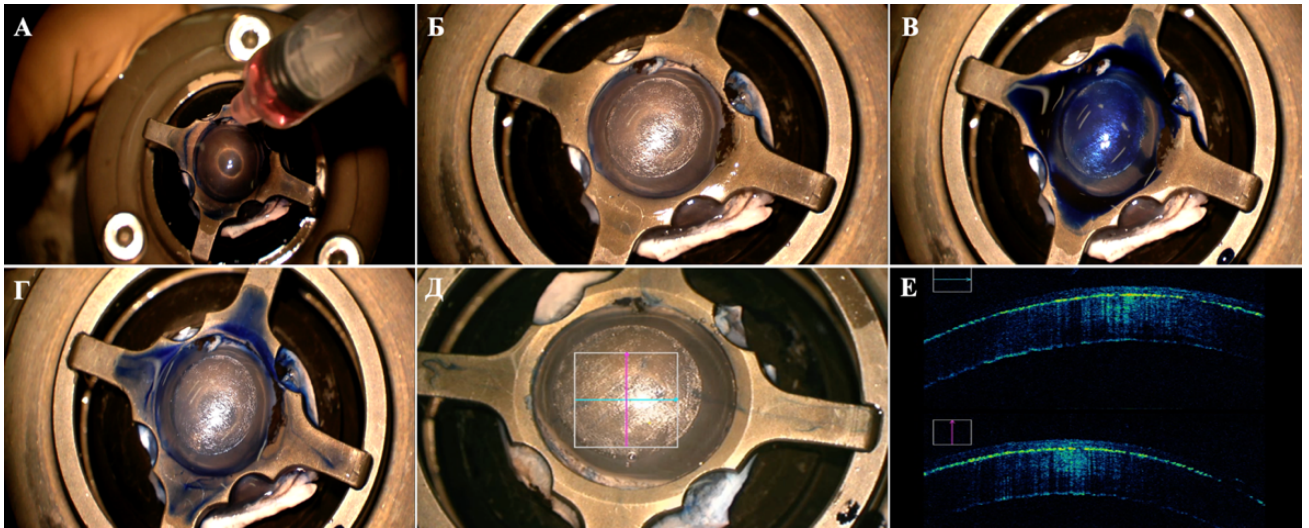
Б – вид после фемтодиссекции,

В – окрашивании трансплантата трипановым синим,

Г – регистрация слабой степени окрашивания эндотелия после смыва красителя,

Д, Е – сопоставление общего вида трансплантата с интраоперационным ОКТ микроскопа

Рисунок 7. Общий вид трансплантата для ЗПК в основной группе



А – нанесение пары капель среды для хранения роговицы перед аппланацией на эндотелий,

Б – вид после фемтодиссекции,

В – окрашивании трансплантата трипановым синим,

Г – регистрация слабой степени окрашивания эндотелия после смыва красителя,

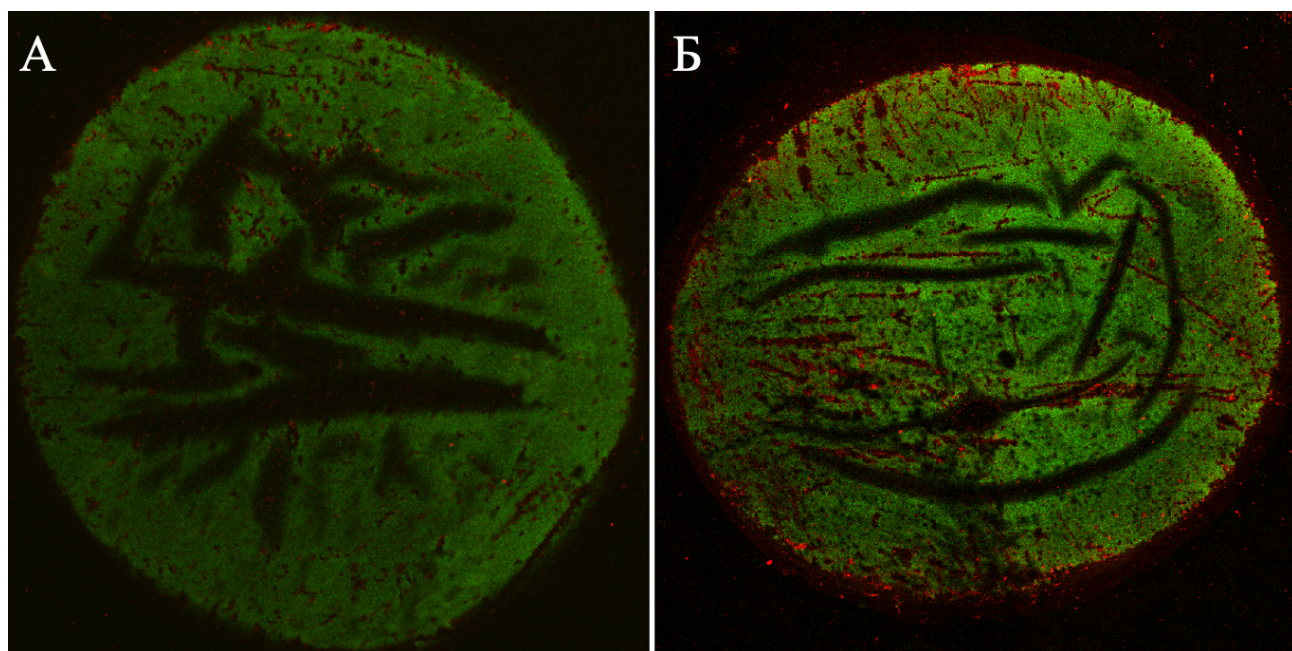
Д, Е – сопоставление общего вида трансплантата с интраоперационным ОКТ микроскопа

Рисунок 8. Общий вид трансплантата для ЗПК в контрольной группе

3.2.3. Результаты сравнительного анализа оценки жизнеспособности клеток трансплантата в исследуемых группах

По данным конфокальной микроскопии общее количество ЭК в основной и контрольной группах составляло 3945 ± 213 кл/мм² и 3542 ± 138 кл/мм² соответственно (рисунок 9).

Плотность живых ЭК в основной группе была статистически значимо больше 3477 кл/мм² (3426; 3719), чем в контрольной группе 2854 кл/мм² (2819; 2879) ($p < 0,001$, критерий Манна-Уитни) (таблица 7, рисунок 10). В то время как плотность мертвых ЭК наоборот в основной группе статистически значимо меньше 402 кл/мм² (366; 427), чем в контрольной 710 кл/мм² (649; 728) ($p < 0,001$, критерий Манна-Уитни).



А – опытная группа,

Б – контрольная группа

Рисунок 9 – Снимки лазерной сканирующей микроскопии эндотелиальной поверхности трансплантата, флуоресцентный метод анализа, увеличение x20, зеленые клетки – живые, красные – мертвые

Таблица 7 – Плотность эндотелиальных клеток в основной и контрольной группах в эксперименте (кл/мм²)

Показатель	Основная группа, кл/мм ²			Контрольная группа, кл/мм ²		
	Живые клетки	Мертвые клетки	Всего клеток	Живые клетки	Мертвые клетки	Всего клеток
Me	3477	402	3863	2854	710	3570
Q1	3426	366	3801	2819	649	3486
Q3	3719	427	4044	2879	728	3613
Min	3349	224	3741	2643	616	3272
Max	3934	440	4374	3070	775	3797

Примечание: различие между группами статистически значимо ($p < 0,001$, критерий Манна-Уитни).

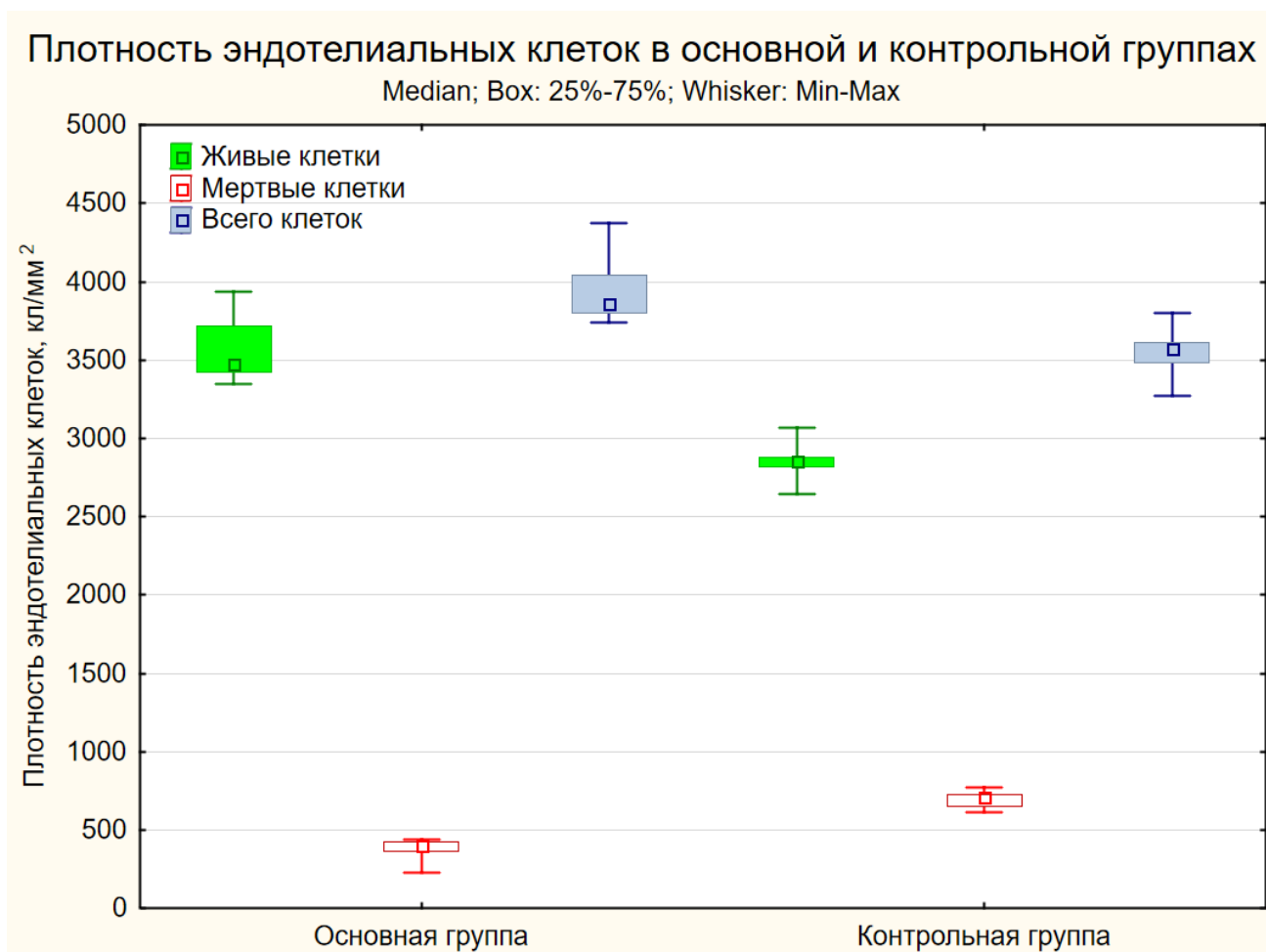


Рисунок 10 – График плотности эндотелиальных клеток в основной и контрольной группах

При изучении повреждающего воздействия лазерного излучения на кератоциты трансплантата в момент выкраивания было установлено, что в основной группе выявлено статистически значимо большее количество живых клеток на глубине от 0 мкм (соответствует глубине горизонтального фемтолазерного разреза) – 39 (36; 53) кл/мм², 13 мкм – 150 (143; 159,5) кл/мм², до 26 мкм – 309 (249; 310,5) кл/мм² включительно, чем в контрольной ($p < 0,05$) (таблица 8, рисунок 11).

Таблица 8 – Количество живых кератоцитов в основной и контрольной группах (Me (Q1; Q3))

Глубина, мкм	Основная группа, кл/мм ²	Контрольная группа, кл/мм ²	p-level
0	39 (36; 53)	0 (0; 0)	p<0,05
13	150 (143; 159,5)	33 (30,5; 61)	p<0,05
26	309 (249; 310,5)	167 (162,5; 179)	p<0,05
39	367 (309; 371)	245 (237; 269,5)	p>0,05
52	388 (350,5; 390,5)	258 (244,5; 309,5)	p>0,05
65	397 (381,5; 404,5)	349 (345; 378)	p>0,05
78	411 (400; 415)	378 (378; 394,5)	p>0,05
91	422 (412; 424)	398 (389,5; 408,5)	p>0,05

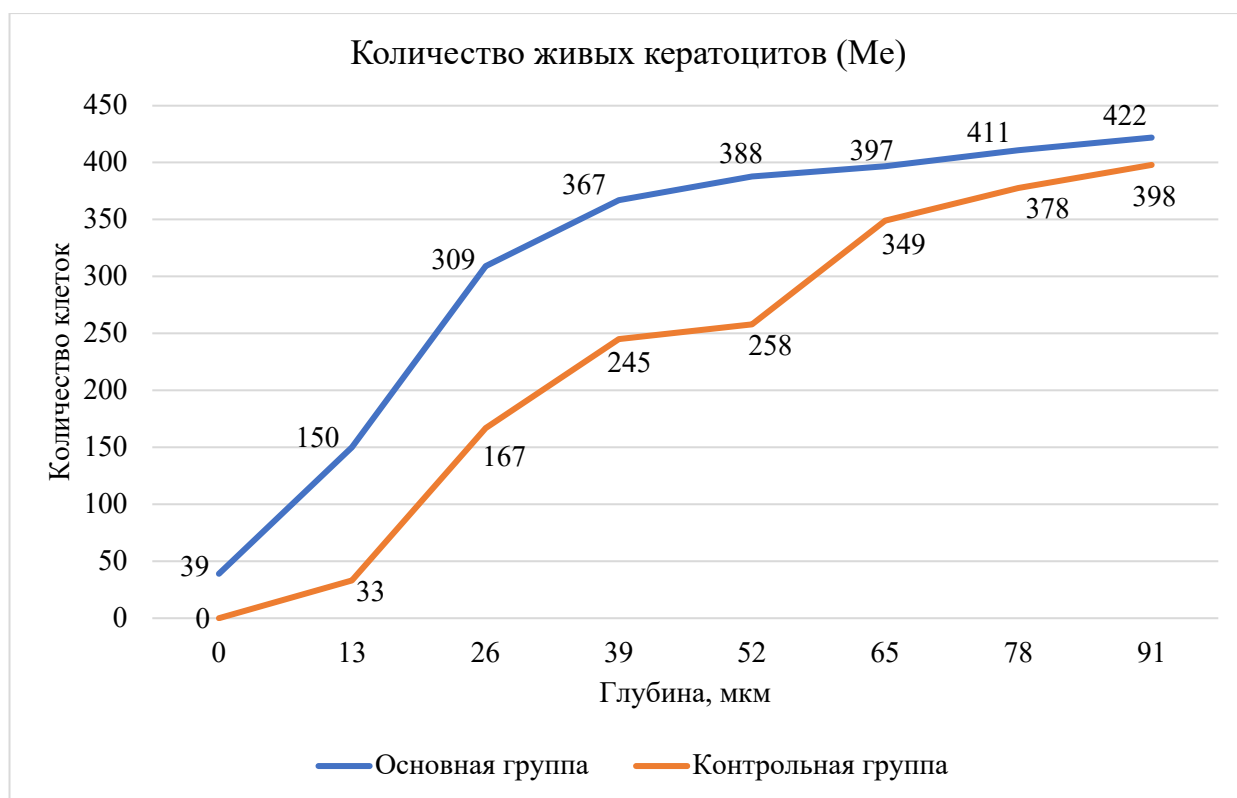


Рисунок 11 – График плотности мертвых кератоцитов на глубине от 0 до 91 мкм

Вместе с тем выявлено статистически значимо меньшее количество мертвых кератоцитов в основной группе на глубине от 0 мкм – 189 (171; 192) кл/мм², 13 мкм – 158 (154; 162,5) кл/мм², до 26 мкм – 131 (122,5; 144,5) кл/мм² включительно ($p < 0,05$), чем в контрольной на глубине от 0 мкм – 238 (220,5; 243,5) кл/мм², 13 мкм – 209 (183,5; 226) кл/мм², до 26 мкм – 169 (154; 195) кл/мм² включительно. (таблица 9, рисунок 12) Тем самым выявлено, что в группе с использованием ВЭ повреждение кератоцитов на глубине от 0 мкм (соответствует горизонтальному резу ФСЛ) до 26 мкм – меньше, чем в контрольной группе (рисунок 12).

Таблица 9 – Количество мертвых кератоцитов в основной и контрольной группах (Me (Q1; Q3))

Глубина, мкм	Основная группа, кл/мм ²	Контрольная группа, кл/мм ²	p-level
0	189 (171; 192)	238 (220,5; 243,5)	$p < 0,05$
13	158 (154; 162,5)	209 (183,5; 226)	$p < 0,05$
26	131 (122,5; 144,5)	169 (154; 195)	$p < 0,05$
39	128 (116,5; 129,5)	71 (56; 119,5)	$p > 0,05$
52	61 (54,5; 70,5)	45 (33; 70)	$p > 0,05$
65	37 (32,5; 48)	31 (22,5; 43,5)	$p > 0,05$
78	20 (17,5; 29)	15 (13; 16)	$p > 0,05$
91	9 (6; 23)	9 (6,5; 11,5)	$p > 0,05$

Соотношение живых и мертвых кератоцитов в основной и контрольной группах (%) (таблица 10), также демонстрирует, что в основной группе повреждение кератоцитов на нулевой глубине (количество мертвых клеток) составило 82,9%, на глубине 13 мкм 51,3% , 26 мкм 29,8% в сравнении с контрольной группой, где наблюдалось 100% повреждение клеток на глубине 0 мкм (рисунок 13).

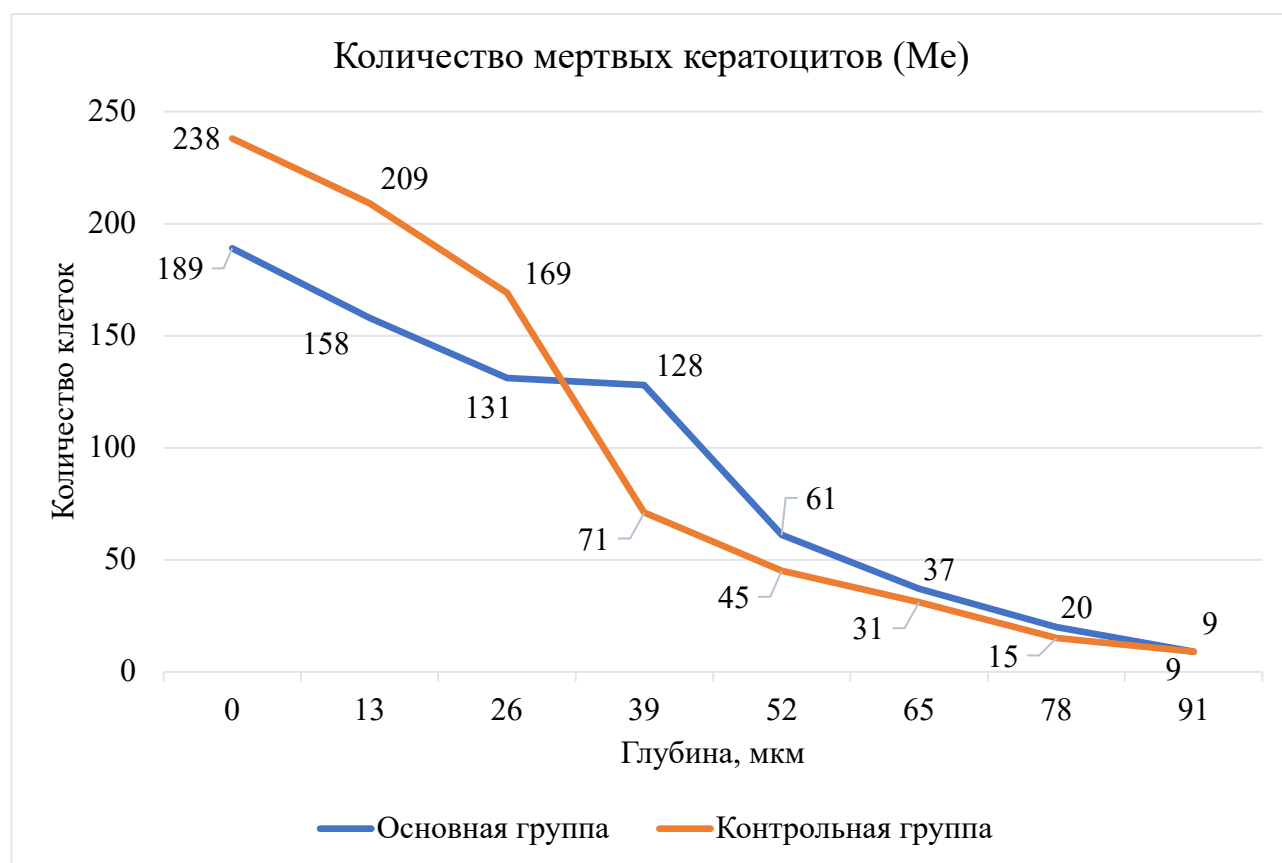


Рисунок 12 – Количество мертвых кератицитов в основной и контрольной группах

Таблица 10 – Соотношение живых и мертвых кератицитов в основной и контрольной группах (%)

Глубина, мкм	Основная группа		Контрольная группа	
	Живые	Мертвые	Живые	Мертвые
0	17,1	82,9	0,0	100,0
13	48,7	51,3	13,6	86,4
26	70,2	29,8	49,7	50,3
39	74,1	25,9	77,5	22,5
52	86,4	13,6	85,1	14,9
65	91,5	8,5	91,8	8,2
78	95,4	4,6	96,2	3,8
91	97,9	2,1	97,8	2,2

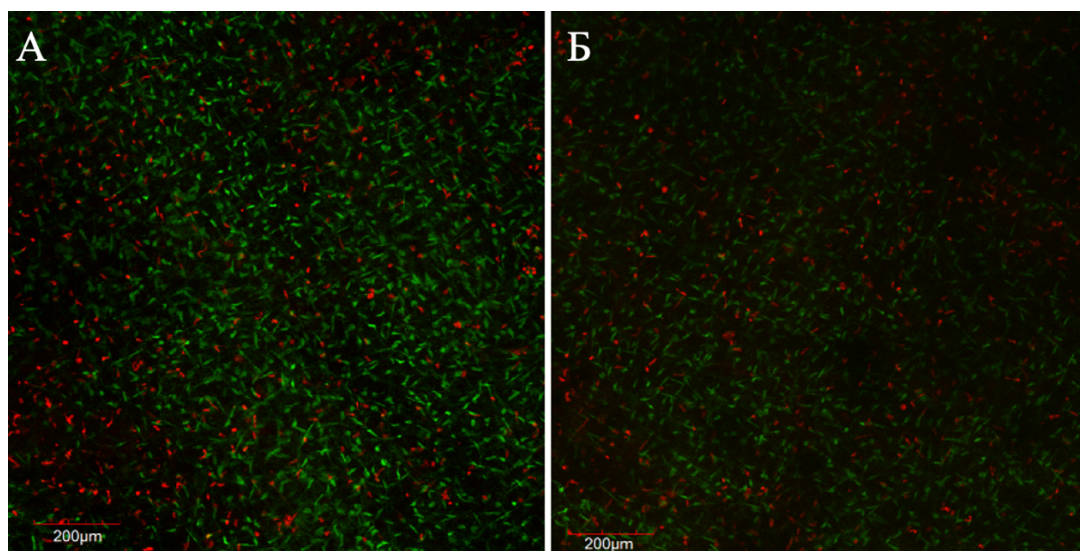
При изучении зависимости повреждающего воздействия лазерного реза на кератоциты в зависимости от расстояния выявлена статистически значимая положительная корреляционная связь между количеством живых кератоцитов и расстоянием, на котором они находятся от фемтолазерного реза как в основной, так и в контрольной группе (таблица 11). Вместе с тем, выявлена отрицательная корреляционная связь между количеством мертвых кератоцитов и расстоянием, на котором они находятся от фемтолазерного реза как в основной, так и в контрольной группах (таблица 11).

Таблица 11 – Зависимость повреждающего воздействия на кератоциты от расстояния (удаленности) фемтосекундного лазерного разреза

Группа	Тип клеток	Расстояние между кератоцитами и фемтолазерным резом	
		R - Спирмена	p-value
Основная группа	Живые	0,943	<0,001
	Мертвые	-0,952	<0,001
Контрольная группа	Живые	0,960	<0,001
	Мертвые	-0,933	<0,001

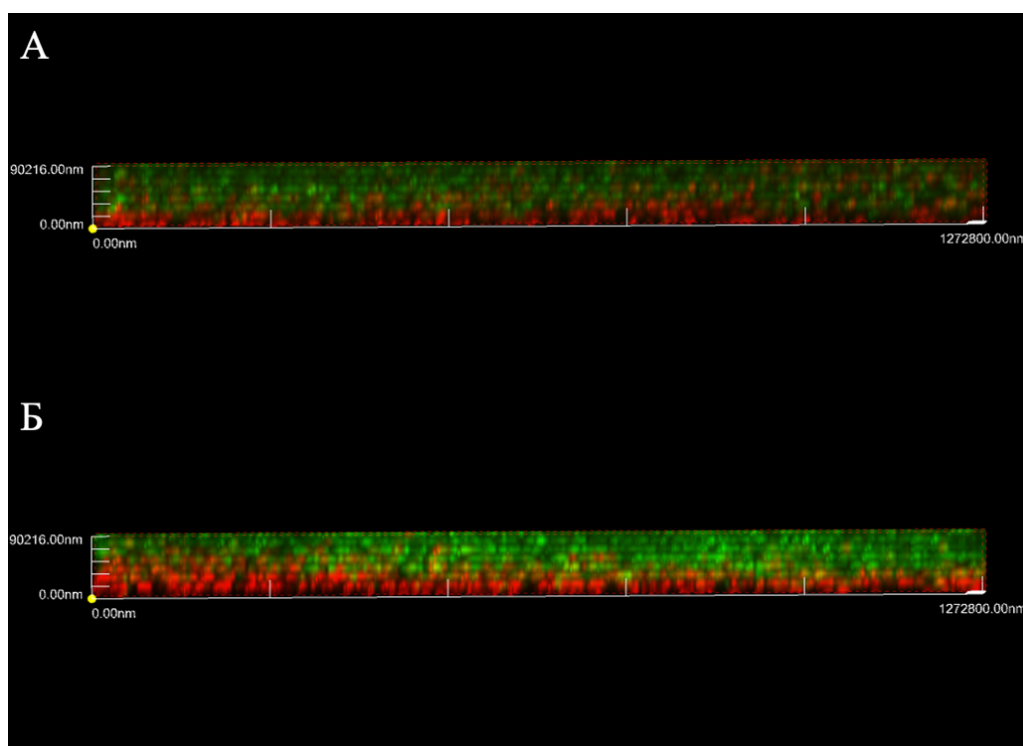
Глубже данные по жизнеспособности кератоцитов по результатам ЛСКМ были сопоставимы в обеих группах и достоверных отличий выявлено не было (рисунок 13).

При использовании 2D моделирования в конфокальном микроскопе были построены карты исследуемых образцов, которые наглядно показывают повреждения кератоцитов на различной глубине трансплантата (рисунок 14).



А – опытная группа, Б – контрольная группа

Рисунок 13 – Снимки лазерной сканирующей микроскопии эндотелиальной поверхности трансплантата, флуоресцентный метод анализа, увеличение x200, зеленые клетки – живые, красные – мертвые

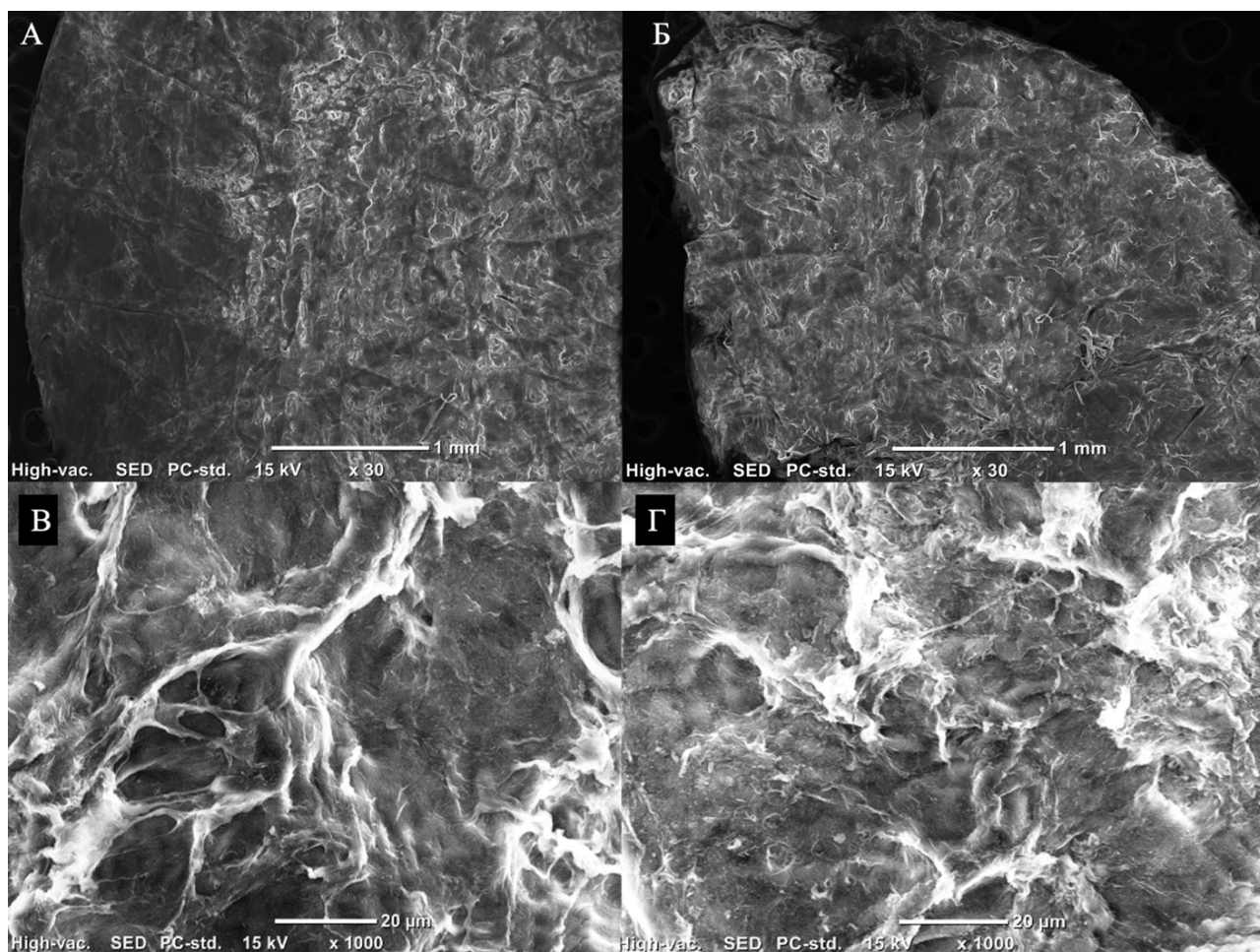


А – опытная группа, Б – контрольная группа

Рисунок 14 – Снимки 2D карты жизнеспособности кератоцитов трансплантата. Лазерная сканирующая микроскопия, флуоресцентный метод анализа, зеленые клетки – живые, красные – мертвые, увеличение x100, толщина карты 90 мкм

3.2.4. Результаты сканирующей электронной микроскопии образцов задних послойный трансплантатов, выкроенных по методике ФЛ-ЗПК

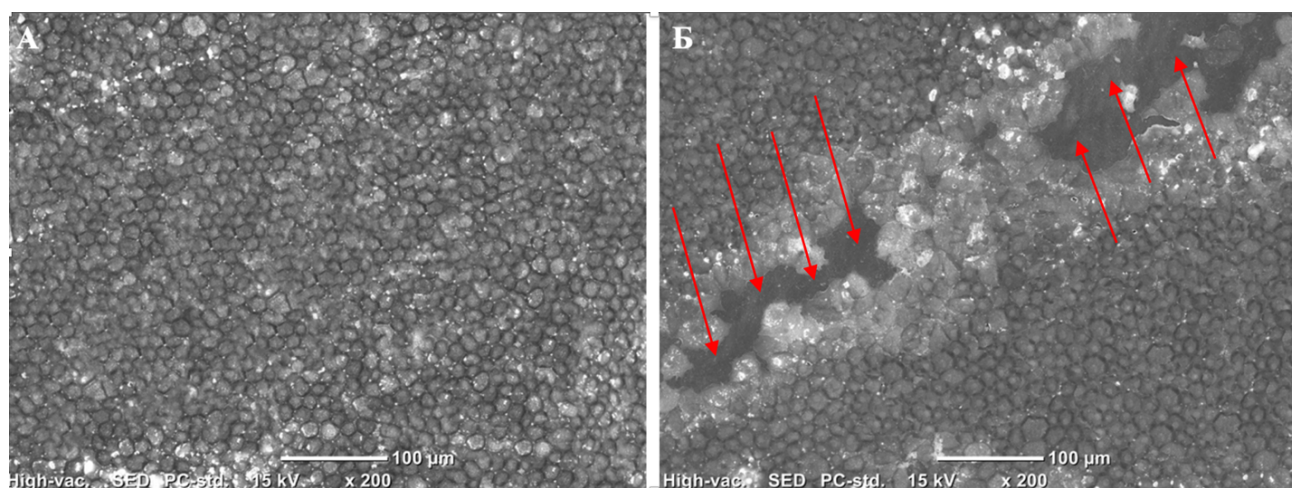
При анализе изображений СЭМ стромальной стороны трансплантата имелись незначительные единичные разволокнения стромы в обеих группах (рисунок 15).



- А – опытная группа стромальная сторона трансплантата, увеличение x30,
Б – контрольная группа стромальная сторона трансплантата, увеличение x30,
В – опытная группа, увеличение x1000,
Г – контрольная группа, увеличение x1000

Рисунок 15 – Снимки сканирующей электронной микроскопии трансплантатов исследуемых групп со стромальной поверхности роговицы

Результаты СЭМ эндотелиальной стороны трансплантата демонстрируют сохранение гексагональной формы ЭК трансплантата, имеются единичные клетки с утраченной целостностью клеточных мембран, что сопоставимо подтверждает результаты флуоресцентной сканирующей микроскопии живых и мертвых клеток (рисунок 16). В контрольной группе отмечали зоны оголения Десцеметовой мембраны, которые коррелировали с данными о меньшей плотности эндотелиальных клеток, полученных на предыдущем этапе исследования – лазерной сканирующей микроскопии эндотелиальной поверхности трансплантата.



А – опытная группа,

Б – контрольная группа (красные стрелки – зона оголенной Десцеметовой мембраны)

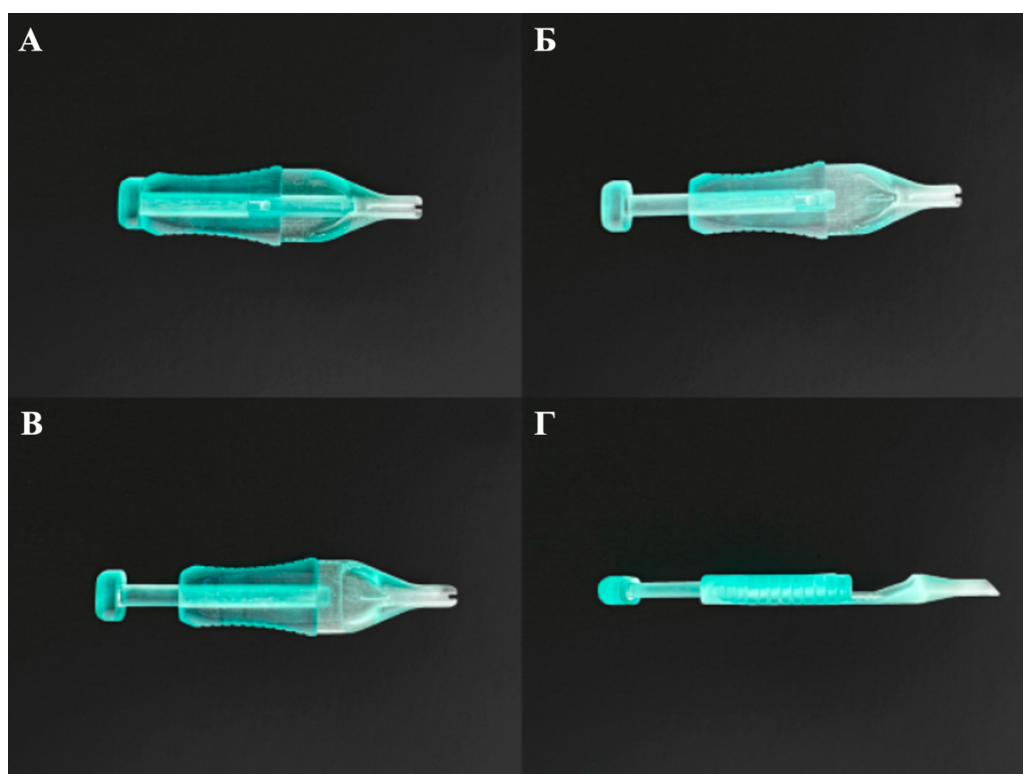
Рисунок 16 – Снимки сканирующей электронной микроскопии трансплантатов исследуемых групп с эндотелиальной поверхности

3.3. Результаты разработки экспериментального образца устройства для имплантации заднего послойного трансплантата и изучения жизнеспособности ЭК после использования предложенного инжектора-глайда

3.3.1. Описание нового модифицированного инжектора-глайда

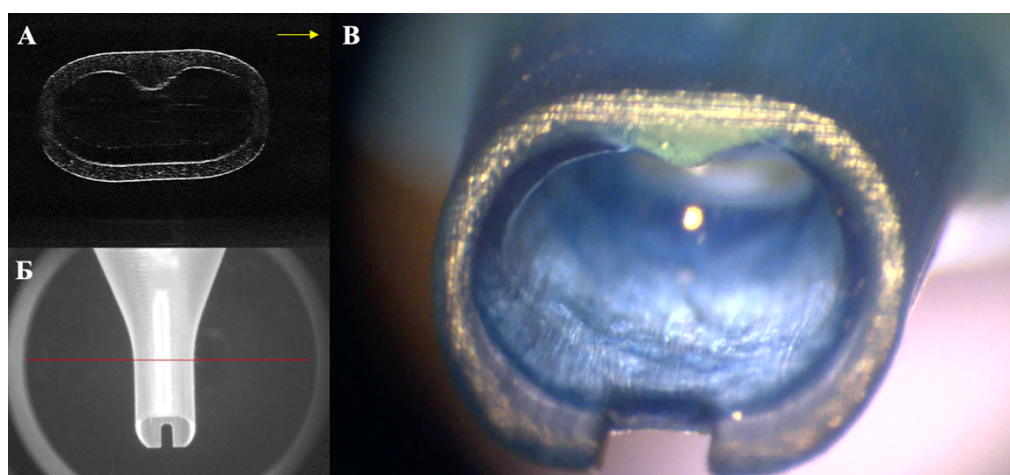
Созданию нового модифицированного инжектора-глайда послужило выявление в ходе операции значительных недостатков наиболее часто используемого в привычной практике глайда Бузина, а именно: непредсказуемость складывания и вероятность скручивания трансплантата при его проведении через воронку глайда, в результате чего может произойти слипание краев трансплантата; дестабилизация передней камеры глаза реципиента, ввиду того, что нарушается её герметичность вследствие создания обратного тока жидкости, при проведении трансплантата через глайд и далее - через основной разрез. Все это обуславливает излишнюю травматизацию трансплантата, что способствует потере ЭК и в дальнейшем снижает клинично-функциональные результаты.

Предлагаемый модифицированный инжектор-глайд был изобретен совместно с инженерами на базе экспериментально-технического производства «Микрохирургия глаза» (Филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России). Инжектор-глайд выполнен из биосовместимого медицинского полимера и состоит из корпуса, площадки для трансплантата и воронки с наконечником, внутри которых расположен сквозной канал. Внутри корпуса инжектора образована полость, проходящая от проксимального конца корпуса до площадки для трансплантата. На боковых сторонах корпуса имеются выемки-упоры, предназначенные для удобства фиксации инжектора большим и указательным пальцами руки (рисунки 17-18). Более подробное описание с детальными характеристиками представлено в патенте РФ № 2803860 от 21.09.2023.



А – вид спереди с задвинутым поршнем, Б – вид спереди, В – вид сзади, Г – вид сбоку

Рисунок 17 – Фото общего вида экспериментального образца модели инжектора-глайда

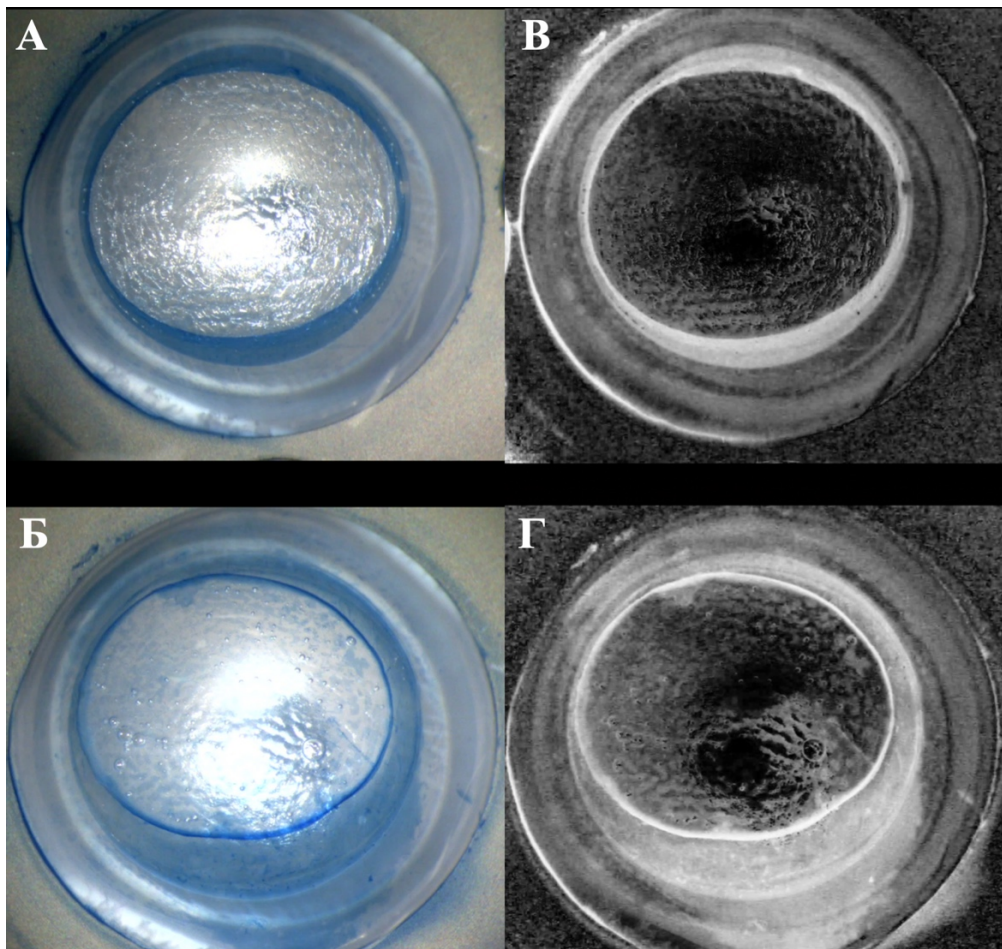


А, Б – оптическая когерентная томография горизонтального среза, выполненного через среднюю часть канала наконечника инжектора-глайда, В – форма просвета наконечника инжектора, с расположенным внутри ультратонким задним послойным трансплантатом

Рисунок 18 – Вид наконечника предложенного инжектора-глайда

3.3.2. Результаты изучения относительной потери ПЭК заднего послойного трансплантата после прохождения через различные устройства для имплантации

После выкраивания трансплантатов с помощью ФСЛ и окрашивании эндотелия клеток ТС в основной группе 1 (с использованием нового модифицированного инжектора) площадь окрашивания нежизнеспособных клеток составила $15,07 \pm 2,27\%$, после прохождения трансплантата через инжектор $17,32 \pm 1,41\%$.



А – окрашенный трансплантат ТС после выкраивания ФСЛ,

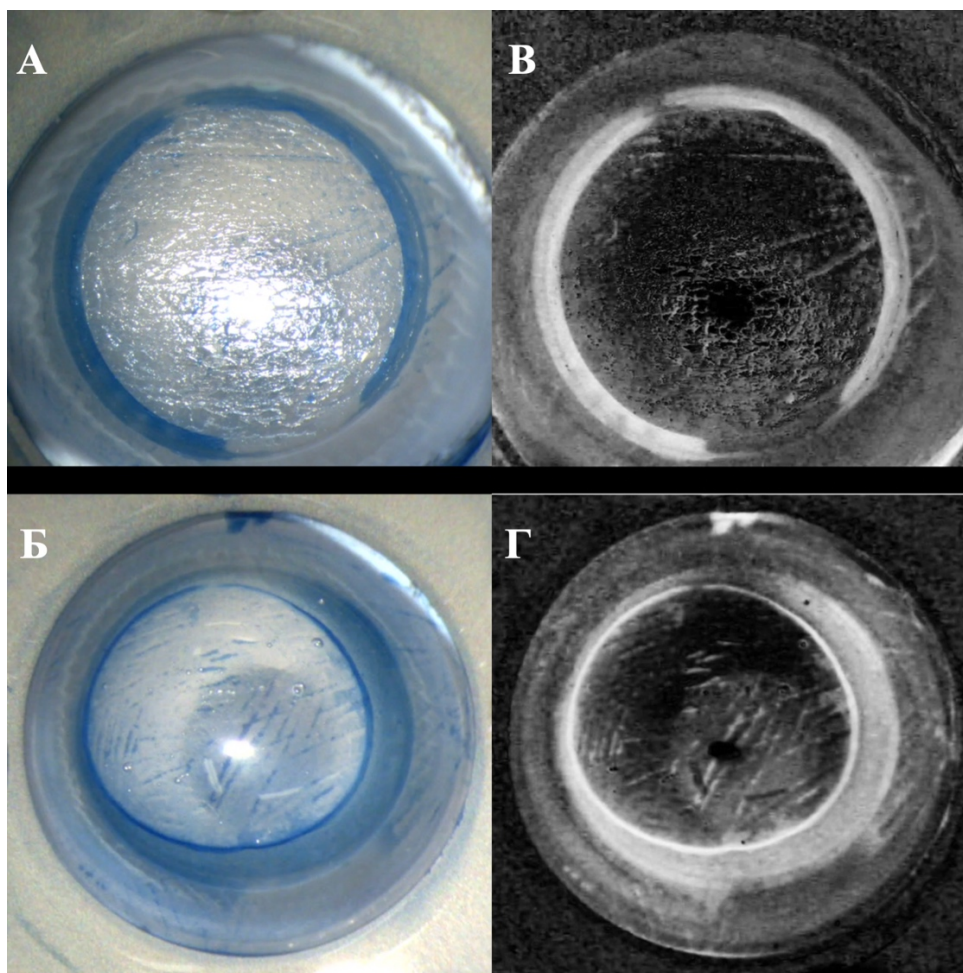
Б – окрашенный трансплантат ТС после прохождения через инжектор-глайд,

В, Г – снимки, обработанные в программе

Рисунок 19 – Пример обработки и оценки изображения с помощью программы

ImageJ (опытная группа)

После окрашивания эндотелия трансплантатов ТС в контрольной группе 2 (с использованием глайда типа Бузина) площадь окрашивания нежизнеспособных клеток составила $14,98 \pm 2,14\%$, после прохождения трансплантата через глайд $19,88 \pm 2,14\%$.



А – окрашенный трансплантат ТС после выкраивания ФСЛ,
Б – окрашенный трансплантат ТС после прохождения через глайд Бузина,
В, Г – снимки, обработанные в программе

Рисунок 20 – Пример обработки и оценки изображения с помощью программы ImageJ (контрольная группа)

Исходя из результатов проведенного исследования следует заключить, что исходные данные после выкраивания является сопоставимыми, однако при протягивании трансплантата через новый модифицированный инжектор-глайд наблюдается меньшая травматизация клеток на $2,56 \pm 1,78\%$.

3.3.3. Результаты изучения жизнеспособности ЭК заднего послойного трансплантата после прохождения через различные устройства для имплантации

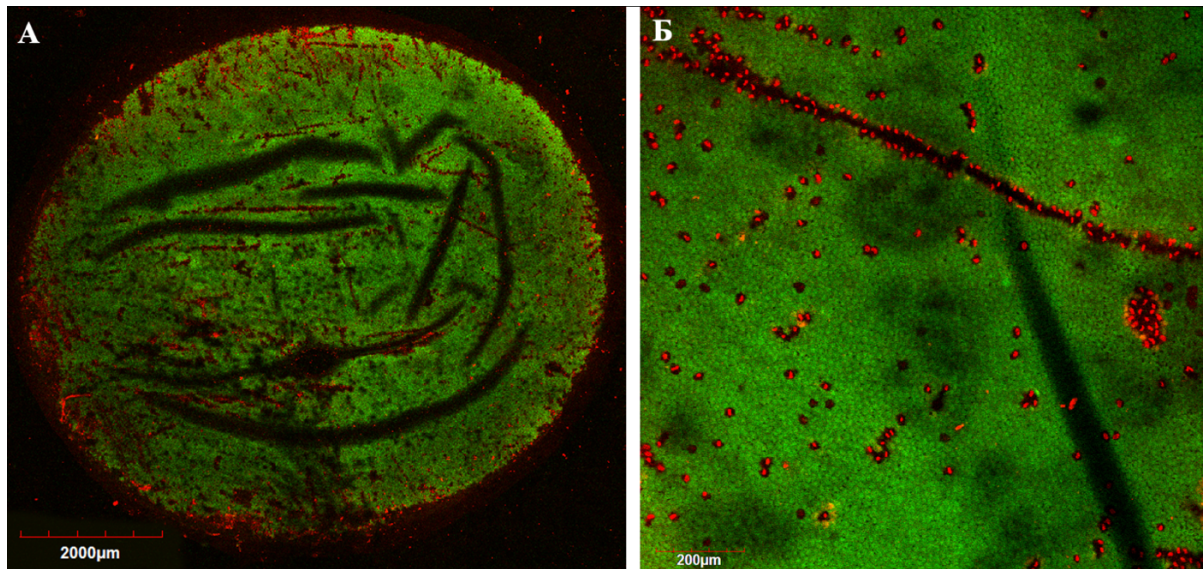
По данным конфокальной микроскопии общее количество ЭК в основной и контрольной группах составляло 3292 ± 55 кл/ мм² и 3046 ± 67 кл/ мм² соответственно (таблица 12).

Таблица 12 – Плотность эндотелиальных клеток в основной (инжектор-глайд) и контрольной (глайд) группах в эксперименте (кл/мм²)

Показатель	Основная группа			Контрольная группа		
	Живые клетки	Мертвые клетки	Всего клеток	Живые клетки	Мертвые клетки	Всего клеток
M	2929	363	3292	2527	519	3046
SD	38	32	55	34	52	67
Min	2884	324	3208	2475	452	2949
Max	2979	399	3361	2576	598	3114

Примечание: различие между группами статистически значимо ($p < 0,001$, t-критерий Стьюдента для независимых выборок).

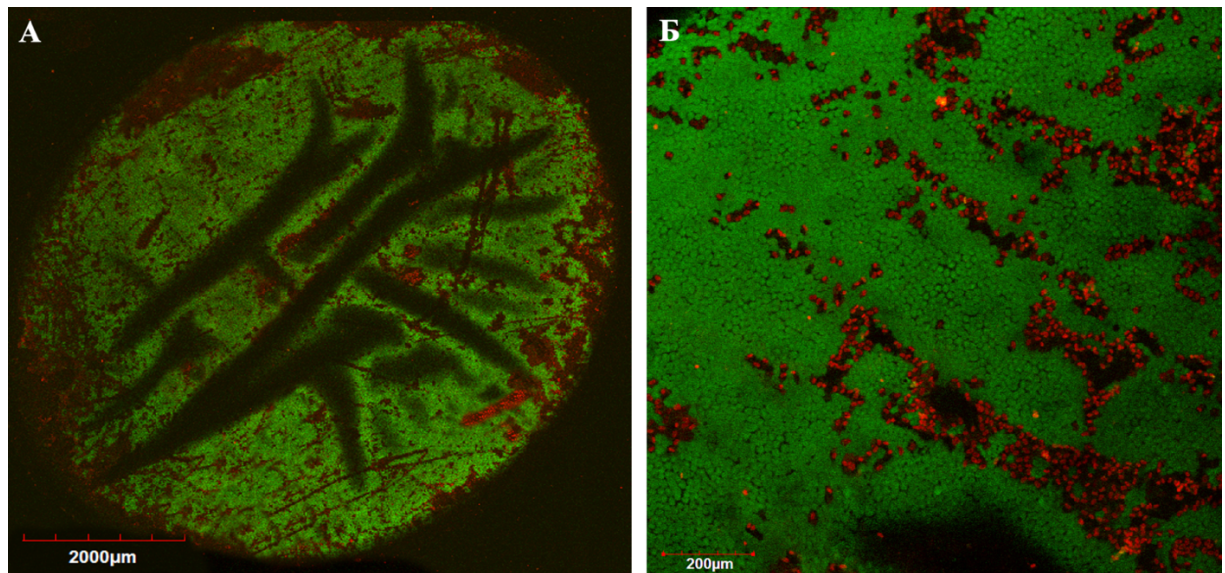
В эксперименте на свиных глазах при проведении трансплантатов через новый модифицированный инжектор (основная группа) плотность живых ЭК составила 2929 ± 38 кл/ мм², что статистически значимо больше, чем в группе с использованием глайда Бузина (контрольная) 2527 ± 34 кл/мм² ($p < 0,001$, t-критерий Стьюдента для независимых выборок). В то время как плотность мертвых ЭК наоборот в основной группе статистически значимо меньше 363 ± 32 кл/ мм², чем в контрольной 519 ± 32 кл/ мм² ($p < 0,001$, t-критерий Стьюдента для независимых выборок) (таблица 12, рисунок 21-23).



А – целый вид трансплантата, увеличение $\times 2000$,

Б – отдельный участок трансплантата, увеличение $\times 200$

Рисунок 21 – Снимки лазерной сканирующей микроскопии эндотелиальной поверхности трансплантата (основная группа), флуоресцентный метод анализа, зеленые клетки – живые, красные – мертвые



А – целый вид трансплантата, увеличение $\times 2000$,

Б – отдельный участок трансплантата, увеличение $\times 200$

Рисунок 22 – Снимки лазерной сканирующей микроскопии эндотелиальной поверхности трансплантата (контрольная группа), флуоресцентный метод анализа, зеленые клетки – живые, красные – мертвые

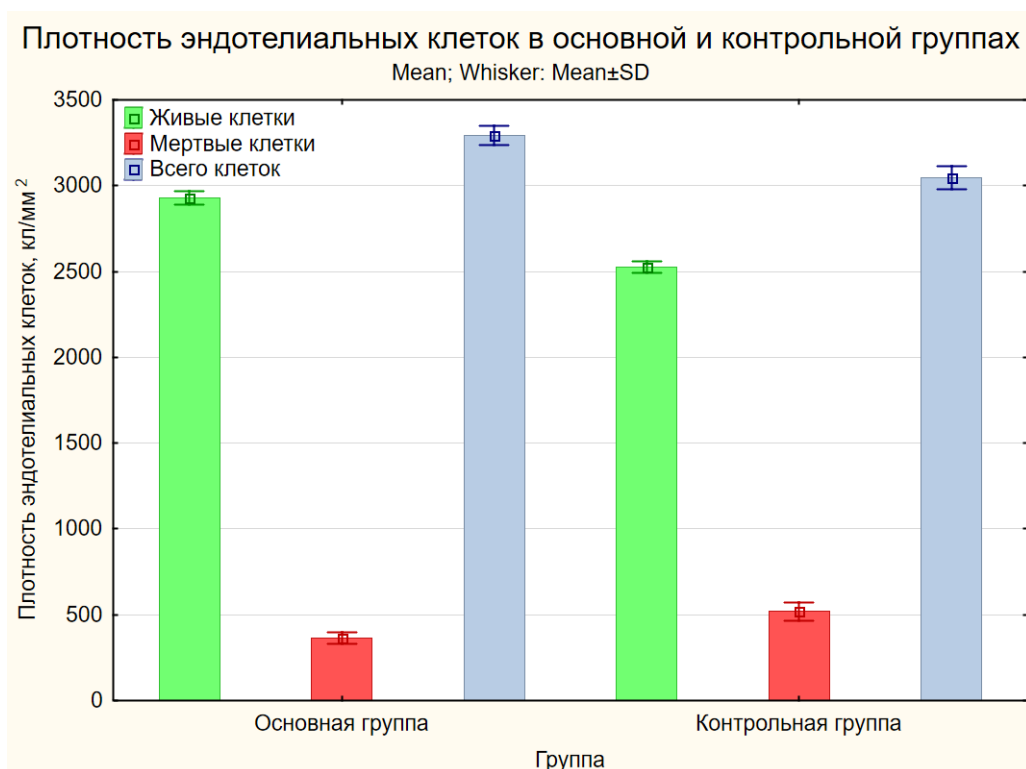


Рисунок 23 – Плотность эндотелиальных клеток в основной и контрольной группах в эксперименте с использованием инжектора и глайда

3.4. Результаты экспериментального моделирования технологии имплантации ультратонкого заднего послойного трансплантата в переднюю камеру донорского глаза с помощью инжектора-глайда собственной разработки

При выполнении моделирования технологии имплантации заднего послойного трансплантата в донорский глаз во всех случаях наблюдали: стабильность передней камеры, равномерность скручивания и плавность прохождения трансплантата через наконечник инжектора-глайда, удобность его использования (рисунок 24).

Исходя из результатов проведенного экспериментального исследования моделирования имплантации следует заключить, что предложенная модель инжектора-глайда для ЗПК способствует снижению числа интраоперационных рисков опустошения передней камеры, вставления радужки в разрез, слипания краев трансплантата и, как следствие, избыточного повреждения донорского материала, а также упрощает технику имплантации.

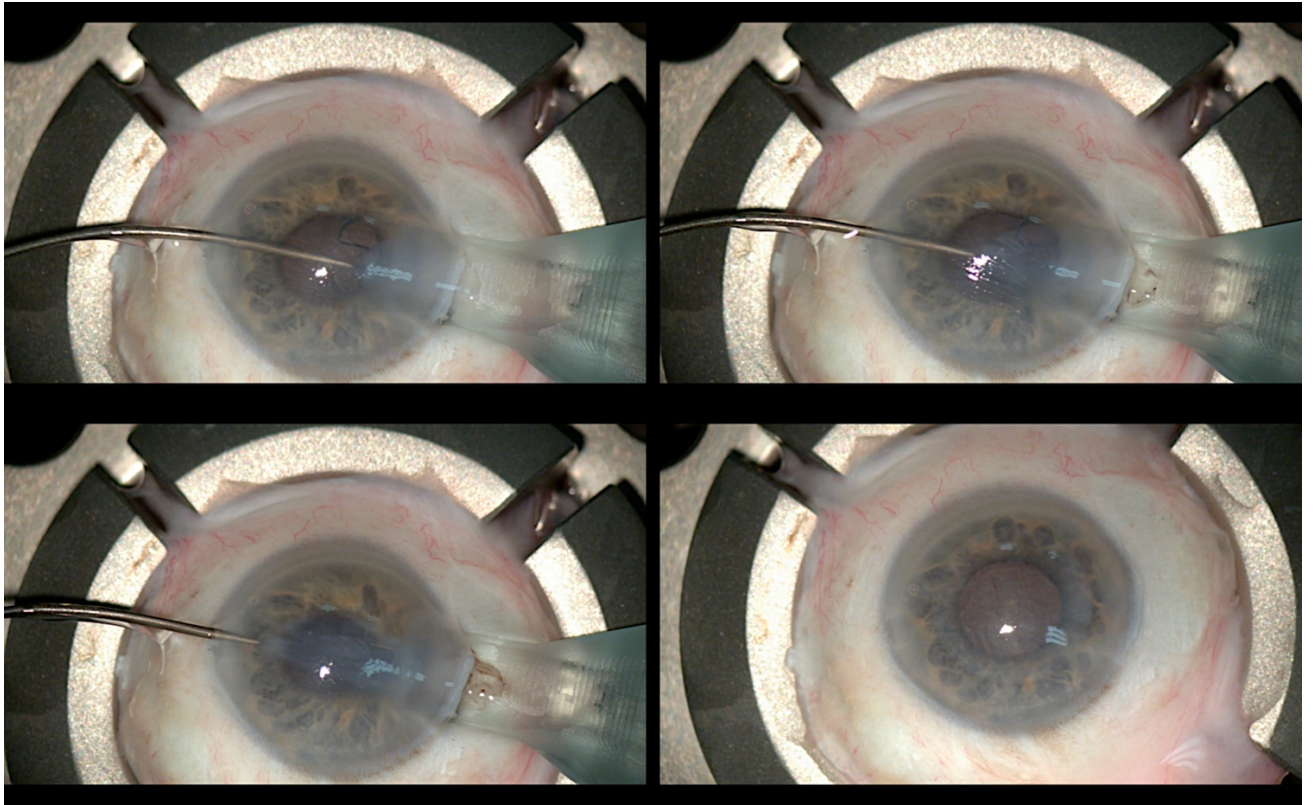


Рисунок 24 – Этапы имплантации трансплантата в переднюю камеру
кадаверного глаза через предложенный инжектор-глайд

Конструктивные особенности модифицированного инжектора-глайда способствуют герметичному сопоставлению наконечника инструмента и разреза, в результате чего отсутствует перепад давления в передней камере и ее опорожнение, профилактируется пролапс радужки и смещение иридо-хрусталиковой диафрагмы кпереди, вследствие наличия поршня с заглушкой, создающего герметичность и предотвращающего отток жидкости из передней камеры. Форма канала наконечника инжектора с наличием закругленного выступа обеспечивает равномерное скручивание трансплантата (снижается риск складывания трансплантата в трубочку и слипания краев), тем самым создает оптимальные условия для его продвижения по каналу наконечника и последующей имплантации в переднюю камеру глаза.

Таким образом, в результате проведенного исследования, заключающегося в анализе ОКТ снимков трансплантатов в момент аппланации с лазером, показана относительная равномерность интерфейса в исследуемых группах. Визуальная

оценка степени прокрашивания эндотелия трипановым синим после выкраивания трансплантатов продемонстрировало отсутствие дефектов эндотелиального слоя в обеих группах. Однако, данная методика является скрининговой и не позволяет определить более тонкие процессы, имеющие место в исследуемой области. Особенности отделения трансплантата от ложа не отличались в обеих группах. По данным конфокальной микроскопии общее количество ЭК в контрольной и опытной группах составляло 3570 (3486;3613) кл/мм² и 3863 (3801;4044) кл/мм² соответственно (таблица 7). При исследовании жизнеспособности ЭК в контрольной и опытной группах количество живых и мертвых ЭК статистически достоверно отличались (рисунок 9). Живых ЭК было 2854 (2819;2879) кл/мм², что составляет $80,35 \pm 0,88\%$; и 3477 (3426;3719) кл/мм², что составляет $90,27 \pm 1,33\%$ соответственно ($p < 0,001$). Количество мертвых ЭК в контрольной группе было на $9,92 \pm 1,11\%$ больше, чем в опытной, и составляло 710 (649;728) кл/мм², что равняется $19,65 \pm 0,88\%$; и 402 (366;427) кл/мм², что равняется $9,73 \pm 1,33\%$ соответственно ($p < 0,001$). По данным оценки повреждения кератоцитов в основной группе на нулевой глубине (количество мертвых клеток) составило 82,9%, на глубине 13 мкм – 51,3%, 26 мкм – 29,8% в сравнении с контрольной группой, где наблюдалось 100% повреждение клеток уже на глубине 0 мкм (таблица 10).

Из всего вышесказанного следует, что предложенная технология защиты эндотелиального слоя при выкраивании заднего послойного роговичного трансплантата фемтосекундным лазером и защитой эндотелия вискоэластиком (1% раствором ГПМЦ) достоверно обеспечивает сохранность клеточного слоя, повышая жизнеспособность полученной ткани, а также не влияет на качество реза.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Целью данной главы явилась сравнительная оценка клинико-функциональных результатов лечения пациентов с ДФ, ПБК и БТ с и без применения технологии защиты эндотелия роговицы на этапе выкраивания в ходе ФЛ-ЗПК. Для этого было необходимо подтвердить результативность предложенной технологии защиты ЭК в клинике после непосредственного хирургического этапа на контрольных сроках – 3, 6, 12 месяцев после операции и провести оценку следующих показателей: НКОЗ и МКОЗ, пахиметрию и толщину трансплантата по данным ОКТ, ПЭК и процент их потери.

4.1. Характеристика донорского материала

Для проведения ФЛ-ЗПК донорские роговицы были получены из Глазного тканевого банка Головной организации ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Исходные значения ПЭК донорских роговиц и сроки хранения в исследуемых группах представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Плотность эндотелиальных клеток и сроки хранения донорских роговичных трансплантатов в основной и контрольной группах

Параметр	Основная группа	Контрольная группа	p-value
ПЭК донора, кл/мм ² (M±σ)	2831,6 ±107,1	2869,0±132,6	> 0,05
Срок хранения роговицы, дней (M±σ)	2,3±0,5	2,4±0,4	> 0,05

Исходя из приведенных данных следует, что изначальные показатели ПЭК и сроки хранения донорских роговиц, применимых для исследуемых групп, сопоставимы и подходят для последующего сравнительного статистического анализа динамики клинико-функциональных показателей в разные сроки послеоперационного периода.

4.2. Клинико-функциональные показатели пациентов в предоперационном периоде

Данный раздел посвящен описанию и сравнительному анализу результатов обследования клинико-функциональных показателей: НКОЗ и МКОЗ, ВГД, ЦТР, ПЗО и ПЭК в двух исследуемых группах в дооперационном периоде данные представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Значения основных функциональных показателей пациентов до операции в основной контрольной группах

Исследуемые параметры	1 основная группа (n=31)	2 контрольная группа (n=27)	p-value
НКОЗ	0,04±0,03	0,06±0,04	> 0,05
МКОЗ	0,05±0,04	0,07±0,06	> 0,05
ВГД, мм рт. ст.	16,2±1,4	15,7±1,2	> 0,05
ЦТР, мкм	841,42±203,86	746,51±113,89	> 0,05
ПЗО, мм	23,3±1,4	23,4±1,5	> 0,05

Общая характеристика пациентов по количеству, полу, возрасту, основной и сопутствующей патологии представлена в таблице 15.

Таблица 15 –Дооперационная характеристика пациентов

Параметр	Основная группа		Контрольная группа		p-value*
	Абс.	%	Абс.	%	
Количество пациентов	31	100,0	27	100,0	-
Из них					
Мужчины	22	71,0	17	63,0	0,518
Женщины	9	29,0	10	37,0	
Количество глаз	31	100,0	27	100,0	-
Возраст, лет (Me (Q1; Q3))	66 (48; 82)	-	68 (60; 71)	-	0,642**
Основной диагноз					
ПБК	15	48,4	18	66,7	0,367
БТ	10	32,3	6	22,2	
Фукс (ЭЭД)	6	19,4	3	11,1	
Сопутствующая патология и предшествующие операции					
Катаракта	9	29,0	6	22,2	0,555
ПОУГ	9	29,0	7	25,9	0,792
Кератоконус	4	12,9	2	7,4	0,494
Артифакция	22	71,0	21	77,8	0,555
СКП	12	38,7	5	18,5	0,092

Примечание: * – критерий Хи-квадрат, если не указано иное, ** – критерий Манна-Уитни.

Дооперационные показатели пациентов в исследуемых группах с распределением по виду проведенного хирургического лечения представлены в таблице 16.

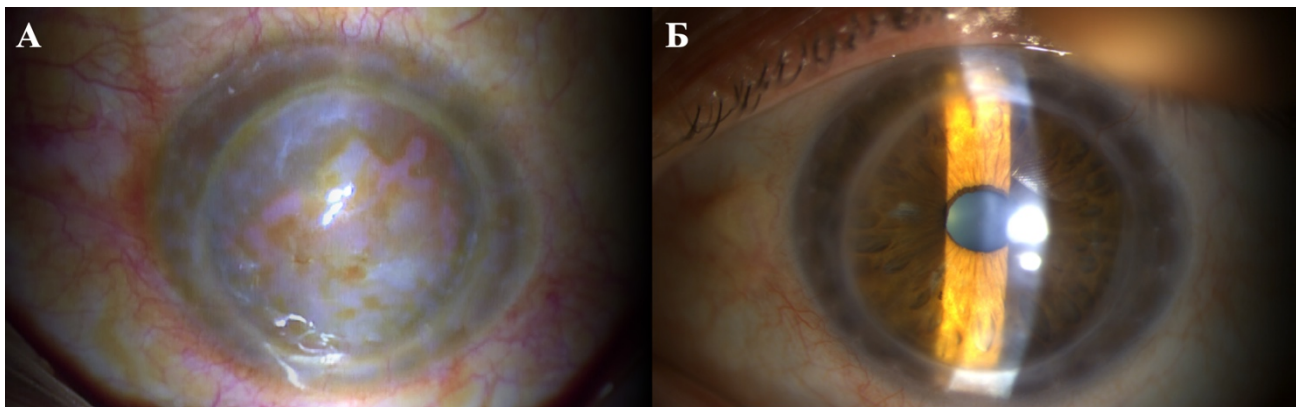
Таблица 16 – Проведенное хирургическое лечение в основной и контрольной группах

Параметр	Основная группа		Контрольная группа		p-value*
	Абс.	%	Абс.	%	
ФЛ-ЗАПК	22	71,0	21	77,8	0,555
ФЛ ЗАПК+ФЭК+ИОЛ	9	29,0	6	22,2	

Примечание: * – критерий Хи-квадрат.

4.3. Клинико-функциональные результаты пациентов в послеоперационном периоде

Данные МКОЗ и НКОЗ в основной и контрольной группах были сопоставимы на всех сроках наблюдения ($p > 0,05$, критерий Манна -Уитни), кроме данных НКОЗ до операции ($p = 0,017$, критерий Манна-Уитни), однако различие не имело клинической значимости (медиана НКОЗ в основной группе 0,03 (0,01; 0,05), в контрольной 0,05 (0,02; 0,10) и имело случайный характер, что позволило проводить дальнейшие исследования. Вместе с тем, выявлено статистически значимое увеличение МКОЗ и НКОЗ в обеих группах на всех сроках наблюдения по сравнению с данными до операции ($p < 0,001$, критерий Вилкоксона) (таблицы 17 – 18, рисунки 26 – 27).



А – до операции, Б – после операции.

Рисунок 25 – Пример биомикроскопической картины пациента до и через 6 месяцев после ФЛ-ЗПК по поводу декомпенсации ЭК сквозного трансплантата

Таблица 17 – Клинико-функциональные результаты НКОЗ в исследуемых группах до и после хирургического лечения

Основная группа				
НКОЗ	До операции	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	0,03 (0,01; 0,05)	0,10 (0,10; 0,20)	0,20 (0,10; 0,20)	0,20 (0,20; 0,30)
Min; Max	0,00; 0,10	0,05; 0,30	0,05; 0,50	0,05; 0,60
Контрольная группа				
НКОЗ	До операции	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	0,05 (0,02; 0,10)	0,10 (0,08; 0,20)	0,20 (0,10; 0,20)	0,20 (0,10; 0,30)
Min; Max	0,01; 0,20	0,08; 0,30	0,08; 0,30	0,08; 0,40
p-value*	0,017	0,546	0,926	0,865

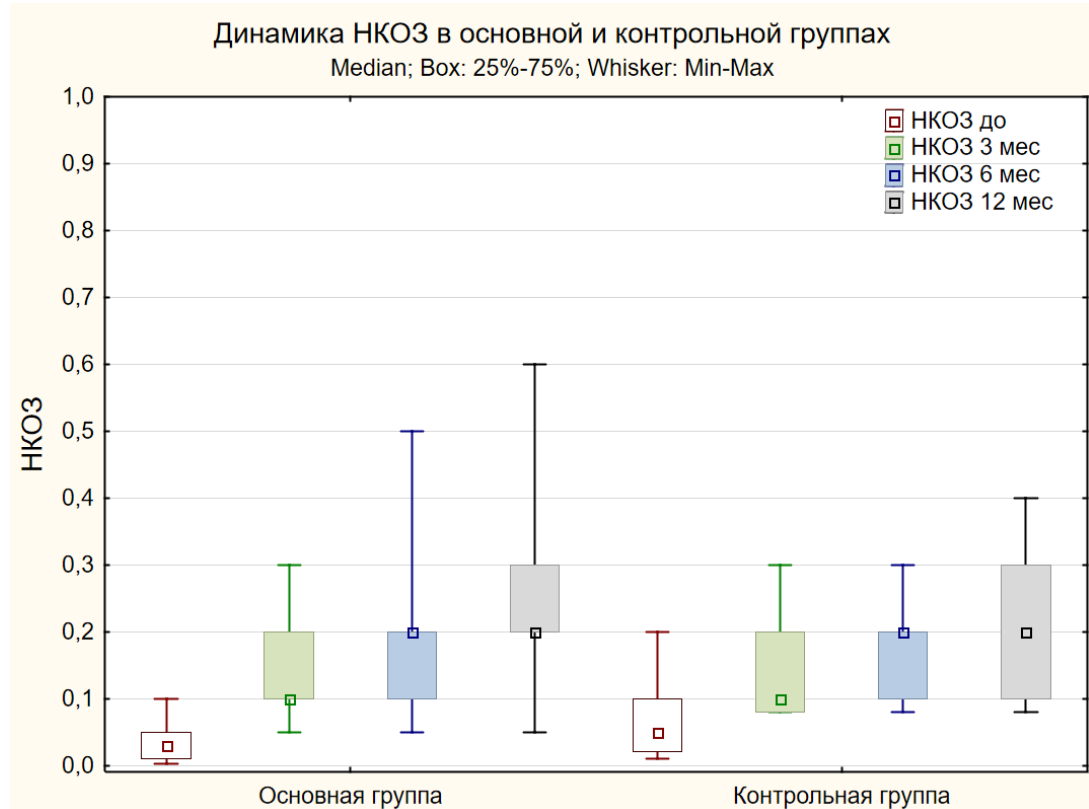


Рисунок 26 – График динамики НКОЗ в основной и контрольной группах на разных сроках послеоперационного периода

Таблица 18 – Клинико-функциональные результаты МКОЗ в исследуемых группах до и после хирургического лечения

Основная группа				
МКОЗ	До операции	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	0,04 (0,01; 0,05)	0,20 (0,10; 0,30)	0,30 (0,20; 0,40)	0,40 (0,30; 0,50)
Min; Max	0,00; 0,15	0,05; 0,50	0,05; 0,70	0,05; 0,80
Контрольная группа				
МКОЗ	До операции	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	0,08 (0,02; 0,10)	0,20 (0,20; 0,30)	0,30 (0,20; 0,30)	0,30 (0,30; 0,40)
Min; Max	0,01; 0,20	0,08; 0,50	0,08; 0,60	0,08; 0,60
p-value*	0,066	0,975	0,914	0,066

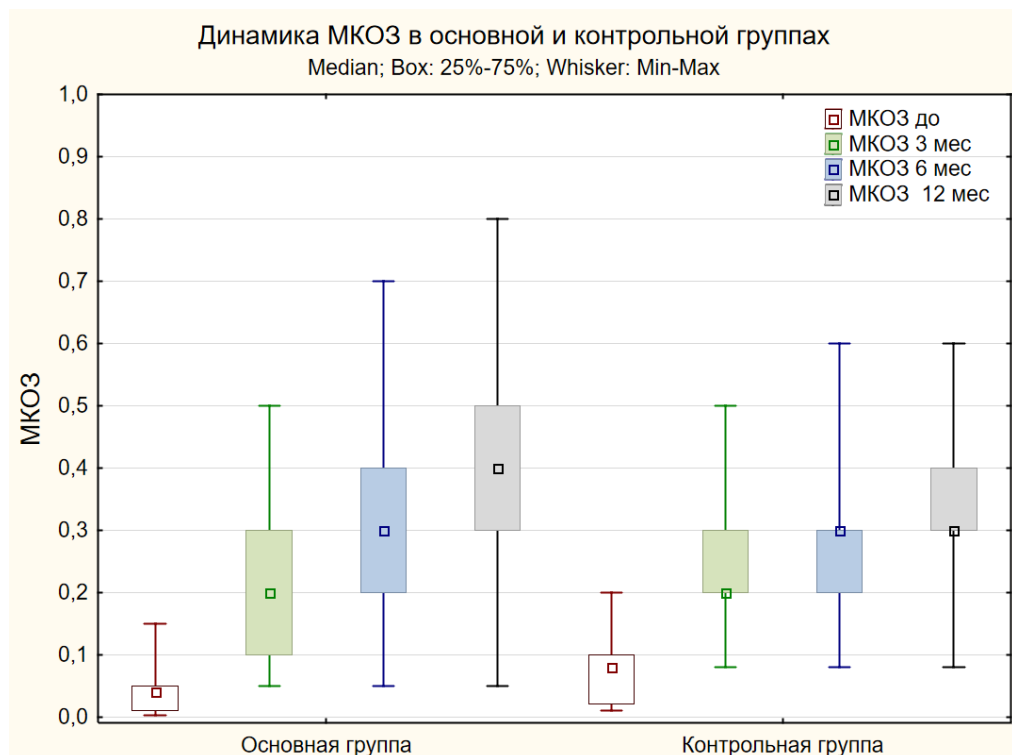
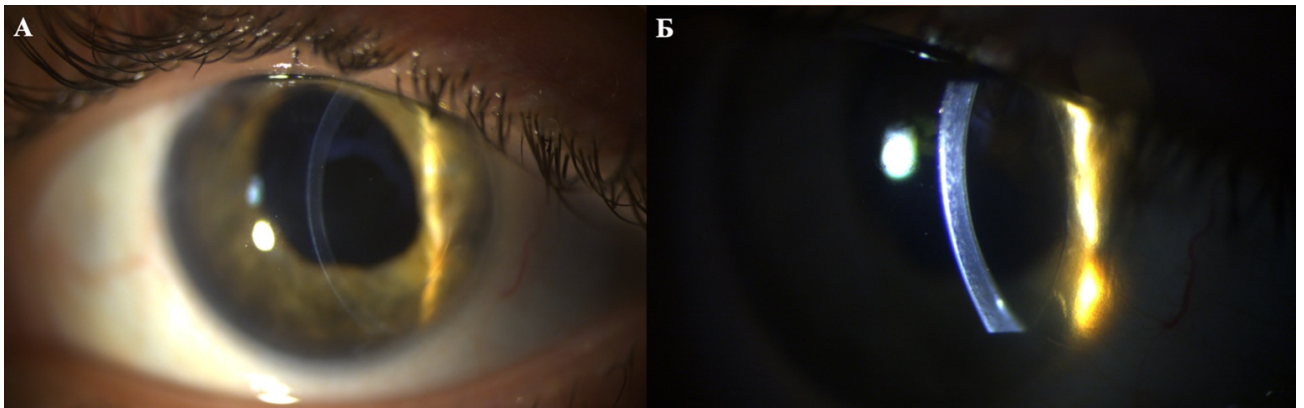


Рисунок 27 – График динамики МКОЗ в основной и контрольной группах на разных сроках послеоперационного периода

Данные ЦТР до операции были статистически значимо больше в основной группе 859 (750; 894) по сравнению с контрольной 726 (675; 787) ($p=0,001$, критерий Манна-Уитни), однако на сроках 3, 6 и 12 месяцев данные между группами были сопоставимы и находились пределах нормальных значений, а также были статистически значимо меньше по сравнению с данными до операции ($p<0,001$, критерий Вилкоксона) (таблица 19 , рисунок 29).



А – Общий вид, Б – Срез трансплантата роговицы при боковом освещении.

Рисунок 28 – Пример биомикроскопической картины пациента через 6 месяцев после одномоментной ФЛ-ЗПК с ФЭК+ИОЛ

Таблица 19 – Результаты ЦТР по данным пахиметрии в исследуемых группах до и после хирургического лечения

Основная группа				
ЦТР (мкм)	До операции	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	859 (750; 894)	610 (567; 652)	590 (555; 607)	567 (543; 593)
Min; Max	694; 1189	503; 690	500; 654	481; 640
Контрольная группа				
ЦТР (мкм)	До операции	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	726 (675; 787)	600 (580; 621)	579 (558; 598)	556 (535; 580)
Min; Max	510; 1050	532; 818	509; 770	479; 709
p-value*	0,001	0,631	0,457	0,238

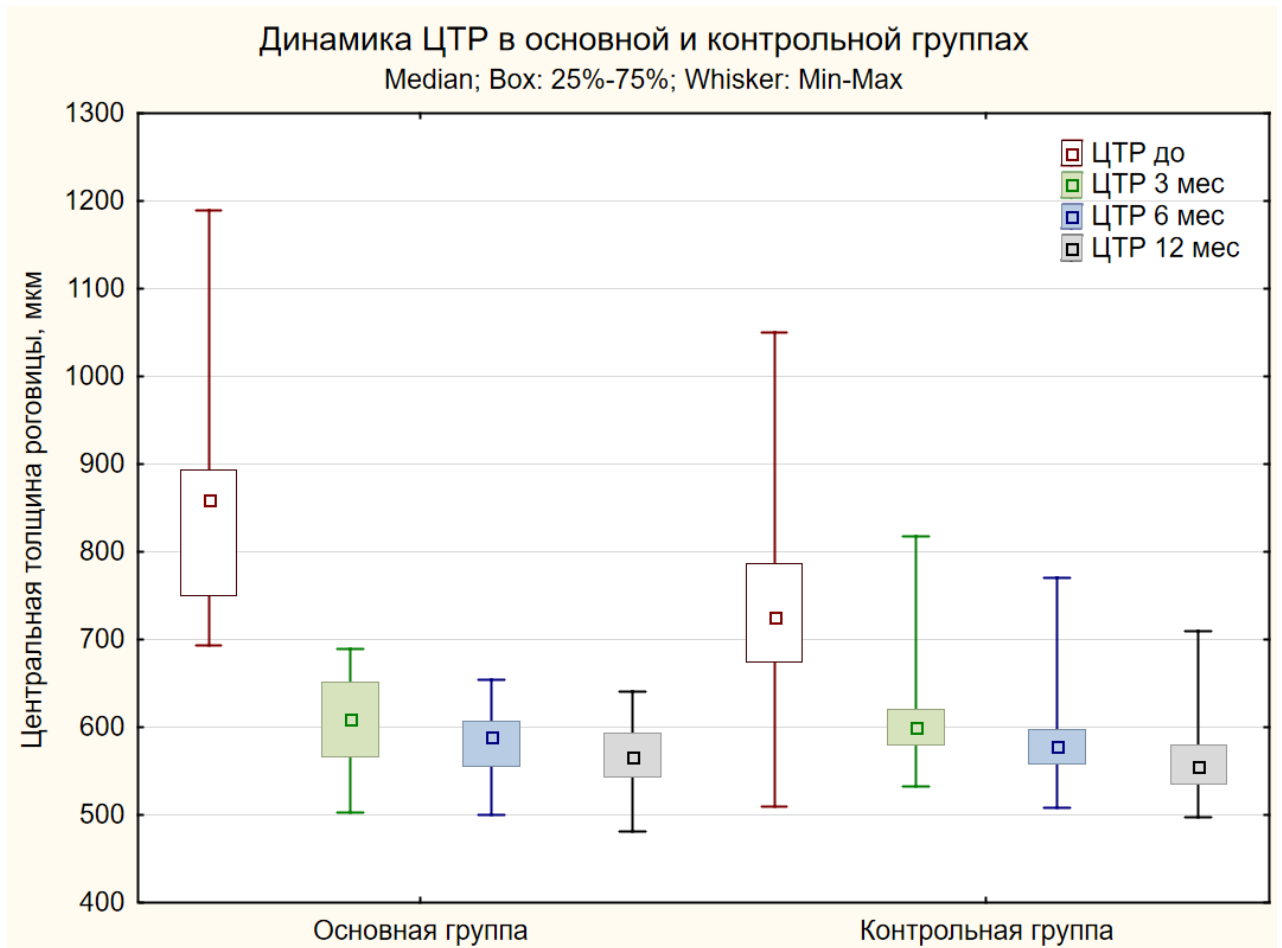


Рисунок 29 – График динамики центральной толщины роговицы в основной и контрольной группах на разных сроках послеоперационного периода

Толщина трансплантата по данным ОКТ в центральной части роговицы в основной группе на сроках 3 месяца 91 (77; 93) и 6 месяцев 85 (65; 87) после операции была статистически значимо меньше, чем в контрольной 94 (89; 97) в 3 месяца и 89 (86; 94) в 6 месяцев ($p=0,024$ и $p=0,026$ соответственно, критерий Манна-Уитни), а через 12 месяцев после операции данные между группами были сопоставимы ($p=0,181$, критерий Манна-Уитни). В обеих группах данные толщины трансплантата на сроках 6 и 12 месяцев были статистически значимо меньше по сравнению с данными на сроке 3 месяца после операции ($p<0,001$, критерий Вилкоксона) (таблица 20, рисунок 30).

Таблица 20 – Результаты толщины трансплантата в центральной части роговицы в исследуемых группах после хирургического лечения

Основная группа			
Толщина трансплантата (мкм)	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	91 (77; 93)	88 (73; 90)	85 (65; 87)
Min; Max	57; 98	59; 94	59; 91
Контрольная группа			
Толщина трансплантата (мкм)	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	94 (89;97)	89 (86; 94)	85 (77;90)
Min; Max	78;106	75; 105	73; 101
p-value*	0,024	0,026	0,181

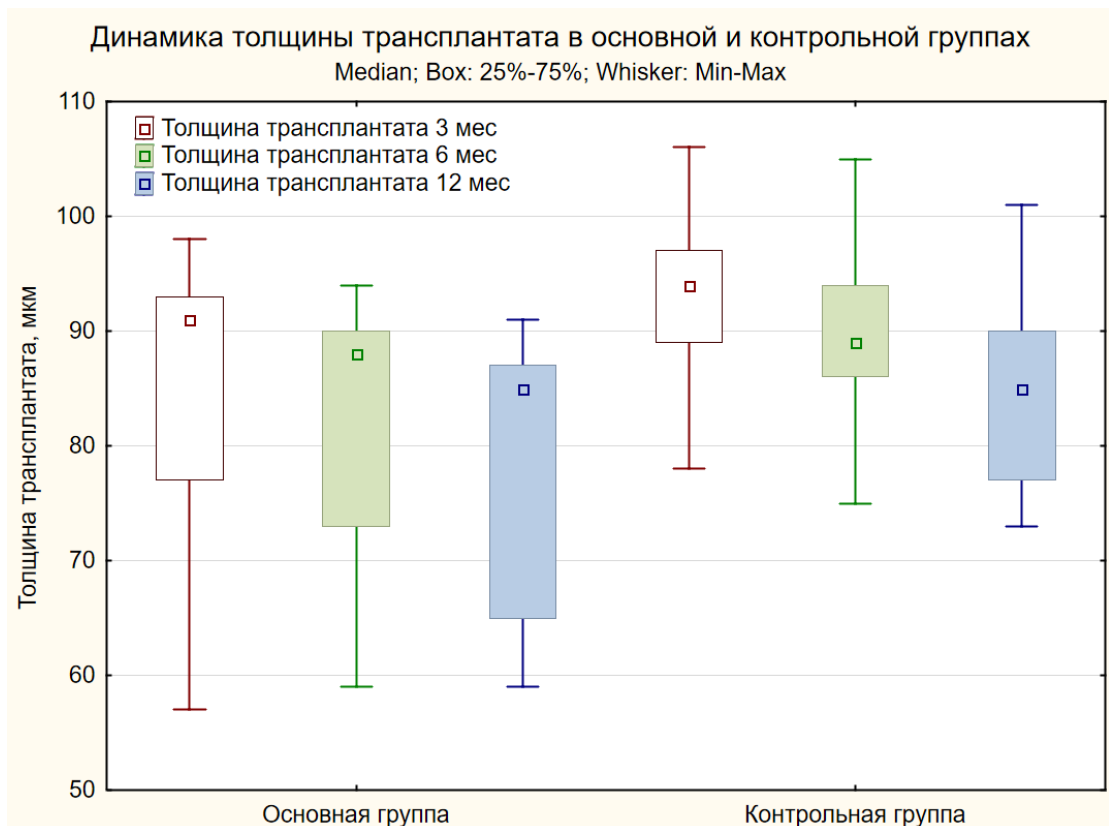


Рисунок 30 – График динамики толщины трансплантата в основной и контрольной группах

Данные ПЭК донора до операции были сопоставимы между двумя группами и составили 2849 (2751; 2900) для основной группы, и 2900 (2793; 2974 для контрольной) ($p=0,096$, критерий Манна-Уитни) (таблица 21).

Таблица 21 – Данные ПЭК донора в исследуемых группах до операции

ПЭК донора (кл/мм ²)	До операции	
	Основная группа	Контрольная группа
Me (Q1; Q3)	2849 (2751; 2900)	2900 (2793; 2974)
Min; Max	2640; 3100	2480; 3110
p-value*	0,096	

На сроках 3, 6 и 12 месяцев данные ПЭК в основной группе 1339 (1220; 1425) были статистически значимо больше, чем в контрольной группе 970 (890; 1097) ($p<0,001$, критерий Манна-Уитни) (таблица 22, рисунок 31).

Таблица 22 – Результаты ПЭК в исследуемых группах после хирургического лечения

Основная группа			
ПЭК (кл/мм ²)	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	1920 (1837; 2001)	1582 (1489; 1670)	1339 (1220; 1425)
Min; Max	1374; 2437	1143; 1792	1002; 1509
Контрольная группа			
ПЭК (кл/мм ²)	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Me (Q1; Q3)	1340 (1210; 1456)	1200 (1100; 1280)	970 (890; 1097)
Min; Max	900; 2200	600; 1888	585; 1588
p-value*	0,000	0,000	0,000

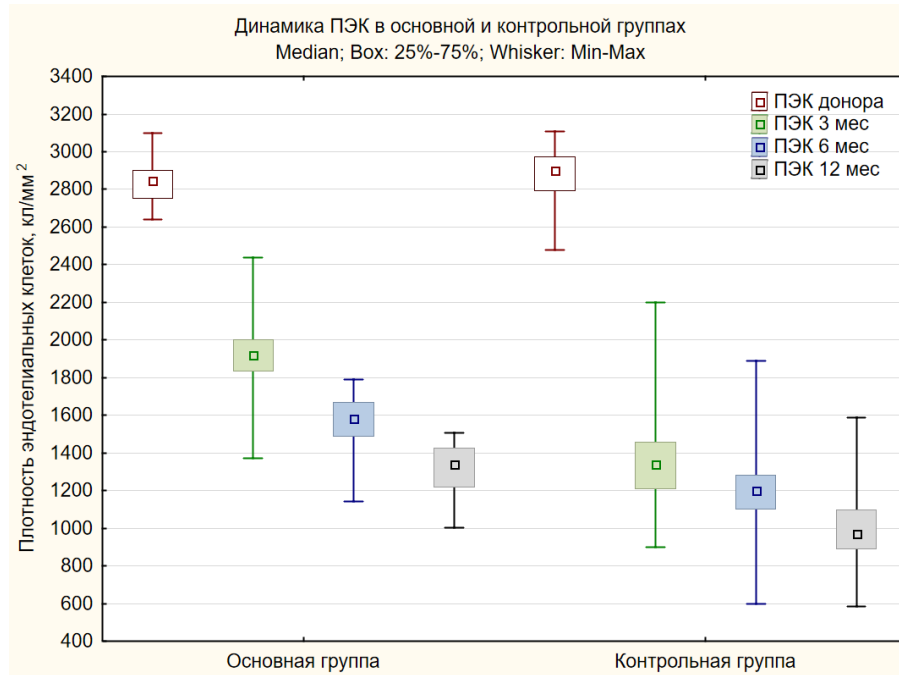


Рисунок 31 – Динамика плотности эндотелиальных клеток донора до операции и эндотелиальных клеток в основной и контрольной группах после хирургического лечения

Данные потери эндотелиальных клеток в основной группе были статистически значимо меньше, чем в контрольной группе на всех сроках наблюдения, и составили к году после наблюдения $53,6 \pm 5,3\%$ в основной группе, и $65,6 \pm 7,5\%$ в контрольной группе ($p < 0,001$, t-критерий Стьюдента для независимых выборок) (таблица 23, рисунки 32-33).

Таблица 23 – Потеря эндотелиальных клеток в основной и контрольной группах, % ($M \pm SD$)

Группа	Срок после операции		
	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Основная группа	$32,9 \pm 7,3$	$45,0 \pm 5,9$	$53,6 \pm 5,3$
Контрольная группа	$52,1 \pm 8,7$	$58,1 \pm 7,7$	$65,6 \pm 7,5$

Примечание: различие между группами на всех сроках наблюдения статистически значимо ($p < 0,001$, t-критерий Стьюдента для независимых выборок).

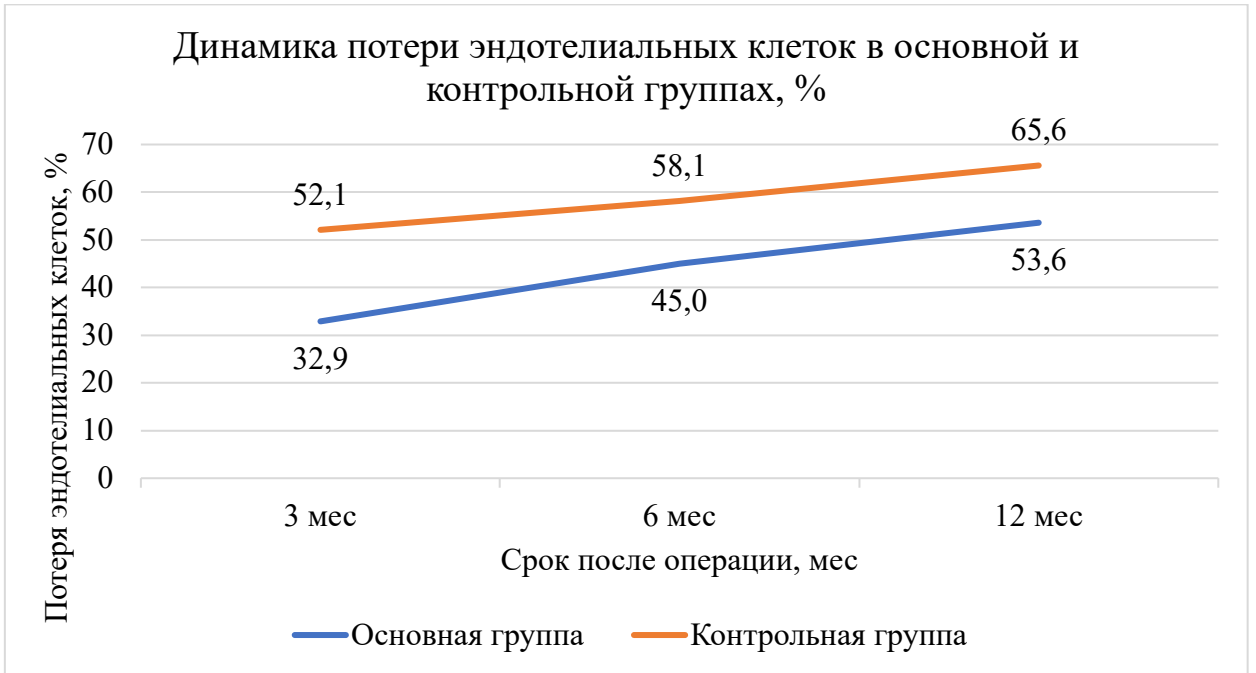


Рисунок 32 – График динамики потери эндотелиальных клеток в основной и контрольной группах на разных сроках после оперативного лечения

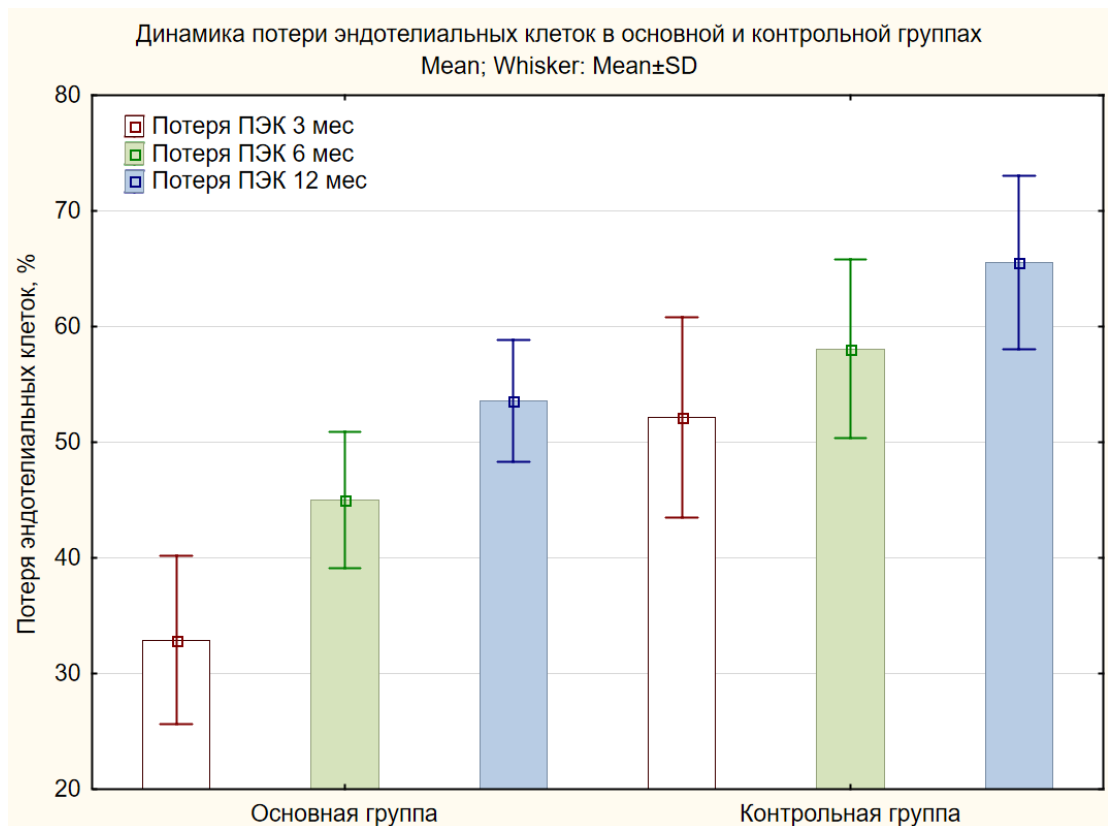


Рисунок 33 – График динамики потери эндотелиальных клеток в основной и контрольной группах на разных сроках после оперативного лечения

Таким образом, по результатам проведенного клинико-функционально исследования было показано, что по сравнению с данными до операции было выявлено статистически значимое увеличение МКОЗ и НКОЗ в обеих группах на всех сроках наблюдения. По данным инструментальных исследований ЦТР до операции была статистически значимо больше в основной группе по сравнению с контрольной ($p=0,001$, критерий Манна-Уитни), однако после операции данные между группами были сопоставимы и находились пределах нормальных значений ($p<0,001$, критерий Вилкоксона). По данным ОКТ толщина трансплантата в центральной части роговицы в основной группе на сроках 3 и 6 месяцев после операции была статистически значимо меньше, чем в контрольной ($p=0,024$ и $p=0,026$ критерий Манна-Уитни), а через 12 месяцев после операции данные между группами были сопоставимы ($p=0,181$, критерий Манна-Уитни). После проведенного оперативного лечения в группе с предварительной защитой эндотелия показатель ПЭК на сроках 3, 6 и 12 месяцев был статистически значимо больше, чем в контрольной группе ($p<0,001$, критерий Манна-Уитни), что сравнимо с данными динамики потери ЭК, которая в основной группе была статистически значимо меньше, чем в контрольной группе на всех сроках наблюдения ($p<0,001$, t-критерий Стьюдента для независимых выборок). Полученные высокие клинико-функциональные результаты в основной группе свидетельствуют об эффективности заявленной технологии защиты эндотелия, заключающейся в нанесении ВЭ (1% ГПМЦ) на эндотелий трансплантата на этапе аппланации в ходе ФЛ-ЗПК, и могут быть рекомендованы для внедрения в широкую клиническую практику.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наибольшее распространение для лечения патологии эндотелия роговицы различного генеза получила трансплантация ДМ с эндотелием, так как данная технология обеспечивает наиболее высокий клинико-функциональный результат. Второй по эффективности считается технология ЗАПК, которая заключается в пересадке эндотелия с ДМ и частью стромы донора [246, 253]. Известно, что технология ТЭДМ является технически сложной, предполагает использование донорского материала определенной возрастной категории, выкраивание ДМ трансплантата зачастую приводит к значительной выбраковке донорской ткани [211, 218].

Технология ЗАПК предполагает использование автоматизированного микрокератома и является наиболее технически доступной и стандартизированной [246]. Несмотря на это, она имеет такие недостатки как: неравномерная толщина выкраиваемого трансплантата, обуславливающая сдвиг рефракции в сторону гиперметропии, дезадаптация трансплантата в передней камере в раннем послеоперационном периоде и, как следствие, низкий функциональный результат, также не исключен риск перфорации трансплантата во время выкраивания [175, 254, 264].

Использование ФЛС для выкраивания заднего послойного трансплантата является наиболее актуальным на сегодняшний день. Фемтосекундные лазерные системы достаточно широко распространены в арсенале хирургов. Использование ФСЛ позволяет получать равномерный по толщине трансплантат, практически полностью исключая риск перфорации [160, 199, 207]. Тем не менее получение высокого функционального результата при этом не всегда гарантировано, что связано с высоким процентом потери ЭК трансплантата в связи с повреждающей энергией лазерного излучения, а также развитием фиброплазии в интерфейсе «донор-реципиент» [59,63].

Заготовка заднего послойного трансплантата роговицы для ЗПК является важным этапом успешного хирургического лечения пациентов с ПБК и различными видами эндотелиальных дистрофий. Идеальный трансплантат должен

иметь минимальную толщину, равномерную форму, хорошее качество стромального интерфейса и оптимальную жизнеспособность эндотелиального слоя. Известно, что одним из ведущих механизмов сохранения долгосрочной прозрачности трансплантируемой роговицы, является плотность эндотелиальных клеток (ПЭК) и динамика ее потери. Также известно, что снижение уровня ПЭК трансплантата носит прогрессирующий характер [89].

При выкраивании трансплантата с помощью ФСЛ возможен ряд механизмов дополнительной травмы ЭК. В частности, играет роль толщина выкраиваемого трансплантата: чем она меньше, тем травма ЭК более выражена. Это связано, в том числе, с коллатеральным энергетическим повреждением ткани роговицы. Известно, что при повышении энергии лазера клетки страдают в большей степени. Другое воздействие на ЭК заключается в механической травме и связан с работой шпателем в интерфейсе для рассечения перемычек и тканевых мостиков, оставшихся после фемтолазерного реза. Но одним из наиболее существенных механизмов является аппланация, при которой происходит прямое соприкосновение интерфейса лазера (выполненного из жесткого гидрофобного пластика) со слоем эндотелиальных клеток [207].

В связи с вышесказанным, целью данной работы стало разработать в эксперименте и обосновать в клинике оптимизированную технологию задней послойной фемтолазерной кератопластики, способствующую сохранению эндотелиальных клеток роговичного трансплантата у пациентов с эндотелиальной дисфункцией роговицы.

Работа состояла из экспериментального и клинического исследования. В эксперименте была наглядно показана степень повреждения ЭК при выкраивании трансплантата стандартным методом (без защиты эндотелия) и при дополнительной защите эндотелия донорского трансплантата путем нанесения на ее поверхность 1% раствора ГМПЦ непосредственно перед моментом аппланации с головкой ФСЛ (патент РФ № 2758028 от 16.03.2021). В данном исследовании была произведена оценка равномерности интерфейса, показывающая качество реза; изучена степень прокрашивания эндотелия (трипановым синим),

демонстрирующая наличие дефектов эндотелиального слоя; с помощью витальных красителей произведен подсчет потери ЭК с оценкой их жизнеспособности.

В ходе клинического этапа данной работы проведена оценка клинико-функциональных результатов двух групп пациентов с ДФ, ПБК и БТ, которым было проведено лечение - одномоментная ФЛ-ЗПК с ФЭК+ИОЛ или ФЛ-ЗПК без ФЭК, при этом в опытной группе – выкраивание трансплантата осуществляли с вископротекцией эндотелия в отличие от группы контроля, где выкраивание трансплантата осуществляли по стандартной технике с нанесением нескольких капель раствора для хранения роговицы. Контрольные сроки после операции составили – 3, 6 и 12 месяцев. Мы оценивали следующие параметры: НКОЗ и КОЗ, кератометрию, послеоперационный астигматизм, ЦТР по данным пахиметрии, толщину трансплантата по данным ОКТ, ПЭК и процент их потери.

Как уже указывалось ранее, главной причиной утраты эндотелиальных клеток в ходе заготовки заднего послойного трансплантата фемтосекундным лазером является непосредственный контакт интерфейса ФСЛ и ЭК, так называемый этап аппланации [207]. Поэтому вопрос о необходимости разработки и создания технологии защиты эндотелия на данном этапе ЗПК оставался актуальным.

Проведя анализ литературных данных, выяснилось, что уже несколькими авторами предпринималась попытка защиты эндотелиальных клеток вискоэластиком с целью уменьшения их потери на этапе аппланации [41, 47, 199]. Однако, использование вязких препаратов с высокой молекулярной массой (гиалуронат натрия, хондроитин сульфат или их комбинации) нарушает равномерность аппланации из-за неравномерного скопления ВЭ в интерфейсе. Так, Яковлева С.С. с соавторами в ходе экспериментальной работы обнаружили, что нанесение когезивного ВЭ на основе 1% гиалуроната натрия – Провиск (Provisc®, Alcon, США) на поверхность эндотелия сопровождается появлением складчатости роговицы при аппланации, что в дальнейшем, после фемтодиссекции, приводит к формированию неравномерного по толщине трансплантата и снижению качества стромальной его поверхности. В то же время отсутствие вископротекции

отрицательно сказалось на качестве эндотелиальной поверхности [42]. В другом же исследовании Liu Y. с соавт. продемонстрировали, что в группе, в которой использовали 1% гиалуронат натрия Провиск (Provisc®, Alcon, США) на этапе фемтодиссекции лазером LDV Z6 (Ziemer, Швейцария), повреждение ЭК было меньше, чем в группе контроля, и составляло $10,6 \pm 3,2\%$ и $23,4 \pm 7,6\%$ соответственно. При этом нахождение ВЭ на эндотелии в зоне интерфейса донорской роговицы и ФСЛ на этапе аппланации не повлияло на качество стромальной поверхности трансплантата. Все трансплантаты в группе с вископротекцией эндотелия имели однородную форму и высокую жизнеспособность эндотелиоцитов [199]. Исследователи Sikder S. с соавт. провели экспериментальную работу, где применили различные виды вискоэластических растворов на этапе аппланации головки лазера и донорской роговицы с подсчетом потери ПЭК. Наиболее эффективно проявил себя в защите ЭК вискоэластик на основе 2% ГПМЦ, он показал наименьшую потерю ЭК в группе, равную 6%. В контрольной же группе, где не применялась защита ЭК и фемтодиссекция, потеря ПЭК только от аппланации рукоятки ФСЛ составила 9% [265].

Наличие противоречивых данных о вископротекции эндотелия на этапе аппланации в отечественных и зарубежных источниках литературы привело к необходимости проведения этапа отбора с предварительной попыткой применения нескольких видов растворов вискоэластиков. После нанесения ВЭ на основе гиалуроната натрия зарубежного производства – Провиск (Provisc®, Alcon, США) и Вискот (Viscoat®, Alcon, США) на эндотелий роговицы по данным ОКТ ФСЛ отмечалась неравномерность распределения ВЭ на поверхности эндотелия, которая приводила к множественной складчатости роговицы и ее неровностям в интерфейсе лазера на этапе аппланации. Использование менее вязких, адгезивных ВЭ препаратов к которым относят ГПМЦ дает возможность избежать вышеперечисленных проблем. Также были апробированы ВЭ на основе 2% ГПМЦ зарубежного и отечественного производства – Окукоат (Ocuscoat®, Bausch & Lomb, США) и «Визитон-ПЭГ» (ТУ 9398-008-29039336-2009, ООО «НЭП Микрохирургии глаза», Москва, РФ), не давшие желаемого результата в

равномерности профиля роговицы при аппланации, где были отмечены единичные неравномерные скопления ВЭ в интерфейсе. Однако, после использования ВЭ пониженной концентрации – 1 % ГПМЦ (ТУ 9398-008-29039336-2009, ООО «НЭП Микрохирургии глаза», Москва, РФ) была отмечена равномерность распределение ВЭ по поверхности роговицы и непрерывность профиля аппланации по данным ОКТ ФСЛ. Исходя из итогов предварительного этапа отбора ВЭ для данной работы, наш выбор остановился на 1% растворе ГПМЦ. Преимуществом данного ВЭ является его низкая вязкость, обеспечивающая равномерное распределение и растекание раствора по поверхности роговицы, что предотвращает образование складок в момент аппланации. Стоит отметить, что при выборе ВЭ следует соблюдать баланс между его вязкостью и эластичностью, при которых будет обеспечиваться достаточная защита ЭК и конгруэнтность поверхностей профиля роговицы и интерфейса ФСЛ в момент аппланации, которая влияет на качество фемтолазерного реза и, следовательно, на дальнейшие клиничко-функциональные результаты в постоперационном периоде.

В ходе экспериментального исследования для обоснования предложенной нами технологии защиты эндотелия и сравнением потери ЭК после выкраивания были использованы 32 свиных КСД с жизнеспособным эндотелием, которые были помещены в среду для хранения роговицы (ТУ 9393-013-29039336-2007, производства ООО «НЭП Микрохирургии глаза», Москва). Две сформированные группы включали по 16 свиных роговиц, в обеих группах ультратонкие трансплантаты были заготовлены при помощи низкочастотного ФСЛ LDV Z8 (Ziemer, Швейцария), однако в опытной группе (в отличие от группы контроля), был предварительно нанесен раствор 1% ГПМЦ на эндотелий роговичного трансплантата на этапе аппланации. Для определения жизнеспособности эндотелия роговицы применяли флуоресцентный краситель «Ab115347 – Live and Dead Cell Assay» (Abcam, Великобритания).

При исследовании жизнеспособности ЭК в контрольной и опытной группах количество живых и мертвых ЭК статистически достоверно отличалось. Живых ЭК было 2854 кл/мм², что составляет 80,35±0,88%; и 3477 кл/мм², что составляет

90,27±1,33% соответственно ($p<0,001$). Количество мертвых ЭК в контрольной группе было на 9,92±1,11% больше, чем в опытной, и составляло 710 кл/мм², что равняется 19,65±0,88%; и 402 кл/мм², что равняется 9,73±1,33% соответственно ($p<0,001$).

Шилова Н.Ф. в 2019 году продемонстрировала потерю ЭК в отдаленные сроки наблюдения в группе ЗПК с использованием ФСЛ LDV Z8 (Ziemer, Швейцария), которая составила 65,7±7,7%. Автор также приходит к выводу, что большая потеря ЭК в группе с ФСЛ сопряжена с большей травмой клеток эндотелия во время подготовки донорского трансплантата [59].

Результаты данного исследования показали, что степень потери ЭК в основной (опытной) группе пациентов (с защитой эндотелия) были статистически значимо меньше, чем в контрольной группе на всех сроках наблюдения и к 12 месяцам наблюдения составила 53,6±5,3% в основной группе, и 65,6±7,5% в контрольной группе ($p<0,001$, t-критерий Стьюдента для независимых выборок).

В работе Кузьмичева К.Н. (2022 г.) в эксперименте на свиных глазах после выкраивания ультратонкого трансплантата автор производил подсчет живых ЭК с использованием аналогичного ФСЛ – LDV Z8 (Ziemer, Швейцария). В итоге процент живых ЭК составил в среднем 85,3±6,3%, мертвых – 14,6±6,1% [27]. По нашим данным вископротекция эндотелия трансплантата в эксперименте способствует сохранению клеток, при этом количество живых ЭК составило 90,27±1,33%, а мертвых 9,73±1,33% ($p<0,001$).

В еще одной опубликованной ранее работе было доказано, что повреждающее воздействие энергии ФСЛ на кератоциты (мертвые кератоциты) было зафиксировано на глубине до 117 мкм, при этом наибольшую гибель кератоцитов наблюдали на глубине 26 мкм [27]. В нашем же исследовании выявлено статистически значимо меньшее количество мертвых кератоцитов в основной группе на глубине от 0 мкм – 189 (171; 192) кл/мм², 13 мкм – 158 (154; 162,5) кл/мм², до 26 мкм – 131 (122,5; 144,5) кл/мм² включительно ($p<0,05$), чем в контрольной на глубине от 0 мкм – 238 (220,5; 243,5) кл/мм², 13 мкм – 209 (183,5; 226) кл/мм², до 26 мкм – 169 (154; 195) кл/мм² включительно. Тем самым выявлено,

что в группе с использованием ВЭ повреждение кератоцитов на глубине от 0 мкм (соответствует горизонтальному резу ФСЛ) до 26 мкм – меньше, чем в контрольной группе. Исходя из имеющегося ряда публикаций, в которых описаны появления клинического помутнения называемого «хейза» в зоне прилегания трансплантата к строме реципиента (зоне интерфейса), который появляется после выкраивания заднего послойного трансплантата ФСЛ, возможное снижение повреждения кератоцитов в данной работе приводит и к меньшему образованию «хейза» [160]. Так как повышенная оптическая плотность этой зоны по мнению ряда ученых может быть связана с активацией стромальных кератоцитов энергией ФСЛ с дальнейшим отложением в зоне интерфейса продуктов их активации, таких как: депозиты липофусцина и кристаллина, при формировании трансплантата с использованием ФСЛ [108, 182].

Также при изучении влияния фемтолазерного излучения на строму и кератоциты в зоне горизонтального фемто-разреза выявлено, что на уровне фемто-диссекции (соответствует 0 мкм) имеются поврежденные кератоциты: в опытной группе – 82,9%, в контрольной группе – 100%. Далее ущерб от ФСЛ снижался до уровня 91 мкм, на котором были обнаружены единичные поврежденные кератоциты: в опытной группе – 2,1%, в контрольной группе – 2,2%. Далее глубже в сторону эндотелиальной части трансплантата, мертвых кератоцитов не было обнаружено. Следовательно, на этой глубине заканчивается негативное влияние лазерного воздействия на кератоциты трансплантата. В опытной группе, использование ВЭ на этапе аппланации незначительно повлияло на работу ФСЛ и уменьшило степень повреждения кератоцитов пропорционально дальности от горизонтального фемтореза. Исходя из заложенной в настройки ФСЛ целевой толщины трансплантата в 125 мкм, после формирования горизонтального фемтореза, до эндотелиального слоя роговицы оставалось в среднем 34 мкм интактной стромы. Данная настройка, с нашей точки зрения оптимальна с точки зрения безопасности коллатерального воздействия лазерной энергии на эндотелий трансплантата.

Согласно приказу министерства науки и высшего образования Российской Федерации от 6 февраля 2023 № 107 «Об утверждении Порядка определения уровней готовности разрабатываемых или разработанных технологий, а также научных и (или) научно-технических результатов, соответствующих каждому уровню готовности технологий», данное изобретение – модифицированный инжектор отечественного производства соответствует третьему уровню готовности технологий. В данной работе сформулирована фундаментальная концепция изобретения и обоснована ее эффективность. Выявлены основные характеристики и опубликованы фундаментальные принципы инжектора. Сформулирована идея решения технической проблемы имплантации заднего послойного трансплантата, где произведено ее теоретическое и экспериментальное обоснование. Также были определены основные области применения инжектора и его ключевые элементы. Сформулирована технологическая концепция защиты эндотелия заднего послойного трансплантата с возможностью ее применения для перспектив решения вопроса уменьшения травматизации эндотелиальных клеток трансплантата на этапе его имплантации в ходе ЗПК. Обоснованы необходимость и возможность создания новой модели инжектора и технического решения проблемы потери эндотелиальных клеток на этапе имплантации, в которых используются особенности конструкции данного изобретения. Получено подтверждение обоснованности концепции защиты и технического решения вышеперечисленной проблемы в момент имплантации заднего послойного трансплантата. Доказана эффективность использования инжектора в решении задач, представленных в данной работе на базе предварительной проработки на уровне расчетных исследований и моделирования. Изготовлен макетный образец инжектора и продемонстрированы основные его характеристики: даны аналитические и экспериментальные подтверждения по важнейшим функциональным возможностям и параметрам для выбранной концепции технологии защиты эндотелия в ходе задней послойной кератопластики на этапе имплантации заднего послойного трансплантата. Проведено расчетное и экспериментальное обоснование эффективности технологии защиты эндотелия в

ходе имплантации заднего послойного трансплантата и продемонстрирована ее работоспособность в экспериментальной работе на кадаверных глазах. Сформирована доказательная база для дальнейшего совершенствования и разработки технологии [49].

Таким образом, в данной работе продемонстрирована полная клиническая картина заболевания, описаны все существующие виды диагностики, предложены новые варианты техники пересадки ЗПК с модификациями. Полученные высокие клиничко-функциональные результаты позволяют рекомендовать технологию предварительной защиты эндотелия трансплантата при ФЛ-ЗАПК у пациентов с различными видами дисфункция эндотелия для внедрения в широкую клиническую практику.

ВЫВОДЫ

1. В результате экспериментального исследования инвертированных корнеосклеральных дисков в момент аппланации с головкой фемтосекундного лазера, выявлено, что нахождение ВЭ (1% ГПМЦ) в зоне интерфейса «эндотелий-головка лазера» не влияет на равномерность профиля аппланации донорской роговицы по данным оптической когерентной томографии.

2. Подсчет потери эндотелиальных клеток с оценкой их жизнеспособности в эксперименте с использованием свиных корнеосклеральных дисков показал, что плотность живых эндотелиальных клеток в основной группе с использованием вискоэластика была больше, чем в контрольной составив 3477 кл/мм² и 2854 кл/мм² соответственно ($p < 0,001$, критерий Манна-Уитни). Данный факт свидетельствует об эффективной вископротекции эндотелия как в момент аппланации лазером, так и при его дальнейшей работе.

3. При анализе качества стромального реза по данным сканирующей электронной микроскопии трансплантата отмечали лишь незначительные разволокнения стромы в обеих исследуемых группах. Нанесение 1% раствора гидроксипропилметилцеллюлозы на эндотелий донорской роговицы перед этапом аппланации не влияло на работу лазера и качество стромальной поверхности трансплантата.

4. Разработана оригинальная модель инжектора-глайда для задней послойной кератопластики, способствует поддержанию стабильного положительного давления в передней камере, равномерному складыванию трансплантата и создает оптимальные условия для продвижения его по каналу инжектора-глайда с последующим плавным расправлением в передней камере глаза в эксперименте.

5. Сравнительная оценка потери эндотелиальных клеток после прохождения трансплантата через предложенный инжектор-глайд показала плотность живых эндотелиальных клеток равную 2929 ± 38 кл/мм², что статистически значимо больше, чем в группе с использованием глайда Бузина - 2527 ± 34 кл/мм² ($p < 0,001$, t-критерий Стьюдента для независимых выборок). При

исследования относительной потери плотности ЭК с помощью ТС разница между группами составила $2,56 \pm 1,78\%$.

6. Анализ клинико-функциональных результатов лечения пациентов с эндотелиальными дистрофиями методом ФЛ-ЗПК показал, что оперативное лечение в обеих группах на всех сроках наблюдения дало статистически значимое увеличение МКОЗ по сравнению с исходными данными. В опытной группе МКОЗ до операции и на сроке наблюдения 12 месяцев составляет 0,04 (0,01;0,05) и 0,4 (0,30;0,50) соответственно. В контрольной группе МКОЗ до операции и на сроке наблюдения 12 месяцев составляет 0,08 (0,02;0,10) и 0,3 (0,30; 0,40) соответственно. Толщина трансплантата в центральной части роговицы в основной группе на сроках 3 и 6 месяцев после операции была статистически значимо меньше, чем в контрольной ($p=0,024$ и $p=0,026$ критерий Манна-Уитни), плотность эндотелиальных клеток через 12 месяцев в опытной группе составила 1339 (1220;1425) кл/мм²; и была статистически значимо больше, чем в контрольной группе – 970 (890; 1097) кл/мм², ($p<0,001$, критерий Манна-Уитни), таким образом, потеря ПЭК в основной и контрольной группах составила $53,6 \pm 5,3\%$ и $65,6 \pm 7,5\%$ соответственно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для защиты эндотелиального слоя заднего послойного трансплантата на этапе выкраивания его с помощью ФСЛ, рекомендовано нанесение на эндотелий трансплантата слоя 1% ГПМЦ, который обеспечивает достаточную защиту ЭК и конгруэнтность поверхностей профиля роговицы и интерфейса ФСЛ в момент аппланации и не влияет на качество фемтолазерного реза.

2. Для обеспечения предсказуемости и безопасности процесса аппланации для эндотелия при выкраивания трансплантата, а также оптимизации силы контакта интерфейса ФСЛ и эндотелия следует применять следующую методику: донорский корнеосклеральный диск фиксируют в специальном держателе – искусственной передней камере эндотелиальной стороной вверх, затем при непрерывной подаче сбалансированного солевого раствора заполняют ИПК под давлением 50 мм вод. ст., что оптимально для поддержания объема ИПК, разглаживания складок роговицы и распределения давления на эндотелий роговой оболочки при его контакте с интерфейсом лазера. После нанесения вискоэластика на поверхность эндотелиального слоя выдерживают время 30-60 секунд, необходимое для равномерного распределения его в виде слоя по всей поверхности эндотелия. Далее рукоятку лазера фиксируют к ИПК при помощи специального упора, затем вращением кольца с резьбой плавно опускают вниз, тем самым аппланируя роговицу. При помощи ОКТ, интегрированной в ФСЛ, производят контроль контакта роговицы и головки лазера. Далее после работы ФСЛ вращением кольца в обратном направлении плавно разъединяют головку лазера и донорскую роговицу, затем удаляют рукоятку лазера с поверхности искусственной передней камеры.

3. Для выкраивания ультратонкого трансплантата для ЗПК при помощи ФСЛ оптимальными являются следующие параметры: глубина – 125 мкм, диаметр – 7,0-8,5 мм. После формирования горизонтального фемтореза, до эндотелиального слоя роговицы остается в среднем 34 мкм интактной стромы. Данная настройка

оптимальна с точки зрения безопасности коллатерального воздействия лазерной энергии на эндотелий трансплантата.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БК – буллезная кератопатия

ПБК – псевдофакичная буллезная кератопатия

ВГД – внутриглазное давление

БТ – болезнь трансплантата

ВМД – возрастной макулярной дегенерации

ДМ – Десцеметова мембрана

ДР – десцеметорексис

ДФ – эндотелиальная дистрофия роговицы Фукса

ЗПК – задняя послойная кератопластика с предварительным удалением Десцеметовой мембраны

ЗАПК – задняя автоматизированная послойная кератопластика с предварительным удалением Десцеметовой мембраны

ФЛ-ЗПК – задняя послойная кератопластика с применением фемтосекундного лазера

ВЭ – вискоэластик

ТС – трепановый синий

ФСЛ – фемтосекундный лазер

ИОЛ – интраокулярная линза

ИПК – искусственная передняя камера глаза

ЭК – эндотелиальные клетки

ПЭК – плотность эндотелиальных клеток

КОЗ – скорректированная острота зрения

МКОЗ – максимальной скорректированной остроты зрения

НКОЗ – нескорректированная острота зрения

ОКТ – оптическая когерентная томография

ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома

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

ФЭК – факоэмульсификация катаракты

ЦТР – центральная толщина роговицы

ЭК – эндотелиальные клетки

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

Femto-PLAK – Femto Posterior Lamellar Keratoplasty

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

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

PBS – Phosphate-Buffered Saline

PDEK – pre-Descemet's endothelial keratoplasty

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисов С. Э., Черненкова Н. А., Сурнина З. В. Анатомо-функциональные особенности и методы исследования нервных волокон роговицы //Вестник офтальмологии. – 2018. – Т. 134. – №. 6. – С. 102-106.
2. 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. – № 10. – С. 473–474.
3. Бикбов, М.М. Способ диагностики буллезной кератопатии: пат. No 2552295 Рос. Федерация / М.М. Бикбов, З.Р. Марванова, Л.Р. Марванова; заявитель и патентообладатель ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республика Башкортостан». – No 2014114105/14; заявл. 09.04.2014; опубл. 10.06.15. – Бюл. No 16.
4. 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.
5. Бойко Э.В. и др. Лечение буллезной кератопатии излучением иттербий-эрбиевого лазера. Тез. докл. VII-й Съезд офтальмологов России: М., – 2000; а – 2: – 11.
6. Большунов А.В., Ермаков Н.В., Каспаров А.А. Лазер в лечении роговой оболочки глаза. Офтальмологический журнал. 1985; 8: 470-472.
7. Волков В. В., Дронов М. М. К разработке хирургического метода лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы //I съезд офтальмологов республик Закавказья. Сухуми. – 1976. – С. 150-165.
8. Волков В. В., Дронов М. М. Новое в лечении глубокой дистрофии роговицы //Международная конференция по кератопластике и кератопротезированию: Тезисы докладов. – 1978. – С. 90-92.

9. Глазные болезни: учебник / Под ред. В. Г. Копаевой. – М. : Медицина, 2002. – С. 201–204. – Текст : непосредственный.
10. 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.
11. Горгиладзе Т. У., Ивановская Е. В., Горгиладзе Л. Т. Причины, механизм развития и клинико-анатомическая классификация буллезной кератопатии //Офтальмол. журн. – 1992. – №. 3. – С. 129-133.
12. Гостев Н. Н., Кузнецов С. Л. Применение гелий-неонового лазера в лечении послеоперационных кератопатий. Актуальные вопросы офтальмологии //Сборник статей науч.-практ. конф.«Актуальные вопросы офтальмологии. – 1998. – С. 110-111.
13. Гундорова Р. А. и др. Лечебная кератопластика при различных патологических состояниях роговицы //Офтальмол. журн. – 1983. – Т. 258. – №. 2. – С. 75-77.
14. 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.
15. 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.
16. 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.

17. 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. – М., 1989. - 26 с. – Текст: непосредственный.
18. Калинин Ю.Ю., Динь Т.Х.А., Золотаревский А.В., Калининкова С.Ю. Новый хирургический подход к предесцементовой эндотелиальной кератопластике (PDEK). Вестник офтальмологии. – 2023 Vol. 139 №1 – Р. 55–66. <https://doi.org/10.17116/oftalma202313901155>
19. Каспаров А. А. и др. Послеоперационная буллезная кератопатия: трансплантационные и не трансплантационные методы лечения //Тезисы докладов Девятого съезда офтальмологов России. – 2010. – Т. 307.
20. Каспаров, А. А. Эндотелий трансплантата донора после сквозной кератопластики / А. А. Каспаров, Н. В. Ермаков, Ю. М. Раппопорт. – Текст: непосредственный // Вестник офтальмологии. – 1990. – Т. 106, № 5. – С. 12–17.
21. Каспаров, А. А. Эксимерлазерная фототерапевтическая кератостромэктомия в лечении буллезной хронической кератопатии / А. А. Каспаров, Ю. Магден, В. В. Куренков. – Текст: непосредственный // Офтальмологический журнал. – 1999. – Т. 369, № 4. – С. 197–200.
22. 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.
23. Комах, Ю. А. Клинико–цитохимические аспекты прогнозирования и профилактики помутнения трансплантата после рекератопластики: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Комах Юрий

- Алексеевич; ГУ МНТК «Микрохирургия глаза». – М., 1995. – 20 с. – Место защиты: ГУ МНТК «Микрохирургия глаза». – Текст: непосредственный.
24. 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.
 25. Копаева, В. Г. Астигматизм в трансплантате роговицы / В. Г. Копаева. – Текст: непосредственный // Федоровские чтения: сб. науч. тр. – М., 2004. – С. 220–228.
 26. Копаева, В. Г. Современные аспекты сквозной субтотальной кератопластики: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Копаева Валентина Григорьевна; Московский медицинский стоматологический институт им. Н. А. Семашко. – М., 1982. – 435 с. – Место защиты: Московский научно–исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца. – Текст: непосредственный.
 27. Кузьмичев К.Н. Клинико-экспериментальное обоснование технологии задней послойной кератопластики с использованием ультратонкого трансплантата, заготовленного с эндотелиальной поверхности роговицы с помощью низкочастотного фемтосекундного лазера: специальность 14.1.5 «Глазные болезни»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Кузьмичев Константин Николаевич. - Москва, 2022. – С.112. – Место защиты: ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова. – Текст: непосредственный
 28. Либман Е.С., Кийко Ю.И., Иванов С.В. Стимулирующая лазерная терапия заболеваний роговицы излучением рубинового ОКГ. Офтальмологический журнал. 1982; 4: 204-207.
 29. Магден, Ю. Оптимизация технологии и отдаленные результаты сквозной реконструктивной кератопластики при буллезной кератопатии: специальность

- 14.00.08 «Глазные болезни»: диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Магден Ю. – М., 1998. – Текст: непосредственный.
30. Малюгин Б. Э. и др. Изучение процессов миграции эндотелиоцитов роговицы человека в зону ятрогенного дефекта в условиях эксперимента *ex vivo* // Практическая медицина. – 2018. – Т. 16. – №. 5. – С. 151-157.
31. Малюгин Б.Э. Мороз З.И., Борзенко С.А., Дроздов И.В., Айба Э.Э., Паштаев А.Н. Первый опыт и клинические результаты задней автоматизированной послойной кератопластики (ЗАПК) с использованием предварительно выкроенных консервированных ультратонких роговичных трансплантатов. Офтальмохирургия. – 2013 – № 12 – Р. 16 DOI: 10.25276/0235-4160-2013-3-12-16.
32. Малюгин Б.Э. Сравнительный анализ клиничко-функциональных результатов традиционной и фемтолазер-ассистированной факоэмульсификации / 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.
33. 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.
34. 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.
35. Малюгин, Б. Э. Хирургическая коррекция астигматизма после сквозной кератопластики: специальность 14.00.08 «Глазные болезни»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Малюгин Борис Эдуардович; МНТК «Микрохирургия глаза». – М., 1994. – 23

- с. – Место защиты: МНТК «Микрохирургия глаза». – Текст: непосредственный.
36. Мамиконян, В. Р. Современные технологии пересадки роговицы / В. Р. Мамиконян, С. В. Труфанов, Г. А. Осипян. – Текст: непосредственный // IX съезд офтальмологов России: тез. докл. – М., 2010. – С. 311.
 37. Марванова З.Р., Марванова Л.Р. Снижение плотности эндотелиоцитов роговицы после сквозной кератопластики, как фактор отторжения трансплантата. Восток - Запад 2012.с 108
 38. Мороз З.И. Лечение послеоперационной дистрофии роговицы методом задней послойной кератопластики / З.И. Мороз, Т.Д. Тоцкая, Т.Н. Григорьянц. – Текст: непосредственный // Офтальмохирургия. – 1992. – № 1. – С. 59–63.
 39. 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.
 40. Мягков А.В., Перевозчиков П.А. Кератопластика при эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы. Современные методы лечения близорукости и других заболеваний глаз. Ижевск, 2000: 74-75.
 41. 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. – № 5. – С. 44–46.
 42. Оганесян О. Г. и др. Результаты сканирующей электронной микроскопии ультратонкого эндокератотрансплантата, сформированного фемтосекундным лазером со стороны эндотелия //Российский медицинский журнал. – 2018. – Т. 24. – №. 1. – С. 19-24.
 43. Оганесян О.Г., Нероев В.В., Гундорова Р.А., Сметанина М.А., Данилова Д.Ю. Микроинвазивная десцеметопластика. Анализ предварительных результатов первых 20 случаев. Офтальмология. – 2010 – Vol. 7 № 2 – Р. 20–25

44. Паштаев А.Н., Малюгин Б.Э., Измайлова С.Б., Паштаев Н.П., Кузьмичев К.Н., Алиева С.С., Катмаков К.И. Инвертированная задняя послойная фемтокератопластика: качество поверхности среза роговицы и предварительные клинические результаты. Офтальмология. – 2020 – Vol. 17 № 2 – P. 216-222. <https://doi.org/10.18008/1816-5095-2020-2-216-222>
45. Петров С. Ю. и др. Применение вискоэластиков в офтальмохирургии //Национальный журнал глаукома. – 2016. – Т. 15. – №. 1. – С. 97-108.
46. 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.
47. Погорелова С.С., Оганесян О.Г., Ченцова Е.В. Среднесрочные биологические и функциональные результаты эндотелиальной кератопластики (DSEK) с формированием трансплантата фемтосекундным лазером со стороны эндотелия //Российский медицинский журнал. – 2015. – Т. 21. – №. 4. – С. 9-12.
48. Погорелова С.С., Яковлева С.С., Ченцова Е.В., Грдиканян А.А., Милаш С.В., Оганесян О.Г. Анализ плотности эндотелиальных клеток в среднесрочный период наблюдения после эндотелиальной кератопластики с формированием трансплантата фемтосекундным лазером со стороны эндотелия // Российский медицинский журнал. – 2016. – Т. 22. – №. 1.
49. Приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации Об утверждении Порядка определения уровней готовности разрабатываемых или разработанных технологий, а также научных и (или) научно-технических результатов, соответствующих каждому уровню готовности технологий. от 06.02.2023. – № 107
50. 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. – № 3. – С. 15–16.
51. Титовец Э.П. Аквапорины человека и животных: фундаментальные и клинические аспекты. Минск: Белорус. наука, 2007. 239 с.
52. Труфанов С. В. Селективная кератопластика в лечении буллезной кератопатии: дис. ... д-ра. мед. наук: 14.01.07 / Труфанов Сергей Владимирович. – М., 2015. – 293 с.
53. Труфанов С. В., Саловарова Е. П. Дисфункция эндотелиального слоя роговицы: этиопатогенез и современные подходы к лечению //РМЖ. Клиническая офтальмология. – 2019. – Т. 19. – №. 2. – С. 116-119.
54. Труфанов С.В. Результаты автоматизированной эндотелиальной кератопластики с удалением десцеметовой мембраны (DSAEK) при буллезной кератопатии. Офтальмология. – 2012 – Vol. 9 №1 – Р. 33–36 DOI:10.18008/1816-5095-2012-1-32-36
55. Федоров, С. Н. Эндотелий роговицы человека / С. Н. Федоров, Т. И. Ронкина, Т. М. Явишева. – М: МНТК «Микрохирургия глаза», 1993. – 126 с. – Текст : непосредственный.
56. Фейгин Ф. Пересаживание роговицы / Ф. Фейгин – Текст: непосредственный // Воен. мед. журн. – 1867. – Т. 99. – С. 176–217.
57. Филатов В.П. Роговица трупа как материал для пересадки / В.П. Филатов – Текст: непосредственный // Сов. вест, офтальмологии. – 1934. – № 2. – С. 222–224.
58. Чупров, А.Д. Анатомия и физиология органа зрения : учебное пособие / А.Д. Чупров, Ю.В. Кудрявцева ; под общей редакцией А.Д. Чупрова – Киров : Кировская государственная медицинская академия, 2007. – 107 с. – URL: <https://zreni.ru/download/books/503-anatomiya-i-fiziologiya-organa-zreniya-ad-chuprov-yuv-kudryavceva.html> (дата обращения: 07.04.2023). – Текст : электронный.
59. 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
60. Шимановский А. Пересадка переднего отдела глаза / А. Шимановский – Текст: непосредственный // Вестн. офтальмологии. – 1912. – No 29. – С. 711– 738.
61. Шишкин М.М., Даниличев В. Ф., Ушаков Н. А. и др. Изучение возможности антиоксидантной терапии при эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы //Ерошевские чтения. – 2002. – С. 257-260.
62. Щелкунов, С.И. Регенерация роговицы / С.И. Щелкунов // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1938 . – Т. 18, Вып. 1. – С. 20-38.
63. 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
64. 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. – Doi 10.1016/s0161-6420(02)01078-3. – Text: electronic // Ophthalmology. –2002. – Vol. 109, № 7. – P. 1291–1296.
65. 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.
66. Afshari N. A. et al. Clinical study of Fuchs corneal endothelial dystrophy leading to penetrating keratoplasty: a 30-year experience //Archives of ophthalmology. – 2006. – Т. 124. – №. 6. – С. 777-780.
67. 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.

68. Al-Mezaine H. Repeat penetrating keratoplasty: indications, graft survival, and visual outcome / H. Al-Mezaine // *Br J Ophthalmol.* – 2006. – Vol. 90, No 3 – P. 324–327.
69. 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).
70. Ang, M. Endothelial keratoplasty after failed penetrating keratoplasty: an alternative to repeat penetrating keratoplasty / M.Ang, H. Ho, D.T.H. Tan. // *American Journal of Ophthalmology.* 2014. – P.1221-1227.
71. 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.
72. Anshu A. Postoperative risk factors influencing corneal graft survival in the Singapore Corneal Transplant Study / A. Anshu, D. T H. Tan // *Am J Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 151, No 3. – P. 442 – 448.
73. 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.
74. 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.
75. Arshinoff S. New terminology: ophthalmic viscosurgical devices. *J Cataract Refract Surg* 2000; 26(5):627-628.
76. 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.
77. 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.
78. 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.
79. 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.
80. Baratz K.H., Tosakulwong N., Ryu E., Brown W.L., Branham K., Chen W., Tran K.D., Schmid-Kubista K.E., Heckenlively J.R., Swaroop A., Abecasis G., Bailey K.R., Edwards A.O. E2-2 protein and Fuch's corneal dystrophy. *New England Journal of Medicine.* 2010;363:1016–1024. DOI: 10.1056/nejmoa1007064
81. Barraquer J.I. Lamellar keratoplasty. Special techniques / J.I. Barraquer // *Ann Ophthalmol.* – 1972. – Vol. 4. – P. 437–469.
82. 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.
83. Bersudsky V. The profile of repeated corneal transplantation / V. Bersudsky // *Ophthalmology.* – 2001 – Vol. 108, No 3. P. 461–469.
84. Binder, P. S. The effect of suture removal on keratoplasty astigmatism / P. S. Binder. – Doi 10.1016/0002-9394(88)90057-8. – Text: electronic // *Am. J. Ophthalmol.* – 1988. – Vol. 105, № 6. – P. 637–645.
85. Birbal R.S. Quarter-Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: One- to Two-Year Clinical Outcomes / R.S. Birbal, S. Ni Dhubghaill, L. Baydoun, L. Ham [et. al.]. – Text: immediate // *Cornea.* – 2020. – Vol. 39. – No 3. – P. 277–282.
86. Blatt, H. L. Endothelial cell density in relation to morphology/ H. L. Blatt // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1979. – Vol. 18. – P. 856-859. – 127.

87. 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.
88. Bloembergen N. Laser-induced optical breakdown in solids / N. Bloembergen // *IEEE J.Quantum Electron*. – 1974. – Vol. 10. – P. 375-386.
89. Böhringer D. et al. Influencing factors on chronic endothelial cell loss characterized in a homogeneous group of patients // *British journal of ophthalmology*. – 2002. – T. 86. – №.1. – C. 35-38.
90. 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.
91. Branch M.J., Hashmani K., Dhillon P. et al. Mesenchymal stem cells in the human corneal limbal stroma // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 2012. 53. (9). 5109–5116.
92. 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.
93. Bray L.J., Heazlewood C.F., Atkinson K. et al. Evaluation of methods for cultivating limbal mesenchymal stromal cells // *Cytotherapy*. 2012. 14. (8). 936–947.
94. Bray L.J., Heazlewood C.F., Munster D.J. et al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stromal cell cultures derived from the limbus of human and rabbit corneas // *Cytotherapy*. 2014. 16. (1). 64–73.
95. Brightbill, F. S. *Corneal Surgery. Theory, Technique and Tissue* / F. S. Brightbill, P. J. McDonnel, N. J. Charles. – Fourth edition. – 2009, Elsevier. – 62 p. – Text : immediat.
96. Buratto, L. The use of femtosecond laser in penetrating keratoplasty / L. Buratto, E. Bohm. – Doi 10.1016/j.ajo.2007.01.056. – Text: electronic // *Am. J. Ophtalmol*. – 2007. – Vol. 143, № 5. – P. 737–742.
97. Burstein, N.L. Cryofixation of tissue surfaces by a propane jet for electron microscopy/ N.L. Burstein, D. M. Maurice // *Micron*. – 1978. – Vol. 9. – P. 191-201.

98. Busin M. A modified technique for Descemet membrane stripping automated endothelial keratoplasty to minimize endothelial cell loss / M. Busin, P.R. Bhatt, V. Scordia. – Text: immediate // Arch Ophthalmol. – 2008. – Vol. 126. – No 8. – P. 1133–1137.
99. 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.
100. Busin M. Microkeratome-assisted preparation of ultrathin grafts for descemet's stripping automated endothelial keratoplasty / M. Busin, A.K. Patel,V.Scordia. – Text: immediate // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2012. – Vol. 53. – P. 521–524.
101. 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. Scordia. – Text: immediate // J Ophthalmology. – 2013. – Vol. 120. – No 6. – P. 1186–1194.
102. Castroviejo R. Penetrating keratoplasty. Regrafting in unusual cases / R. Castroviejo // The World cornea Congress - Washington: Butterworths, 1965–P .553.
103. 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.
104. 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.
105. Chen S.Y., Mahabole M., Tseng S.C.G. Optimization of Ex Vivo Expansion of Limbal Epithelial Progenitors by Maintaining Native Niche Cells on Denuded Amniotic Membrane // TVST. 2013. <http://tvstjournal.org/doi/full/10.1167/tvst.2.7.1>.

106. Cheng X., A numerical model for metabolism, metabolite transport and edema in the human cornea/ X. Cheng, P. Pinsky // *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*. 2017; 134: 323–344.
107. 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.
108. 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.
109. Cheng, Y. Y. Histologic evaluation of human posterior lamellar discs for femtosecond laser Descemet's stripping endothelial keratoplasty / Y. Y. Cheng, S. J. Kang, H. E. Grossniklaus [et al.]. – Doi 10.1097/ICO.0b013e318183a379. – Text: electronic // *Cornea*. – 2009. – Vol. 28, №1. – P. 73–79.
110. 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.
111. Costa D. C. et al. Corneal allograft rejection: topical treatment vs. pulsed intravenous methylprednisolone-ten years' result // *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. – 2008. – T. 71. – C. 57-61.
112. Crawford G. J. et al. The triple procedure: analysis of outcome, refraction, and intraocular lens power calculation // *Ophthalmology*. – 1986. – T. 93. – №. 6. – C. 817-824.
113. Cross, H. E. Inheritance of Fuchs' endothelial dystrophy / H. E. Cross, A. E. Maumenee, S. J. Cantolino. - Doi 10.1001/archophth.1971.00990050270002. // *Arch. Ophthalmol.* – 1971. – Vol. 85, No 3. – P. 268–272.
114. Cursiefen, C. Changing indications for penetrating keratoplasty: histopathology of 1 250 corneal buttons / C. Cursiefen, M. Kuchle, G. O. Naumann. - Doi 10.1097/00003226-199809000-00002. – Text: electronic // *Cornea*. – 1998. – Vol. 17, № 5. – P. 468–470.

115. 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.
116. 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.
117. 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.
118. 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.
119. De Roo A. K. et al. Immunohistochemical profiling of corneas with fuchs endothelial corneal dystrophy //Cornea. – 2017. – T. 36. – №. 7. – C. 866-874.
120. 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.
121. 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. Oganis, L.E. – Text: immediate // Am. J. Ophthalmol. – 2011. – Vol. 152. – No 4. – P. 543–555.
122. Dua H. S. et al. Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer) //Ophthalmology. – 2013. – T. 120. – №. 9. – C. 1778-1785.
123. Dunker S. L. et al. Practice patterns of corneal transplantation in Europe: first report by the European Cornea and Cell Transplantation Registry //Journal of Cataract & Refractive Surgery. – 2021. – T. 47. – №. 7. – C. 865-869.
124. Dupps, W. J. Multivariate model of refractive shift in Descemet–stripping automated endothelial keratoplasty / W. J. Dupps, Y. Qian, D. M. Meisler. - Doi

- 10.1016/j.jcrs.2007.11.045. – Text: electronic // J. Cataract Refract. Surgery. – 2008. Vol. 34, № 4. – P. 578–584.
125. Edelhauser, H. F. The cornea and the sclera / H. F. Edelhauser, J. L. Ubels. – Text: electronic // Kaufman P. L., Aim A. editors: Adler's physiology of the eye: clinical application, ed 10, St Louis. – 2003, Elsevier Science. – 47 p. -Text: immediate.
126. Edelhauser, H.F. The balance between corneal transparency and edema: the proctor lecture / H.F. Edelhauser // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2006. – Vol. 47, No 5. – P. 1755-1767.
127. Eghrari A. O. et al. Prevalence and severity of fuchs corneal dystrophy in Tangier Island // American journal of ophthalmology. – 2012. – T. 153. – №. 6. – C. 1067-1072.
128. 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.
129. Elschmig A. Keratoplasty / A. Elschmig. – Text: immediate // Arch. Ophthalmol. – 1930. – Vol. 4. – P. 165–173.
130. Eye Bank Association of America. Surgical Use and Indications for Corneal Transplant Statistical Report Analysis. Washington, DC: Eye Bank Association of America; 2021. Eye Bank Association of America. Surgical Use and Indications for Corneal Transplant Statistical Report Analysis. Washington, DC: Eye Bank Association of America; 2021.
131. Farid, M. Femtosecond laser–assisted corneal surgery / M. Farid, R. F. Steinert. - Doi 10.1097/ICU.0b013e32833a8dbc. – Text: electronic // Curr. Opin. Ophthalmol. – 2010. – Vol. 21, № 4. – P. 288–292.
132. 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.
133. 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

134. Fine M. Corneal transplantation and rejection / M. Fine. – Text: immediate // *Doc. Ophthalmol. Proc. Series.* – 1978. – Vol. 20. – P. 109–114.
135. 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.
136. 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.
137. Fuchs E. Dystrophia epithelialis corneae / E. Fuchs // *Albrecht Von Graefe Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* – 1910. – Vol. 76. – P. 478–508.
138. 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.
139. Gal, R.L. The effect of donor age on corneal transplantation outcome results of the cornea donor study / R.L. Gal, M. Dontchev, R.W. Beck [et al.] // *Ophthalmology.* – 2008. – Vol. 115. – № 4. – P. 620-626.E6. DOI:10.1016/j.opthta.2008.01.003.
140. 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.
141. 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. Ophtalmol.* – 2007. – Vol. 30. – No 6. – P. 658–659.
142. 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.
143. Geroski, D. H. Pump function of the human corneal endothelium / D. H. Geroski, M. Matsuda, R. W. Yee [et al.] // *Ophthalmology.* – 1985. – Vol. 92, № 6. – P. 759–763.

144. Giasson, C. Morphometry of corneal endothelium in patients with corneal guttata / C. Giasson, L. Solomon, A. Kenneth. – Text: electronic // *Ophthalmology*. – 2007. – Vol. 114, № 8. – P. 1469–1475.
145. Gorovoy M.S. Descemet-stripping automated endothelial keratoplasty / M.S. Gorovoy. – Text: immediate // *Cornea*. – 2006. – Vol. 25. – No 8. – P. 886–889.
146. 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.
147. Gottsch, J. D. Inheritance of a novel COL8A2 mutation defines a distinct early-onset subtype of fuchs corneal dystrophy/ J.D. Gottsch, et al. // *Investigative ophthalmology & visual science*. – 2005. – T. 46. – No. 6. – P. 1934-1939.
148. 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.
149. 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.
150. 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.
151. 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.

152. 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.
153. Guilbert, E. Rejection of corneal allografts / E. Guilbert, L. Laroche, V. Borderie / *Fr. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 34. – № 5. – P. 331-348.
154. 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.
155. 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.
156. 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.
157. 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.
158. 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.
159. Hill JC, Maske R, Watson P. Corticosteroids in corneal graft rejection: oral versus single pulse therapy. *Ophthalmology*. 1991;98:329–333.
160. 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.
161. Hogan, M. J. *Cornea. The Limbus* / M. J. Hogan, J. A. Alavarado, E. Weddell. – Text: immediate // *Histology of the Human Eye. An Atlas and Textbook*. Philadelphia, WB Saunders, 1971. – P. 55–182.

162. Iliff, B.W. The genetics of Fuchs' corneal dystrophy/ B.W. Iliff, S.A. Riazuddin, J. D. Gottsch //Expert review of ophthalmology. – 2012. – T. 7. – No. 4. – P. 363-375.
163. Ing J. J. et al. Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty //Ophthalmology. – 1998. – T. 105. – №. 10. – C. 1855-1865.
164. 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.
165. Ishii, N. Factors associated with graft survival and endothelial cell density after Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty / N. Ishii, T. Yamaguchi, H. Yazu [et al.] / Sci. Rep. – 2016. – Vol. 6. – P. 25276.
166. Iwamoto, T. Electron microscopic studies on Fuchs combined dystrophy I. Posterior portion of the cornea / T. Iwamoto, A. DeVoe. – Text: immediate // Invest. Ophthalmol. – 1971. – Vol. 10, No 1. – P. 9-28.
167. Jacobi C. Evidence of Endothelial Cell Migration after Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty / C. Jacobi, A. Zhivov, J. Korbmayer, K. Falke, R. Guthoff, U. Schlotzer-Schrehardt. – Text: immediate // Am. J. Ophthalmol. – 2011. – Vol. 152. – No 4. – P. 537–542.
168. 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.
169. Johnson, D. H. The ultrastructure of Descemet's membrane: I. Changes with age in normal corneas / D. H. Johnson, W. M. Bourne, R. J. Campbell. – DOI 10.1001/archophth.1982.01030040922011. – Text : electronic // Arch. Ophthalmol. – 1982. – Vol. 100, № 12. – P. 1942-1947.].
170. Jonas, J. B. Immunologic graft reactions after allogenic penetrating keratoplasty / J. B. Jonas, R. M. Rank, W. M. Budde. - Doi 10.1016/s0002-9394(01)01426-x. – Text: electronic // Am. J. Ophthalmol. – 2002. – Vol.133, № 4. – P. 437–443.

171. Jones D.T. Endothelial lamellar keratoplasty (ELK) / D.T. Jones, W.W. Culbertson. – Text: immediate // Invest Ophthalmol Vis Sci. – 1998. – Vol. 39. – P. 76.
172. Joyce, N. C. Cell cycle protein expression and proliferative status in human corneal cells / N. C. Joyce, B. Meklir, S. J. Joyce, J. D. Zieske. – Text : immediate // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 1996. – Vol. 37, № 4. – P. 645-655.
173. Joyce, N. C. Mechanisms of mitotic inhibition in corneal endothelium: Contact inhibition and TGF-beta2 / N. C. Joyce, D. L. Harris, D. M. Mello. – Text: immediate // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2002. – Vol. 43, № 7. – P. 2152-2159.
174. 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.
175. 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.
176. Kang H.M., Park J.W., Chung E.J. A retained lens fragment induced anterior uveitis and corneal edema 15 years after cataract surgery. Korean J Ophthalmol. 2011;25(1):60–62. DOI: 10.3341/kjo.2011.25.1.60
177. Kaufman, H. E. The human corneal endothelium / H. E. Kaufman, J. A. Capella, J. E. Robbins. – Text: immediate // Am. J. Ophthalmol. – 1966. – Vol. 61, № 5. – P. 835-841.
178. Kayukawa, K. Long-term maintenance of corneal endothelial cell density after corneal transplantation / K. Kayukawa, K. Kitazawa, K. Wakimasu [et al.] / Cornea. – 2020. – Vol. 39. – № 12. – P. 1510-1515. DOI:10.1097/ICO.0000000000002386.
179. 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.

180. 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.
181. 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.
182. Kobayashi A., Mawatari Y., Yokogawa H., Sugiyama K. In vivo laser confocal microscopy after Descemet stripping with automated endothelial keratoplasty // American journal of ophthalmology. – 2008. – T. 145. – №. 6. – C. 977-985.
183. 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.
184. 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.
185. Kotulak, J. C. Age-related changes in the cornea / J. C. Kotulak, T. Brungardt. – Text: immediate // J. Am. Optom. Assoc. – 1980. – Vol. 51, No8. – P. 761–765.
186. Koudouna, E. Immune cells on the corneal endothelium of an allogeneic corneal transplantation rabbit model / E. Koudouna, N. Okumura, Y. Okazaki [et al.] / Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2017. – Vol. 58. – № 1. – P. 242-251. DOI: 10.1167/ iovs.16-20019.
187. 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.
188. Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. Ocular immune response. In: Cornea. Vol.1. St.Louis: Mosby; 1996;68–127.
189. 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.
190. 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.
191. 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.
192. Lambrou, F. H. Wound dehiscence following cataract surgery / F. H. Lambrou, A. Kozarsky. – Text: immediate // Ophthalmic. Surg. – 1987. – Vol. 18, № 10. – P. 738–740.
193. Lass, J.H. Donor, recipient, and operative factors associated with increased endothelial cell loss in the cornea preservation time study / J.H. Lass, B.A. Benetz, S.V. Patel [et al.] / JAMA Ophthalmol. – 2019. – Vol. 137. – № 2. – P. 185-193. PMID: 30422157, PMCID: PMC6439830. DOI:10.1001/jamaophthalmol.2018.5669.
194. 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.
195. Lee, J. R. Intraocular lens implantation in combination with keratoplasty / J.R. Lee, C. H. Dohlman. – Text: immediate // Ann. Ophthalmol. – 1977. – Vol. 9, № 4. – P. 513–518.
196. Lee, J.G. PI 3-kinase/Rac1 and ERK1/2 regulate FGF-2-mediated cell proliferation through phosphorylation of p27 at Ser10 by KIS and at Thr187 by Cdc25A/Cdk2./ J.G. Lee, E.P. Kay // Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011; 52(1): 417-426.
197. 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.

198. 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.
199. Liu Y.C. Endothelial approach ultrathin corneal grafts prepared by femtosecond laser for descemet stripping endothelial keratoplasty / Y.C. Liu, E.P. o, 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.
200. Liu, T. Histological evaluation of corneal scar formation in pseudophakic bullous keratopathy / T. Liu [et al.] // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, No 6. – P. e 39201.
201. 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.
202. Mahabadi, N. Corneal graft rejection / N. Mahabadi, C.N. Czyz, M. Tariq, S.J. Havens / *StatPearls [Internet].* – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021. – PMID: 30085585.
203. Mamalis, N. Changing trends in the indications for penetrating keratoplasty / N. Mamalis, C. Anderson, K. Kreisler [et al.]. – Doi 10.1001/archophth.1992.01080220071023. – Text: electronic // *Arch. Ophthalmol.* – 1992. – Vol. 110, № 10. – P. 1409–1411.
204. 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.
205. 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.
206. 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, № 1. – P. 19–24.

207. 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.
208. 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.
209. 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.
210. 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.
211. 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.
212. 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.
213. 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.
214. 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, № 3. – P. 233–240.
215. Meyer, R. F. Penetrating keratoplasty in pseudophakic bullous keratopathy / R. F. Meyer, A. Sugar. – Doi 10.1016/s0002-9394(14)75136-0. – Text: electronic // Am. J. Ophthalmol. – 1980. – Vol. 90, № 5. – P. 677–681.

216. Mimura, T. Replication competence and senescence in central and peripheral human corneal endothelium / T. Mimura, N.C. Joyce // *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2006. – Vol. 47. – P. 1387-1396.
217. Mohan, M. Penetrating keratoplasty for vascularised cornea / M. Mohan, A. Panda, T. S. Kumar. – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 1990. – Vol. 22 – P. 235–238.
218. 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.
219. 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.
220. 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.
221. Morishige N., Chikama T., Yamada N., Takahashi N., Morita Y., Nishida T., Sonoda K.H. Effect of preoperative duration of stromal edema in bullous keratopathy on early visual acuity after endothelial keratoplasty. *J Cataract Refract Surg.* 2012;38(2):303–308. DOI: 10.1016/j.jcrs.2011.08.032
222. 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.
223. 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.
224. Murphy, Prenatal and postnatal cellularity of the human corneal endothelium: a quantitative histologic study/ C. Murphy, J. Alvarado, R. Juster, M. Maglio // *Invest Ophthalmol Vis Sci.* – 1984. – Vol. 25. – P. 312-322. – 767.

225. 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.
226. Nguyen NX, Seitz B, Martus P, Langenbucher A, Cursiefen C. Long-term topical steroid treatment improves graft survival following normal-risk penetrating keratoplasty // *American journal of ophthalmology*. – 2007. – T. 144. – №. 2. – С. 318-319.
227. Noden, D.M. The control of avian cephalic neural crest cytodifferentiation. I Skeletal and connective tissue/ D. M. Noden // *Dev Biol*. – 1978. – Vol. 67. – P. 296-307. – 792.
228. 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.
229. Oganesyanyan O.G. Five Keratoplasties From One Donor Cornea / O.G. Oganesyanyan, V.V. Neroev, A.A. Grdikanyan [et al.]. – Text: immediate // *Cornea*. – 2018. – Vol. 37. – No 5. – P. 667–671.
230. 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, № 3. – P. 445–452.
231. 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.
232. Palomar, A.P.D. The innate immune cell profile of the cornea predicts the onset of ocular surface inflammatory disorders / A.P.D. Palomar, A. Montolio, J. Cegonino [et al.] / *J. Clin. Med*. – 2019. – Vol. 8. – № 12. – P. 2110. DOI: 10.3390/jcm8122110.

233. 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].
234. Patel N. P. et al. Indications for and outcomes of repeat penetrating keratoplasty, 1989–1995 //Ophthalmology. – 2000. – T. 107. – №. 4. – C. 719-724..
235. Patel, S.V. Corneal endothelium and postoperative outcomes 15 years after penetrating keratoplasty / S.V. Patel, D.O. Hodge, W.M. Bourne / Am. J. Ophthalmol. – 2005. – Vol. 139. – P. 311-319.
236. Paugh, J. R. Polymorphic corneal abnormalities / J. R. Paugh, T. G. Quinn. – Text: immediate // J. Am. Optom. Assoc. – 1984. – Vol. 55, No5. – P. 347– 352.
237. Pepose, J. S. The cornea / J. S. Pepose, J. L. Ubels. – Text: electronic // In Hart W. M. Jr, editor: Adler 's physiology of the eye: clinical application. ed 9, St Louis, 1992, Mosby, P. 29. – Text: immediate.
238. Perry, H. D. Expulsive choroidal hemorrhage following suture removal after penetrating keratoplasty / H. D. Perry, E. D. Donnenfeld. – Doi 10.1016/s0002–9394(14)76400–1. – Text: electronic // Am. J. Ophthalmol. – 1988. – Vol. 106, №1. – P. 99–100.
239. Pettinelli, D. J. Late traumatic corneal wound dehiscence after penetrating keratoplasty / D. J. Pettinelli, C. E. Starr, W. J. Stark. – Doi 10.1001/archophth.123.6.853. – Text: electronic // Arch. Ophthalmol. – 2005. – Vol. 123, № 6. – P. 853–856.
240. 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.
241. Pineros, O. E., Cohen, E. J., Rapuano, C. J., Laibson, P. R. Triple vs nonsimultaneous procedures in Fuchs' dystrophy and cataract. – Doi 10.1001/archophth.1996.01100130517002. – Text: electronic // Arch. Ophthalmol. – 1996. – Vol. 114, № 5. – P. 525–528.
242. Price F. W. et al. Five-year corneal graft survival: a large, single-center patient cohort //Archives of ophthalmology. – 1993. – T. 111. – №. 6. – C. 799-805.

243. 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.
244. 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.
245. 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.
246. Price, F. W. Descemet's stripping with endothelial keratoplasty in 200 eyes. Early challenges and techniques to enhance donor adherence / F. W. Price, M. O. Price. – Doi 10.1016/j.jcrs.2005.12.078. – Text: electronic // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2006. – Vol. 32, No 3. – P. 411–418.
247. Price, M.O. Endothelial keratoplasty technique for aniridic aphakic eyes / M.O. Price, F. W. Price, R. Trespalacios. – Doi 10.1016/j.jcrs.2006.10.052. – Text: electronic // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2007. – Vol. 33, № 3. – P. 376-379.
248. Randleman J. B., Stulting R. D. Prevention and treatment of corneal graft rejection: current practice patterns (2004) // *Cornea*. – 2006. – T. 25. – №. 3. – C. 286-290.
249. 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.
250. Raynaud, C. Anatomie de la cornee/ C. Raynaud, P. Bonicel, D. Rigal, B. Kantelip // In: *Encycl. Ved. Chir Elsevier, Paris, Ophtalmologie*, 21-003-A-10, 1996. – 7 p. – 878.
251. Riddle, H. Management of postkeratoplasty astigmatism / H. Riddle, D. Parker, F. Price. – Doi 10.1097/00055735-199808000-00004. – Text: electronic // *Curr. Opin. Ophthalmol.* – 1998. – Vol. 9, № 4. – P. 15–28.

252. Robin J. B. et al. An update of the indications for penetrating keratoplasty: 1979 through 1983 // *Archives of Ophthalmology*. – 1986. – T. 104. – №. 1. – C. 87-89.
253. 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.
254. Scorgia V. Pentacam Assessment of Posterior Lamellar Grafts to Explain Hyperopization 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.
255. Seitz B. et al. Impact of graft diameter on corneal power and the regularity of postkeratoplasty astigmatism before and after suture removal // *Ophthalmology*. – 2003. – T. 110. – №. 11. – C. 2162-2167.
256. 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.
257. 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.
258. 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.
259. Shaw, E. L The functional reserve of corneal endothelium/ E. L. Shaw, G. N. Rao, E. J. Arthur // *Trans Am Acad.* – 1978. – Vol. 85. – P. 640-652. – 1000.
260. Sherrard, E. S. Age-related changes of the comeal endothelium and stroma as seen in vivo by specular microscopy / E.S. Sherrard, P. Novakovic, Z. Speedwell // *Eye*. – 1987. – Vol. I. – P. 197-208. – 1001.

261. 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.
262. 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.
263. 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.
264. Sikder S. Ultrathin 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.
265. Sikder S., Snyder R. W. Femtosecond laser preparation of donor tissue from the endothelial side // *Cornea*. – 2006. – T. 25. – №. 4. – C. 416-422.
266. 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.
267. Smolin, G. Endothelial function / G. Smolin, R. A. Thoft, C. H. Dohlman. – Text: immediate // *The Cornea: Scientific Foundations and Clinical Practice*. 3rd ed. Lippincott William & Wilkins, 1994. – P. 635– 643.
268. Soong, K. H. Posterior chamber IOL implantation during keratoplasty for aphakic or pseudophakic corneal edema / K. H. Soong, R. F. Meyer, A. Sugar. – Doi 10.1097/00003226-198706040-00014. – Text: electronic // *Cornea*. – 1987. – Vol. 6, № 4. – P. 306–312.

269. Spigelman A. V. et al. Visual loss following suture removal postkeratoplasty //Cornea. – 1988. – T. 7. – №. 3. – C. 214-217.
270. 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.
271. 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.
272. Sugar, A. Factors associated with corneal graft survival in the cornea donor study / A. Sugar, R.L. Gal, C. Kollman [et al.] / JAMA Ophthalmol. – 2015. – Vol. 133. – № 3. – P. 246-254. PMID: 25322173. PMCID: PMC4394864. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2014.3923.
273. Survival analysis and visual outcome in a large series of corneal transplants in India / L. Dandona, T. J. Naduvilath, M. Janarthanan [et al.]. – Doi 10.1136/bjo.81.9.726. – Text: electronic // Br. J. Ophthalmol. – 1997. – Vol. 81, № 9. – P. 726–731.
274. 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.
275. 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.
276. Taylor D. M. et al. Pseudophakic bullous keratopathy //Ophthalmology. – 1983. – T. 90. – №. 1. – C. 19-24.
277. 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.
278. 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.

279. 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.
280. 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.
281. Thomas, R. *Cornea and External Eye Disease* / Reinhard, Thomas, Larkin, Frank (Eds). – 2006. – 224 p. – Text: immediate.
282. Thompson Jr R. W. et al. Long-term graft survival after penetrating keratoplasty // *Ophthalmology*. – 2003. – T. 110. – №. 7. – C. 1396-1402.
283. Tillett C.W. Posterior lamellar keratoplasty / C.W. Tillett – Text: immediate // *Am. J. Ophthalmol.* – 1956. – No 3. – P. 530–533.
284. Tragakis, M. P. The significance of anterior synechiae after corneal transplantation / M. P. Tragakis, S. I. Brown. – Doi 10.1016/0002– 9394(72)90922–1. – Text: electronic // *Am. J. Ophthalmol.* – 1972. – Vol. 74, № 3. – P. 532–533.
285. 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.
286. Tripathy, B.J. Neuroectodermal origin of corneal endothelium and keratocytes in human eye / B.J. Tripathy, R.C. Tripathi, K. Stefansson, A. Adamis // *Invest Ophthalmol Vis Sci*. – 1985. – Vol. 26, 3. – P. 274-283.
287. Troutman, R. C. Surgical advances and results of kerarokonus / R. C. Troutman, R. N. Gaster. – Doi 10.1016/s0002–9394(14)74843–3. – Text: electronic // *Am. J. Ophthalmol.* – 1980. – Vol. 90, № 2. – P. 11–12.
288. 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.

289. 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.
290. Verkman, A. S. Aquaporins and water transport in the cornea / A. S. Verkman. – Text: electronic // Tombran-Tink J., Barnstable C. J. *Ophthalmology research: ocular transporters in ophthalmic diseases and drug delivery*. – Totowa N. J., Ilamana Press, 2008. – P. 3-16.
291. Vogt, A. Weitere Ergebnisse der Spaltlampenmikroskopie des vorderen Bulbusabschnittes/A. Vogt // *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. – 1921. – Vol. 106. – P. 6.
292. 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.
293. 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.
294. 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.
295. Waring III G. O. et al. Results of penetrating keratoplasty in 123 eyes with pseudophakic or aphakic corneal edema // *Ophthalmology*. – 1983. – T. 90. – №. 1. – C. 25-33.
296. Waring, G. O. Penetrating keratoplasty for pseudophakic corneal edema with exchange of intraocular lenses / G. O. Waring, R. D. Stulting, D. Street. – Doi 10.1001/archophth.1987.01060010064032. – Text: electronic // *Arch. Ophthalmol*. – 1987. – Vol. 105, № 1. – P. 58–62.

297. 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.
298. Weisbrod D. J. et al. Outcomes of repeat penetrating keratoplasty and risk factors for graft failure // *Cornea.* – 2003. – T. 22. – №. 5. – C. 429-434.
299. Weiss JS, Møller HU, Aldave AJ, et al. IC3D classification of corneal dystrophies – edition 2. *Cornea.* 2015Feb;34(2):117-59. doi: 10.1097/ICO.0000000000000307.
300. Williams K. A. et al. Factors predictive of corneal graft survival: report from the Australian Corneal Graft Registry // *Ophthalmology.* – 1992. – T. 99. – №. 3. – C. 403-414.
301. Williams K. A. et al. How successful is corneal transplantation? A report from the Australian Corneal Graft Register // *Eye.* – 1995. – T. 9. – №. 2. – C. 219-227.
302. Williams K. A. et al. Long-term outcome after corneal transplantation: visual result and patient perception of success // *Ophthalmology.* – 1991. – T. 98. – №. 5. – C. 651-657.
303. Williams K. A. et al. Long-term outcome in corneal allotransplantation // *Transplantation proceedings.* – 1997. – T. 1. – №. 29. – C. 983.
304. Wilson, S. E. Graft failure after penetrating keratoplasty / S. E. Wilson, H. E. Kaufman. – Doi 10.1016/0039–6257(90)90110–h. – Text: electronic // *Surv. Ophthalmol.* – 1990. – Vol. 34, № 5. – P. 325–356.
305. 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.
306. 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.
307. 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.

308. 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.
309. 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.
310. 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.