



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

**Fakulta biomedicínského inženýrství
Katedra biomedicínské techniky**

**Změny struktur přední komory oka po fakoemulzifikaci a laserem
asistované operaci katarakty**

**Structural changing of the anterior chamber of the eye after
phacoemulsification and laser assisted cataract surgery**

Diplomová práce

Studijní program: Biomedicínská a klinická technika

Studijní obor: Přístroje a metody pro biomedicínu

Vedoucí: doc. MUDr. Šárka Pitrová, CSc., FEBO

Konzultant: doc. Ing. Marie Pospíšilová, CSc.

Bc. Kateřina Pavlíčková

Kladno 2017

Katedra přírodovědných oborů

Akademický rok: 2016/2017

Z a d á n í d i p l o m o v é p r á c e

Student: **Bc. Kateřina Pavlíčková**
Studijní obor: Přístroje a metody pro biomedicínu
Téma: **Změny struktur přední komory oka po fakoemulzifikaci a laserem asistované operaci katarakty**
Téma anglicky: Structural changing of the anterior chamber of the eye after phacoemulsification and laser assisted cataract surgery

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Operace katarakty je nejčastěji prováděným zákrokem v oftalmochirurgii. Cílem nových technologií, jakou je operace katarakty asistovaná femtosekundovým laserem, je dosažení větší efektivity zákroku při maximálně šetrném vlivu na nitrooční tkáň, především endotel rohovky. Při této metodě dochází vlivem fotodisrupce tkáně ke změně pH nitrooční tekutiny, tzv. „acid shift“, která může mít negativní vliv na endotel rohovky. Cílem práce bude tento vliv posoudit:

- 1) Vypracujte stručnou rešerši problematiky chirurgie katarakty, věnujte se možnému vlivu laserového záření na strukturu přední komory oka.
- 2) Navrhněte postup měření pro hodnocení vlivu záření femtosekundového laseru při operaci katarakty na endotel rohovky a na pH nitrooční tekutiny.
- 3) Porovnejte výsledky měření u pacientů, kteří podstoupili operaci katarakty fakoemulzifikací a za asistence femtosekundového laseru.
- 4) Diskutujte výsledky.

Seznam odborné literatury:

- [1] MARCO ROSSI, FABIO DI CENSO, MATTEO DI CENSO a MUNA AL OUM, Changes in Aqueous Humor pH After Femtosecond Laser-Assisted Cataract Surgery, Journal of Refractive Surgery, Vol. 31, No. 7, 2015, 462-465 s., DOI: 10.3928/1081597x-20150623-04
[2] Oční lékařství, Kuchyňka, P. a kol., ed. 1, Grada Publishing, 2007, 768 s., ISBN 978-80-247-1163-8
[3] KASCHKE, Michael, Karl-Heinz DONNERHACKE a Michael Stefan RILL, Optical devices in ophthalmology and optometry: technology, design principles and clinical applications, ed. 1., Wiley-VCH, 2013, ISBN 978-352-7410-682
[4] Helena Jelínková, Lasers for medical applications, Diagnostics, therapy and surgery, ed. 1., Woodhead Publishing Ltd., 2013, ISBN 978-0-85709-237-3

Vedoucí: Doc. MUDr. Šárka Pitrová, CSc.
Konzultant: doc. Ing. Marie Pospíšilová, CSc.
Zadání platné do: 20.08.2018

.....
vedoucí katedry / pracoviště

.....
děkan

V Kladně dne 05.01.2017

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem „Změny struktur přední komory oka po fakoemulzifikaci a laserem asistované operaci katarakty“ vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně 19. 5.2017

.....

Bc. Kateřina Pavlíčková

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych ráda na prvním místě poděkovala vedoucí mé diplomové práce Doc. MUDr. Šárce Pitrové CSc. za cenné rady a možnost zabývat se zvolenou tematikou. Dále bych ráda poděkovala doc. Ing. Marii Pospíšilové, CSc. za ochotu a pomoc při řešení práce. Velké díky patří také doc. MUDr. Janu Leštákovi, CSc. MBA za ochotu a možnost realizovat výzkum na Oční klinice JL, FBMI ČVUT v Praze. Mnohokrát děkuji celému personálu kliniky a zvláště zdravotním sestřám za vstřícnost a veškerou pomoc. Děkuji též Ústavu fotoniky a elektroniky, AV ČR, v. v. i, jmenovitě Ing. Ondřeji Podrazkému, Ph.D. za prostředky a realizaci jedné z částí výzkumu, jenž byl uskutečněn v rámci projektu TA ČR: TA04011400. V neposlední řadě bych ráda poděkovala i mé rodině a blízkým za podporu při psaní práce i v průběhu celého studia.

ABSTRAKT

Změny struktur přední komory oka po fakoemulzifikaci a laserem asistované operaci katarakty

Operace katarakty je jedním z nejčastěji prováděných zákroků v oftalmologii a její techniky se stále vyvíjejí. Je zde řada faktorů ovlivňujících úspěšnost zákroku a jeho vliv na okolní tkáň. Cílem této diplomové práce je zjistit, jaký vliv na tkáň rohovky a další struktury přední komory oka má operace katarakty za asistence femtosekundového laseru (FLACS – Femtosecond laser-assisted cataract surgery) v porovnání s manuální fakoemulzifikací. Pro zjištění tohoto vlivu byl navržen a proveden výzkum skládající se ze dvou částí. První částí je analýza buněk rohovkového endotelu sestávající z předoperačních a pooperačních vyšetření pomocí endotelového mikroskopu. Druhou částí je měření pH vzorků komorové tekutiny, které může být ovlivněno laserovým zákrokem. Měření pH je prováděno pomocí fluorescenčního optického vláknového senzoru pro detekci pH. Jsou porovnávány výsledky z obou částí výzkumu skupiny pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací a skupiny operované FLACS. Nebyl zjištěn významný rozdíl ve vlivu zmíněných dvou prováděných technik operace katarakty.

Klíčová slova:

Katarakta, pH, komorová tekutina, rohovkový endotel

ABSTRACT

Structural changing of the anterior chamber of the eye after phacoemulsification and laser assisted cataract surgery

Cataract surgery is one of the most common operations in ophthalmology. New surgical approaches are still developed. There are a number of factors, which influence the success of the surgery and its effect on surrounding tissues. The aim of this thesis is to determine, how femtosecond laser-assisted cataract surgery (FLACS) affects cornea tissues and other structures of the anterior chamber of the eye compared to manual phacoemulsification. A two-part research was devised and realized to determine this impact. The first part is an analysis of corneal endothelial cells consisting of preoperative and postoperative examinations using an endothelium microscope. The second part is the measurement of pH of aqueous humor samples. Aqueous humor pH can be affected by laser surgery. The measurement of pH is performed using a fluorescence fiber optic sensor for pH detection. The results from both parts of the study are compared for the group of patients operated by manual phacoemulsification and the FLACS-operated group. There was no significant difference in the effect of this two cataract surgery techniques.

Key words

Cataract, pH, Aqueous humor, Corneal endothelium

Obsah

Seznam symbolů a zkratek.....	9
Seznam obrázků.....	10
Seznam grafů.....	12
Seznam tabulek	12
1 Úvod.....	13
2 Anatomie oka	15
2.1 Rohovka.....	16
2.1.1 Endotel.....	16
2.2 Čočka	18
2.3 Komorová tekutina	18
3 Katarakta	20
3.1 Operace katarakty	21
3.1.1 Manuální fakoemulzifikace	21
3.1.2 Femtosekundovým laserem asistovaná operace katarakty.....	26
3.1.3 Komplikace a vliv operace katarakty na tkáň přední komory	30
4 Interakce laseru s tkání.....	35
4.1 Fotochemická interakce	36
4.2 Tepelná interakce.....	36
4.3 Fotoablace.....	36
4.4 Plazmou indukovaná ablace	36
4.5 Fotodisrupce tkáně.....	37
5 Fluorescenční optický vláknový senzor pro detekci pH	39
5.1 pH	39
5.2 Optický vláknový senzor	40
5.3 Fluorescenční indikátory	40
5.4 Metody měření.....	42
5.5 Uspořádání měřícího zařízení	43

5.6	Úprava vlákna.....	43
6	Edotelová spekulární mikroskopie	44
7	Praktická část	48
7.1	Motivace a cíle práce	48
7.2	Hypotézy.....	48
7.3	Metodika	49
7.3.1	Medikace před a po operaci	49
7.3.2	Operace katarakty manuální fakoemulzifikací	51
7.3.3	Operace katarakty za asistence femtosekundového laseru	52
7.3.4	Analýza rohovkového endotelu	55
7.3.5	Odběr vzorků a měření pH	57
7.4	Výsledky	60
7.4.1	Analýza rohovkového endotelu	60
7.4.2	Měření pH nitrooční tekutiny	72
7.5	Diskuse	76
8	Závěr.....	79
	Seznam použité literatury	81
	Seznam příloh.....	88

Seznam symbolů a zkratk

Seznam symbolů

Symbol	Jednotka	Význam
CD	mm ⁻²	Hustota buněk rohovkového endotelu (Cell Density)
CV	%	Koeficient variace plochy buněk rohovkového endotelu (Coefficient of Variation)
HEX	%	Procento hexagonálních buněk rohovkového endotelu
PACHY	μm	Tloušťka rohovky

Seznam zkratk

Zkratka	Význam
CCC	cirkulární kontinuální kapsulorexe (continuous curvilinear capsulorhexis)
CTAB	hexadecyltrimethylamonium bromid
HPTS	trisodná sůl 8-hydroxypyren-1,3,6-trisulfonové kyseliny
OCT	Optická koherenční tomografie (Optical Coherence Tomography)
PMMA	polymethylmetakrylátu

Seznam obrázků

Obrázek 2.1: Anatomie oka. Převzato a upraveno z [3].....	15
Obrázek 2.2: Stavba rohovky. Upraveno dle předlohy z [3].....	16
Obrázek 2.3: Fotografie buněk rohovkového endotelu pořízená endotelovým mikroskopem. ...	17
Obrázek 2.4: Anatomie čočky. Převzato a upraveno z [6].....	18
Obrázek 2.5: Schéma průtoku komorové tekutiny. Převzato a upraveno z [3].....	18
Obrázek 3.1: Klínovité zkalení čočky při kortikální kataraktě (vlevo) [10] a zkalení jádra čočky při nukleární kataraktě (vpravo) [1]	20
Obrázek 3.2: Rohovkový řez podle Mackoola [1]	23
Obrázek 3.3: Tvorba primární incize o rozměru 2,2 mm (vlevo) a paracentézy o rozměru 1,1 mm (vpravo) [12].....	23
Obrázek 3.4: Tvorba kapsulorexe Alieho pinzetou [12]	24
Obrázek 3.5: Fakoemulzifikace čočky (vlevo), irigace a aspirace (vpravo) [12]	25
Obrázek 3.6: Implantace měkké nitrooční čočky[12]	25
Obrázek 3.7: Dokování pacienta k laserové platformě Victus.....	27
Obrázek 3.8: Dvoukusový Patient interface laserové platformy Victus	28
Obrázek 3.9: OCT snímek přední komory z plánování laserového zákroku platformou Victus. 28	
Obrázek 3.10: Fotografie oka po laserovém zákroku pomocí platformy Victus (vlevo) [12] a pomocí platformy Catalys (vpravo) [23].....	29
Obrázek 3.11: Přední komora zobrazovaná pomocí OCT při laserovém zákroku při tvorbě kapsulotomie pomocí platformy Victus s viditelnými plynovými bublinami (v červených elipsách) [34].....	33
Obrázek 4.1: Jednotlivé typy interakce laserového záření s tkání znázorněné kružnicemi jako funkce doby expozice a intenzity. [35]	35
Obrázek 4.2: Tvorba řezu tkání fotodisrupcí [17].....	38
Obrázek 5.1: Absorpční a emisní spektrum derivátu fluoresceinu [44].....	41
Obrázek 5.2: Absorpční spektrum indikátoru HPTS, převzato z [43]	41
Obrázek 5.3: Fluorescenční spektrum HPTS a Ru-phen dichloridu při excitační vlnové délce 475 nm. [46].....	42
Obrázek 5.4: Špička taperu o průměru 18 μm a 1 μm [45].....	43
Obrázek 6.1: Schéma kontaktního endotelového mikroskopu. Převzato z [49]	44
Obrázek 6.2: Výstup z vyšetření endotelu mikroskopem Konan Specular Microscope	45
Obrázek 6.3: Buňky endotelu zobrazené spekulárním mikroskopem analyzované v manuálním režimu (vlevo) a v automatickém režimu (vpravo).....	46
Obrázek 7.1: Operační mikroskop Zeiss OPMI Lumera T (vlevo) a přístroj k fakoemulzifikaci Alcon Constellation Vision System (vpravo).....	51
Obrázek 7.2: Platforma TECHNOLAS Perfect Vision Victus TFW-0301, SW 3.2.2.10 [12]	52
Obrázek 7.3: Záznam obrazovky platformy Victus při plánování laserového zákroku – animace oka a polohy jednotlivých řezů a menu pro nastavení parametrů.	53
Obrázek 7.4: Záznam obrazovky platformy Victus při plánování laserového zákroku – online snímek oka z videomikroskopu s vizualizací jednotlivých řezů a online OCT snímek přední komory se zobrazenou kapsulotomií a hloubkou fragmentace čočky.....	54
Obrázek 7.5: Fotografie endotelového mikroskopu Konan Specular Microscope X NSP-9900. 55	

Obrázek 7.6: Odběr vzorku komorové tekutiny pomocí injekční jehly. [12]	57
Obrázek 7.7: Pohled na čelní panel funkčního vzorku optického pH metru.....	57
Obrázek 7.8: Schéma přístroje pro měření pH, převzato z [37].....	58
Obrázek 7.9: Fotografie cely použité k měření pH komorové tekutiny	59
Obrázek 7.10: Výstup z vyšetření rohovkového endotelu.	60

Seznam grafů

Graf 1: Relativní četnost změny hustoty rohovkového endotelu CD.....	61
Graf 2: Rozložení relativní četnosti procentuální změny CD	62
Graf 3: Závislost procentuální změny CD na věku pacienta.....	64
Graf 4: Relativní četnost změny CV	65
Graf 5: Rozložení relativní četnosti procentuální změny CV	66
Graf 6: Relativní četnost změny HEX	67
Graf 7: Rozložení relativní četnosti procentuální změny HEX.....	68
Graf 8: Relativní četnost změny PACHY	69
Graf 9: Rozložení relativní četnosti procentuální změny PACHY	70
Graf 10: Závislost procentuální změna PACHY na procentuální změně CD	71
Graf 11: Rozložení relativních četností pH vzorků první série měření.....	72
Graf 12: Rozložení relativních četností pH vzorků druhé série měření	73
Graf 13: Závislost procentuální změny CD na naměřené hodnotě pH komorové tekutiny	74

Seznam tabulek

Tabulka 1: Složení komorové tekutiny v porovnání s krevní plazmou [1]	19
Tabulka 2: Parametry laserového zákroku.	53
Tabulka 3: Chyba měření sledovaných parametrů rohovkového endotelu	56
Tabulka 4: Hodnoty CD, jejich pooperační snížení bylo o více než 20%.....	63
Tabulka 5: Závislost pH na pohlaví pacienta	74

1 Úvod

Katarakta neboli šedý zákal je patologický stav, při němž dochází vlivem zkalení čočky ke snížení zrakové ostroty. V rozvojových zemích je proto katarakta stále nejčastější příčinou slepoty. Jedinou známou léčbou je chirurgické odstranění takto zkalené čočky a její nahrazení umělou nitrooční čočkou. Tento zákrok je prováděn ambulantně a v oftalmologii se jedná o vůbec nejčastěji prováděnou operaci.

V současnosti nejrozšířeněji používanou technikou operace je manuální fakoemulzifikace (označovaná též jako klasická technika), při níž je využit ultrazvuk pro rozdělení hmoty zkalené čočky, která je následně odsávána. Pro ochranu okolních tkání před vlivem ultrazvuku, především rohovkového endotelu, je aplikován tzv. viskochirurgický materiál, který částečně zabraňuje šíření energie uvolněné do přední komory.

Manuální chirurgické nástroje, používané pro tvorbu vstupních řezů (rohovkových incizí), k otevření předního pouzdra čočky a k její fragmentaci, mohou být částečně nahrazeny použitím femtosekundového laseru. Výhodou operace katarakty za asistence femtosekundového laseru (FLACS – femtosecond laser-assisted cataract surgery) je snížení potřebné ultrazvukové energie k fragmentaci jádra následnou fakoemulzifikací. Tím je snížena i mechanická energie a teplo uvolněné do přední komory oka. Z toho důvodu je tato technika považována za šetrnější ke tkáním přední komory.

Jednotlivé řezy tkání jsou při asistenci femtosekundového laseru vytvořeny fotodisrupcí a plazmou indukovanou ablací. Energie laserového záření je modifikována na mechanickou, čímž dojde k separaci tkáně. Absorpce fokusovaného laserového záření vede k formování plazmatu. Plazma rychle expanduje a tvoří se kavitační bubliny, jejichž silou dochází k oddělení tkáně. Plynové a kavitační bubliny uvolněné do přední komory oka jsou při laserové proceduře viditelné, mohou způsobit změnu pH nitrooční tekutiny, což by při dlouho trvající změně mohlo ovlivnit tkáně oka, jejich buněčné procesy a enzymatickou aktivitu.

Cílem této práce je shrnout problematiku chirurgie katarakty a vliv laserového záření na přední komoru oka. Dalším cílem práce je navrhnout postup měření, aby bylo možné posoudit, jaký vliv má FLACS na tkáně rohovky, zvláště na rohovkový endotel, v porovnání s manuální fakoemulzifikací. Stav endotelu je klíčový pro fyziologii rohovky a kvalitu vidění vzhledem k tomu, že jeho funkcí je udržení stabilní hydratace rohovky, čímž zabraňuje edému rohovky a jejímu zkalení.

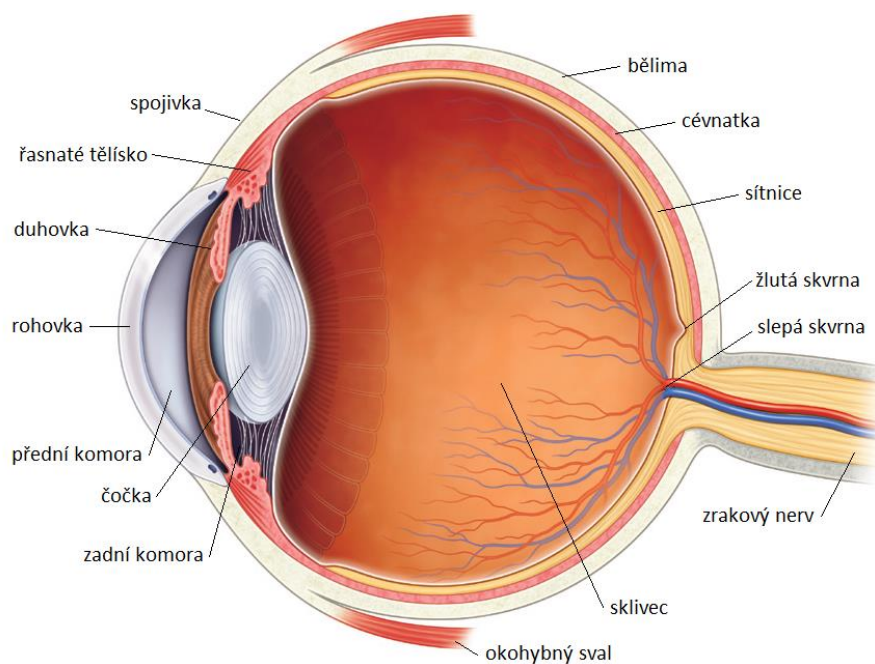
Pro posouzení vlivu obou metod operace katarakty, na tkáň oka je v rámci této práce prováděn výzkum uskutečněný na Oční klinice JL FBMI ČVUT v Praze. Byla provedena analýza buněk rohovkového endotelu sestávající z předoperačních a pooperačních vyšetření prováděných pomocí endotelové spekulární mikroskopie. Další součástí výzkumu je měření pH nitrooční tekutiny. Vzhledem k malému objemu vzorků nitrooční tekutiny je k měření pH je použito fluorescenčního optického vláknového senzoru vyvinutého Ústavem fotoniky a elektroniky, AV ČR, v. v. i. Výhodou tohoto senzoru je malý rozměr umožňující umístění senzoru do injekční jehly. Bylo tím zamezeno kontaktu vzorku se vzdušným oxidem uhličitým, jehož absorpcí by při tak malém objemu byla ovlivněna hodnota pH vzorku komorové tekutiny.

Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. První kapitola teoretické části je zaměřena na stručný popis anatomie oka. Blíže jsou popsány především struktury zasažené a ovlivněné při operaci katarakty. Následující kapitola je věnovaná definici a klasifikaci katarakty, jsou popsány operace katarakty, konkrétně manuální fakoemulzifikace a FLACS. Je popsán jejich postup, který je doplněn fotografiemi pořízenými v průběhu operací, kterých jsem měla možnost se účastnit. Dále jsou popsány interakce laserového záření s tkání se zaměřením na fotodistupci a plazmou indukovanou ablací, které se uplatňují při FLACS. V posledních dvou kapitolách teoretické části jsou popsány metody využívané při výzkumu. V jedné části výzkumu je to metoda endotelové spekulární mikroskopie použitá pro analýzu rohovkového endotelu. Jako druhá je popsána metoda měření pH pomocí optického vláknového senzoru využitého pro měření pH komorové tekutiny. Praktická část práce je zaměřena na provedení výzkum. Jsou stanoveny cíle práce a hypotézy výzkumu, je popsána jeho metodika, výsledky, jejich diskuse a závěr práce.

2 Anatomie oka

Lidské oko (*bulbus okuli*), jehož nákres je na obrázku 2.1, je tvořeno třemi vrstvami tkáně. Zevní pevný obal bulbu (*tunica fibrosa*) je tvořen rohovkou (*cornea*) a bělimou (*sclera*). Střední vrstva (*tunica vasculosa*) je tvořena žltnatkou (*uvea*) a skládá se z cévnatky (*choroidea*), řasnatého tělíska (*corpus ciliare*) a duhovky (*iris*). Na ciliární výběžky řasnatého tělíska se svým závěsným aparátlem upíná oční čočka (*lens crystallina*). Vnitřní vrstva (*tunica nervea*) je tvořena pigmentovým epitelem (sousedícím s cévnatkou) a sítnicí (*retina*) tvořenou deseti vrstvami skládajícími se z nervových buněk a jejich výběžků. Tyčinky a čípky (fotoreceptory) tvoří vnější vrstvy sítnice přiléhající k pigmentovému epitelu. Největší hustota fotoreceptorů je v tzv. žluté skvrně (*macula lutea*). V jejím středu se nachází jamka (*fovea centralis*), její centrum (*foveolea*) obsahuje jen čípky a je místem nejostřejšího vidění. Svazky zrakových vláken se v zadním pólu oka spojují v terči (papile) zrakového nervu, kde zrakový nerv opouští oko. Zevní povrch bulbu (kromě rohovky) a vnitřní povrch víček je kryt spojivkou (*conjunctiva*). [1, 2]

Vnitřní prostor oka je rozdělen na tři komory. Největší je sklivcový prostor vyplněný sklivcem (*corpus vitreum*). Přední komora, ohraničená zadní plochou rohovky, přední plochou duhovky a přední plochou čočky, a zadní komora oka, ohraničená zadní plochou duhovky a sklivcem, jsou vyplněny komorovou tekutinou. [1, 2]

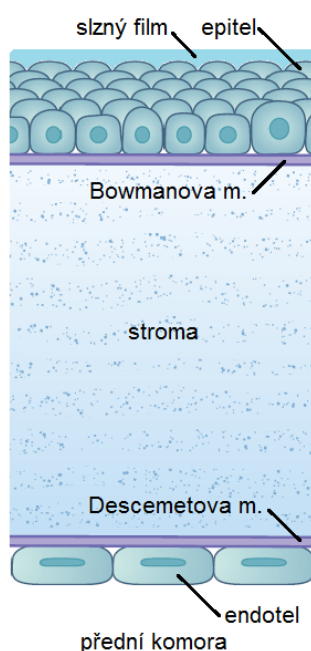


Obrázek 2.1: Anatomie oka. Převzato a upraveno dle předlohy [3]

K oku dále náleží přídatné orgány (adnexa), jako jsou oční víčka, řasy, okohybné svaly, slzné žlázy a odvodný slzný systém. [2]

2.1 Rohovka

Rohovka je tvořena průhlednou avaskulární tkání a spolu s čočkou je nejdůležitějším optickým prvkem oka (rohovka tvoří 2/3 celkové optické mohutnosti). Skládá se z pěti vrstev (obrázek 2.2). Vnější vrstvou je slzným filmem krytý epitel, který je Bowmanovou membránou oddělen od rohovkového stromatu. Stroma je nejsilnější vrstvou rohovky, je tvořeno pravidelně uspořádanými kolagenními fibrilami a extracelulárním matrix. Descemetová membrána odděluje od stromatu vnitřní vrstvu rohovky endotel. [1, 2]

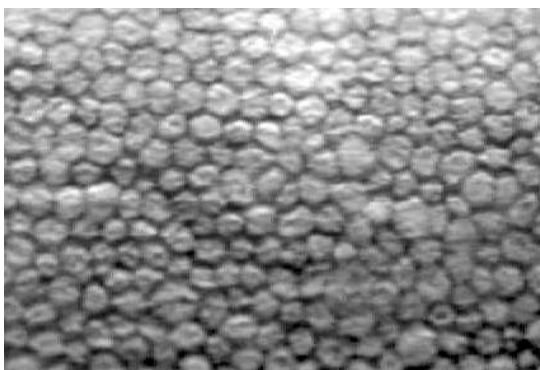


Obrázek 2.2: Stavba rohovky. Převzato a upraveno dle předlohy [3]

2.1.1 Endotel

Rohovkový endotel je tvořen jednou vrstvou hexagonálních buněk kryjících vnitřní stranu rohovky (obrázek 2.3). Při narození je centrální hustota endotelu (endothelial cells density – CD) 6000 buněk na mm^2 , s věkem hustota buněk klesá. Během prvních měsíců života hustota buněk klesá přibližně na 4000 buněk na mm^2 v souvislosti s růstem rohovky. V pěti letech se udává průměrná hodnota 3500, do dvaceti let klesána na 3000 a v dospělosti se počet buněk pohybuje mezi 2500 a 3000 buněk na mm^2

(zde je již úbytek způsoben apoptózou a nekrózou buněk). Udává se ztráta 0,3 až 0,6 % buněk za rok. V periférii rohovky je hustota buněk vyšší. [1, 3, 4]



Obrázek 2.3: Fotografie buněk rohovkového endotelu pořízená endotelovým mikroskopem. Vlastní snímek.

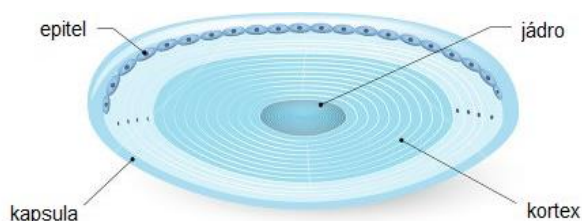
Buňky endotelu téměř nemají schopnost regenerace (vykazují nulovou proliferaci, buňky jsou mitoticky neaktivní), což je způsobeno kontaktní inhibicí a přítomností inhibičních faktorů v komorové tekutině. Úbytkem buněk dochází k jejich migraci, zvětšování a změně tvaru buněk stávajících (vzniká tzv. polymorfismus a polymegatismus buněk rohovkového endotelu). Těmito mechanismy jsou případné defekty endotelu překryty. S věkem se proto snižuje procento hexagonálních buněk a zvyšuje se koeficient variace jejich plochy (viz. kapitola. 6). [1, 3, 4]

Hlavní funkcí endotelu je regulace hydratace stromatu rohovky nitrooční tekutinou, kdy ji aktivně čerpá zpět do přední komory oka rychlostí 10 μl za hodinu. Udržuje tak stroma rohovky mírně dehydratované 78 % vody, čímž zajišťují transparentci a optickou mohutnost rohovky. Buňky rohovkového endotelu jsou velmi metabolicky aktivní a zároveň jsou citlivé na okolní prostředí a náchylné k poškození. Při poklesu počtu buněk pod 500 na mm^2 je jejich funkce nedostatečná, dochází k edému rohovky, jejímu zkalení a tím ke snížení zrakové ostrosti. Příčinou poklesu hustoty endotelu mohou být endotelové dystrofie (např. Fuchsova endotelová dystrofie), systémové nebo infekční onemocnění, medikamentózní léčba, úrazy nebo chirurgické zákroky. Poškození a nedostatečná funkce endotelových buněk může být indikací k transplantaci rohovky. [1, 2, 3, 4]

Hustotu, velikost a tvar endotelových buněk je možné sledovat pomocí endotelové (spekulární) mikroskopie, pomocí níž se provádí kvantitativní i kvalitativní analýza buněk, a která bude blíže popsána v kapitole 6.

2.2 Čočka

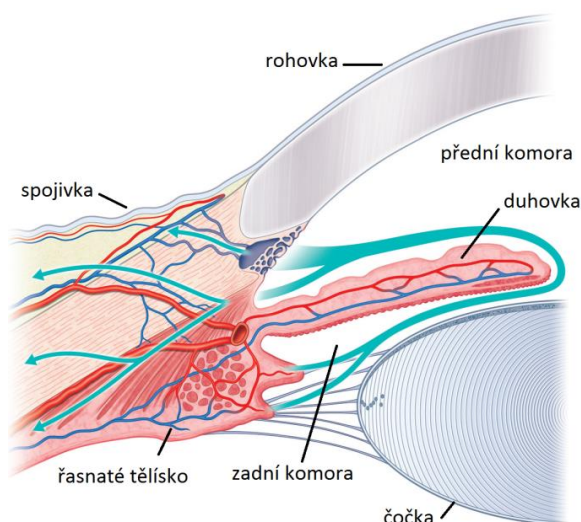
Čočka je dalším důležitým optickým prvkem oka, její optická mohutnost je přibližně 20 dpt. Je transparentní, avaskulární a má bikonvexní tvar. Skládá se z pouzdra (*capsula lentis*) a vlastní čočky, která je tvořena kůrou (*cortex lentis*) a jádrem (*nukleus lentis*). Stavba čočky je uvedena na obrázku 2.4. Pomocí závěsného aparátu se upíná na ciliární tělísko, jehož ciliární sval umožňuje změnu optické mohutnosti čočky (tzv. akomodaci). Zákal čočky se označuje jako katarakta, způsobuje snížení zrakové ostrosti (viz kapitola 3). [2, 5]



Obrázek 2.4: Anatomie čočky. Převzato a upraveno dle předlohy [6]

2.3 Komorová tekutina

Nitrooční neboli komorová tekutina vyplňuje přední a zadní komoru oka. Je produkována aktivní sekrecí z krevní plazmy sekrečním epitelem řasnatého tělíska. Díky těsnému spojení buněk tohoto epitelu je vytvořena tzv. hemato-okulární bariéra mezi krví a nitrooční tekutinou zabráňující průniku velkých molekul (např. bílkovin) do nitrooční tekutiny. Ze zadní komory proudí komorová tekutina zornicí do přední komory, kde je odváděna trávčinou duhovko-rohovkového úhlu zpět do cévního systému (obrázek 2.5). [1, 2]



Obrázek 2.5: Schéma průtoku komorové tekutiny. Převzato a upraveno dle předlohy [3]

Poměr mezi produkcí a odvodem ovlivňuje a udržuje nitrooční tlak. Dále se nitrooční tekutina účastní metabolismu a výživy sklivce, rohovky a čočky. Tyto tkáně jsou avaskulární, nitrooční tekutina je zásobuje kyslíkem, odvádí produkty metabolismu a chrání je před volnými radikály vzniklými oxidací indukovanou UV zářením. [1, 2, 3]

V porovnání s krevní plazmou má nitrooční tekutina nižší obsah bílkovin, obsahuje 1 % z koncentrace bílkovin v krevní plazmě, je hypertonická a má nižší pH vlivem vyššího obsahu chloridů a nižšího obsahu bikarbonátů (průměrné pH plazmy je 7,4). Dlouhodobé biochemické složení a pH komorové tekutiny ovlivňuje enzymatickou aktivitu a buněčné procesy v přední komoře. Fyziologická hodnota pH v přední komoře se liší dle literatury (uvádí se hodnoty od 7,21^[1] do 7,38^[3]). Může být ovlivněno medikamentózně nebo přítomností očního onemocnění. Významný vliv na pH komorové tekutiny má aplikace antiglaukomatik, která pH snižují (posun do kyselejších hodnot pH). Porovnání složení nitrooční tekutiny a plazmy je uvedeno v tabulce 1. Primární nitrooční tekutina sekretovaná do zadní komory může mít jiné složení než sekundární tekutina proudící do přední komory vlivem reabsorpce duhovkou a ciliárním tělískem. Biochemické složení může být dále ovlivněno aplikací topických medikamentů nebo očním onemocněním. [1, 3, 7, 8, 9]

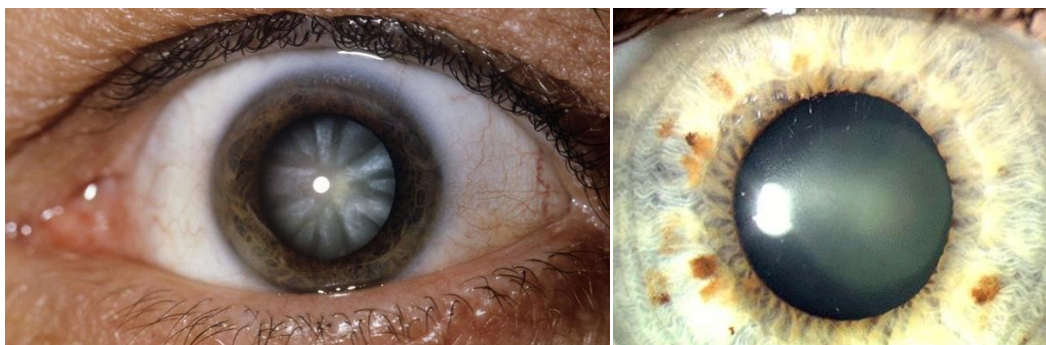
Tabulka 1: Složení komorové tekutiny v porovnání s krevní plazmou. Převzato z [1]

	Nitrooční tekutina μmol/l	Plazma μmol/l
sodík	152	148
chloridy	131	107
bikarbonát	22	26
draslík	3,9	4
vápník	2,5	4,9
fosfáty	0,6	1,1
urea	6,1	7,3
glukóza	2,8	5,9
laktát	4,5	1,9

3 Katarakta

Katarakta je definována jako zkalení čočky. Na něm dochází k rozptylu světla a tím ke snížení zrakové ostrosti. Jedinou možnou léčbou je chirurgické odstranění zkalené čočky a její nahrazení umělou nitrooční čočkou. Tato operace je světově nejčastěji prováděným chirurgickým zákrokem. Nedojde-li k odstranění čočky, může katarakta progredovat do stádia maturtní (zralé) katarakty, která je nejčastější příčinou slepoty v rozvojových zemích. [1, 2]

Kataraktu je možné klasifikovat dle různých hledisek. Podle převažující oblasti zkalení čočky rozlišujeme kataraktu kortikální (zkalena je kůra čočky), nukleární (zkaleno je jádro) a přední a zadní subkapsulární kataraktu, kdy dochází ke zkalení pod pouzdrům čočky. Příklad kortikální a nukleární katarakta je na obrázku 3.1. Dle etiologie můžeme kataraktu rozdělit na vrozenou, senilní, traumatickou, metabolickou, farmakologickou (toxickou)^[5] a dále pak na katarakty při jiném očním nebo celkovém onemocnění (označovaná též jako presenilní katarakta)^[5]. [2, 5]



Obrázek 3.1: Klínovité zkalení čočky při kortikální kataraktě (vlevo) [10] a zkalení jádra čočky při nukleární kataraktě (vpravo) [1]

Dále rozlišujeme dle věku kataraktu kongenitální, infantilní, juvenilní a senilní. Senilní katarakta se vyskytuje nejčastěji, postihuje přibližně 4 % osob starších 50 let, až 50 % osob starších 65 let a 70 % osob starších 75 let. [2, 5]

Jako sekundární katarakta je označována pozdní komplikace operace katarakty, kdy dojde ke zkalení zadního pouzdra čočky. Odstraňuje se pomocí laseru nebo chirurgicky. [1, 2]

3.1 Operace katarakty

Rozvoj technologií a materiálů se odráží ve vývoji technik operací katarakty. Cílem operace katarakty je odstranit zkalenou čočku. Odstraněním čočky vzniká refrakční deficit, který je kompenzován implantací umělé nitrooční čočky o požadované optické mohutnosti (je tak možno korigovat stávající refrakční vadu). [1, 2]

První implantované nitrooční čočky byly z polymetylmetakrylátu (PMMA), což je tvrdý polymerní materiál. Proto bylo pro jejich implantaci nutné použít široký operační řez odpovídající průměru čočky (od 6 mm)^[1]. S rozvojem tzv. měkkých čoček, které je možné implantovat ve složeném stavu, se zmenšováním nástrojů a odstraňováním zkalené čočky po její předchozí fragmentaci, bylo možné začít využívat malých řezů (mikroincizí od 1,5 do 2,7 mm). Jejich výhodou je, že nevyžadují šití jako široké řezy, čímž se snižuje pravděpodobnost pooperačních komplikací a vzniku pooperačního astigmatismu. [2, 11]

Zkalenou čočku je možné vyjmout spolu s jejím pouzdrem (tzv. intrakapsulární extrakce). Pro vynětí čočky se v minulosti používaly pinzety, v dnešní době jsou však nahrazeny kryosondou, ke které se čočka přimrazí. Vzhledem k nutnosti širokého řezu, jenž vyžaduje šití, častým komplikacím a nutnosti silné brýlové korekce se metoda intrakapsulární extrakce používá jen ve zvláštních případech, např. při subluxaci čočky (decentraci, nejčastěji po traumatu). [1, 2]

Převládající je metoda tzv. extrakapsulární extrakce, kdy je zachováno zadní pouzdro čočky pro následné umístění zadněkomorové nitrooční čočky. Zachováním zadního pouzdra čočky se snižuje riziko komplikací, jako je odchlípení sítnice. Po otevření předního pouzdra a fragmentaci jádra čočky ultrazvukem (kapitola 3.1.1) nebo laserem (kapitola 3.1.2) je materiál čočky odstraněn malým operačním řezem. Ve zvláštních případech může být materiál čočky vyjmut vcelku, a to rozšířeným řezem (tzv. exprese jádra). [1, 2, 5]

3.1.1 Manuální fakoemulzifikace

Techniku fakoemulzifikace řadíme mezi metody extrakapsulární extrakce. Označuje se jako klasická nebo manuální chirurgie katarakty. Principem zákroku je fragmentace čočky a její následné odsátí z přední komory. Fragmentace čočky se nejčastěji provádí pomocí ultrazvuku. [1, 2]

Mechanismus destrukce jádra ultrazvukem

Jádro čočky je fragmentováno hrotem ultrazvukového fakoemulzifikátoru přímo mechanicky vlivem vibrací a v důsledku kavitace. V hrotu ultrazvukového fakoemulzifikátoru se elektrická energie mění piezoelektrickým krystalem na mechanickou energii a teplo. Kmitající hrot vytváří ultrazvukové vlny,

jejichž intenzita je ovládána dle potřeby chirurgem (změnou amplitudy oscilací hrotu). V oftalmologii se používá ultrazvuk o frekvenci 28 až 40 kHz. Viskochirurgický materiál tlumí šířící se vlny a ochraňuje tak okolní tkáně, především endotel rohovky, před tepelným a kavitačním účinkem. Zavedením pulzního režimu došlo ke snížení celkové použité ultrazvukové energie oproti kontinuálnímu režimu a k usnadnění aspirace čočky. [1, 2, 11]

Při ultrazvukové kavitaci dochází k místnímu poklesu tlaku v komorové tekutině, přičemž se vytváří bubliny plynů, které následně kolabují. V případě, že je kolabující bublina v kontaktu s pevnou látkou (hmotou čočky), dochází kolapsem bubliny k proudění tekutiny proti pevné látce. Proudem tekutiny dochází k další destrukci hmoty čočky. [11]

Operační postup

Medikace a příprava operačního pole

Zárok se provádí ambulantně v lokální anestezii, celková anestezie se volí ve zvláštních případech, např. u dětí. Cílem přípravy operačního pole je zabránění vzniku infekce, provádí se proto sterilizace spojivkového vaku např. 5 % povidon-iodinem. Preventivně mohou být pacientem lokálně aplikována i antibiotika několik dní před operací. Před výkonem se dále aplikují mydriatika, což jsou látky rozšiřující zornici. [1]

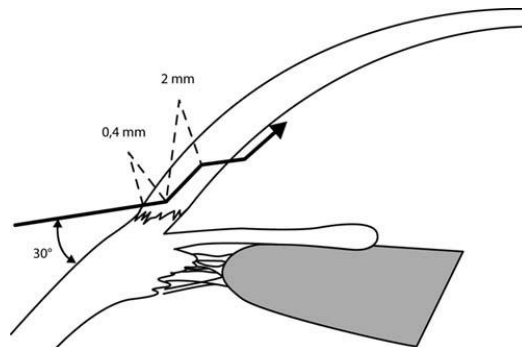
Anestezie se užívá topická ve formě kapek (tetrakain, lidokain, bupivakain), které pronikají rohovkou do přední komory. V průběhu operace je možné podle potřeby anestetika doplňovat. Vzhledem k nutnosti spolupráce pacienta, je díky topické anestezii zachována funkce okohybných svalů. Topická anestetika reverzibilně blokuji sodíkové kanály v membráně neuronu, čímž brání šíření nervového vzruchu. [1]

Může být doplněna intrakamerální anestezí, kdy jsou anestetika aplikována do přední komory s irigační tekutinou (izotonický roztok lidokainu bez konzervačních látek). [1, 2]

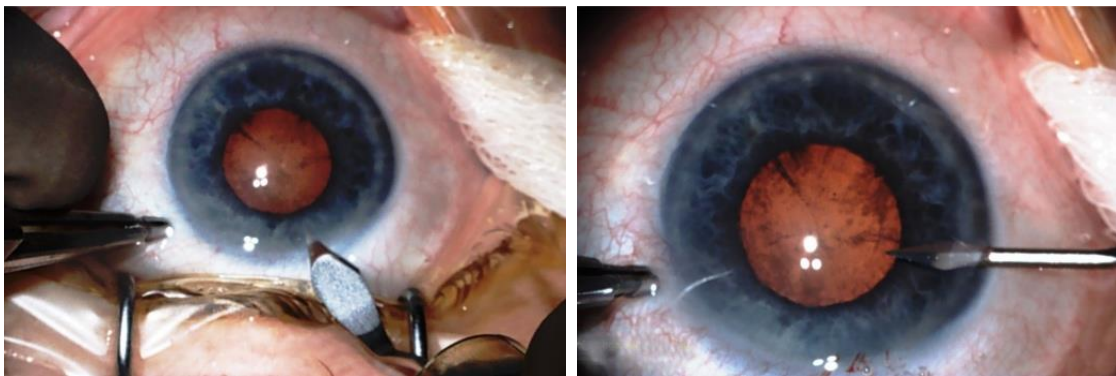
Incize

Prvním krokem samotné operace je provedení incizí (řezů) kalibrovanými noži, jejichž velikost je dána volbou používaných nástrojů. V případě techniky malého řezu se velikost primární incize pohybuje od 1,5 mm do 2,7 mm. Byla zavedena technika bezstehovým samouzavíratelným řezem, který nevyžaduje šití (obrázek 3.2). Jeho další výhodou je dosažení větší stability přední komory během zákroku. Řez je veden rohovkou šikmo nebo v několika rovinách. Chirurg provede hlavní incizi pro extrakci

zkalené čočky a implantaci nitrooční čočka a jednu nebo dvě paracentézy pro pomocné chirurgické nástroje (obrázek 3.3). [1, 2, 11]



Obrázek 3.2: Rohovkový řez podle Mackoola [1]

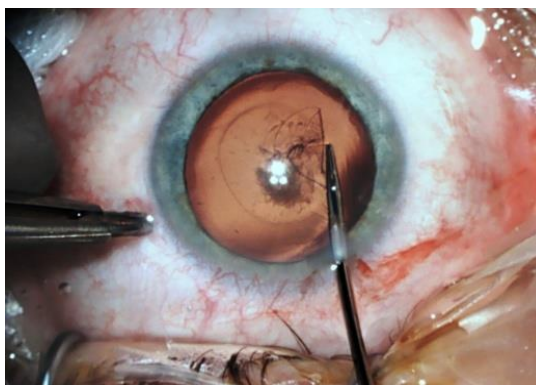


Obrázek 3.3: Tvorba primární incize o rozměru 2,2 mm (vlevo) a paracentézy o rozměru 1,1 mm (vpravo) [12]

Následně je přední komora vyplněna viskochirurgickým materiálem (nitrooční tekutina odtéká z oka ven). Jeho funkcí je ochrana rohovkového endotelu a udržení stability přední komory. Brání jejímu kolapsu, čímž zajišťuje prostor pro manipulaci s chirurgickými nástroji. [1]

Kapsulorexe

Dalším krokem je otevření a odstranění kruhové centrální části předního pouzdra čočky. Nejčastěji se provádí technikou cirkulární kontinuální kapsulorexe (CCC – continuous curvilinear capsulorhexis). Velikost kapsulorexe se odvíjí od průměru implantované nitrooční čočky. Kapsulorexe se provádí cystotomem, což je chirurgický nástroj ve tvaru háčku s ostřím, upravenou jehlou nebo speciální pinzetou (obrázek 3.4). [2, 11]



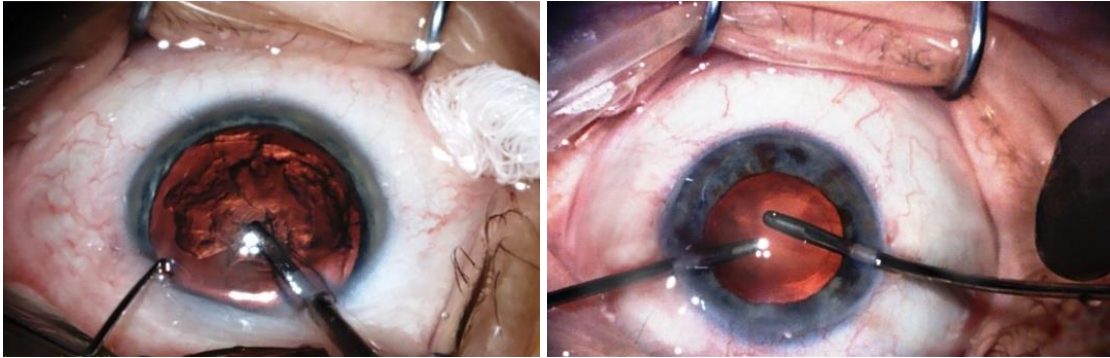
Obrázek 3.4: Tvorba kapsulorexe Alieho pinzetou [12]

Hydrodisekce a hydrodelineace

Pod otevřené pouzdro čočky je aplikována tekutina, která oddělí pouzdro, kůru a jádro čočky, až je materiál v pouzdře volně pohyblivý. Minimalizuje se tím riziko porušení zadního pouzdra čočky při její fragmentaci. Následuje hydrodelineace, kdy je tekutina aplikována do jádra čočky pro oddělení jeho vrstev. Po ukončení hydrodelineace je na čočce možné pozorovat prstenec, který se nachází po obvodu odděleného jádra. [1, 2]

Fakoemulzifikace

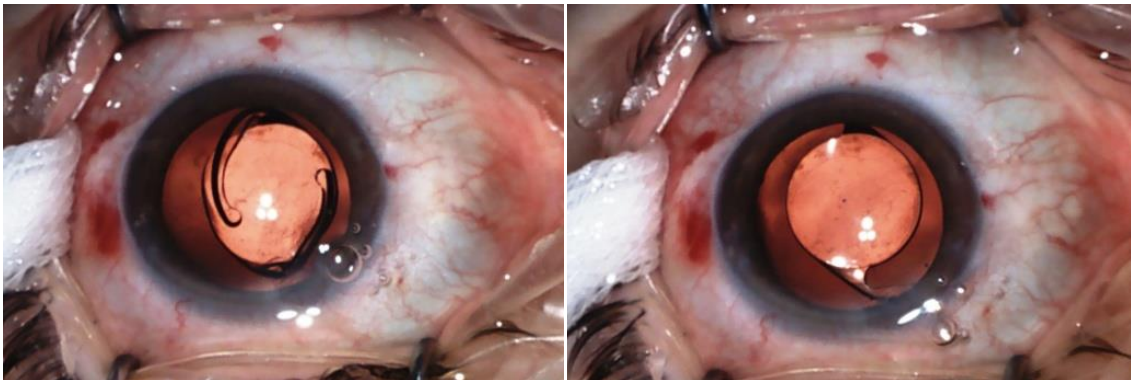
V této fázi operace jsou jádro a kora čočky rozdělovány a aspirovány (odsávány) z oka (obrázek 3.5). K rozdělení jádra bylo popsáno několik technik. Při technice *divide and conquer* je nejprve fakoemulzifikátorem vytvořena rýha, podél které je čočka bimanuálně rozdělena na dvě poloviny. Ty jsou následně dále fragmentovány. Další technikou je *phaco chop*, při které je jádro čočky stabilizováno fakoemulzifikátorem za použití vakua a druhým nástrojem (chopperem) je čočka rozdělena od okraje směrem ke středu. Obě metody mají řadu variant a modifikací. Fakoemulzifikátor zároveň plní přední komoru irigační tekutinou, která je odsávána zpět spolu s fragmenty čočky. Irigační tekutina je tvořena fyziologicky vyváženým roztokem s přísadkami antibiotik a adrenalinu. Po fakoemulzifikaci je provedena irigace a aspirace kůry a zbylých fragmentů jádra čočky. [1, 2, 11]



Obrázek 3.5: Fakoemulzifikace čočky (vlevo), irigace a aspirace (vpravo) [12]

Implantace nitrooční čočky

Po úplném odstranění fragmentů čočky může být do jejího pouzdra, které se plní viskochirurgickým materiálem, implantována nitrooční čočka. Měkké nitrooční čočky se implantují ve stočeném stavu pomocí injektoru, pro implantaci některých typů (modelů) čoček musí být incize rozšířena. Rozvíjející se měkká čočka je chirurgem umístěna do pouzdra (obrázek 3.6). [1, 2]



Obrázek 3.6: Implantace měkké nitrooční čočky[12]

V konečné fázi operace operátor odsaje viskochirurgický materiál a uzavře operační řezy. U bezstehové techniky jsou incize hydratovány, do stromatu rohovky je aplikována tekutina (může mít stejné složení jako irigační tekutiny), která způsobí krátkodobý edém v oblasti rýny, čímž jí uzavře. V případě nutnosti jsou řezy uzavřeny stehem. Do spojivkového vaku jsou aplikována antibiotika a zvlhčovací látky a oko je sterilně překryto. [1]

3.1.2 Femtosekundovým laserem asistovaná operace katarakty

K fragmentaci jádra čočky byly nejdříve využity lasery^[14, 13] Er:YAG (vlnová délka 2940 nm) a Nd:YAG (vlnová délka 1064 nm). Laserový svazek byl k čočce zaveden pomocí hrotu fakoemulzifikátoru ovládaného chirurgem (podobně jako při fragmentaci ultrazvukem). [11, 15]

Technologie femtosekundového laseru, který generuje krátké pulzy v řádech 100 fs (1 fs je 10^{-15} s), byla do oftalmologie zavedena v rámci refrakční chirurgie, stále častěji se však uplatňuje i v operaci katarakty. [16]

Techniku femtosekundovým laserem asistované operace katarakty (FLACS – femtosecond laser assisted cataract surgery) rovněž ředíme mezi metody extrakapsulární extrakce. Operace probíhá za asistence laseru, který je použit v první fázi operace pro tvorbu rohovkových incizí, k otevření předního pouzdra čočky a k fragmentaci čočky. Při fotodisrupci tkáně je energie laserového záření modifikována na energii mechanickou. Energie fokusovaného záření femtosekundového laseru je absorbována tkání, což vede k formování plazmatu. Plazma tvořené volnými elektrony a ionizovanými molekulami rychle expanduje a tvoří se kavitační bubliny. Jejich silou dochází k oddělení tkáně. Řez tkání je vytvořen posunem ohniska laseru a propojením vedlejších oblastí fotodisrupce. Jednotlivé pulzy mohou být umístěny tak, že se oblasti fotodisrupce jednotlivých pulzů částečně překrývají (při kapsulorexi), nebo dále od sebe, čímž jsou zachovány tkáňové mosty. Ty jsou následně rozrušeny manuálně. [15, 17, 18]

V druhé fázi operace, která probíhá již bez asistence laseru, je čočka aspirována a následně je implantována nitrooční čočka. V případě potřeby může být před aspirací čočka dále fragmentována ultrazvukovou fakoemulzifikací. [17, 18]

Cílem zavedení této techniky operace je dosažení větší efektivity (přesnosti a opakovatelnosti) zákroku při maximálně šetrném vlivu na nitrooční tkáň, především na endotel rohovky. [17]

Technologie femtosekundového laseru

Pro operaci katarakty se používají diodově buzené pevnolátkové femtosekundové lasery emitující v blízké infračervené oblasti (Yb:YAG 1030 nm) v pulzním režimu (doba trvání pulzu jsou řádově 100 fs, energie řádově 1 μ J). Výhodou femtosekundových laserů jsou ultrakrátké pulzy, čímž je snížena dodaná energie a je eliminováno poškození okolních tkání. [15, 17]

V současné době je k dispozici pět technologií pro operaci katarakty za asistence femtosekundového laseru: LenSx Laser System (Alcon), CATALYS Precision Laser System (Abbott Medical Optics), LENSAR (LENSAR inc),

Victus Femtosecond Laser Platform (Bausch and Lomb) a Femto LDV platform (Ziemer Ophthalmic Systems). [15]

Operační postup

Jak již bylo zmíněno, operace FLASC probíhá ve dvou fázích. První fáze probíhá za asistence femtosekundového laseru a je zahájena tzv. dokováním. Druhá fáze je již bez asistence femtosekundového laseru a probíhá obdobně jako manuální fakoemulzifikace. [18]

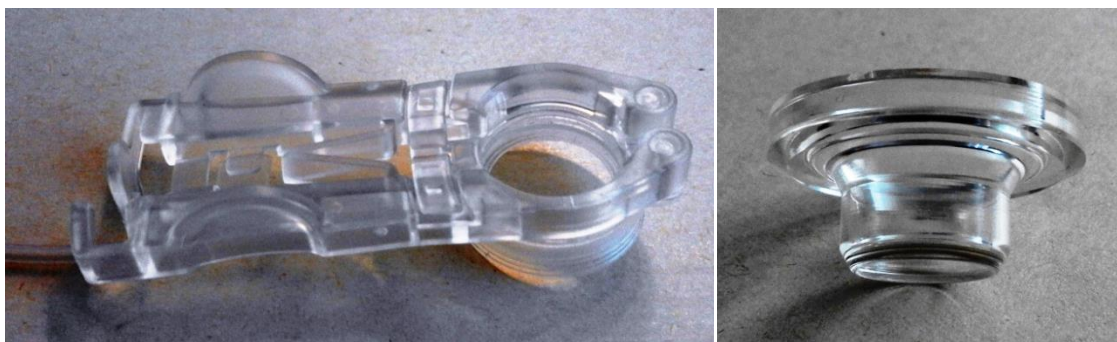
Dokování

Při laserové fázi operace musí být zamezeno pohybům oka, aby bylo možné provést přesné zobrazení oka pro plánování a následné provedení laserového výkonu. To je zajištěno tzv. dokováním, při němž je spojena hlava laseru s okem pacienta. Fotografie tohoto postupu jsou uvedeny na obrázku 3.7. [15, 17]



Obrázek 3.7: Dokování pacienta k laserové platformě Victus. Vlastní snímky

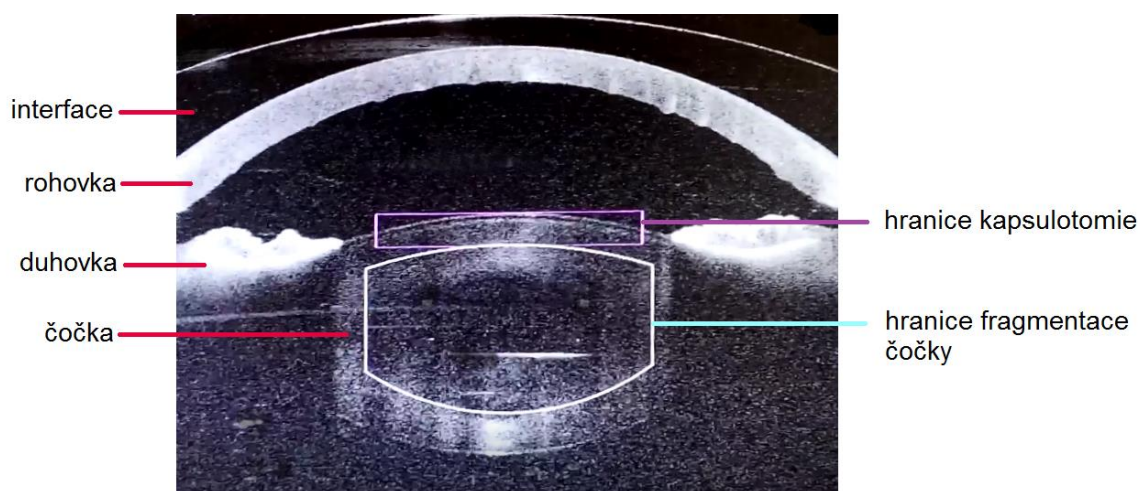
Ke spojení hlavy laseru s okem se používá tzv. Patient-interface, což je optomechanické zařízení, které tvoří definované rozhraní. Dvoukusový interface laserové platformy Victus můžeme vidět na obrázku 3.8. Jedna jeho část je umístěna na hlavě laseru, druhá je přiložena k oku pacienta. Jednotlivé Patient-interface se liší svým designem dle použité laserové platformy. Interface může být v přímém kontaktu s rohovkou, jedná se o tzv. aplanační interface (např. Victus). Nonaplanční interface je od rohovky oddělen imerzní tekutinou. [15, 17]



Obrázek 3.8: Dvoukusový Patient interface laserové platformy Victus. Vlastní snímky

Plánování laserového výkonu

V této fázi je zobrazena přední komora oka pomocí OCT (optické koherenční tomografie) nebo Scheimpflugovy kamery, aby bylo možné provést individuální nastavení laserového výkonu. Je naplánována pozice incizí, centrace kapsulotrexie a fragmentace čočky podle vybraného vzoru vzhledem k zobrazeným strukturám oka. Volí se tak např. bezpečná zóna pro fragmentaci čočky tak, aby nebylo porušeno její zadní pouzdro (obrázek 3.9). [17, 19]



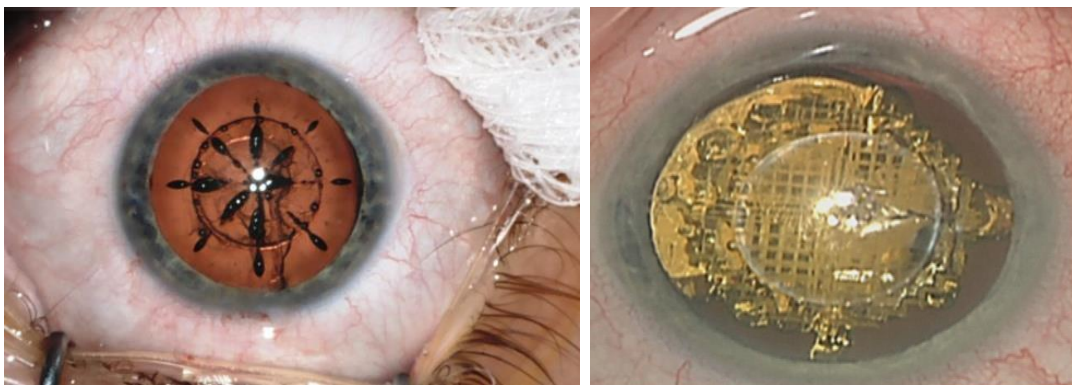
Obrázek 3.9: OCT snímek přední komory z plánování laserového zákroku platformou Victus. Vlastní snímek

Laserový výkon

Naplánované řezy tkání jsou uskutečněny fotodisrupcí a plazmou indukovanou ablací (kapitola 4). Jako první je vytvořena přední kapsulotomie, což je řez ve tvaru kružnice v centrální části předního pouzdra čočky. Takto vytvořená kapsulotomie má přesně definovaný tvar, centraci a velikost v závislosti na nitrooční čočce, což napomáhá

preciznímu umístění čočky v pouzdře a její stabilitě. Kapsulotomií vytvořené okraje pouzdra jsou při implantaci čočky méně náchylná na roztržení v porovnání s manuální technikou kapsulorexe. [14, 17, 20, 21]

Následně je fragmentováno jádro čočky dle zvoleného vzoru, čímž je usnadněno její vyjmutí v druhé fázi operace. Laserová fragmentace usnadňuje proces odstranění zkalené čočky zvláště u tuhých jader, u kterých je ultrazvuková fakoemulzifikace náročná. Provádí se např. tzv. pizza cut (radiální fragmentace čočky na zvolený počet dílků). Může být doplněna mřížkovou fragmentací, čímž je dosaženo „změkčení“ jádra (tzv. lens softening). Oba zmíněné vzory fragmentace jsou uvedeny na obrázku 3.10, kde si dále můžeme všimnout kruhové kapsulotomie [14, 22]



Obrázek 3.10: Fotografie oka po laserovém zákroku pomocí platformy Victus (vlevo) [12] a pomocí platformy Catalys (vpravo) [23]

Jako poslední jsou vytvořeny rohovkové incize. Výhodou tvorby incizí pomocí laseru je definovanost jejich rozměru, geometrie a individuální umístění nezávisle např. na hloubce posazení oka a tloušťce rohovky. Přínosem je také lepší těsnost samouzavíratelných řezů i bez hydratace rohovky. [14, 17, 20]

Druhá fáze operace

Po ukončení laserového výkonu je uvolněn interface, čímž je ukončeno dokování pacienta a operace je dokončena metodou manuální fakoemulzifikace. Ta může být uskutečněna ihned, nebo s odstupem až 2 až 3 hodin díky tomu, že laserem vytvořené incize zachovávají stabilitu přední komory. Toho se využívá v případech, kdy je laserová platforma umístěna v místnosti oddělené od operačního sálu, na který se pacient následně přesouvá. Doporučuje se však zahájit fakoemulzifikaci do 40 minut po ukončení laserového výkonu. [17]

Přípravou operačního pole je zahájena druhá fáze zákroku, která již probíhá obdobně jako manuální fakoemulzifikace. Po otevření incizí je aplikován viskochirurgický

materiál do přední komory. Následně je vyjmuta centrální část předního pouzdra (vytvořená laserovou kapsulotomií) a je provedena hydrodisekce čočky. Ultrazvuková fragmentace jádra obvykle trvá kratší dobu a snižuje se energie ultrazvuku. Fragmenty jádra a pouzdro čočky jsou za současné irigace aspirovány fakoemulzifikátorem. Následně je implantována nitrooční čočka, jsou zavřeny incize a oko je sterilně kryto obdobně jako při manuální fakoemulzifikaci. [14, 15, 17]

3.1.3 Komplikace a vliv operace katarakty na tkáň přední komory

Při operaci katarakty je řada faktorů, které ovlivňují úspěšnost zákroku, jeho vliv na zasažené tkáň a vnik pooperačních komplikací. Minimalizace tohoto vlivu je cílem vývoje nových technik operace a v současné době je operace katarakty velice úspěšná. Pooperační komplikace můžeme rozdělit na časné a pozdní. Důraz je kladen především na ochranu buněk rohovkového endotelu, který je klíčový pro kvalitu vidění, jak již bylo zdůrazněno v kapitole 2.1.1. Poškození endotelu je příčinou pooperačního edému rohovky, který je jednou z časných komplikací operace katarakty a může se rozvinout do chronické bulózní keratopatie. Ta je již řazena mezi pozdní komplikace. Obecně vyšší riziko pooperačního edému je při tloušťce rohovky větší než 600 μm . [1, 24, 25]

Mezi časné komplikace dále řadíme infekční a neinfekční endoftalmitidy, které jsou vážnou, ale málo častou, komplikací. Může také dojít ke zvýšení nitroočního tlaku nebo např. cystoidnímu makulárnímu edému. Mezi pozdní komplikace řadíme odchlípení sítnice, které vzniká často jako následek ruptury zadního pouzdra čočky. Dále mezi ně řadíme sekundární kataraktu, kdy je zkaleno zadní pouzdro čočky, nebo např. dislokaci nitrooční čočky vlivem nesprávné implantace nebo nedostatečného závěsného aparátu čočky. [1, 2]

Při fragmentaci hmoty jádra čočky ultrazvukem během manuální fakoemulzifikace i v druhé fázi FLACS se ultrazvuková a kavitační energie šíří přední komorou. Účinek je snížen aplikací viskochirurgického materiálu, který šíření energie tlumí. I přes to může docházet k traumatizaci endotelu vlivem přeměny mechanické energie ultrazvuku na teplo a efektem kavitačních bublin. Další teplo vzniká třením fakoemulzifikátoru v primární incizi. [11, 22, 26]

U vyšších stupňů katarakty se prodlužuje doba fakoemulzifikace a zvyšuje se i potřebná energie ultrazvuku. Zvyšuje se tím pravděpodobnost poškození endotelu a vzniku pooperačních komplikací, jako je výše zmíněný cystoidní makulární edém. Pro pacienty s nízkou hustotou endotelových buněk může být operace katarakty (i jiný nitrooční zákrok) riziková. Doporučuje se proto provádět předoperační analýzu endotelu spolu s klasifikací stupně katarakty pro stanovení prognózy a rizika zákroku. [15, 25]

Na dobu fragmentace má mimo jiné vliv zkušenost operátora i zvolená technika fragmentace jádra čočky, přičemž technika *phaco chop* je považována za šetrnější oproti technice *divide and conquer*. [25, 27]

Vliv na rohovkový endotel může mít i šíře řezů, které musí být dostatečně velké, aby nástroje netraumatizovaly okraje rány, zároveň ale nesmí řezem příliš proudit irigační tekutina. Při vyšším průtoku tekutiny může být méně stabilní přední komora. [2, 11, 25]

Dále může vlivem vyššího průtoku docházet k traumatizaci tkání přední komory fragmenty čočky unášenými proudem irigační tekutiny. Traumatizace a následné snížení hustoty rohovkového endotelu vlivem fragmentů čočky, které víří v přední komoře během fakoemulzifikace, bylo popsáno ve studii [28]. Pro sledování a klasifikaci fragmentů v přední komoře během zákroku bylo použito OCT. Ze studie vyplývá, že fragmenty o velikosti do 1 mm mají větší vliv na poškození endotelu v důsledku větší rychlosti pohybu. Předpokládají větší vliv fragmentů tuhých jader. Rohovkový endotel může být také ovlivněn použitými intrakamerálními léčivy, která jsou do přední komory aplikována s irigační tekutinou. [28, 29]

Výhodou techniky operace FCALS je preciznost, centrace a reprodukovatelnost kapsulotomie, zajišťující přesnější centraci a stabilitu nitrooční čočky. Spolu s definovanou polohou a reprodukovatelností incizí je předpoklad pro zajištění lepší pooperační zrakové ostrosti. Další výhodou je, že je díky fragmentaci čočky použito méně ultrazvukové energie (*phaco energy* ^[21]) a zkracuje se doba ultrazvukové fakoemulzifikace. Redukce energie potřebné k fragmentaci čočky u pacientů operovaných technikou FLACS se projevuje u všech stupňů zkalení jádra, avšak v závislosti na použité laserové platformě a vzoru fragmentace čočky. Některé vzory laserové fragmentace dovolují odstranění jádra čočky bez další fragmentace ultrazvukem. Předpokládá se proto, že je tato technika méně traumatizující pro rohovkový endotel. Je proto vhodnější pro pacienty s již narušeným endotelem. [15, 21, 22, 27]

Studie zabývající se vlivem operace katarakty na endotel rohovky

Vliv ultrazvukové fakoemulzifikace, respektive její doby a energie, na rohovkový endotel je popisován v řadě studií. Např. ve studii [30] sledovali snížení doby ultrazvukové fakoemulzifikace u 38 pacientů operovaných FLACS pomocí platformy LenSx. U této skupiny také sledovali nižší výskyt pooperačního edému, avšak nezaznamenali rozdíl ve snížení hustoty rohovkového endotelu v porovnání s pacienty operovanými manuální fakoemulzifikací. [30]

Porovnáním doby ultrazvukové fragmentace čočky při FLACS a manuální fakoemulzifikaci a jejího vlivu na rohovku se zabývali ve studii [27]. U skupiny 150 očí

operované FLACS pomocí platformy Catalys zaznamenali snížení doby fragmentace o 83,6 % v porovnání se skupinou 51 očí operovaných manuální fakoemulzifikací (při srovnatelném stupni katarakty). U 30 % očí ze skupiny FLACS již nebyla nutná další fragmentace. Dalšího snížení doby ultrazvukové fragmentace je možné dosáhnout volbou jemnějšího vzoru fragmentace při laserovém zákroku, který se tím však prodlužuje. Zvyšuje se tak i celková aplikovaná energie laseru, její vliv na tkáň přední komory však autoři nepředpokládají. Dále popisují o **36,1 %** nižší snížení hustoty endotelových buněk (průměrné snížení o $143,8 \pm 208,3$ při FLACS a $224,9 \pm 188,95$ při manuální fakoemulzifikaci) při kontrole po 3 týdnech od zákroku. [27]

Snížení doby ultrazvukové fragmentace a naopak prodloužení laserového zákroku při volbě jemnějšího mřížkového vzoru fragmentace čočky s použitím platformy Catalys bylo potvrzeno i ve studiích [23, 31].

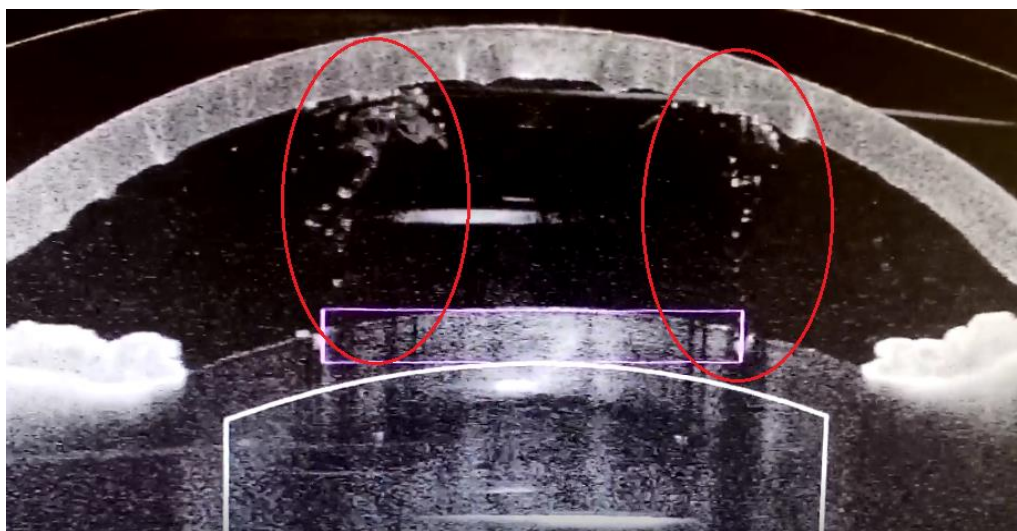
Podobné výsledky byly prezentovány ve studii [22], kde sledovali 73 pacientů. U jednoho oka pacienti postoupili FLACS (též pomocí platformy Catalys) a u druhého oka manuální fakoemulzifikaci. Jeden týden po zákroku zjistili procentuální snížení hustoty endotelu $7,9 \% \pm 7,8 \%$ po FLACS a u druhého oka $12,1 \% \pm 7,3 \%$. Při kontrole po 3 měsících po zákroku zaznamenali u očí operovaných FLACS o **41 %** nižší snížení hustoty rohovkového endotelu a to $8,1 \% \pm 8,1 \%$ v porovnání s $13,7 \% \pm 8,4 \%$ při manuální fakoemulzifikaci. Popisují také snížení doby fakoemulzifikace u očí operovaných FCALS (u 64,4 % očí z této skupiny nebyla nutná další ultrazvuková fragmentace), dále nižší výskyt pooperačního edému rohovky, a tím i rychlejší stabilizace zrakové ostrosti. [22]

Ve studii [21] též porovnávali změnu hustoty endotelu u 47 pacientů, přičemž u jednoho oka pacienti podstoupili FLACS pomocí platformy LensAr a u druhého oka manuální fakoemulzifikaci. U očí operovaných FLACS však nezaznamenali tak výrazně nižší pokles v hustotě endotelu jako ve studiích [27 a 22], zjistili o **18 %** nižší snížení hustoty ($9,1 \%$ 3 dny po zákroku a $11,4 \%$ 3 měsíce při FCALS, při manuální fakoemulzifikaci $8,2 \%$ na kontrole po 3 dnech a $13,9 \%$ po 3 měsících). U obou skupin očí totožně popisují 3 dny po operaci snížení procenta hexagonálních buněk (z průměrných 55% na 49%), avšak po 3 měsících byla hexagonalita průměrně 53% . Sledovali dále vztah mezi dobou ultrazvukové fragmentace, (která byla u FLACS o 33% nižší) a snížením hustoty endotelu, kde zaznamenali přímou úměrnost. [21]

Při použití tzv. nízkoenergetického laseru platformy Femto LDV(energie pulzu 10^{-9} J) ve studii [32], do které bylo zahrnuto 133 očí operovaných pouze FLACS, nezaznamenali významné snížení hustoty buněk v porovnání předoperačního a pooperačních vyšetření (proběhla 1 den, 1 týden, 4 týdny a 3 měsíce po zákroku). Předpokládají proto, že použití nízkoenergetického laseru při FLACS nemá žádný negativní vliv na tkáň přední komory.[32]

Tento předpoklad potvrzuje i starší studie zabývající se vlivem fotodisrupce Nd:YAG laserem na tkáň, který se používá např. při léčbě sekundární katarakty. Při použití laseru s kratší dobou pulzu, a tedy i nižší energií pulzu, se jevy spojené s fotodisrupcí (popsané následující v kapitole 4.5) projevují v menší míře. [33]

Při laserovém výkonu jsou viditelné kavitační a plynové bubliny uvolněné do přední komory (obrázek 3.11), které mohou způsobit změnu pH nitrooční tekutiny, což by při dlouhodobém působení mohlo negativně ovlivnit tkáň přední komory. Bubliny jsou tvořeny molekulami plynů včetně oxidu uhličitého (CO_2), který se reakcí s komorovou vodou mění na kyselinu uhličitou (H_2CO_3). Ta se disociuje na vodíkový kationt (H^+) a bikarbonát (hydrogenuhlíčitanový aniont HCO_3^-), což je příčinou snížení pH komorové vody (tzv. acid shift). Tato změnu pH v důsledku fotodisrupce při laserové proceduře byla publikována ve studii [8], kdy pH komorové tekutiny po laserové proceduře bylo $6,53 \pm 0,09$ (v rozmezí 6,42-6,70). U kontrolní skupiny operované manuální technikou pak $7,42 \pm 0,07$ (v rozmezí 7,28-7,48). [8, 9]



Obrázek 3.11: Přední komora zobrazovaná pomocí OCT při laserovém zákroku při tvorbě kapsulotomie pomocí platformy Victus s viditelnými plynovými bublinami (v červených elipsách) [34]

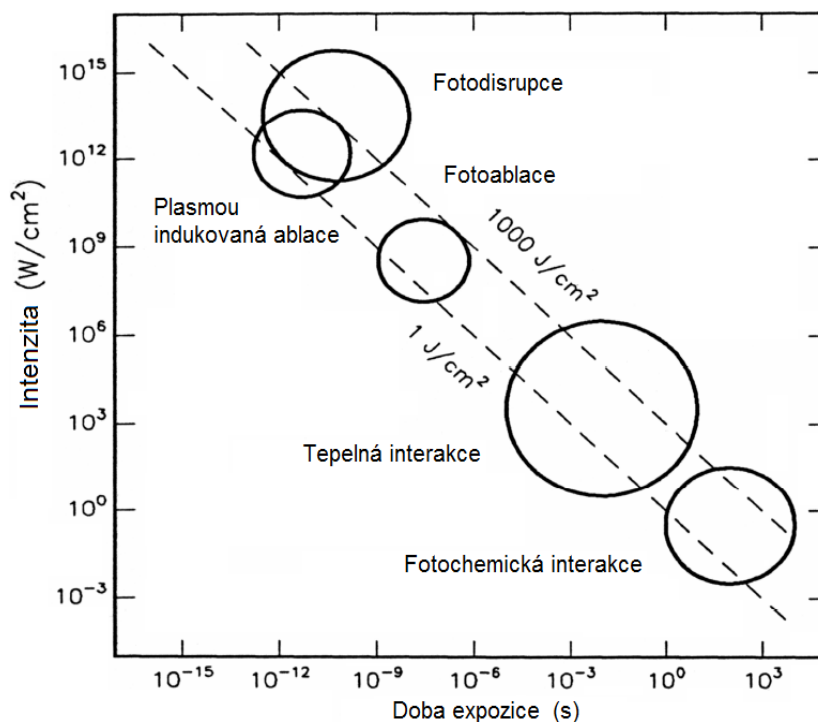
Přímý vliv snížení pH na přední komoru oka a rohovkový endotel ve studiích [8, 9] nepředpokládají vzhledem k tomu, že je v průběhu druhé fáze FLACS (obdobně jako při manuální fakoemulzifikaci) plněna přední komora viskochirurgickým materiálem a irigační tekutinou.

Z výsledků výše uvedených studií lze říci, že vliv při operaci katarakty na tkáň přední komory a rohovkový endotel má především ultrazvuková fakoemulzifikace. Doba fakoemulzifikace a energie ultrazvuku se odvíjí od stupně katarakty a použité

techniky fakoemulzifikace. Při FLACS se zmíněné parametry fakoemulzifikace snižují v závislosti na použité laserové platformě a především v zoru laserové fragmentace čočky. Výsledky studií jsou však těžko porovnatelné vzhledem k různé metodice. Vzhledem ke krátké době pulzu femtosekundových laserů v žádné ze studií nepředpokládají vliv samotného laserového zákroku (fotodisrupce a jevů s ní spojených) na tkáň přední komory.

4 Interakce laseru s tkání

Při dopadu laserového záření na hmotu, tedy i tkáň oka, dochází k reflexi (odrazu), absorpci (pohlcení), rozptylu nebo transmisi (přechodu). Lom záření se uplatňuje v případě médií, která jsou pro danou vlnovou délku záření transparentní, jako je např. rohovka a čočka pro viditelné záření. Výsledný účinek interakce je závislý na parametrech záření a vlastnostech látky (tkáň). Mezi důležité parametry laseru se řadí vlnová délka záření, hustota energie a výkonu, intenzita, doba expozice tkáň (délka pulzu při pulzním režimu laseru) a velikost stopy laseru. U tkáň jsou kromě absorpčních, reflexních a rozptylných vlastností klíčové i tepelné vlastnosti, jako je tepelná kapacita a vodivost. Společně určují chování světla o určité vlnové délce v tkáň. Při interakci laserového záření s tkáň rozlišujeme fotochemickou interakci, tepelnou interakci, fotoablaci, plazmou indukovanou ablací a fotodisrupci, avšak ne vždy se uplatňuje jen jeden typ interakce. Pro typ interakce je rozhodující především doba expozice a intenzita záření. Závislost typu interakce na těchto veličinách je uvedena na obrázku 4.1, na kterém si můžeme všimnout, že hustota energie se v medicíně u všech typů interakce pohybuje přibližně mezi $1 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$ a $1000 \text{ J}\cdot\text{cm}^{-2}$ (na obrázku 4.1 znázorněno přerušovanými čarami). [35, 36]



Obrázek 4.1: Jednotlivé typy interakce laserového záření s tkáň znázorněné kružnicemi jako funkce doby expozice a intenzity. Převzato a upraveno dle předlohy [35]

4.1 Fotochemická interakce

Fotochemická interakce nastává při nízké intenzitě záření (řádově $1 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) a době expozice vyšší než 1 s (využívá se i kontinuálního režimu laseru). Dochází při ní k chemické reakci v rámci makromolekul tkáně. Typickým příkladem z přírody je fotosyntéza rostlin, pro které je záření zdrojem energie pro tvorbu makromolekul. V medicíně je fotochemická interakce základem pro fotodynamickou terapii a biostimulaci. Používají se diodové lasery a červené barvivové lasery. [35, 36]

4.2 Tepelná interakce

Tepelný účinek záření se projevuje při vyšší intenzitě záření (10 až $10^6 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$) a době expozice řádově od mikrosekund do desítek sekund, kdy dochází k lokálnímu zvýšení teploty v exponované oblasti. V závislosti na parametrech laseru a vlastnostech tkáně dochází vlivem zvýšení teploty k vratným i nevratným změnám tkáně, a to ke koagulaci tkáně, k jejímu odpařování, tavení nebo zuhelnatění. Výsledný efekt na tkáň je dán také výše zmíněnými tepelnými vlastnostmi tkáně, tedy na odvodu tepla do okolí ozařované oblasti. Tepelná interakce se uplatňuje např. v oftalmologii při léčbě onemocnění a defektů sítnice. Využívá se CO_2 laser, argonový laser, diodové lasery nebo např. Nd:YAG, Er:YAG a Ho:YAG lasery. [35, 36]

4.3 Fotoablace

Fotoablace tkáně nastává při době expozice, která se řádově pohybuje v nanosekundách, a intenzitě 10^7 až $10^8 \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$. Fotoablace je definována jako ablační fotodekompozice, kdy dochází k rozpadu chemických vazeb v makromolekulách tkáně. K disociaci makromolekul může dojít pouze v případě, že absorbovaný foton má dostatečně velkou energii přesahující vazebnou energii příslušných atomů v molekule. Toto kritérium splňují fotony z UV oblasti spektra, jejichž zdrojem jsou např. excimerové lasery (ArF, KrF, XeCl, XeFl...). Makromolekula je tak rozdělena na jednotlivé atomy a menší molekuly. Při ablaci dále vznikají akustické jevy a je viditelná fluorescence. Fotoablace se uplatňuje např. při refrakčních rohovkových zákrocích ke změně zakřivení rohovky. Výhodou je definovatelnost geometrie ablované tkáně a nulové tepelné poškození okolí. Hloubka ablace je dána intenzitou záření, absorpčním koeficientem tkáně a počtem aplikovaných pulzů. [35, 36]

4.4 Plazmou indukovaná ablace

Plazmou indukovaná ablace vzniká při intenzitě 10^{11} až $10^{13} \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ a době pulzu řádově 100 fs až 500 ps. Při tomto typu interakce dochází, stejně jako při fotoablaci, ke geometricky velmi přesnému a čistému odstranění tkáně bez tepelného nebo

mechanického poškození okolní tkáně (při vhodné volbě parametrů). Ablace zde však není způsobena disociací molekul tkáně, ale vlivem ionizujícího plazmatu. Plazma vzniká ionizací atomů a molekul dodáním dostatečně velké energie. Tvorbou plazmatu vzniká pozorovatelný tzv. optický průboj (jiskra) doprovázený akustickými jevy. Optický průboj nastává v pevných látkách a kapalinách při intenzitě $10^{11} \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$, ve vzduchu při $10^{14} \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$. K ionizaci může docházet tepelnou emisí, kdy je elektron uvolněn elektronového obalu atomu dodáním tepelné energie. Elektron může být uvolněn také multifotonovou absorpcí, ke které dochází při dostatečné intenzitě zdroje dosažené pomocí krátkých pulzů (řádově v fs a ps), kdy je jednomu elektronu předána energie několika fotonů. Volný elektron je urychlován další absorpcí energie fotonů a způsobuje ionizaci dalších atomů, do kterých naráží. Důsledkem toho exponenciálně roste počet volných elektronů. [35, 36]

Pro optický průboj je charakteristické, že působí i ve slabě absorbujících tkáních, vlivem absorpce záření plazmatem. Využívá se toho v oftalmologii u zákroků na rohovce a čočce. [35, 36, 33]

Spolu s fotodisrupcí popsanou v následující kapitole se plazmou indukovaná ablace uplatňuje při operaci katarakty za asistence femtosekundového, která byla popsána v kap.3.1.2. [17, 36]

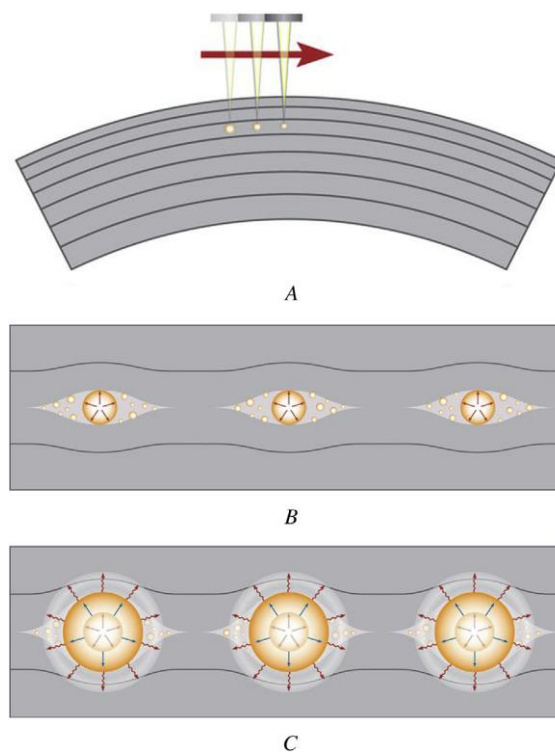
4.5 Fotodisrupce tkáně

Tento typ interakce nastává při použití fokusovaného svazku laseru s krátkými pulzy (100 fs až 100 ps) a intenzitou 10^{11} až 10^{15} W/cm^2 . Stejně jako v případě plazmou indukované ablace dochází k optickému průboji a tvorbě plazmatu. Se zvyšující se energií pulzu se dále projevuje i mechanickým účinkem, jako je rázová vlna, v měkkých tkáních pak i kavitace a v kapalinách tryskový jev. Při fotodisrupci se proto více uplatňují mechanické procesy. Rázová vlna je způsobená rychlou expanzí plazmatu vlivem vysoké teploty, kdy elektrony a ionty plazmatu předávají energii do okolí. Ke kavitaci dochází též v důsledku zvýšení teploty, kdy v ohnisku dochází k vypaření látek. Vzniklé kavitační bubliny rychle expandují a podílí se na mechanickém oddělení tkáně. V kapalinách dochází vlivem následného rychlého kolapsu kavitačních bublin k tryskovému jevu. Je-li kolabující bublina v kontaktu s pevnou látkou, může docházet k jejímu narušení vzniklým prouděním tekutiny proti ní. Vlivem absorpce záření tvořeným plazmatem dochází k tzv. plazmatickému stínění, čímž jsou chráněny hlubší struktury, např. sítnice. [35, 36]

Ze vztahu intenzity (výkonu pulzu), energie a doby pulzu vyplývá, že pro dosažení kritické hodnoty intenzity pro vznik optického průboje ($10^{11} \text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$ v kapalinách a pevných látkách) se potřebná energie pulzu snižuje se zkracující se dobou pulzu. Pro dobu pulzu v řádech fs je tedy potřebná energie nižší než pro dobu pulzu

v řádech ps a ns. Se snižující se energií pulzu se snižuje riziko a rozsah poškození tkání v okolí ohniska pulzu vlivem šokové vlny, kavitace a tryskového jevu. [33]

Při fokusaci laserového svazku dovnitř tkáně tak dochází k jejímu mechanickému oddělení a následně tvorbě řezu tkání, který je vytvořen propojením sousedních ohnisek fotodisrupce (obrázek 4.2). Jednotlivé pulzy mohou být umístěny tak, že se oblasti fotodisrupce jednotlivých pulzů částečně překrývají (při kapsulorexi), nebo dále od sebe, čímž jsou zachovány tkáňové mosty. Ty jsou následně rozrušeny manuálně. [15, 17, 35]



Obrázek 4.2: Tvorba řezu tkání fotodisrupcí. Převzato z [17]

5 Fluorescenční optický vláknový senzor pro detekci pH

Hodnota pH je jednou z hlavních charakteristik prostředí ovlivňující průběh chemických a biochemických reakcí (např. aktivitu enzymů)^[37]. V následujících podkapitolách bude nejprve definováno pH a následně fluorescenční optické vláknové senzory, které je možné použít pro jeho měření.

5.1 pH

Hodnota pH udává kyselost či zásaditost roztoku a je dána koncentrací vodíkového kationtu H^+ , respektive oxoniového kationtu H_3O^+ , pH vodných roztoků nabývá hodnoty od 0 do 14. Byla pro něj zavedena logaritmická stupnice, přičemž pH je definované jako záporný dekadický logaritmus koncentrace H_3O^+ dle vztahu (1) [38]:

$$pH = -\log[H_3O^+] \quad (1)$$

Voda částečně disociuje a vzniká oxoniový kationt H_3O^+ a hydroxidový aniont OH^- dle rovnice reakce (2), za normálních podmínek (za atmosférického tlaku a teploty $25^\circ C$) je jejich koncentrace rovna 10^{-7} mol/l. Dosazením do vztahu (1) dostáváme pH vody 7. [38]



Z rovnovážné konstanty K_{eq} této rovnice (2) je odvozen tzv. iontový součin vody K_{H_2O} dle vztahu (3), který je součinem koncentrací H_3O^+ a OH^- . Za normálních podmínek je u vodných roztoků konstantní a je roven 10^{-14} (z toho vyplývá rozsah stupnice pH vodných roztoků). [38]

$$K_{eq} = \frac{[H_3O^+][OH^-]}{[H_2O]^2} \rightarrow K_{H_2O} = [H_3O^+][OH^-] \quad (3)$$

Kyseliny jsou definované jako látky schopné odštěpit H^+ , v roztoku proto roste koncentrace H_3O^+ a pH se snižuje. Zásady jsou naopak definované jako látky schopné přijímat H^+ (nebo odštěpit OH^-), čímž se snižuje koncentrace H_3O^+ a pH se zvyšuje. [38]

Měření pH je možné provádět pomocí acidobazických indikátorů, což jsou látky, jejichž zbarvení je závislé na pH okolního prostředí. Využívá se jich např. u indikačních proužků, které jsou napuštěny kombinací indikátorů. Výsledné pH, je stanoveno porovnáním zbarvení proužku s barevnou stupnicí s přesností 0,3 až 1 jednotka pH.

Acidobazické indikátory se dále využívají např. při titraci, což je analytická kvantitativní metoda pro určení koncentrace roztoku kyseliny nebo zásady. [39]

Potenciometrické měření pH je založeno na změně napětí mezi referenční elektrodou, která má konstantní potenciál, a měrnou elektrodou, jejíž potenciál je závislý na pH roztoku. K měření se používají skleněné elektrody tvořené iontově selektivní membránou, kterou mohou procházet ionty H^+ do vnitřního roztoku. Změna napětí je měřena elektronickým voltmetrem. Vzhledem k závislosti na teplotě se vždy provádí kalibrace přístroje proměřením pufrů o známé koncentraci. [39, 40]

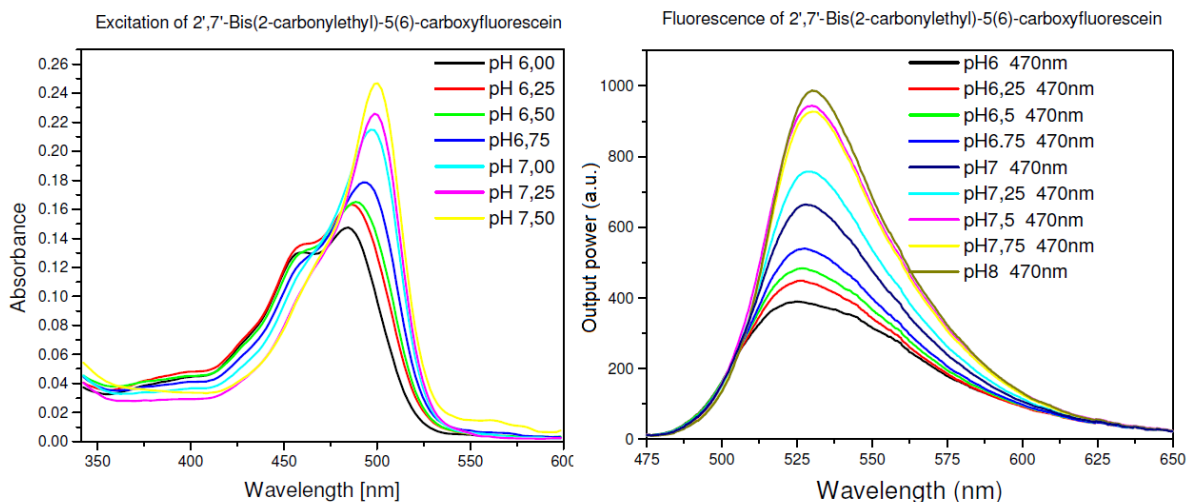
5.2 Optický vláknový senzor

Jako optický senzor je definováno zařízení, které měří fyzikální nebo chemické a biochemické veličiny (kvantitativní i kvalitativní analýza) na základě změny veličiny charakterizující detekované optické záření. Jejich hlavní výhodou je vysoká citlivost, možnost měření v reálném čase a odolnost vůči vnějšímu elektromagnetickému poli. Výhodou optických vláknových senzorů je navíc mikroskopický rozměr, a s tím související vysoké prostorové rozlišení. Měření pomocí těchto senzorů je založeno na interakci světlo s analyzovanou veličinou nebo látkou. Světlo je optickým vláknem přiváděno k detekčnímu místu. Změnou optických vlastností v detekčním místě dochází ke změně optické odezvy na konci vlákna. Zařízení využívající optický vláknový senzor může být sestaveno ve dvou uspořádáních, a to v transmisním nebo reflexním. U transmisního uspořádání je detekční místo rozloženo podél vlákna, na jehož jednom konci je zdroj záření a na druhém detektor. V medicíně je používané reflexní uspořádání, u něhož je detekční místo na jednom konci vlákna a odezva je detekována na vstupním konci. Toto uspořádání dovoluje umístění senzoru např. do endoskopu. [41]

Fluorescenční senzory jsou podmnožinou optických vláknových senzorů. Citlivou vrstvu těchto senzorů tvoří fluorofory (sloužící jako opto-chemický převodník), jejichž spektrální vlastnosti jsou citlivé na určitou látku nebo fyzikálně chemickou veličinu. V přítomnosti dané látky nebo změnou veličiny u nich dochází k spektrálnímu posunu maxima intenzity fluorescence^[42] nebo ke změně intenzity fluorescence. [37, 41]

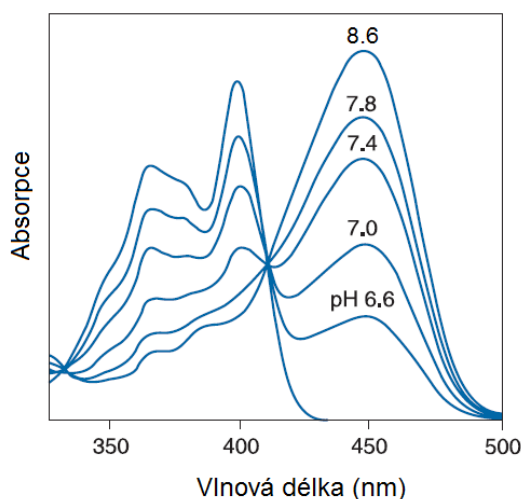
5.3 Fluorescenční indikátory

Jsou známy fluorescenční indikátory pro detekci různých látek, jako jsou Ca^+ , Mg^+ , Na^+ , K^+ , pH. Pro detekci pH může být použit např. fluorescein a jeho deriváty, jako je BCECF, které byly použity jako jedna z prvních sond pro nitrobuněčné měření pH. Na obrázku 5.1 je uvedeno absorpční spektrum a emisní spektrum (při excitační vlnové délce 488 nm) fluoresceinu v závislosti na pH. Jeho absorpce s rostoucím pH roste, stejně tak roste i intenzita fluorescence. [43, 44]



Obrázek 5.1: Absorpční a emisní spektrum derivátu fluoresceinu. Převzato z [44]

Dalším fluorescenčním indikátorem je HPTS (trisodná sůl 8-hydroxypyren-1,3,6-trisulfonové kyseliny). Tento indikátor je netoxický a je citlivý na pH v blízkosti neutrálních hodnot (umožňuje měření pH v rozmezí 5,0 až 7,8). Je proto vhodný i pro biologické a medicínské použití. Tento fluorescenční indikátor má dva absorpční pásy s maximy na vlnových délkách 405 nm a 465 nm, jejich intenzita je závislá na pH (obrázek 5.2). [37, 43]

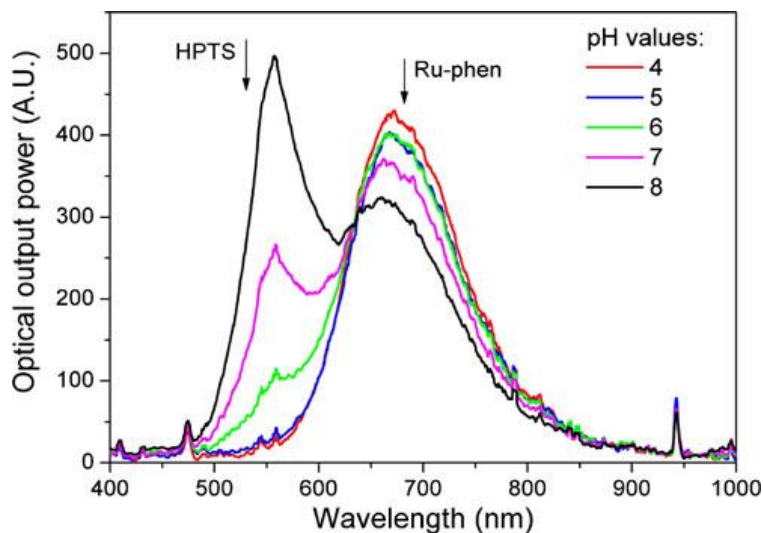


Obrázek 5.2: Absorpční spektrum indikátoru HPTS. Převzato a upraveno dle [43]

Na obrázku 20 si můžeme všimnout, že absorpce při vlnové délce 465 nm s rostoucím pH roste, naproti tomu při vlnové délce 405 nm absorpce s rostoucím pH klesá. Závislost na pH se projevuje i u emisního spektra s maximem na 520 nm.

Využívá se toho při poměrovém měření s využitím tzv. vlastní reference, kdy jsou použity dvě excitační vlnové délky. [37, 43, 45]

HPST může být použito pro optický vláknový fluorescenční senzor v kombinaci s referenční látkou Ru-phen dichlorid. Jejich fluorescenční spektrum je na obrázku 5.3. [43, 46]



Obrázek 5.3: Fluorescenční spektrum HPTS a Ru-phen dichloridu při excitační vlnové délce 475 nm. Převzato z [46]

Referenční látka se používá při poměrovém měření při tzv. vnitřním standardu, kdy je použita jedna excitační vlnová délka.[37, 46]

5.4 Metody měření

Podle charakteru spektra indikátoru se volí metoda měření. Metody můžeme rozdělit na poměrové a intenzitní. U intenzitního měření používáme jeden excitační zdroj (jednu vlnovou délku) a měříme změnu intenzity fluorescence v závislosti na pH. [37, 44]

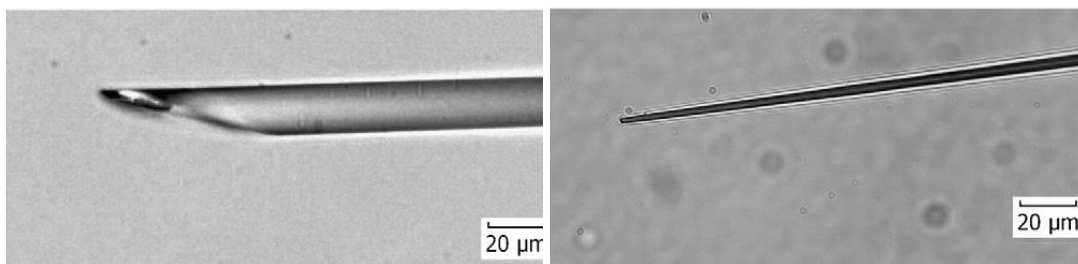
Poměrové měření je přesnější, ale přístrojové uspořádání je náročnější. Informaci o pH získáváme z poměru dvou intenzit fluorescence. Můžeme použít jeden fluorofor, který střídavě excitujeme dvěma vlnovými délkami tzv. vlastní reference. Nebo můžeme použít dva fluorofory s odlišnými vlastnostmi, které excitujeme jednou vlnovou délkou, tzv. vnitřní standard. Výhodou poměrového měření je nezávislost na koncentraci fluoroforu, na jeho bleachingu (zhášení fluorescence) a na teplotě okolí. [37, 44]

5.5 Uspořádání měřícího zařízení

Optické vlákno může být použito pro přivedení excitačního záření ke vzorku, emisní záření je sbíráno a detekováno např. objektivem mikroskopu. Nebo může být objekt osvětlen např. výbojkou a optické vlákno odvádí emisní záření do detektoru. Optickým vláknem však může být přiváděno excitační záření ze zdroje a zároveň i odváděno emisní záření k detektoru. [37]

5.6 Úprava vlákna

Pro měření malých objemů v řádu μl je nutné zmenšit průměr špičky vlákna tzv. taperováním na několik μm , kdy je optické vlákno zahříváno a vytaženo do požadovaného průměru. Na obrázku 5.4 je fotografie taperu o průměru 18 μm (vlevo) a taperu o průměru 1 μm (vpravo). [46]



Obrázek 5.4: Špička taperu o průměru 18 μm a 1 μm . Převzato a upraveno z [45]

Takto upravené optické vlákno, na jehož špičku je imobilizován vhodný fluorescenční indikátor, je možné použít pro měření pH velmi malých objemů, např. exudátu rostlin, měření pH přímo uvnitř tkáně a buněk, což umožňuje sledovat děje v různých částech rostlin. U velmi malých objemů vzorku (např. o velikosti několika kapek) je měření pH problematické vlivem absorpce vzdušného CO_2 vzorkem, čímž se pH vzorku snižuje. Výhodou optického vláknového senzoru je oproti jiným pH metrům vysoké prostorové rozlišení, kterého je dosaženo díky rozměrům sondy v reálném čase (odezva sondy je 10 až 20 s^[46, 45]) a odolnost vůči elektromagnetickému poli. [37]

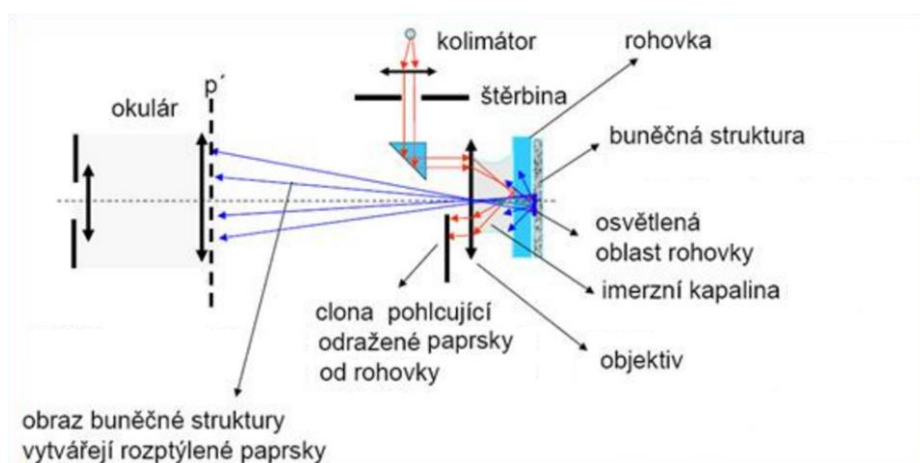
Obvykle jsou používána multimódová PCS vlákna^[41] o průměru 100 až 300 μm , na jejichž konec je provedena imobilizace indikátoru metodou sol gel v porézním substrátu. Takto upravené vlákno dovoluje analyzovat vzorky o objemu desítek μl . [46]

6 Edotelová spekulární mikroskopie

Jedná se o zobrazovací techniku, která umožňuje sledovat rohovkový endotel tvořený jednou vrstvou buněk. Uplatňuje se při sledování vývoje jeho stavu při endotelových dystrofiích, v souvislosti chirurgickými zákroky a medikamentózní léčbou, i v běžné praxi pro zjištění stavu endotelu při preventivních vyšetřeních. Klíčovou roli hraje při hodnocení stavu rohovkového transplantátu a při sledování jeho pooperačního vývoje. [4, 47, 48]

Princip metody

Zobrazení endotelu je založeno na spekulární (zrcadlové) reflexi světla od rozhraní komorové tekutiny a vnitřní plochy rohovky, respektive od povrchu endotelových buněk. V podstatě se jedná o metodu mikroskopie v temném poli. Podle zákona odrazu se paprsky odráží na rozhraní dvou prostředí s rozdílnými indexy lomu, přičemž od rovinného povrchu buněk se odráží zpět pod úhlem, který se rovná úhlu dopadu. Povrch buněk se proto jeví jako světlý. Na nerovnostech rozhraní (na okrajích buněk) dochází k odrazu světla v různých směrech a okraje buněk se proto jeví jako tmavé. Intenzita odraženého světla je závislá na úhlu dopadu, polarizaci světla a indexech lomu prostředí. Světlo odražené pod úhlem, který je určen aperturou, pak prochází objektivem mikroskopu a je detekováno. Schéma přístroje je uvedeno na následujícím obrázku 6.1. Metoda spekulární mikroskopie může být použita k zobrazení dalších rozhraní prostředí, např. povrchu intraokulární čočky. [24, 48]



Obrázek 6.1: Schéma kontaktního endotelového mikroskopu. Převzato z [49]

Endotelové mikroskopy se dělí na kontaktní a nekontaktní. Kontaktní mikroskopy nabízí větší zvětšení a lepší zobrazovací vlastnosti díky částečnému oploštění povrchu rohovky a díky zamezení pohybům oka. Oploštěním rohovky se zvětšuje plocha, která může být zobrazena spekulární reflexí. Pro kontaktní vyšetření však musí být povrch oka, kterého se dotýká tzv. aplanační objektiv, v lokální anestezii. Nekomaktní mikroskopy sice nabízí menší zvětšení, avšak vyšetření je méně náročné a zcela neinvazivní. Vlivem zakřivení rohovky je zobrazená oblast podstatně menší. Při hustotě buněk 2500 na mm² je nekontaktním mikroskopem zobrazeno přibližně 150 až 170 buněk, kontaktním 700 až 800 buněk. K dispozici jsou i přístroje, které je možné použít v kontaktním i nekontaktním režimu výměnou nástavce objektivu. [24, 48]

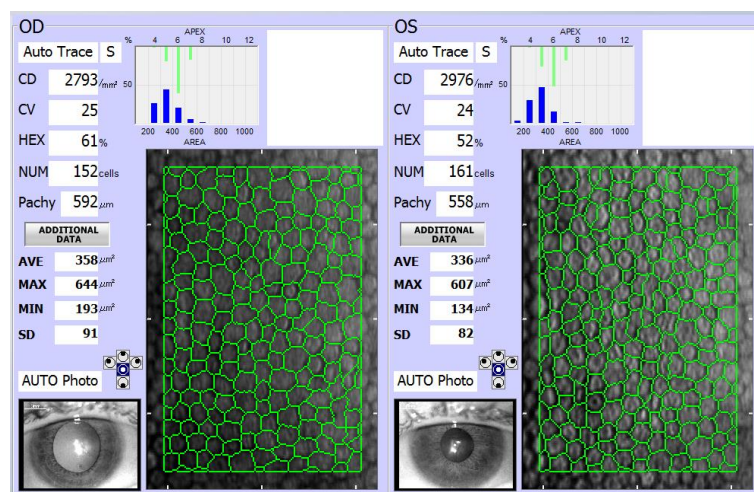
Moderní přístroje umožňují kvantitativní i kvalitativní (morfologickou) analýzu endotelu pro hodnocení jeho stavu. Hodnotí se hustota buněk, což je počet buněk na mm² (CD – cell density), která je dána vztahem (4)

$$CD = \frac{10^6}{AVE} \quad (4)$$

kde AVE je průměrná plocha buněk, která se udává v μm². Dále se udává koeficient variace plochy buněk (CV), který je dán vztahem (5)

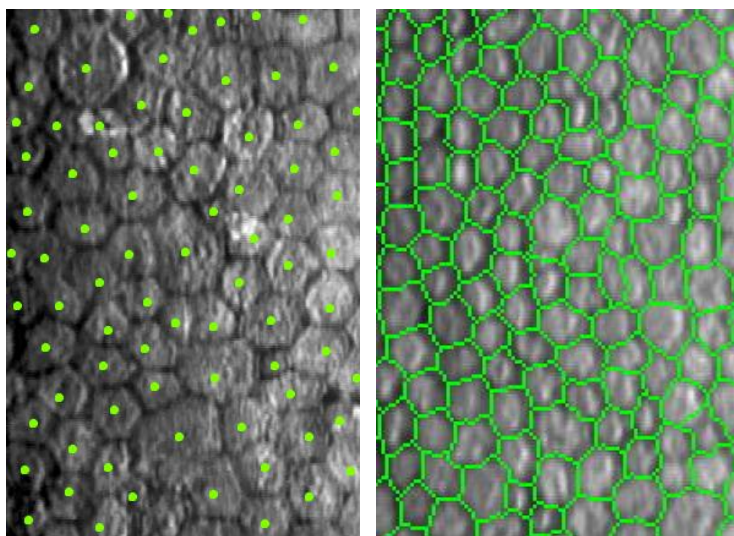
$$CV = \frac{SD}{AVE} \cdot 100\% \quad (5)$$

kde SD směrodatná odchylka plochy buněk. Hodnotí se také procentuelní zastoupení hexagonálních buněk (HEX). Výstupem vyšetření je dále počet analyzovaných buněk (NUM), minimální (MIN) a maximální (MAX) plocha buněk v μm² (obrázek 6.2). Některé endotelové mikroskopy zároveň umožňují měřit tloušťku rohovky, tzv. pachymetrii (PACHY), která se udává v μm. [47, 48]



Obrázek 6.2: Výstup z vyšetření endotelu mikroskopem Konan Specular Microscope. Vlastní snímek

Analýza rohovkového endotelu je u nekontaktního měření uskutečněna na digitálním obrazu oblasti rohovky o ploše řádově $0,01 \text{ mm}^2$ (vnitřní plocha rohovky je přibližně 130 mm^2). Provádí se v automatickém, poloautomatickém nebo manuálním režimu v závislosti na softwaru přístroje (obrázek 6.3). Při automatickém režimu jsou programem endotelového mikroskopu vyznačeny obrysy buněk a provedena analýza. V programu může být nastavena velikost buněk vzoru, se kterým systém pracuje. Další zvýšení přesnosti je dosaženo poloautomatickým režimem, ve kterém je možnost manuální úpravy hranic buněk. V manuálním režimu jsou ručně označeny přibližné středy buněk, přičemž přesnost se zvyšuje s počtem označených buněk. [24, 47]



Obrázek 6.3: Buňky endotelu zobrazené spekulárním mikroskopem analyzované v manuálním režimu (vlevo) a v automatickém režimu (vpravo). Vlastní snímky

Při kvantitativní analýze hodnotíme především počet buněk endotelu, dále pak jejich průměrnou plochu. Dostatečná hustota buněk je nezbytná pro zajištění jejich funkce, kterou je udržení hydratace rohovky. [24]

Kvalitativní analýza sleduje morfologii jednotlivých buněk. Hodnocen je polymorfismus, což je rozdílnost v tvaru buněk. Polymorfismus je hodnocen procentuálním zastoupením buněk původního hexagonálního tvaru. Všechny buňky měly původně hexagonální tvar a byly pravidelně uspořádané, v takovém případě je hodnota HEX rovna 100 %. Avšak úbytkem buněk dochází ke změně jejich tvaru zaplňováním volného prostoru. U normální rohovky očekáváme 60 % hexagonálních buněk. Se změnou tvaru je spjata i změna velikosti buněk, kdy vzniká tzv. polymegatismus. Ten se hodnotí maximální a minimální plochou analyzovaných buněk a jejich směrodatnou odchylkou nebo variačním koeficientem. Polymorfismus

i polymegatismus buněk endotelu můžeme pozorovat na předcházejícím obrázku 6.3. [24, 48]

Součástí kvalitativní analýzy je také subjektivní hodnocení obrazu buněk endotelu, kdy na patologický stav, kromě počtu, tvaru a velikosti, může poukazovat i vzhled buněk. Změny endotelu se pak podle své reflexní povahy projeví jako světlé nebo naopak tmavé defekty obrazu. Např. od pigmentace se světlo odráží, proto je zobrazena jako světlá oblast. [24]

7 Praktická část

7.1 Motivace a cíle práce

Jak již bylo zmíněno v úvodních kapitolách, při operaci katarakty je řada faktorů, které mohou ovlivnit úspěšnost zákroku jak vzhledem k dosažené pooperační zrakové ostrosti, tak vzhledem k míře traumatizace zasažených tkání. Cílem této diplomové práce je posoudit, jaký vliv na tkáň rohovky a další struktury přední komory oka má operace za FLACS s využitím platformy Victus v porovnání s manuální fakoemulzifikací.

Pro naplnění cíle práce byl navržen postup měření pro hodnocení vlivu obou operací katarakty a byl proveden výzkum, který se skládal ze dvou částí. U obou částí výzkumu jsou diskutovány výsledky z měření skupiny pacientů operovaných FLACS v porovnání se skupinou pacientů operovanou manuální fakoemulzifikací.

První část výzkumu tvořilo měření pH komorové tekutiny, které je dle studií [8, 9] ovlivněno při FLACS při laserovém zákroku vznikem bublin CO_2 , ze kterého reakcí s komorovou tekutinou vzniká H_2CO_3 .

Druhou část potom tvořila analýza rohovkového endotelu vytvořená z předoperačních a pooperačních vyšetření endotelu, jenž může být během nitroočních zákroků, tedy i při operaci katarakty, poškozen. Nepostradatelnou funkcí endotelu je zajištění dehydratace rohovky, a tím její průhlednosti. Stav endotelu proto může být ukazatelem pro hodnocení vlivu zákroku i vzhledem k jeho snadnému zobrazení endotelovým mikroskopem, jenž je konvenčním oftalmologickým přístrojem.

7.2 Hypotézy

Pro stanovení hypotéz byla provedena rešerše současných poznatků o rizikových faktorech a vlivu operace katarakty na tkáň přední komory se zaměřením na rohovkový endotel.

Předpokládáme, že manuální fakoemulzifikace má oproti FLACS průměrně větší vliv na pooperační snížení hustoty rohovkového vzhledem k delší době použití ultrazvuku.

Dále předpokládáme, že manuální fakoemulzifikace má oproti FLACS větší vliv na pooperační zvýšení koeficientu variace plochy endotelových buněk a na snížení procenta hexagonálních buněk.

Předpokládáme snížení pH komorové tekutiny vlivem laserového zákroku při FLACS ve srovnání s kontrolní skupinou, kterou představovali pacienti operovaní

manuální fakoemulzifikací. Dále předpokládáme, že snížením/zkrácením prodlevy mezi laserovým zákrokem a odběrem vzorku komorové tekutiny bude naměřené pH nižší vlivem obměny komorové tekutiny.

U pacientů operovaných FLACS nepředpokládáme vliv snížení pH na pooperační snížení hustoty rohovkového endotelu.

7.3 Metodika

Do výzkumu, který byl uskutečněn na Oční klinice JL, FBMI ČVUT v Praze, byli zařazeni pacienti operovaní pro kataraktu od září roku 2016 do dubna roku 2017. Pacienti byli rozděleni do dvou skupin podle podstoupené techniky operace katarakty. První skupinu tvořili pacienti operovaní manuální fakoemulzifikací, druhou skupinu tvořili pacienti operovaní FLACS. Sledovaní pacienti z obou skupin byli operováni vedoucí této práce Doc. MUDr. Šárkou Pitrovou CSc., FEBO.

7.3.1 Medikace před a po operaci

U obou skupin pacientů bylo použito totožné schéma medikace a aplikovaných látek. Dva dny před podstoupením operace katarakty si pacienti aplikovali do spojivkového vaku 4x denně jednu kapku Maxitrolu, jež je kombinací antibiotik a kortikosteroidů, požívaného pro prevenci infekčního onemocnění, a 4x denně jednu kapku Indocollyru, což je nesteroidní antiflogistikum. V den operace byla po předoperačním vyšetření aplikována kapka 1% léčiva Unitropic, což je mydriaticum (látka způsobující rozšíření zornice).

Při přípravě na operaci byla pro sterilizaci povrchu a okolí oka použita směs 5 % Betadinu a Ringerova roztoku (v poměru 1:9). Následně byl aplikován 10 % Neosynephrine, který byl v případě potřeby doplněn 4 % Homatropinem. Obě léčiva se řadí mezi mydriatika. Jako anestetikum byl použit 2 % Lidocain (min. 3 až 4 kapky).

Po přípravě operačního pole (případně i během zákroku) byla anestezie doplněna očními kapkami Benoxi (0,4 %). Po vytvoření incizí byl do přední komory aplikován VISCOAT, což je nejúčinnější viskochirurgický materiál sloužící k ochraně endotelu rohovky při operaci. Při odstraňování zkalené čočky z oka byla přední komora plněna irigační tekutinou, která byla připravena z 1 litru Ringerova roztoku, do kterého bylo přidáno 40 mg Vancomycinu a 0,8 mg Adrenalinu. Před implantací nitrooční čočky bylo pouzdro čočky vyplněno viskochirurgickým materiálem ProVisc, který vytváří optimální prostor v pouzdře pro implantaci. Jako viskochirurgický materiál byl dále použit 20 % MethylVisc, který se aplikuje pod rohovku a do aplikátoru pro implantaci čočky. V závěru operace bylo po odstranění viskochirurgických materiálů do přední

komory aplikováno 0,1 ml fyziologického roztoku s 0,75 mg Zinacefu nebo Axetinu. Vstupní řezy byly uzavřeny pomocí roztoku stejného složení jako irigační tekutina.

Po ukončení zákroku byly aplikovány 3 kapky 0,5 % Timololu. Jedná se o antiglaukomatikum, látku pro snížení nitroočního tlaku. Dále pak mast Recugel pro zvlhčení povrchu oka a Maxitrol (mast). Oko bylo následně sterilně kryto. Od druhého dne po operaci po kontrolním vyšetření si pacienti dále preventivně aplikují oční kapky Maxitrol, Indocollyre, Hypromelózu (umělé slzy) a Dexamethasone (působí protizánětlivě) dle následujícího schématu:

- | | |
|--------------------------|--|
| 1. a 2. týden po operaci | Maxitrol 4x denně , Indocollyre 4x denně, Hypromelóza 4x denně |
| 3. týden po operaci | Dexamethasone 3x denně , Hypromelóza dle potřeby |
| 4.-6. týden po operaci | Dexamethasone 2x denně , Hypromelóza dle potřeby |

7.3.2 Operace katarakty manuální fakoemulzifikací

U pacientů operovaných touto technikou byl proveden zákrok popsáný v kapitole 3.1.1 za použití standardních nástrojů pro kataraktovou chirurgii, operačního mikroskopu Zeiss OPMI Lumera T a přístroje k fakoemulzifikaci Alcon Constellation Vision System (na obrázku 7.1). Po přípravě operačního pole byly vytvořeny rohovkové incize (jedna primární incize šíře 2,2 mm a dvě paracentézy šíře 1,1 mm). Následně byla provedena cirkulární kapsulorexe a zahájena ultrazvuková fakoemulzifikace čočky technikou *phaco chop*. Obsah čočky byl odstraněn z oka za bimanuální irigace a aspirace. Následně byla implantována nitrooční čočka. Nastavení ultrazvukové fakoemulzifikace bylo dle zvyklostí chirurga (maximální výkon ultrazvuku 70 %, irigace 110 cm H₂O, průtok aspirace 36 ml/min a tlak aspirace 400 mmHg).



Obrázek 7.1: Operační mikroskop Zeiss OPMI Lumera T (vlevo) a přístroj k fakoemulzifikaci Alcon Constellation Vision System (vpravo). Vlastní snímky

7.3.3 Operace katarakty za asistence femtosekundového laseru

Pacienti operovaní FLACS podstoupili laserový výkon uskutečněný pomocí platformy TECHNOLAS Perfect Vision Victus TFW-0301, SW 3.2.2.10 (obrázek 7.2). Platforma využívá diodově buzený pevnolátkový laser emitující záření o vlnové délce 1028 nm, frekvenci pulzů 160 kHz, délce pulzu 290 až 550 fs a energii pulzu 1 až 10 μ J. K dokování je používán jednorázový dvoukusový patient interface s tzv. suction ring clip, který umožňuje spojení hlavy laseru s okem pomocí podtlaku. Dokování je monitorováno tlakovými senzory. K zobrazení přední komory je využito OCT a operačního videomikroskopu. [15]



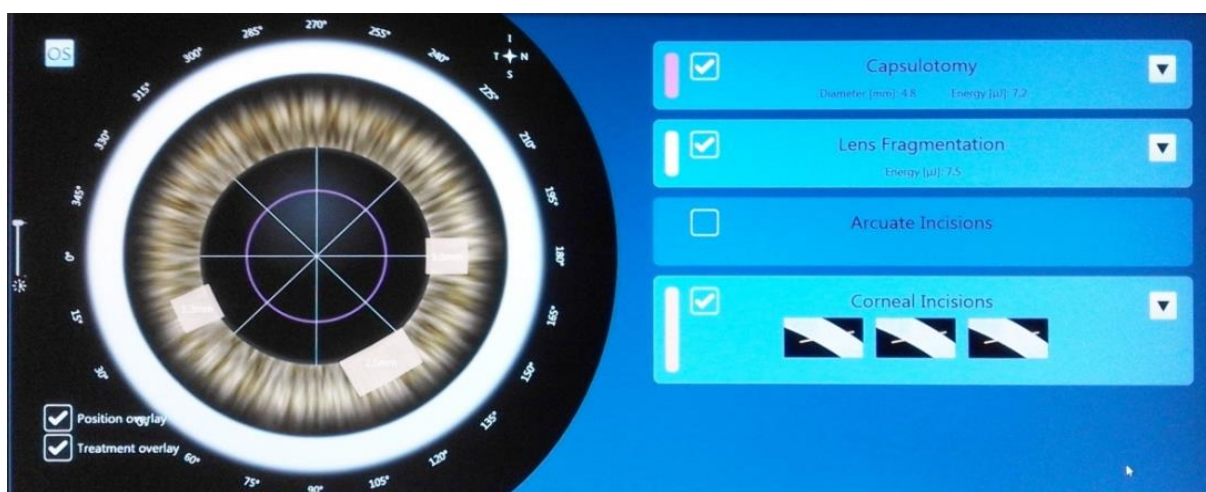
Obrázek 7.2: Platforma TECHNOLAS Perfect Vision Victus TFW-0301, SW 3.2.2.10 [12]

Pomocí femtosekundového laseru byla provedena kapsulotomie, fragmentace jádra čočky, jedna primární incize a dvě paracentézy dle individuálního plánu. Parametry těchto operačních kroků jsou uvedeny v následující tabulce 2. Průměr fragmentace čočky, uvedený v tabulce 2, je pro všechny výkony nastaven na 8 mm, avšak během plánování zákroku je jeho hodnota individuálně nastavena dle velikosti zornice (tak, aby nebyla zasažena duhovka).

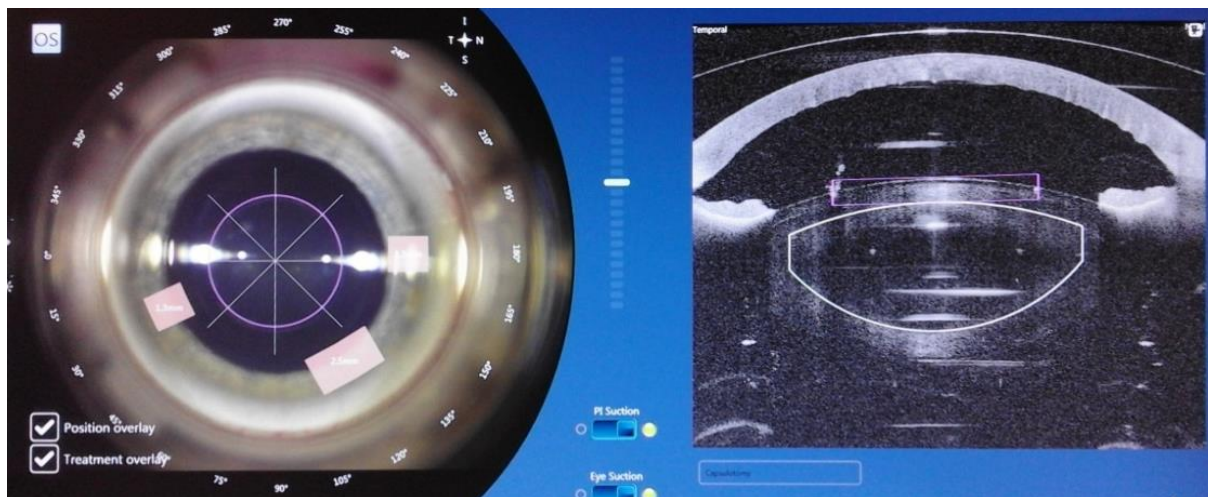
Tabulka 2: Parametry laserového zákroku. Hodnoty line sparing a spot sparing udávají vzdálenost bodů v prostoru vytvářejících řez tkání, tedy vzdálenost bodů v jedné rovině a vzdálenost dvou rovin od sebe

	primární incize (1 řez)	paracentézy (2 řezy)	kapsulotomie	fragmentace čočky (4 řezy)
energie pulzu	1,7 μ J		7,49 μ J	7,8 μ J
line spacing	2,6 μ m		4 μ m	10 μ m
spot spacing	5,0 μ m		6 μ m	10 μ m
rozměr řezu	hloubka 980 μ m		průměr 4,8 mm hloubka 600 μ m	průměr 8 mm
řezu	šíře 2,5 mm	šíře 1,3 mm		
osa řezu	120°	25° a 180°	-	-
sklon řezu	45°		-	-

Byly vytvořeny 4 radiální řezy čočkou dle zvoleného vzoru (tvoří tvar hvězdy), které můžeme vidět na následujících obrázcích 7.3 a 7.4. Dále zde můžeme vidět naznačenou kruhovou kapsulotomii a pozici incizí (světlé obdélníky) ve 25°, 120° a 180° (na obrázku je 0° vlevo a 90° dole, pacient je v horizontální poloze hlavou k operátorovi).



Obrázek 7.3: Záznam obrazovky platformy Victus při plánování laserového zákroku – animace oka a polohy jednotlivých řezů a menu pro nastavení parametrů. Vlastní snímek



Obrázek 7.4: Záznam obrazovky platformy Victus při plánování laserového zákroku – online snímek oka z videomikroskopu s vizualizací jednotlivých řezů a online OCT snímek přední komory se zobrazenou kapsulotomií a hloubkou fragmentace čočky. Vlastní snímek

Po ukončení laserového zákroku byl pacient přesunut na operační sál, kde byla zahájena druhá fáze operace metodou fakoemulzifikace. Po přípravě operačního pole byly pomocí lancety otevřeny laserem vytvořené incize a obsah čočky byl za irigace a aspirace odstraněn z oka. Následně byla implantována nitrooční čočka.

7.3.4 Analýza rohovkového endotelu

Analýza sestávala z předoperačních a pooperačních vyšetření buněk rohovkového endotelu s využitím Konan Specular Microscope X (model NSP-9900), jehož fotografie je na následujícím obrázku 7.5.



Obrázek 7.5: Fotografie endotelového mikroskopu Konan Specular Microscope X NSP-9900.

Předoperační vyšetření bylo provedeno v den zákroku po celkovém vstupním oftalmologickém vyšetření. Pooperační vyšetření bylo provedeno v den operace druhého oka, která se zpravidla uskutečnila s odstupem jednoho až dvou týdnů. U skupiny pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací byl průměrný odstup 1 týdně ($1,33 \pm 0,66$ týdně) a u skupiny operované FLACS byl průměrný odstup 2 týdnů ($1,74 \pm 1,08$ týdně). Analýza buněk rohovkového endotelu byla prováděna identickým způsobem v manuálním režimu endotelového mikroskopu, kdy se provádí ruční označení středů buněk.

Do této části výzkumu bylo zahrnuto celkem 108 pacientů (108 očí). Předoperační vyšetření podstoupilo celkem 190 pacientů. Ze studie rohovkového endotelu však byli vyloučeni pacienti, kteří prodělali onemocnění rohovky. Dále byli vyloučeni pacienti, u nichž bylo první vyšetření rohovkového endotelu provedeno až v den operace druhého oka. U oka operovaného jako první proto nebylo provedeno předoperační vyšetření.

Vyloučeni byli též pacienti, u nichž nebylo možné endotelovým mikroskopem vytvořit dostatečně kontrastní snímek pro provedení analýzy buněk endotelu. Málo kontrastní nebo nekvalitní snímky vznikaly z důvodu nekvalitního slzného filmu při pooperační medikaci.

Jak již bylo zmíněno, všichni pacienti podstoupili operaci katarakty provedenou jedním chirurgem. Daná technika operace byla prováděna vždy identickým způsobem a bylo použito totožné schéma medikace a aplikovaných látek. Pacienti, jež splňovali výše uvedená kritéria pro zařazení do studie, byli rozděleni do dvou skupin podle podstoupené techniky operace katarakty.

Do první skupiny operované manuální fakoemulzifikací bylo zařazeno celkem 55 pacientů, z toho bylo 22 mužů a 33 žen. Věkový průměr skupiny je 70 ± 11 let, nejmladší pacient podstoupil zákrok ve věku 36 let a nejstarší ve věku 90 let. Skupina je dále v grafech označována jako Fakoemulzifikace.

Druhou skupinu operovanou za asistence femtosekundového laseru tvoří 53 pacientů, z toho 30 mužů a 23 žen, průměrného věku 62 ± 7 let. Nejmladšímu pacientovi bylo v době zákroku 40 let a nejstaršímu 73 let. Skupina je dále označována jako FLACS.

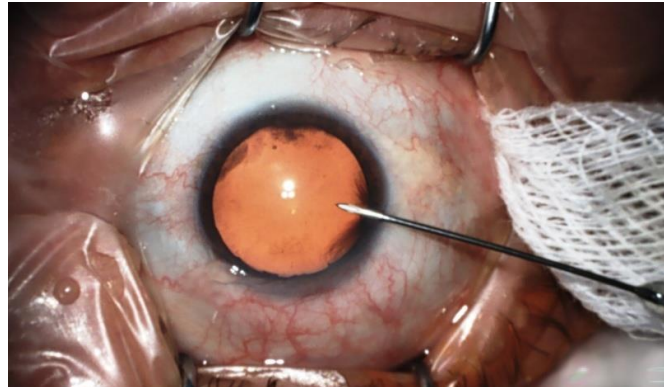
Pro stanovení chyby měření byla provedena série čtrnácti vyšetření rohovkového endotelu jednoho oka. U každého z vyšetření byla provedena analýza v manuálním režimu. Následně byla u čtyř náhodně zvolených vyšetření analýza pětkrát opakována. Získaná data, uvedená v příloze 2, byla statisticky zpracována a byla stanovena chyba měření (tabulka 3), jež byla zahrnuta do hodnocení změny sledovaných parametrů rohovkového endotelu pacientů operovaných pro kataraktu.

Tabulka 3: Chyba měření sledovaných parametrů rohovkového endotelu

	CD	CV	HEX	PACHY
Směrodatná odchylka	59 buněk na mm ²	3 %	5 %	11 μm

7.3.5 Odběr vzorků a měření pH

Odběr malého množství komorové tekutiny o objemu 0,1 až 0,2 ml byl proveden chirurgem u skupiny operované manuální fakoemulzifikací na začátku zákroku, před tvorbou incízi, a u skupiny operované FLACS po ukončení laserového zákroku, před vstupem do přední komory. Odběr komorové tekutiny je na následujícím obrázku 7.6.



Obrázek 7.6: Odběr vzorku komorové tekutiny pomocí injekční jehly. [12]

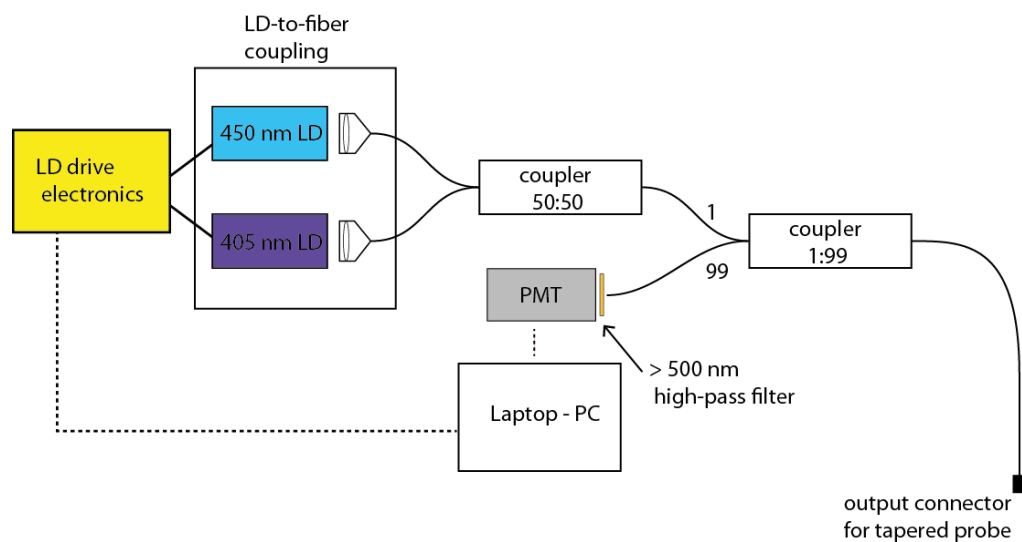
Ihned po odběru byly vzorky analyzovány pomocí funkčního vzorku vláknově-optického pH metru (Safibra, s.r.o.) vyvinutého Ústavem fotoniky a elektroniky, AV ČR v rámci projektu TA ČR: TA04011400. Na obrázku 7.7 je fotografie tohoto zařízení. Před každým měřením vzorků byla provedena kalibrace pomocí pufrů známé hodnoty pH, které byly připraveny dle Brittona a Robinsona [50].



Obrázek 7.7: Pohled na čelní panel funkčního vzorku optického pH metru (1-optický konektor pro připojení vláknové sondy, 2-micro-USB konektor pro připojení k PC, 3-napájecí konektor).

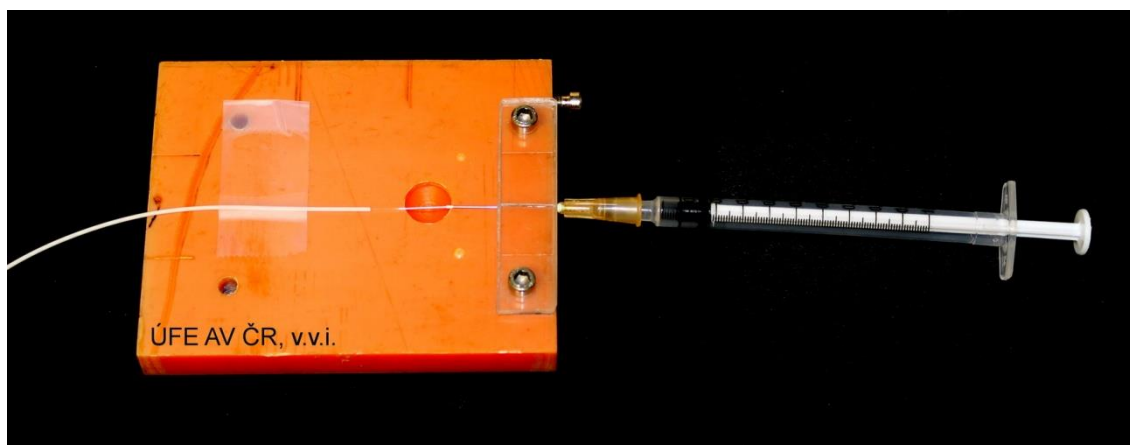
Princip měření pH je založen na změně optických vlastností iontového páru HPTS (trisodné soli 8-hydroxypyren-1,3,6-trisulfonové kyseliny) a CTAB (hexadecyltrimethylamonium bromidu), který je imobilizován v křemičité matrici na špičku zúženého optického vlákna (o průměru přibližně 20 μm). Pro měření byly použity sondy připravené metodou sol-gel dle postupu publikovaného ve studii. [45]

Jako zdroj excitačního záření jsou použity dvě laserové diody (405 nm a 450 nm) a fotonásobič jako detektor. Excitační záření z laserových diod je navázáno do optického vlákna a vedeno k optickému vláknovému senzoru. Emitované záření fluorescenčního barviva je vedeno vláknem zpět a děličem svazku do detektoru. Schéma uspořádání přístroje je na obrázku 7.8. Diody jsou střídavě po jedné sekundě spínány, přičemž je měřena intenzita emise pro každou excitační vlnovou délku zvlášť. Hodnota pH je úměrná poměru R těchto dvou intenzit v rozsahu od 5 do 7,5 a je měřena s přesností řádově jednotek procent. [37, 45]



Obrázek 7.8: Schéma přístroje pro měření pH, převzato z [37]

Špička zúženého optického vlákna se senzorem byla umístěna do injekční jehly, na kterou byly nasazovány injekční stříkačky s odebraným vzorkem. Bylo tím zamezeno kontaktu vzorku se vzduchem, a tím jeho kontaminaci oxidem uhličitým, který při tak malém objemu může ovlivnit pH roztoku. Fotografie aparatury je na následujícím obrázku 7.9.



Obrázek 7.9: Fotografie cely použité k měření pH komorové tekutiny

Pacienti byli jako v první části výzkumu rozděleni do dvou skupin podle podstoupené techniky operace katarakty. Byly uskutečněny dvě série měření, přičemž první série se účastnilo celkem 50 pacientů (56 očí). V první skupině operované manuální technikou bylo 23 pacientů (11 mužů a 12 žen) průměrného věku 74 ± 9 let (v rozmezí 54 až 90 let). Celkem bylo do této skupiny zahrnuto 28 očí, pět pacientů podstoupilo ve sledovaném období operaci obou očí. Druhou skupinu operovanou FLACS tvořilo 27 pacientů (18 mužů a 9 žen), průměrného věku 61 ± 6 let (v rozmezí 47 až 73 let). Do této skupiny bylo celkem zahrnuto 28 očí, jeden pacient podstoupil operaci obou očí ve sledovaném období. Prodleva mezi laserovým výkonem a odběrem vzorku byla maximálně 30 minut.

Do druhé série měření pH byli zahrnuti již jen pacienti operovaní FLACS. Bylo měřeno pH komorové tekutiny 15 pacientů (9 mužů a 6 žen) průměrného věku 60 ± 9 let (v rozmezí 40 až 73 let). Celkem bylo do této skupiny zahrnuto 18 očí, 3 pacienti podstoupili operaci obou očí. Pro tuto sérii měření byla snaha minimalizovat prodlevu mezi laserovým výkonem a odběrem vzorku. Prodleva činila průměrně 3 minuty, přičemž z toho průměrně 1,5 minuty trvá samotný laserový výkon.

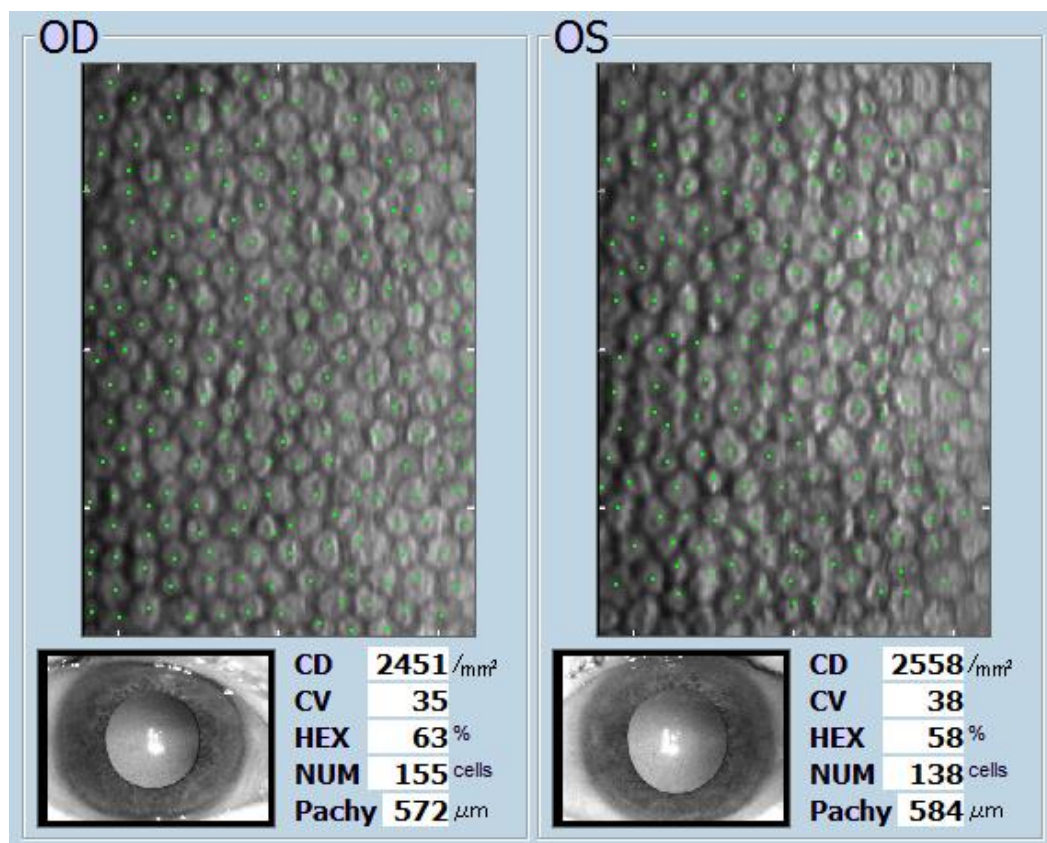
Ze studie byli vyloučeni pacienti se současně probíhající medikamentózní léčbou (např. zeleného zákalu), aby byl vyloučen případný vliv léčby na hodnotu pH komorové tekutiny.

7.4 Výsledky

7.4.1 Analýza rohovkového endotelu

Pro hodnocení výsledků analýzy rohovkového endotelu a testování stanovených hypotéz jsou porovnávány výsledky předoperačního a pooperačního vyšetření očí operovaných manuální fakoemulzifikací a FLACS. Z každého vyšetření jsme obdrželi výstup, jehož příklad je uveden na obrázku 7.10. V rámci statistického zpracování dat je u každého ze sledovaných očí hodnocena procentuální změna centrální hustoty rohovkového endotelu (CD), udávající úbytek počtu buněk na mm^2 . Dále je stanovena změna procenta hexagonálních buněk (HEX) a koeficientu variace plochy buněk (CV). Hodnocena je dále procentuální změna centrální tloušťky rohovky (PACHY). Vzhledem odlišnému počtu pacientů ve sledovaných skupinách je porovnávána relativní četnost sledovaných hodnot.

V příloze 1 je uvedena ukázka předoperačního a pooperačního vyšetření 4 pacientů. Všechny naměřené hodnoty sledovaných parametrů rohovkového endotelu jsou uvedeny v dokumentu Příloha_01_02_Tabulky_naměřených_hodnot v příloze 3.



Obrázek 7.10: Výstup z vyšetření rohovkového endotelu. Hodnota NUM udává počet buněk zahrnutých do analytického zpracování ostatních parametrů rohovkového endotelu. Vlastní snímek

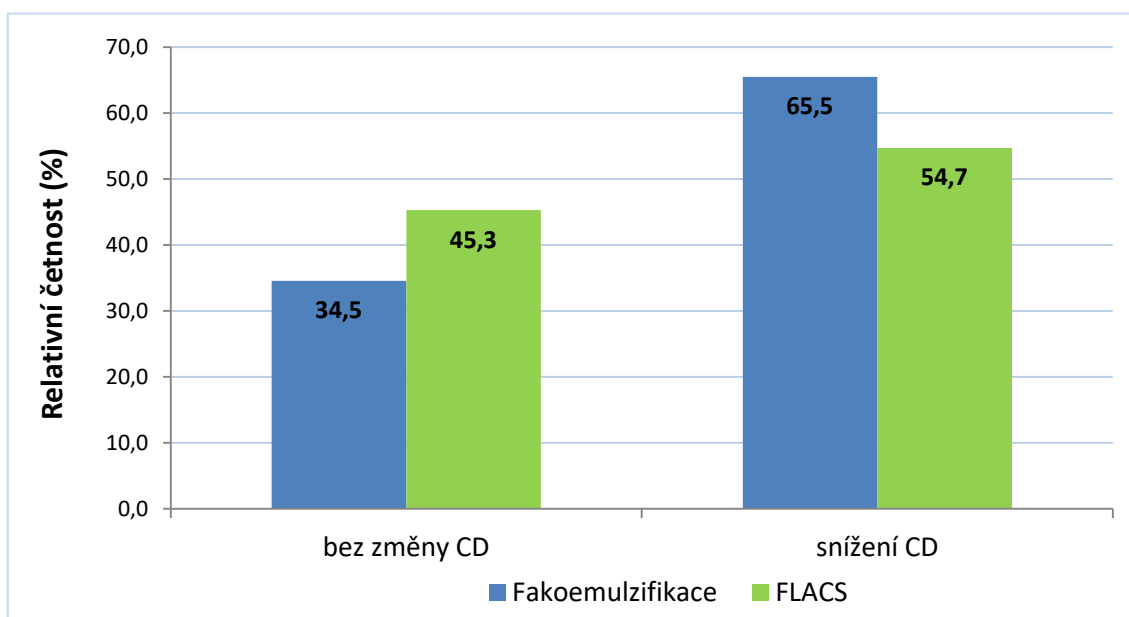
Změna centrální hustoty rohovkového endotelu

Prvním hodnoceným parametrem je hustota rohovkového endotelu. Její změna, respektive snížení, bylo stanoveno z rozdílu předoperační a pooperační hodnoty CD. U obou skupin pacientů byl na základě Dvouvýběrového párového t-testu na střední hodnotu pooperačně zaznamenán statisticky významný průměrný pokles hustoty rohovkového endotelu (na hladině významnosti 0,05).

Průměrná předoperační hodnota hustoty rohovkového endotelu byla u pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací 2659 ± 260 buněk na mm^2 a pooperační 2487 ± 391 buněk na mm^2 . Průměrný (absolutní) pokles CD byl u této skupiny 179 buněk na mm^2 . U pacientů operovaných FLACS byla průměrná předoperační hodnota CD 2563 ± 333 buněk na mm^2 a pooperační 2376 ± 406 buněk na mm^2 . Průměrný (absolutní) pokles CD byl u této skupiny 187 buněk na mm^2 .

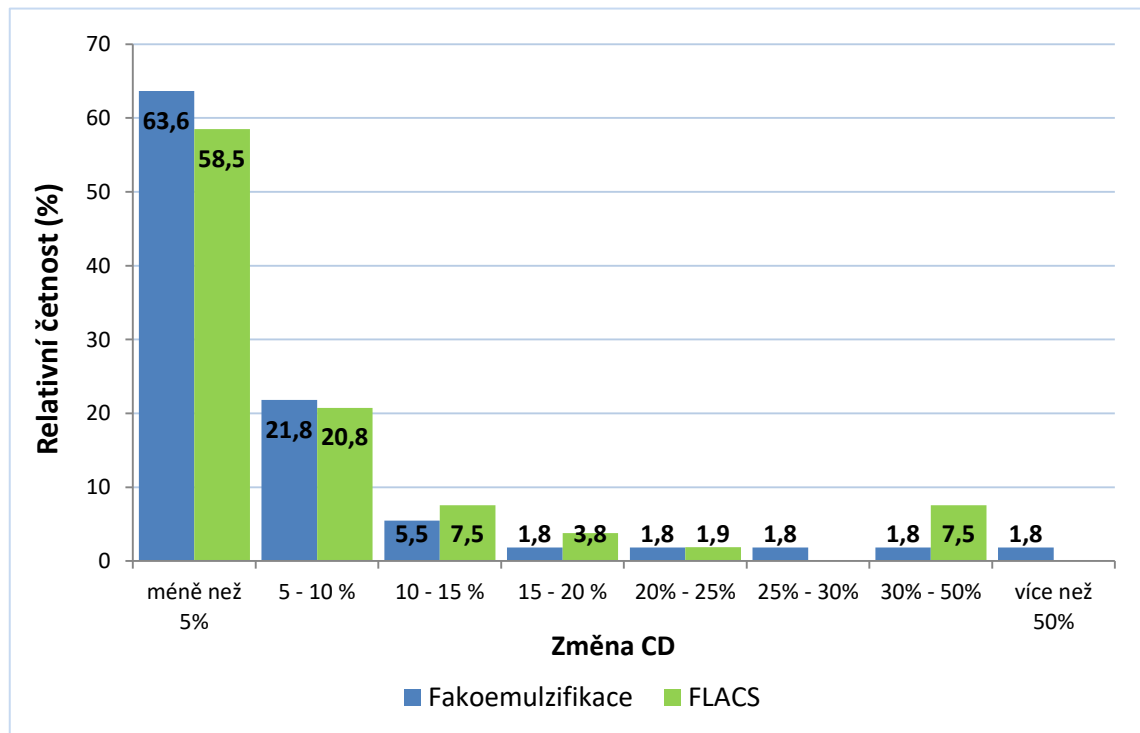
Z rozdílu předoperační a pooperační hodnoty CD byla dále vypočtena procentuální změna CD, jejíž relativní četnost je uvedena v grafu 2. Průměrný procentuální pokles hustoty rohovkového endotelu u pacientů operovaných manuální technikou bylo 6,5 %. U pacientů operovaných FLACS byl průměrný procentuální pokles hustoty rohovkového endotelu 7,3 %. V literatuře je nejednotnost ve způsobu udávání výsledků změny CD, proto jsou zde uvedeny absolutní i procentuální hodnoty.

Relativní četnost změny CD pro obě skupiny pacientů je uvedena v následujícím grafu 1. Po zohlednění chyby měření, která byla stanovena na ± 59 buněk na mm^2 , bylo snížení CD zaznamenáno u 65,5 % pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací a u 54,7 % pacientů operovaných FLACS.



Graf 1: Relativní četnost změny hustoty rohovkového endotelu CD

U skupiny operované manuální fakoemulzifikací nebyla zaznamenána žádná změna CD nebo snížení CD o méně než 5 % celkem u 63,6 % pacientů. Podobný výsledek byl zaznamenán i u skupiny operované FLACS, kde žádná změna CD nebo snížení CD o méně než 5 % bylo celkem u 58,5 % pacientů.



Graf 2: Rozložení relativní četnosti procentuální změny CD

Výsledky hodnocení změny hustoty rohovkového endotelu obou skupin byly podrobeny Dvouvýběrovému t-testu s rovností rozptylů (zvoleného na základě výsledku Dvouvýběrového F-testu na rozptyl) na hladině významnosti 0,05. Pro absolutní změnu hustoty rohovkového endotelu byla p-hodnota (p-value) rovna 0,39; pro procentuální změnu hustoty rohovkového endotelu byla p-hodnota rovna 0,35. Na základě těchto hodnot můžeme říci, že změna hustoty rohovkového endotelu byla u obou skupin pacientů po podstoupení manuální fakoemulzifikace a FLACS srovnatelná.

Pokles hustoty rohovkového endotelu o více než 10 % byl zjištěn pouze u 8 pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací, z toho u 4 osob došlo k poklesu o více než 20 %. U skupiny operované FLACS došlo k poklesu o více než 10 % celkem u 11 pacientů, z toho 5 pacientů mělo pooperační pokles hustoty endotelu vyšší než 20 %. Konkrétní předoperační a pooperační hodnoty a procentuální pokles CD těchto pacientů je uvedeno v následující tabulce 4.

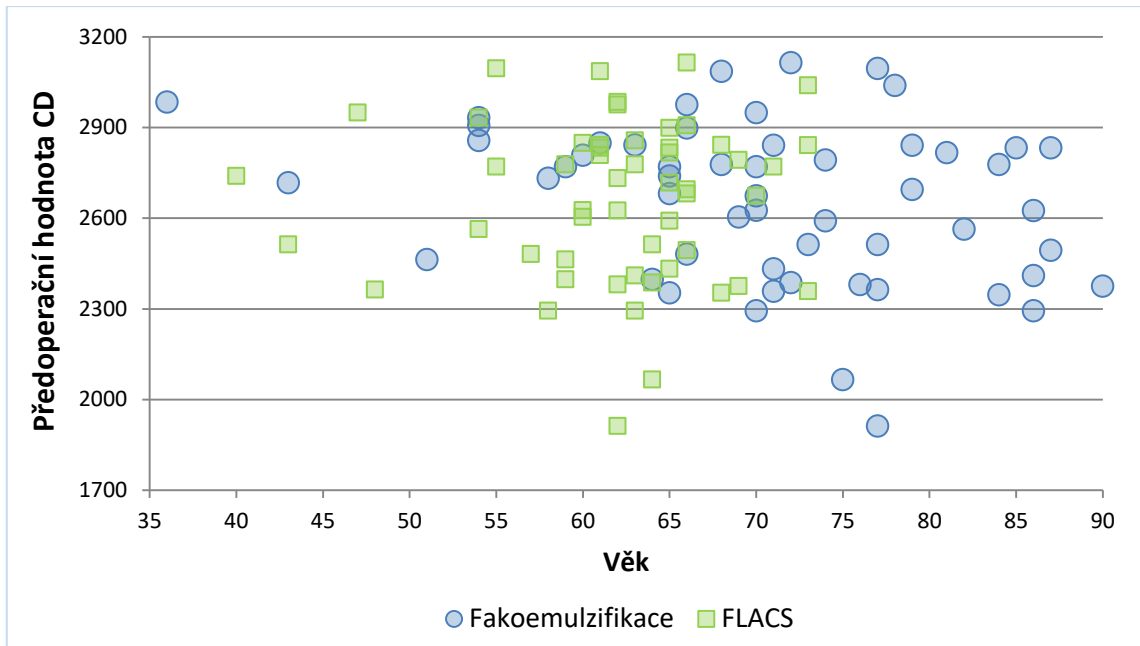
Tabulka 4: Hodnoty CD, jejichž pooperační snížení bylo o více než 20 %.

FAKOEMULZIFIKACE					
Iniciály	pohlaví	věk	předoper. CD	pooper. CD	snížení CD
JS	Ž	73	2513	1887	24,9 %
JS	M	71	2358	1764	25,2 %
JK	M	54	2901	1781	38,7 %
JB	M	61	2849	909	68,1 %

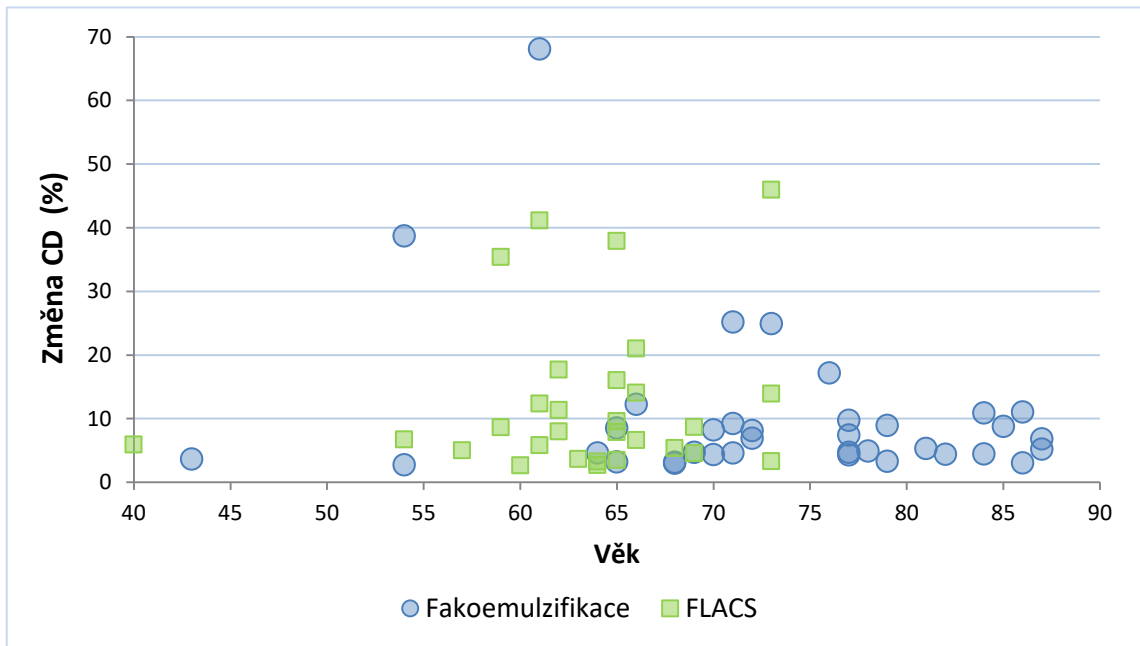
FLACS					
Iniciály	pohlaví	věk	předoper. CD	pooper. CD	snížení CD
MS	Ž	66	3058	2415	21,0 %
VN	Ž	59	2404	1553	35,4 %
PB	M	75	2611	1621	37,9 %
NN	M	61	2008	1182	41,1 %
IS	M	73	2890	1562	46,0 %

U pacienta JB*, u něhož došlo k pooperačnímu poklesu CD o 68,1 %, se vyskytla pooperační komplikace, konkrétně edém rohovky, který byl diagnostikován při pooperační oftalmologické kontrole. U žádného ze sledovaných pacientů nebylo pooperačně zjištěno snížení CD na hodnotu, která se uvádí jako kritická pro zajištění dostatečné funkce rohovkového endotelu, tedy 500 buněk na mm².

Byla zjišťována závislost předoperační hodnoty CD na věku pacienta (graf 3), avšak nebyla nalezena. U pacientů, u nichž bylo zaznamenáno snížení hustoty endotelu, byla dále sledována závislost procentuální změny hustoty endotelu na věku, avšak tato závislost též nebyla nalezena, jak vyplývá z následujícího grafu 4. Z grafů 3 a 4 je patrné, že FLACS podstoupili pacienti mladšího věku.



Graf 3: Závislost předoperační hodnoty CD na věku pacienta



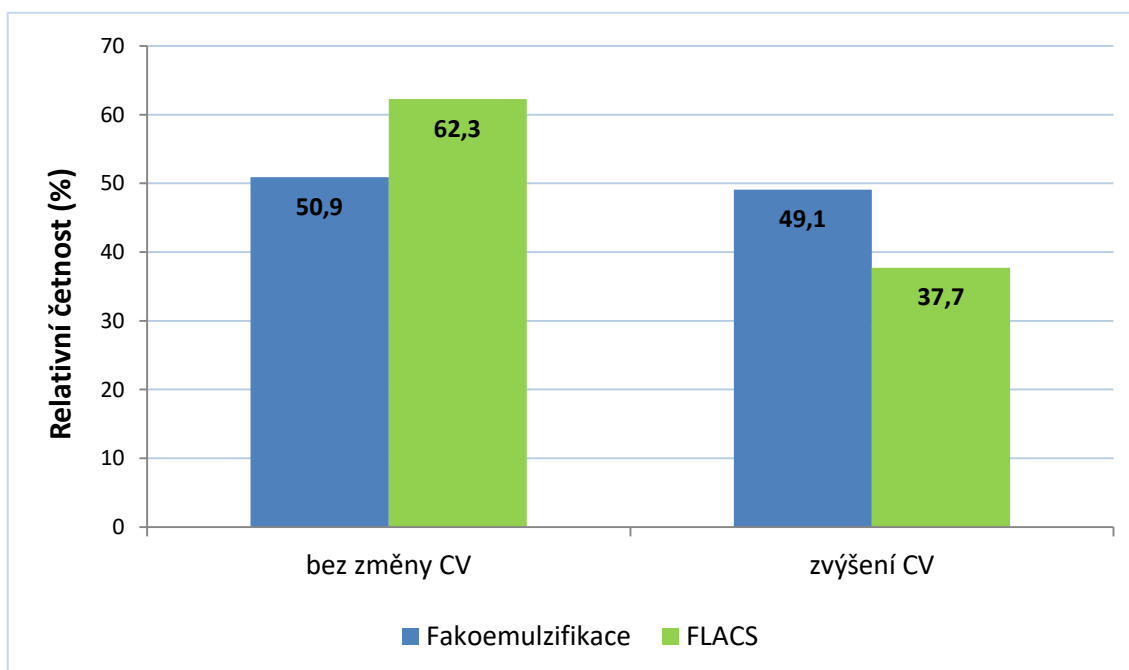
Graf 4: Závislost procentuální změny CD na věku pacienta. V grafu je též viditelné, že FLACS podstoupili pacienti nižšího věku.

Změna koeficientu variace plochy buněk rohovkového endotelu

Dalším hodnoceným parametrem byl koeficient variace (CV) plochy buněk rohovkového endotelu. Jedná se o hodnotu relativní (vyplývá to ze vztahu 5 v kapitole 6) udávanou v procentech, proto byla změna CV stanovena jako rozdíl pooperační a předoperační hodnoty (jednotkou zůstávají procenta). U obou skupin pacientů bylo pooperačně na základě Dvouvýběrového párového t-testu na střední hodnotu zaznamenáno statisticky významné zvýšení CV (na hladině významnosti 0,05).

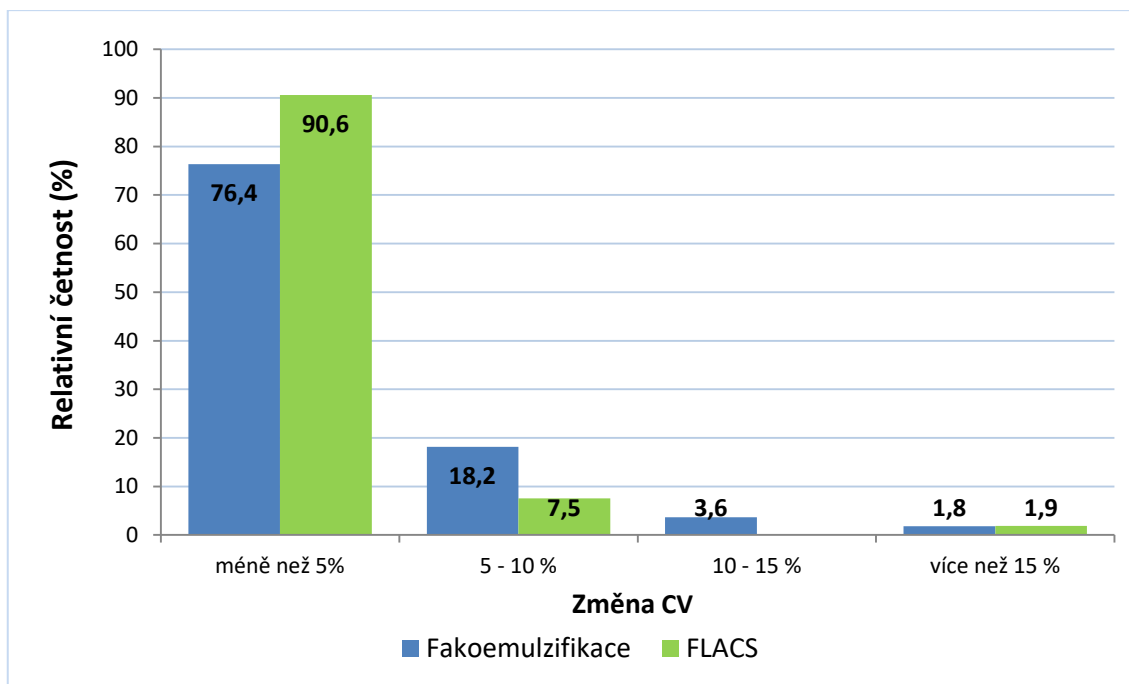
Průměrná předoperační hodnota CV byla u pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací $32 \% \pm 4 \%$ a pooperační $35 \% \pm 5 \%$. Průměrné zvýšení CV bylo u této skupiny 3 %. U pacientů operovaných FLACS byla průměrná předoperační hodnota CV $34 \% \pm 6 \%$ a pooperační $36 \% \pm 6 \%$. Průměrné zvýšení CV byl u této skupiny 2 %.

Chyba měření byla zohledněna při hodnocení změny CV, jejíž relativní četnost pro obě skupiny pacientů je uvedena v grafech 5 a 6. Zvýšení CV bylo zaznamenáno u 49,1 % pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací a u 37,7 % pacientů operovaných FLACS.



Graf 5: Relativní četnost změny CV.

Celkem u 76,4 % pacientů ze skupiny Fakoemulzifikace nebylo zaznamenáno zvýšení CV žádné nebo o více než 5 %. U pacientů, kteří podstoupili FLACS tomu tak bylo u 90,6 % osob.



Graf 6: Rozložení relativní četnosti procentuální změny CV

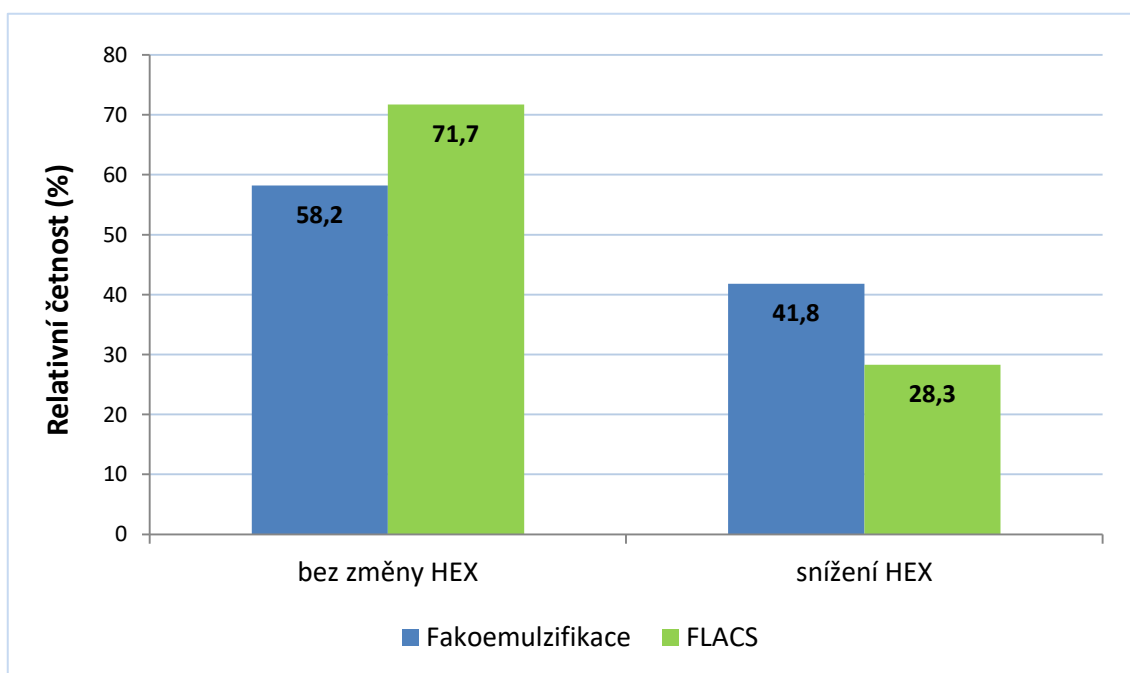
Výsledky změny CV obou skupin byly analyzovány Dvouvýběrovým t-testem s rovností rozptylů (zvoleného na základě výsledku Dvouvýběrového F-testu na rozptyl) na hladině významnosti 0,05. P-hodnota byla stanovena na 0,035, z čehož vyplývá, že zvýšení CV je vyšší u skupiny operované manuální fakoemulzifikací oproti skupině operované FLACS.

Změna procenta hexagonálních buněk

Změna tohoto parametru byla stanovena jako rozdíl předoperační a pooperační hodnoty HEX. I zde byl proveden Dvouvýběrový párový t-test na střední hodnotu, z něhož vyplývá, že u obou skupin pacientů došlo pooperačně k průměrnému snížení HEX (na hladině významnosti 0,05).

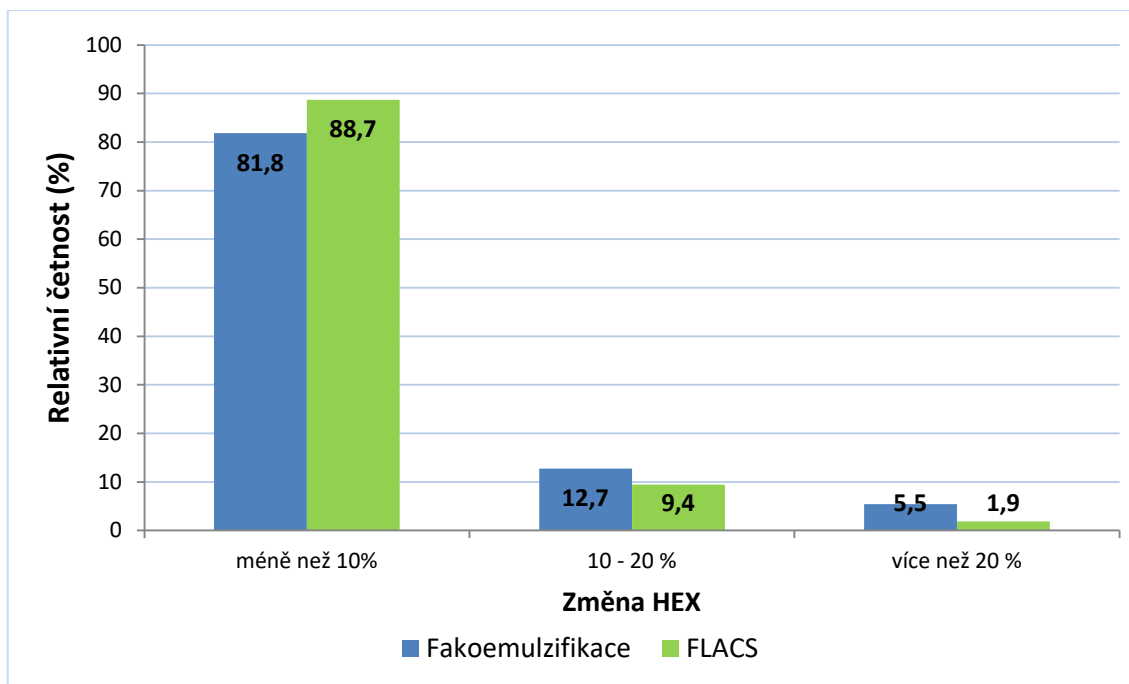
Průměrná předoperační hodnota HEX byla u pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací $56 \% \pm 9 \%$ a pooperační $51 \% \pm 10 \%$. Průměrné snížení HEX bylo u této skupiny 5 %. U pacientů operovaných FLACS byla průměrná předoperační hodnota HEX $56 \% \pm 9 \%$ a pooperační $52 \% \pm 9 \%$. Průměrné snížení HEX bylo u této skupiny 3 %.

Chyba měření byla zohledněna při stanovení změny HEX, jejíž relativní četnost pro obě skupiny pacientů je uvedena v grafu 7 a 8. Ke snížení hodnoty HEX došlo u 41,8 % pacientů ze skupiny Fakoemulzifikace a u 28,3 % ze skupiny FLACS.



Graf 7: Relativní četnost změny HEX.

Snížení HEX menší než o 10 % nebo žádné bylo zaznamenáno celkem u 81,8 % pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací a u 88,7 % pacientů, kteří podstoupili FLACS.



Graf 8: Rozložení relativní četnosti procentuální změny HEX.

Výsledky hodnocení změny HEX obou skupin byly podrobeny Dvouvýběrovému t-testu s rovností rozptylů (zvoleného na základě výsledku Dvouvýběrového F-testu na rozptyl) na hladině významnosti 0,05. Pro změnu HEX byla p-hodnota rovna 0,088. Na základě těchto hodnot můžeme říci, že změna HEX byla u obou skupin pacientů po podstoupení manuální fakoemulzifikace a FLACS srovnatelná, avšak p-hodnota se blíží ke zvolené hladině významnosti testu.

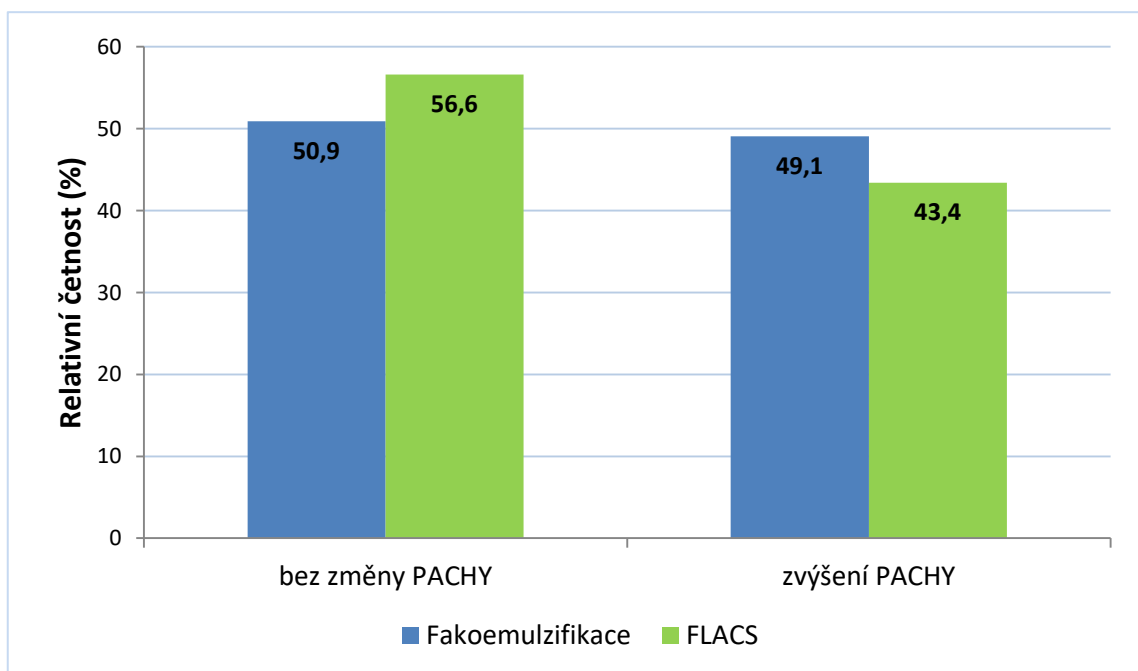
Změna centrální tloušťky rohovky

Poslední sledovanou hodnotou v analýze rohovkového endotelu byla tloušťka rohovky na výstupu z vyšetření označovaná PACHY. U obou skupin pacientů bylo pooperačně na základě Dvouvýběrového párového t-testu na střední hodnotu zaznamenáno statisticky významné zvýšení PACHY (na hladině významnosti 0,05).

Průměrná předoperační hodnota PACHY byla u pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací $563 \mu\text{m} \pm 45 \mu\text{m}$ a pooperační $577 \mu\text{m} \pm 44 \mu\text{m}$. Průměrné (absolutní) zvýšení PACHY bylo u této skupiny $14 \mu\text{m}$. U pacientů operovaných FLACS byla průměrná předoperační hodnota PACHY $572 \mu\text{m} \pm 37 \mu\text{m}$ a pooperační $590 \mu\text{m} \pm 41 \mu\text{m}$. Průměrné (absolutní) zvýšení PACHY byl u této skupiny $18 \mu\text{m}$.

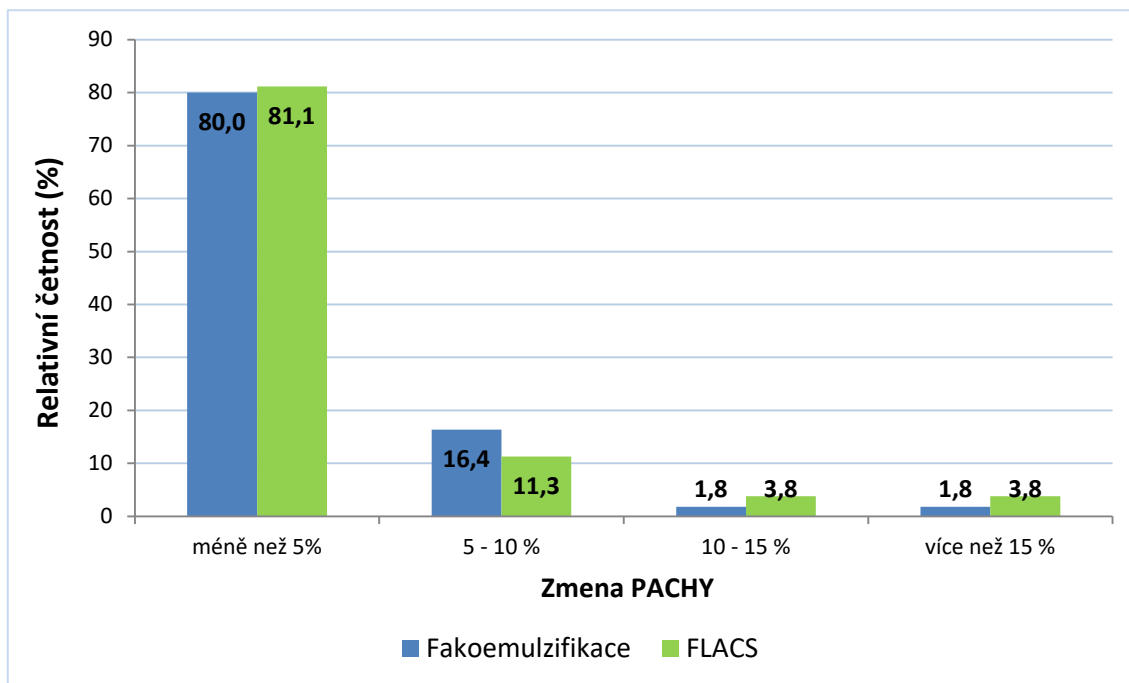
Z rozdílu předoperační a pooperační hodnoty PACHY byla dále vypočtena procentuální změna PACHY, jejíž relativní četnost je uvedena v grafech 9 a 10. Průměrné procentuální zvýšení u pacientů operovaných manuální technikou bylo 2,5 %. U pacientů operovaných FLACS bylo průměrné procentuální zvýšení PACHY 3,1 %. Pro úplnost jsou zde uvedeny absolutní i procentuální hodnoty.

Po zohlednění chyby měření bylo zvýšení PACHY zaznamenáno u 49,1 % pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací a u 43,4 % pacientů operovaných FLACS.



Graf 9: Relativní četnost změny PACHY

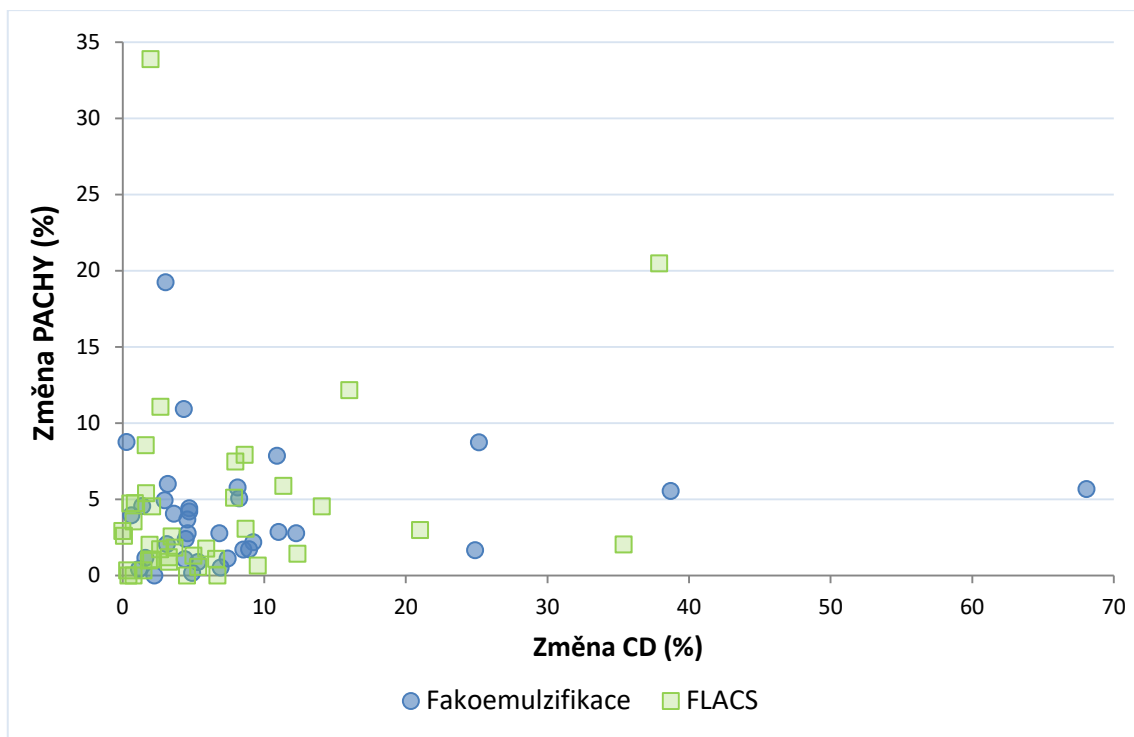
Celkem u 80 % pacientů ze skupiny Fakoemulzifikace nebylo zaznamenáno zvýšení PACHY žádné nebo o více než 5 %. U pacientů, kteří podstoupili FLACS tomu tak bylo u 81,1 % osob.



Graf 10: Rozložení relativní četnosti procentuální změny PACHY

Na základě Dvouvýběrového t-testu s nerovností rozptylů (zvoleného na základě výsledku Dvouvýběrového F-testu na rozptyl) na hladině významnosti 0,05 byla pro změnu PACHY zjištěna p-hodnota rovna 0,23; pro procentuální změnu PACHY byla p-hodnota rovna 0,26. Na základě těchto hodnot můžeme říci, že změna PACHY byla u obou skupin pacientů, respektive po podstoupení manuální fakoemulzifikace a FLACS, srovnatelná.

Dále byla hodnocena procentuální změna PACHY v závislosti na procentuální změně CD, jež je pro obě skupiny pacientů uvedena v následujícím grafu 11. Z grafu je patrné, že změna PACHY není závislá na změně CD.



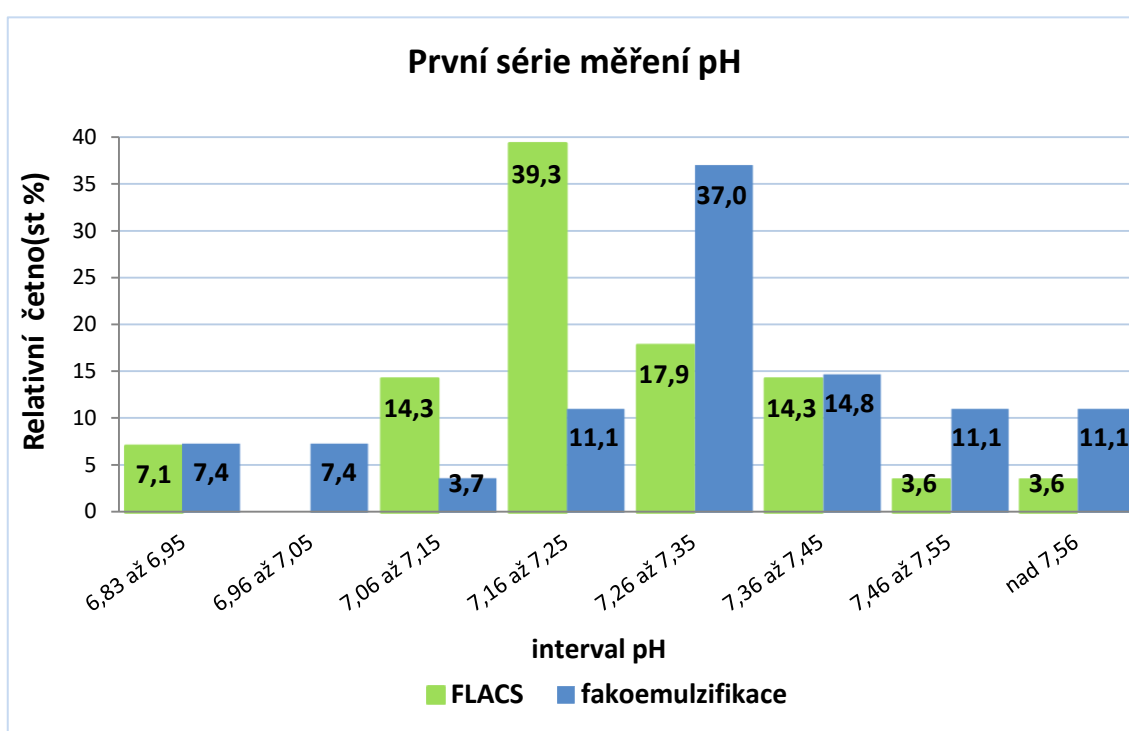
Graf 11: Závislost procentuální změna PACHY na procentuální změně CD.

7.4.2 Měření pH nitrooční tekutiny

Soubor odebraných vzorků komorové tekutiny z obou sérií měření byl podroben výše popsané analýze a výsledky byly statisticky zpracovány. Výsledky jsou uvedeny v následujících grafech 12 a 13 jako rozložení četností pro zvolené intervaly hodnot pH.

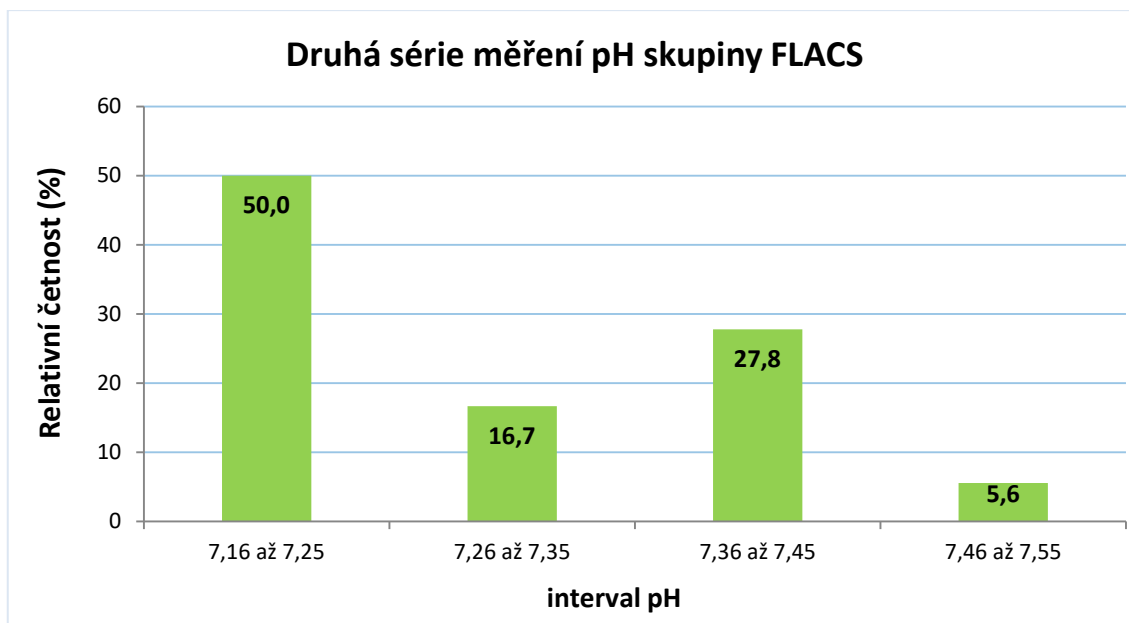
Naměřené hodnoty poměru intenzit R vzorků a kalibračních pufrů a vypočtené hodnoty pH všech vzorků komorové tekutiny jsou uvedeny v dokumentu Příloha_01_02_Tabulky_naměřených_hodnot v příloze 3.

Jsou zde uvedeny i směrodatné odchylky jednotlivých měření, které byly způsobeny nestabilitou zdroje excitačního záření. [45]



Graf 12: Rozložení relativních četností pH vzorků první série měření

U pacientů operovaných technikou FLACS jsme v první sérii naměřili průměrnou hodnotu pH komorové tekutiny $7,24 \pm 0,17$ (rozmezí od 6,83 do 7,63). Medián souboru hodnot pH je 7,22. V druhé skupině pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací jsme naměřili průměrné pH komorové tekutiny $7,31 \pm 0,20$ (rozmezí hodnot od 6,83 do 7,60). U této skupiny byl medián souboru hodnot pH 7,33. Z dvouvýběrového t-testu s rovností rozptylů (zvolného na základě výsledku Dvouvýběrového F-testu na rozptyl) vyplývá na hladině významnosti 0,05, že rozdíl naměřených hodnot pH u skupiny pacientů operovaných FLACS a skupiny pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací není statisticky významný (p-hodnota je rovna 0,20).

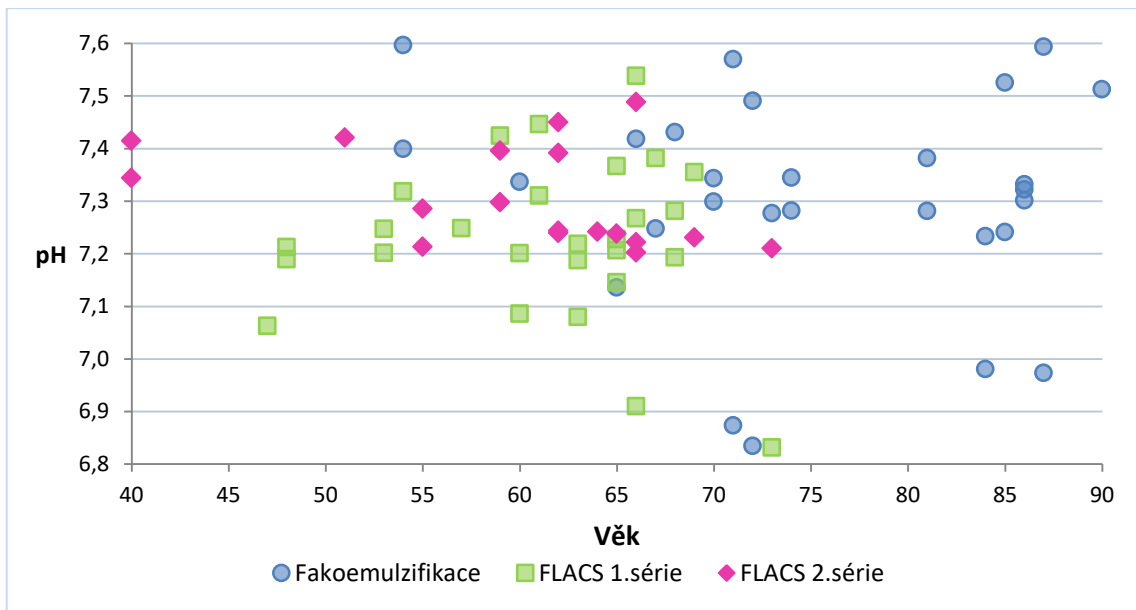


Graf 13: Rozložení relativních četností pH vzorků druhé série měření.

V druhé sérii jsme prováděli měření pH komorové tekutiny jen pacientů operovaných FLACS. Průměrná hodnota pH komorové tekutiny je $7,31 \pm 0,09$ (rozmezí od 7,20 do 7,49). Medián souboru hodnot pH je 7,26.

Výsledky pH obou sérií měření byly podrobeny Dvouvýběrovému t-testu s nerovností rozptylů (zvoleného na základě výsledku Dvouvýběrového F-testu na rozptyl) na hladině významnosti 0,05. Byla zjištěna p-hodnota rovna 0,97 při srovnání skupiny operované manuální fakoemulzifikací a skupiny operované FLACS z 2. série. Při porovnání obou skupin FLACS byla zjištěna p-hodnota rovna 0,1. Ze zjištěných hodnot vyplývá, že výsledky měření pH v obou sériích měření jsou srovnatelné a u skupiny FLACS nejsou závislé na časové prodlevě mezi laserovým výkonem a odběrem vzorku.

Dále byla hodnocena závislost procentuální změny hustoty rohovkového endotelu CD na naměřené hodnotě pH komorové tekutiny, jež je uvedena v následujícím grafu 13. Procentuální změna CD a současně pH komorové tekutiny byly k dispozici celkem u 6 pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací, u 10 pacientů 1. série měření FLACS a u 10 pacientů 2. série měření FLACS. Z grafu je patrné, že nebyla prokázána závislost snížení CD na hodnotě pH.



Graf 15: Závislost pH na věku pacienta

7.5 Diskuse

Byl proveden výzkum vlivu operace katarakty za asistence femtosekundového laseru na tkáň přední komory v porovnání s technikou manuální fakoemulzifikace, což bylo hlavním cílem této práce. Výzkum se skládal z analýzy buněk rohovkového endotelu a z měření pH komorové tekutiny.

Při analýze rohovkového endotelu byla sledována pooperační změna parametrů buněk endotelu a změna tloušťky rohovky. Prvním hodnoceným parametrem byla centrální hustota endotelu (CD). U obou skupin jsme zaznamenali pooperační pokles CD. U skupiny pacientů operovaných FLACS k poklesu došlo v menším procentu případů (54,7 %) než u pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací (65,5 %). Avšak průměrný pokles CD bylo u skupiny FLACS vyšší (o 7,3 % v porovnání s 6,5 % u manuální fakoemulzifikace). Tento rozdíl je však statisticky nevýznamný, na základě čehož lze konstatovat, že obě prováděné techniky mají stejný vliv na pooperační hustotu rohovkového endotelu. Hypotéza předpokládající nižší pokles CD u pacientů, kteří podstoupili FLACS, tak nebyla potvrzena.

Srovnání výsledků změny CD naší studie s výsledky dalších autorů je obtížné vzhledem k odlišným způsobům analýzy, laserovým platformám, vzorům fragmentace jádra čočky a dalším parametrům provedení operací, které se částečně odvíjí od zvyklostí chirurga. Např. ve studii [21] byl také zaznamenán statisticky nevýznamný rozdíl v poklesu CD v porovnání FLACS (9,1 %) a manuální fakoemulzifikace (8,2 %). Průměrný pokles CD zaznamenali u obou skupin vyšší, což může být způsobeno odlišnou technikou ultrazvukové fakoemulzifikace, kterou zde byla technika *Stop and chop*. Pooperační pokles CD nebyl zjištěn rozdílný ani ve studii [30].

Námi zjištěný průměrný pokles CD endotelu je též nižší oproti výsledkům ze studie [27], kde u skupiny operované manuální fakoemulzifikací zjistili pokles o 9,2 %. U skupiny operované FLACS zaznamenali naopak nižší pokles CD (o 5,9 %). Tento rozdíl je způsoben tím, že při laserovém zákroku byl v naší studii použit odlišný vzor fragmentace jádra čočky, konkrétně radiální fragmentace na osm dílů. Ve studii [27] byl použit vzor mřížkový (ve studiích [21] a [30] vzor fragmentace neuvádějí). Jemnější vzor fragmentace čočky prodlužuje laserový zákrok, avšak snižuje dobu a energii následné ultrazvukové fragmentace, čímž se snižuje vliv na rohovkový endotel.

Zaznamenali jsme průměrně nižší pokles CD v případě obou skupin oproti výsledkům studie [22]. Nepředpokládáme progresivní snížení CD s odstupem času po operaci, což bylo prokázáno ve studiích [21] a [22] při vyšetření po 3 měsících. Proto můžeme vyloučit vliv časového rozmezí mezi operací a pooperačním vyšetřením.

Dalším sledovaným parametrem rohovkového endotelu byl koeficient variace plochy buněk. Dle předpokladu došlo s poklesem CD k pooperačnímu zvýšení CV, které bylo vyšší u pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací. Avšak průměrná změna byla

u obou skupin pacientů velmi nízká a ve většině případů nedošlo ke zvýšení o více než 5 %.

Dle předpokladu jsme zaznamenali snížení procenta hexagonálních buněk u obou sledovaných skupin, jež také souvisí se snížením CD. U obou skupin však bylo snížení HEX statisticky shodné. Pooperační změnu HEX sledovali též ve studii [21]. Zjistili u obou skupin pacientů totožné snížení HEX, tři dny po operaci zaznamenali snížení o 6 %, což je hodnota shodná s naším výsledkem skupiny operované manuální fakoemulzifikací. U pacientů, kteří podstoupili FLACS, jsme oproti této studii zaznamenali nižší snížení HEX, konkrétně o 4,3 %.

Posledním hodnoceným parametrem při analýze rohovkového endotelu byla změna pooperační tloušťky rohovky. U obou skupin jsme dle předpokladu zaznamenali vyšší PACHY při pooperační kontrole. U skupiny operované manuální fakoemulzifikací jsme zaznamenali nižší nárůst PACHY (o 2,9 %) oproti skupině operované FLACS (zvýšení o 3,4 %). Tento trend je souhlasný se změnou CD, avšak rozdíl obou skupin je též statisticky nevýznamný. Nebyla nalezena souvislost mezi pooperačním snížením CD a zvýšením PACHY, jak je patrné z grafu 10. Změna tloušťky rohovky je připisována traumatizaci buněk rohovkového endotelu. Nepředpokládáme však, že je tato změna dlouhodobá i vzhledem k výsledkům studie [30], kde měsíc po operaci byly průměrné hodnoty shodné s předoperačními.

Druhou částí výzkumu bylo měření pH komorové tekutiny. Výsledky obou skupin pacientů i obou sérií měření jsou srovnatelné, neprokázali jsme předpokládané snížení pH, tzv. acid shift, po laserovém výkonu jako ve studiích [8] a [9]. Nepotvrdil se též náš předpoklad, že na hodnotu pH má vliv prodleva mezi laserovým zákrokem a odběrem vzorku komorové tekutiny. V první sérii měření tato prodleva činila průměrně 30 minut. Předpokládali jsme, že vzhledem k dynamice komorové tekutiny, kdy velikost průtoku je uváděna 2,3 $\mu\text{l}/\text{min}$ ^[1], se pH v přední komoře časem vyrovná fyziologické hodnotě odvodem komorové tekutiny s nižším pH trámčinou komorového úhlu a tvorbou fyziologické tekutiny ciliárním tělesem. Při daném průtoku by se tedy za dobu 30 minut vyměnilo 70 μl komorové tekutiny, což odpovídá přibližně jedné třetině objemu přední komory z celkových přibližně 220 μl (celkový objem je závislý na individuální hloubce komory). Vzhledem k výsledkům druhé série měření, kdy byla prodleva mezi laserovým zákrokem a odběrem vzorku komorové tekutiny snížena průměrně na 3 minuty, můžeme říci, že laserový výkon při FLACS nemá vliv na pH komorové tekutiny.

Ve studiích [8] [9] nebyl uveden výše zmiňovaný vzor fragmentace jádra čočky. Při volbě jemnějšího vzoru fragmentace by docházelo k tvorbě většího množství produktů fotodisrupce a tím potencionálně k většímu ovlivnění pH komorové tekutiny.

Rozsah naměřených hodnot, který byl pro obě skupiny shodný, je způsoben individuální hodnotou pH krve, které ovlivňuje pH tělních tekutin které jsou z krve filtrovány. Hodnota pH krve je závislá např. na stravovacích návycích, celkové medikaci, nebo např. na stavu a funkci ledvin [51]. U žen z obou skupin bylo naměřeno průměrně nižší pH. Pro potvrzení závislosti pH komorové tekutiny na pohlaví by musel být proveden další výzkum s širším souborem sledovaných pacientů.

Ze studie byli vyloučeni pacienti se současně probíhající medikamentózní léčbou, aby byl vyloučen případný vliv léčby na hodnotu pH komorové tekutiny. Vzhledem k tomu, že byl u obou skupin aplikován identický postup medikace při samotném zákroku, můžeme vyloučit vliv užitých léčiv.

Vztah mezi hodnotou pH a snížením hustoty rohovkového endotelu nebyl zjištěn, nepředpokládáme proto vliv nižších hodnot pH přímo na tkáň přední komory i vzhledem k dovolenému pH 6,7 až 8,1 pro látky, které jsou podávány intraokulárně [3]. Nepředpokládáme též, že má laserový zákrok samotný, tedy fotodisrupce a jevy s ní spojené, vliv na tkáň přední komory vzhledem k použití laseru s dobou pulzu v řádech femtosekund. Naměřené hodnoty pH nelze porovnat s hodnotami dostupnými v literatuře vzhledem k neznámé metodice jejich měření.

Na základě výsledků analýzy rohovkového endotelu hodnotící změnu hustoty buněk, koeficientu variace plochy buněk, procenta hexagonálních buněk a změnu tloušťky rohovky a také z výsledků měření pH komorové tekutiny můžeme konstatovat, že obě prováděné techniky mají stejný vliv na tkáň přední komory. Dalším krokem výzkumu by mohla být analýza rohovkového endotelu v periférii rohovky, kde v oblasti incizí dochází k traumatizaci tkáň manipulací s chirurgickými nástroji a ultrazvukovým fakoemulzifikátorem.

8 Závěr

V této diplomové práci s názvem „Změny struktur přední komory oka po fakoemulzifikaci a laserem asistované operaci katarakty“ jsme se zabývali problematikou katarakty, respektive operací a jejím vlivem na přilehlé tkáně oka. I přes vývoj technik operace spolu s novými materiály nitroočních čoček se jedná o zákrok invazivní, ovlivňující tkáně přední oční komory. Při fakoemulzifikaci se ultrazvuk šíří přední komorou, míra poškození tkání závisí na tvrdosti jádra a stavu tkání před operací. Při operaci za asistence femtosekundového laseru je pomocí laserového záření fragmentováno jádro čočky, provedeno otevření předního pouzdra a rohovkové incize. Výhodou je přesnější a šetrnější odstranění zkalené čočky. Negativní vliv na tkáně přední komory však mohou mít produkty fotodistupce čočky a rohovky vznikající použitím této metody.

Cílem práce bylo posouzení vlivu operace katarakty na tkáně přední komory. Byl proto uskutečněn výzkum, jenž se skládal z analýzy rohovkového endotelu a z měření pH komorové tekutiny. Pacienti operovaní pro kataraktu byli rozděleni do dvou skupin podle podstoupené techniky operace katarakty. První skupinu tvoří pacienti operovaní manuální fakoemulzifikací, druhou skupinu tvoří pacienti operovaní FLACS.

Endotelové buňky kryjí vnitřní povrch rohovky a jsou v přímém kontaktu s nitrooční tekutinou. Pro správnou funkci rohovky musí být zachována jejich dostatečná hustota. Endotelové buňky téměř neregenerují a jsou proto náchylné k jejich poškození, nejčastěji při operaci katarakty. Vliv operace katarakty na endotel rohovky byl hodnocen na základě předoperačního a pooperačního vyšetření endotelovým mikroskopem. Do analýzy bylo zařazeno celkem 55 pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací a 53 pacientů operovaných FLACS. Byla u nich hodnocena pooperační změna centrální hustoty buněk endotelu, změna koeficientu variace plochy buněk, změna procenta hexagonálních buněk a změna centrální tloušťky rohovky. U všech sledovaných parametrů rohovky jsme zaznamenali statisticky srovnatelné výsledky u obou sledovaných skupin pacientů. Nepotvrdili jsme v literatuře popisované nižší pokles hustoty endotelu u pacientů, kteří podstoupili FLACS. Srovnatelnost výsledků připisujeme volbě vzoru laserové fragmentace čočky. Nižšího poklesu hustoty buněk by bylo dosaženo volbou jemnějšího vzoru fragmentace, který umožňuje minimalizovat použití ultrazvukové fragmentace, a tím i vliv na endotel rohovky.

Druhou částí našeho výzkumu bylo měření pH komorové tekutiny, které bylo provedeno u 28 vzorků pacientů operovaných manuální fakoemulzifikací, a celkem u 46 vzorků pacientů operovaných FLACS. Na hodnotu pH komorové tekutiny má dle literatury [8] a [9] vliv oxid uhličitý vznikající při fotodisrupci čočky a uvolňující se

do přední komory. V těchto studiích však nebyl popsán způsob odběru a měření vzorků komorové tekutiny. K měření pH byl v našem výzkumu použit fluorescenční optický vláknový senzor umístěný do injekční jehly. Naše technika odběru nám umožnila zamezit kontaktu vzorků komorové tekutiny se vzdušným oxidem uhličitým a tím jejich kontaminaci. Výsledky obou skupin pacientů jsou srovnatelné, nepotvrdili jsme snížení pH komorové tekutiny (tzv. acid shift) po laserovém výkonu platformou Victus. Rozsah naměřených hodnot (pro obě skupiny shodný) je způsoben individuální hodnotou pH tělních tekutin závislou např. na stravovacích návycích a celkové medikaci. Vztah mezi hodnotou pH a snížením hustoty endotelu nebyl zjištěn, pro potvrzení tohoto předpokladu by bylo vhodné provést další výzkum s širším souborem sledovaných pacientů a rovněž s několika vzory laserové fragmentace.

Dle výsledků našeho výzkumu mají obě prováděné techniky operace katarakty stejný vliv na tkáň přední komory.

Seznam použité literatury

- [1] KUČHYNKA, P. a kol. Oční lékařství. 1.vyd. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1163-8.
- [2] VLKOVÁ, Eva, Šárka PITROVÁ a František VLK. Lexikon očního lékařství: výkladový ilustrovaný slovník. Brno: František Vlk, 2008. ISBN 978-802-3989-069.
- [3] LEVIN, Leonard A. a Paul L. KAUFMAN. Adler's physiology of the eye: clinical application. 11th ed. New York: Saunders/Elsevier, c2011. ISBN 978-0323057141.
- [4] JIRSOVÁ, Kateřina. Příprava rohovky pro transplantaci: historie, současnost, budoucnost. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2364-1.
- [5] ROZSÍVAL, Pavel. Oční lékařství. Praha: Galén, c2006. ISBN 8072624040.
- [6] Crystalline lens anatomy structure. In: Dreamtime [online]. © 2017 Dreamtime. [vid. 1.4.2017]. Dostupné z: <https://www.dreamstime.com/stock-illustration-crystalline-lens-anatomy-structure-image54410100>
- [7] VESELOVSKÝ, J., et al. The pH reaction in aqueous humor to antiglaucoma agents of various concentrations and pH levels. Česká a slovenská oftalmologie: časopis České oftalmologické společnosti a Slovenské oftalmologické společnosti, 2001, 57.5: 291-297.
- [8] ROSSI, Marco, Fabio DI CENSO, Matteo DI CENSO a Muna AL OUM. Changes in Aqueous Humor pH After Femtosecond Laser-Assisted Cataract Surgery. Journal of Refractive Surgery. 2015, 31(7), 462-465. DOI: 10.3928/1081597x-20150623-04. ISBN 10.3928/1081597X-20150623-04. Dostupné také z: <http://www.healio.com/ophthalmology/journals/jrs/2015-7-31-7/{5593ebeb-742b-4295-b7d5-ea7db97c8374}/changes-in-aqueous-humor-ph-after-femtosecond-laser-assisted-cataract-surgery>
- [9] CENSO, Fabio Di, Marco ROSSI, Matteo Di CENSO, Giorgia COLASANTE, Marco BORDIN a Muna Al OUM. Cataract Surgery and Aqueous Humor pH Changes. EC Ophthalmology. 2015, (2.3), 97-100. [10] Close-up of eye showing cataract. In: Science photo library [online]. © 2017 Science photo library [vid. 1.4.2017]. Dostupné z: <http://www.sciencephoto.com/media/256517/view>

- [11] ROZSÍVAL, Pavel. Mikroincizní chirurgie katarakty. In: ROZSÍVAL, P., et al. Trendy soudobé oftalmologie, sv. 2. Praha: Galén, 2005, 121 – 139. ISBN 8072623265.
- [12] Fůs, Martin. [fotografie]. Praha: Oční klinika JL, FBMI ČVUT v Praze. 2017
- [13] VRBOVÁ, Miroslava, Helena JELÍNKOVÁ a Petr GAVRILOV. Úvod do laserové techniky. Praha: ČVUT, 1994. ISBN 80-01-01108-9.
- [14] KASCHKE, Michael, Karl-Heinz DONNERHACKE a Michael Stefan RILL. Optical devices in ophthalmology and optometry: technology, design principles and clinical applications. Weinheim: Wiley-VCH, c2014. ISBN 978-3-527-41068-2.
- [15] GREWAL, Dilraj S., Tim SCHULTZ, Surendra BASTI a H. Burkhard DICK. Femtosecond laser–assisted cataract surgery—current status and future directions. Survey of Ophthalmology. 2016, 61(2), 103-131. DOI: 10.1016/j.survophthal.2015.09.002. ISSN 00396257. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S003962571500154X>
- [16] KRUEGER, Ronald R., Jonathan H. TALAMO a Richard L. LINDSTROM. Textbook of Refractive Laser Assisted Cataract Surgery (ReLACS) [online]. 1. New York: Springer Science & Business Media, 2012 [cit. 2017-05-08]. ISBN 978-1-4614-1010-2. Dostupné také z: [https://books.google.cz/books?id=nPWV_piq-LMC&dq=Textbook+of+Refractive+Laser+Assisted+Cataract+Surgery+\(ReLACS&hl=cs&source=gbs_navlinks_s](https://books.google.cz/books?id=nPWV_piq-LMC&dq=Textbook+of+Refractive+Laser+Assisted+Cataract+Surgery+(ReLACS&hl=cs&source=gbs_navlinks_s)
- [17] DONALDSON, Kendall E., Rosa BRAGA-MELE, Florence CABOT, et al. Femtosecond laser–assisted cataract surgery. Journal of cataract and refractive surgery. 2013, 39(11), 1753–1763. DOI: 10.1016/j.jcrs.2013.09.002. ISBN 10.1016/j.jcrs.2013.09.002. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0886335013011929>
- [18] GUALDI, Luca, 2014. Femto-laser cataract surgery. ISBN 978-935-0909-898. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=SPTTAgAAQBAJ&dq=femto-laser+cataract+surgery&hl=cs&source=gbs_navlinks_s
- [19] PALANKER, D. V., M. S. BLUMENKRANZ, D. ANDERSEN, M. WILTBERGER, G. MARCELLINO, P. GOODING, D. ANGELEY, G. SCHUELE, B. WOODLEY, M. SIMONEAU, N. J. FRIEDMAN, B. SEIBEL, J. BATLLE, R. FELIZ, J. TALAMO a W. CULBERTSON. Femtosecond Laser-Assisted Cataract Surgery with

Integrated Optical Coherence Tomography. *Science Translational Medicine*. 2010-11-17, vol. 2, issue 58, 58ra85-58ra85. DOI: 10.1126/scitranslmed.3001305. Dostupné z: http://web.stanford.edu/~palanker/publications/fs_laser_cataract.pdf

[20] ROZSÍVAL, P. Operace čočky femtosekundovým laserem. In: ROZSÍVAL, P., et al. *Trendy soudobé oftalmologie*, sv.9. Praha: Galén, 2013. 91 – 102. ISBN 978-80-7492-103-2

[21] KRARUP, Therese, Lars MORTEN HOLM, Morten LA COUR a Hadi KJAERBO. Endothelial cell loss and refractive predictability in femtosecond laser-assisted cataract surgery compared with conventional cataract surgery. *Acta Ophthalmologica*. 2014, 92(7), 617-622. DOI: 10.1111/aos.12406. ISBN 10.1111/aos.12406. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/aos.12406>

[22] CONRAD-HENGERER, Ina, Mayss AL JUBURI, Tim SCHULTZ, Fritz H. HENGERER a H. Burkhard DICK. Corneal endothelial cell loss and corneal thickness in conventional compared with femtosecond laser-assisted cataract surgery: Three-month follow-up. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2013, 39(9), 1307-1313. DOI: 10.1016/j.jcrs.2013.05.033. ISBN 10.1016/j.jcrs.2013.05.033. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0886335013006974>

[23] CONRAD-HENGERER, Ina, Fritz H. HENGERER, Tim SCHULTZ a H. Burkhard DICK. Effect of femtosecond laser fragmentation of the nucleus with different softening grid sizes on effective phaco time in cataract surgery. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2012, 38(11), 1888-1894. DOI: 10.1016/j.jcrs.2012.07.023. ISBN 10.1016/j.jcrs.2012.07.023. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0886335012011418>

[24] COPELAND, Robert A., Natalie A. AFSHIRA a Cleas H. DOHLMAN. *Copeland and Afshari's Principles and Practice of Cornea*. 1. London: Jaypee-Highlights Medical Publishers, 2013. ISBN 9789350901724.

[25] TSAI, Yi-Yu. The Impact of Phacoemulsification on the Physiology of Corneal Endothelial Cells and the Management of Cataract Associated with Corneal Endothelial Disease. *Journal of Medical Ultrasound*. 2013, 21(3), 121-122. DOI: 10.1016/j.jmu.2013.08.002. ISBN 10.1016/j.jmu.2013.08.002. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0929644113000726>

- [26] SUZUKI, Hisaharu, Kotaro OKI, Tsutomu IGARASHI, Toshihiko SHIWA a Hiroshi TAKAHASHI. Temperature in the anterior chamber during phacoemulsification. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2014, 40(5), 805-810. DOI: 10.1016/j.jcrs.2013.08.063. ISBN 10.1016/j.jcrs.2013.08.063. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S088633501400251X>
- [27] ABELL, Robin G., Nathan M. KERR a Brendan J. VOTE. Toward Zero Effective Phacoemulsification Time Using Femtosecond Laser Pretreatment. *Ophthalmology*. 2013, 120(5), 942-948. DOI: 10.1016/j.ophtha.2012.11.045. ISBN 10.1016/j.ophtha.2012.11.045. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0161642012011657>
- [28] AMIR-ASGARI, Sahand, Nino HIRNSCHALL a Oliver FINDL. Using continuous intraoperative optical coherence tomography to classify swirling lens fragments during cataract surgery and to predict their impact on corneal endothelial cell damage. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2016, 42(7), 1029-1036. DOI: 10.1016/j.jcrs.2016.04.029. ISBN 10.1016/j.jcrs.2016.04.029. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0886335016302139>
- [29] SAN, Ran a Brian M. DE BROF. Prophylactic Intracameral Antibiotics During Cataract Surgery: The Incidence of Endophthalmitis and Corneal Endothelial Cell Loss. *European Journal of Implant and Refractive Surgery*. 1994, 6(10), 280-285
- [30] TAKÁCS, Ágnes I., Illés KOVÁCS, Kata MIHÁLTZ, Tamás FILKORN, Michael C. KNORZ a Zoltán Z. NAGY. Central Corneal Volume and Endothelial Cell Count Following Femtosecond Laser-assisted Refractive Cataract Surgery Compared to Conventional Phacoemulsification. *Journal of Refractive Surgery*. 2012, 28(6), 387-392. DOI: 10.3928/1081597X-20120508-02. ISBN 10.3928/1081597X-20120508-02. Dostupné také z: <http://www.healio.com/doiresolver?doi=10.3928/1081597X-20120508-02>
- [31] CONRAD-HENGERER, Ina, Fritz H. HENGERER, Tim SCHULTZ a H. Burkhard DICK. Effect of Femtosecond Laser Fragmentation on Effective Phacoemulsification Time in Cataract Surgery. *Journal of Refractive Surgery*. 2012, 28(12), 879-884. DOI: 10.3928/1081597X-20121116-02. ISBN 10.3928/1081597X-20121116-02. Dostupné také z: <http://www.healio.com/doiresolver?doi=10.3928/1081597X-20121116-02>

- [32] MARIACHER, Siegfried, Martina EBNER, Anna-Maria SEUTHE, Kai JANUSCHOWSKI, Ciprian IVANESCU, Natalia OPITZ, Peter SZURMAN a Karl Thomas BODEN. Femtosecond laser–assisted cataract surgery: First clinical results with special regard to central corneal thickness, endothelial cell count, and aqueous flare levels. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2016, 42(8), 1151-1156. DOI: 10.1016/j.jcrs.2016.06.024. ISBN 10.1016/j.jcrs.2016.06.024. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S088633501630236X>
- [33] VOGEL, Alfred, Peter SCHWEIGER, Alex FRIESER, Mary N. ASIYO a Reginald BIRNGRUBER. Intraocular Nd : YAG Laser Surgery: Light-Tissue Interaction, Damage Range, and Reduction of Collateral Effects. *IEEE Journal of Quantum Electronics*. 1990, 26(12), 2240-2260.
- [34] PAVLÍČKOVÁ, Kateřina, Šárka PITROVÁ, Marie POSPÍŠILOVÁ a Ondřej PODRAZKÝ. Změny struktur přední komory po operaci katarakty fakoemulzifikací a za asistence femtosekundového laseru. In: ŽÁKOVÁ, Markéta a Jiří NOVÁK. Fórum optiky a optometrie 2017 - sborník ze studentské konference. Kladno: České vysoké učení technické v Praze, 2017, s. 21-22. ISBN 978-80-01-06122-0. ISSN.
- [35] NIEMZ, Markolf H. *Laser-tissue interactions: fundamentals and applications*. 3rd, enlarged ed. New York: Springer, c2004. ISBN 35-404-0553-4.
- [36] *Laser-Tissue Interaction*. WRIGHT, Cameron H. G., Steven F. BARRETT a Ashley J. WELCH. *Medical applications of lasers*. 1. New York: Springer US, c2002, s. 21-58. ISBN 978-0-7923-7662-0.
- [37] PODRAZKÝ, Ondřej, Jan MRÁZEK, Soňa VYTYKÁČOVÁ, Jana PROBOŠTOVÁ, Ivan KAŠÍK. Fiber optic pH sensing system with microscopic spatial resolution. *Proc. SPIE 9506, Optical Sensors: 2015*, 950612 (5). Doi: 10.1117/12.2179471. Dostupné také z: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?articleid=2292076>
- [38] COTTERILL, Rodney. *Biophysics: an introduction*. New York: John Wiley, c2002. ISBN 04-714-8538-1.
- [39] LAWN, Richard, Elizabeth PRICHARD a Peter BEDSON. *Practical Laboratory Skills Training Guide: Measurement of pH*. 1. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2003. ISBN 0854044736.

- [40] SKOPALOVÁ, J., M. KOTOUČEK a P. ADAMOVSÝ. Multimediální učebnice "Výpočty z elektroanalytických metod" [online]. Olomouc: UPOL [cit. 2017-04-04]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/ucebnice2/index.html>
- [41] POSPÍŠILOVÁ, Marie, Ivan KAŠÍK a Vlastimil MATĚJEC. Vlákenná optika pro biologii a medicínu. V Praze: ČVUT, 2011. ISBN 978-80-01-04807-8.
- [42] LAKOWICZ, Joseph R. Principles of fluorescence spectroscopy. 3rd ed. New York: Springer, c2006. ISBN 978-0-387-31278-1.
- [43] HAUGLAND, Richard P. Handbook of Fluorescent Probes and Research Products. 9th edition. Pennsylvania State University: Molecular Probes, 2002. ISBN 978-0971063600.
- [44] KAŠÍK, I., PODRAZKÝ, O., Vlákenně-optická detekce biologických vzorků [online prezentace]. Praha : Ústav fotoniky a elektroniky, AV ČR, v.v.i., [cit. 7.1.2017]. Dostupné také z : http://www.ufe.cz/sites/default/files/kasik/public/jcu-prf_vlaknove-opticka_detekce_2012.pdf
- [45] KAŠÍK, Ivan, Ondřej PODRAZKÝ, Jan MRÁZEK, Tomáš MARTAN, Vlastimil MATĚJEC, Klára HOYEROVÁ a Miroslav KAMÍNEK. In vivo optical detection of pH in microscopic tissue samples of Arabidopsis thaliana. Materials Science and Engineering: C. 2013, 33(8), 4809-4815. DOI: 10.1016/j.msec.2013.07.045. ISSN 09284931. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092849311300461X>
- [46] KAŠÍK, I., et al. Fiber-optic pH detection in small volumes of biosamples. Analytical and bioanalytical chemistry, 2010, 398.5: 1883-1889. Dostupné také z: http://www.ueb.cas.cz/en/system/files/users/public/hoyerova_26/2010_kasik_fiber_optic_ph_detection.pdf
- [47] LOUKOTOVÁ, Věra, Z. HLINOMAZOVÁ, M. HORÁČKOVÁ a E. VLKOVÁ. Metody analýzy endoteliální mikroskopie. Česká a Slovenská Oftalmologie. 2007, 63(3), 185-192.
- [48] MCCAREY, Bernard E, Henry F EDELHAUSER a Michael J LYNN. Review of Corneal Endothelial Specular Microscopy for FDA Clinical Trials of Refractive Procedures, Surgical Devices, and New Intraocular Drugs and Solutions. Cornea. 2008, 27(1), 1-16. DOI: 10.1097/ICO.0b013e31815892da. ISBN

10.1097/ICO.0b013e31815892da. Dostupné také z:

<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage>

[49] Endotelový mokroskop. In: Physics.muni.cz [online]. Brno: Masarykova
Universita, 2006 [cit. 2017-05-15]. Dostupné z:

<http://www.physics.muni.cz/~kubena/PDF/AOIIv92.pdf>

[50] H. T. S. Britton, and R. A. Robinson, "CXCVIII.—Universal buffer solutions and
the dissociation constant of veronal," *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, pp.
1456-1462, 1931

[51] SILBERNAGL, Stefan a Agamemnon DESPOPOULOS. *Atlas fyziologie člověka*.
6. vyd., zcela přeprac. a rozšíř. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0630-X.

Seznam příloh

Příloha 1: Ukázka předoperačního a pooperačního vyšetření rohovkového endotelu pacientů ze skupiny FLACS84

Příloha 2: Tabulka hodnot použitých pro stanovení chyby měření sledovaných parametrů rohovkového endotelu.....86

Příloha 3: CD Abstrakt_česky

Abstrakt_anglicky

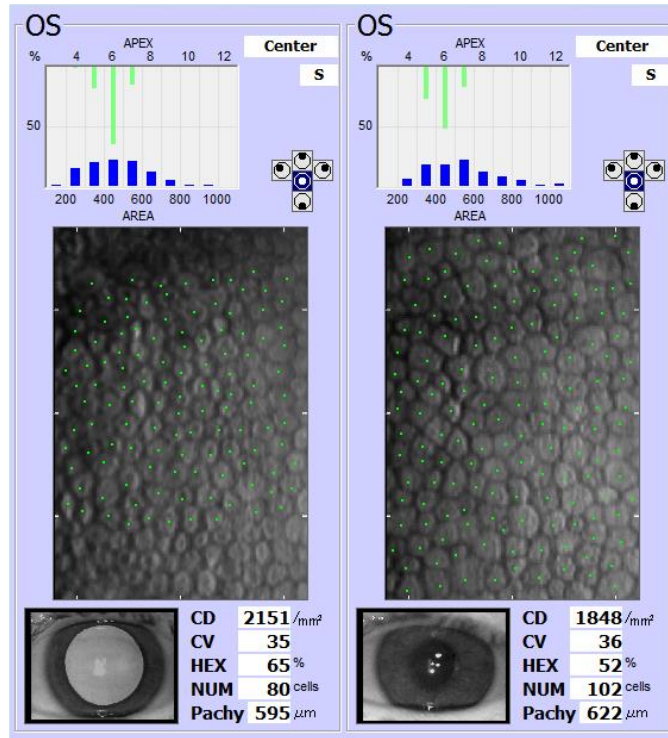
Klíčová_slova

Diplomová_práce_Kateřina_Pavličková

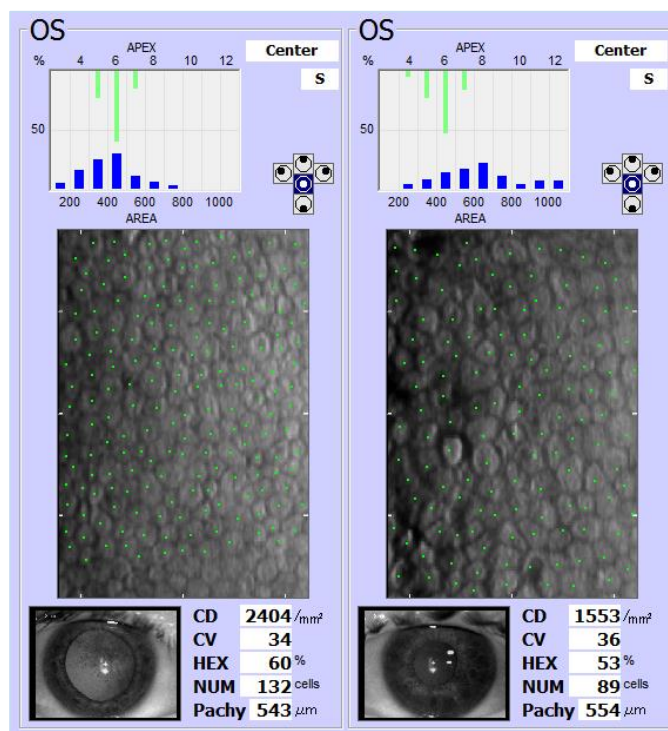
Zadání_DP

Příloha_01_02_Tabulky_naměřených_hodnot

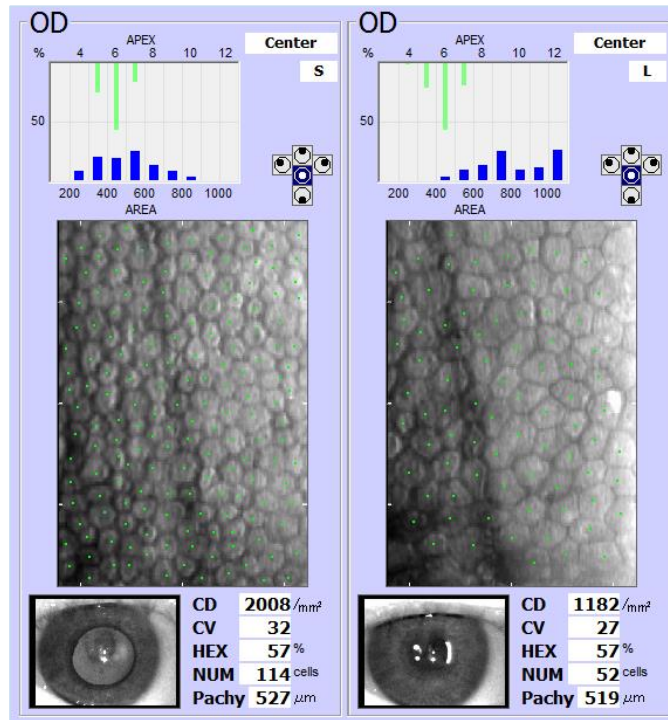
Příloha 1: Ukázka předoperačního a pooperačního vyšetření rohovkového endotelu pacientů ze skupiny FLACS (pacient je označen iniciály, pohlavím a rokem narození jako v tabulkách v dokumentu Příloha_01_02_Tabulky_naměřených_hodnot v příloze 3)



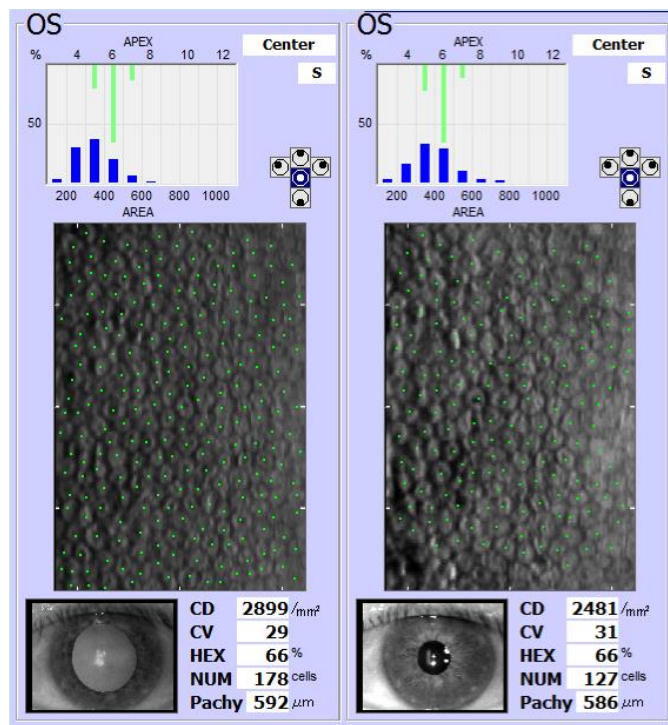
Obrázek 0.1: Předoperační a pooperační vyšetření rohovkového endotelu levého pacienta JK, M, 1951



Obrázek 0.2: Předoperační a pooperační vyšetření rohovkového endotelu levého pacienta VN, Ž, 1958



Obrázek 0.3: Předoperační a pooperační vyšetření rohovkového endotelu levého pacienta NN, M, 1956



Obrázek 0.4: Předoperační a pooperační vyšetření rohovkového endotelu levého pacienta PP, M, 1944

Příloha 2: Tabulka hodnot použitých pro stanovení chyby měření sledovaných parametrů rohovkového endotelu

Snímek	CD (mm ²)	CV (%)	HEX (%)	PACHY (μm)
1	3040	25	57	545
2	3115	25	54	542
3	3003	25	63	548
4	3077	26	53	577
5	3205	25	60	565
6	3125	25	57	557
7	3058	26	61	554
8	3086	25	56	543
9	3155	26	59	554
10	3106	25	56	558
11	3115	24	51	554
12	3012	29	60	569
13	3040	26	54	557
14	3096	23	65	571
A	3215	35	64	631
	3225	33	64	
	3175	36	62	
	3185	39	61	
	3165	36	62	
B	1957	31	62	598
	1931	33	54	
	1938	31	60	
	1912	33	60	
	1912	37	58	
C	2174	35	64	602
	2119	40	48	
	2151	37	54	
	2151	37	53	
	2141	40	52	
D	2732	36	59	576
	2740	36	60	
	2740	36	66	
	2660	37	63	
	2770	35	67	
Směrodatná odchylka	59 mm⁻²	3 %	5 %	11 μm