

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

MEDICINĂ

*Studiul viabilității și funcției endoteliului cornean postchirurgia cataractei sub tratament
antiinflamator*

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. UNIV. DR. VOINEA LILIANA MARY

Student-doctorand:

NICOLAE (CĂS. GHIȚĂ) ANA CRISTINA

2020

Cuprins

Introducere	1
I. PARTEA GENERALĂ	6
1. ENDOTELIUL CORNEAN	6
1.1 Anatomia corneei	6
1.2 Funcțiile endoteliului cornean	9
1.3 Microscopia speculară	14
1.4 Endoteliopatii corneene	22
2. CATARACTA	24
2.1 Anatomia și fiziologia cristalinului	24
2.2 Tipuri de cataractă	25
2.3 Chirurgia cataractei prin facoemulsificare	28
2.4 Factori asociați cu o rată mai mare de alterare a endoteliului cornean	33
3. INFLAMAȚIA INTRAOCULARĂ ȘI CONTROLUL ACESTEIA	46
3.1 Inflamația intraoculară	46
3.2 Mecanismele fiziopatogenice ale inflamației intraoculare	46
3.3 Mecanismele afectării endoteliului cornean în inflamația intraoculară	47
3.4 Controlul inflamației intraoculare	48
II. CONTRIBUȚII PERSONALE	56
4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale	56
5. Efectele chirurgiei cataractei asupra celulelor endoteliale la pacienții diabetici	58
5.1 Introducere	58
5.2 Material și metodă	58
5.3 Rezultate	68
5.4 Discuții	92
5.5 Concluzii	101
6. Efectul corticosteroizilor administrați în puls terapie asupra celulelor endoteliale corneene în chirurgia cataractei	102
6.1 Introducere	102
6.2 Pacienți și metode	103
6.3 Rezultate	105

6.4	Discuții	128
6.5	Concluzii	135
7.	Efectele inflamației și ale tratamentului antiinflamator asupra endoteliului cornean în uveita anterioară acută	138
7.1	Introducere	138
7.2	Pacienți și metode	139
7.3	Rezultate	139
7.4	Discuții	144
7.5	Concluzii	150
8.	Concluzii și contribuții personale	152
8.1	Concluzii	152
8.2	Contribuții personale și direcții de studiu	154
	Bibliografie	159
	ANEXE	171

Introducere

Chirurgia cataractei prin facoemulsificare cu implantarea unui cristalin artificial foldabil de cameră posterioară reprezintă la ora actuală tratamentul de elecție al cataractei iar cataracta, potrivit Organizației Mondiale a Sănătății, reprezintă principala cauză de orbire reversibilă.

În 1967 Kelman a realizat prima extragere a cristalinului opacifiat folosind ultrasunete, iar în 1970, Brown a reușit achiziția primei imagini a endoteliului cornean in vivo. Aceasta a deschis calea și interesul cercetătorilor pentru CE.

Postoperator, alterările endoteliale se traduc prin apariția în diferite grade a edemului cornean. Scăderea numărului de celule sub un anumit prag este răspunzătoare de dezvoltarea keratopatiei epiteliale buloase pseudofakice. Atâta timp cât nu există alte modalități de rezolvare a cataractei, superioare celor existente și care să nu determine alterări la nivel endotelial, considerăm de mare importanță cunoașterea anumitor factori predispozanți ce cresc vulnerabilitatea endoteliului, individualizarea și adaptarea tehnicii operatorii în funcție de necesitățile fiecărui pacient precum și, personalizarea tratamentului postoperator, deoarece acestea pot, într-o manieră cumulativă, crește rata de supraviețuire a acestor celule precum și performanța celor restante.

I. Partea generală

1. Endoteliul cornean

1.1. Anatomia corneei

La nivelul corneei posterioare CE (celulele endoteliale) sunt distribuite neuniform, într-un singur strat, pe o arie de 130 mm^2 , prezentând densitate minimă la nivel central și maximă la periferie. Despre aceste celule se credea până de curând că nu prezintă capacitatea de a se divide, deoarece se opresc în faza G1 a ciclului celular (Eghrari et al. 2015), posibil prin inhibiția celulară de contact sau secundar implicării factorului de creștere transformator beta 1 (TGF β 1). Însă, potrivit studiilor recente, se pare că CE prezintă totuși o capacitate limitată de regenerare (Janson et al. 2018) prin evidențierea prezenței telomerazei exclusiv la nivelul CE

periferice precum și a capacității acestora de a fixa BrdU (5-Bromo-deoxiuridina), care este marker al diviziunii celulare.

CE ating o grosime de circa 4-5 μm și un diametru de 20 micrometri. Cu ajutorul MS (microscopiei speculare) se poate studia aria apicală a acestor celule. Aspectul hexagonal al CE se datorează complexului joncțional apical și N-cadherinei și constituie cea mai potrivită modalitate de a acoperi un spațiu fără a lăsa zone libere neacoperite.

Se pare că un nou-născut are în jur de 3,500-4,000 de CE/ mm^2 , iar pe măsură ce înaintează în vârstă, datorită creșterii în dimensiuni a corneei, are loc o ușoară scădere a densității acestora prin redistribuție. (Bahn et al. 1986) După perioada de creștere, când densitatea se stabilizează la adultul tânăr, pierderea de CE prezintă viteze diferite de-a lungul vieții respectiv, zona centrală are o pierdere de 0,59% an, zona paracentrală de 0,45% și zona periferică de 0,4%. (Bednarz et al. 1998) De asemenea, orice pierdere de CE se însoțește de o migrare a celulelor restante din periferie care își măresc și dimensiunile pentru a acoperi zona deficitară. DCE (densitatea de celule endoteliale) prezintă variabilitate nu numai cu vârsta ci și în funcție de rasă, astfel că studiile realizate pe populația japoneză regăsesc o DCE mai mare comparativ cu populația Americană. (Matsuda et al. 1985)

1.2. Funcțiile endoteliului cornean

Funcția de barieră parțială a endoteliului cornean este asigurată de dispoziția hexagonală a CE. CE sunt răspunzătoare de asigurarea nutriției corneei datorită unei zonule occludens incomplete, ce permite printr-un flux paracelular moderat, substanțelor nutritive să treacă. Prin *funcția de reglare a trecerii fluidelor*, endoteliul asigură deturgescența corneei prin diferite mecanisme. Glicozaminoglicanii de la nivel stromal, datorită faptului că sunt încărcăți negativ, generează o presiune de umplere stromală de aprox 50 mmHg. Diferența dintre aceasta și TIO, în jur de 10-20 mmHg, generează o presiune netă de imbibitiție de aproximativ 30-40 mmHg ce determină un flux net al lichidelor dinspre umoarea apoasă spre stroma corneană. Acest flux spre exterior este contrabalansat de un flux spre umoarea apoasă, care este generat de endoteliul cornean prin mecanisme active, reprezentate de numărul mare de pompe $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP-aza}$ (sodiu- potasiu adenzin trifosfat) și de transportorii ionici ce se exprimă variabil la nivelul membranei bazo-laterale și apicale. Prezența pompelor de $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{-ATP-aza}$ determină un gradient necesar desfășurării activității transportatorilor

transmembranari activi secundari cât și a canalelor pasive din membrana apicală, prin concentrația crescută de K^+ și scăzută de Na^+ . (Geroski et al. 1984) Sunt mai multe ipoteze care încearcă să explice funcția de pompă a CE. O primă ipoteză constă în încărcarea cu lichid a acestora, prin creșterea activității pompelor și transportatorilor din membrana bazo-laterală, pentru ca apoi să aibe loc o reducere a activității acestora asociată unei creșteri în activitatea transportatorilor din partea apicală și efluxul de lichide spre umoarea apoasă. Acest fenomen este ciclic și pulsațiile sunt controlate de gradul de hidratare al stromei. (Fischbarg 2003). Blocarea pompei de Na^+/K^+ -ATP-aza de glucoză și galactoză conduce la scăderea funcției de pompă al endoteliului cornean, ce se exprimă clinic prin edem cornean. De la nivelul umorii apoase, glucoza ajunge și în interiorul CE corneene, unde, în urma metabolizării, rezultă polioli.

CE au rol în *formarea membranei Descemet*. Aceasta este situată între stromă și endoteliul cornean și are rol de barieră pentru agenții infecțioși și diferite traume. Studiul membranei Descemet se poate realiza cu ajutorul microscopiei electronice.

1.3. Microscopia speculară

CE pot fi studiate, în mod non-invaziv, cu ajutorul MS și cu ajutorul microscopiei confocale, urmărindu-se densitatea și morfologia acestora. Principiul MS constă în obținerea reflexului specular. La proiectarea unei lumini la nivelul interfeței dintre CE și umoarea apoasă, 0.022% din aceasta este reflectată. CE având un indice de refracție mai mare decât al umorii apoase, se obține astfel un unghi de incidență egal cu unghiul de reflexie. (Laing et al. 1979)

Faptul ca aria reflexului specular depinde de curbura suprafeței care reflectă, reprezintă un criteriu de diferențiere între cele două tipuri de microscopie speculară, acestea putând fi contact sau non-contact. Microscopia speculară (MS) contact presupune aplicarea direct pe epiteliul cornean a unei sonde ce permite vizualizarea unui număr mai mare de CE comparativ cu tehnica non-contact. Microscopie speculară non-contact au integrate sistemele de auto-tracking și focalizare folosind sistemul Konan Cellchek, ce reprezintă standardul de aur în MS. Sistemul optic se aliniaza cu cornea, iar cel puțin patru imagini Purkinje pot fi de regulă identificate.

Pentru a crește *calitatea imaginilor* se poate practica midriaza. Odată ce fotografia de bună calitate a fost captată, analiza acesteia se poate face manual sau automat, în funcție de tipul de MS. Metodele manuale precum analiza cadrului variabil, analiza cadrului fix, analiza colțurilor, analiza centru-flex, analiza centrului sunt realizate de operator.

Analiza cantitativă presupune afișarea datelor legate de următorii parametri studiați în MS și anume, aria celulară minimă, maximă și medie a CE (μm^2), DCE (nr/mm^2), deviația standard, CV, procentul de HEX (celule hexagonale %) și GCC (grosime corneană centrală μm). MS moderne pot calcula aceste valori automat sau semiautomat.

Scăderea DCE este parametrul care se asociază cel mai bine cu eșecul celulelor de a menține desecată stroma corneană. Densitatea minimă până la care funcția endotelială este menținută în parametri normali variază între 300 și 700 celule/ mm^2 și 1,000-1,200 celule/ mm^2 după diferite studii. Însă, nu doar numărul de CE reprezintă un indicator preoperator al unei posibile decompensări endoteliale ci și prezența pleomorfismului și a polimegetismului. În mod natural, odată cu înaintarea în vârstă, DCE scade și crește pleomorfismul. (Yee et al. 1985a) Astfel, un CV (coeficient de variabilitate) de peste 0.40 și un procent de HEX sub 50 % reprezintă indicatori ai unei corneei anormale și totodată factori importanți de predictibilitate pentru o eventuală decompensare endotelială. În mod normal, CV variază între 0.22 și 0.31 la adulții tineri (Yee et al. 1985b) iar într-o corneă normală, circa 60% dintre CE au formă hexagonală. Un CV crescut traduce o vulnerabilitate ridicată a endoteliului la trauma chirurgicală prin scăderea rezervei funcționale a acestuia. (Rao et al. 1979a) Un parametru paraclinic indirect valoros și larg utilizat ca referință în evaluarea funcției endoteliale, este GCC. Cel mai frecvent, modificările calitative și cantitative ale CE preced cu mult timp, uneori ani, modificările de grosime corneană. Creșterea GCC peste valorile normale arată cel mai bine eșecul CE de a menține stroma corneană în starea fiziologică de desecare.

Ca și răspuns la trauma chirurgicală indusă de extracția cristalinului se observă o scădere a DCE direct proporțională cu intensitatea acesteia, iar în cazul pacienților cu cornea gutatta, această rată este dublă. (Bourne et al. 1994)

1.4. Endoteliopatii corneene

Un aspect și o funcție anormală a endoteliului traduce o endoteliopatie. În literatură sunt descrise mai multe afecțiuni care implică endoteliul cornean și care au ca trăsătură comună alterarea funcției și morfologiei endoteliului cornean. În funcție de cauză, acestea sunt clasificate în endoteliopatii primare și secundare. Distrofia endotelială Fuchs este cea mai frecventă endoteliopatie primară ce pare a fi cauzată de o mutație la nivelul genei responsabile pentru producerea tipului VIII de collagen (Urquhart et al. 2006) iar keratopatia buloasă pseudofakică este o endoteliopatie secundară ce constă în cronicizarea edemului cornean postchirurgia cataractei.

2. CATARACTA

De la prima extracție a cristalinului prin facoemulsificare în 1967, această tehnică a cunoscut un real progres. Astfel, la ora actuală vorbim de mini-incizii în cornee clară sau limbice (2,2-2,4 mm) și micro-incizii (MICS- microincision cataract surgery) de 1.4-1.6 mm. Evoluția tehnicilor actuale de facoemulsificare precum stop and chop sau phaco chop fac posibile și supunerea unei cataracte dure acestui tip de procedură.

Dinamica ultrasunetelor. În ceea ce privește mașina de facoemulsificare, aceasta este dotată cu un calculator ce generează impulsuri electrice ce sunt convertite apoi în ultrasunete cu ajutorul unui transductor. Transductorul este poziționat în piesa de mână (handpiece) și este cel mai adesea reprezentat de unul sau mai multe cristale piezoelectrice, ce au avantajul de a fi eficiente și de a nu necesita răcire. În vederea obținerii unei facoemulsificări eficiente, a fost creat conceptul de reglare (*tuning*). Acesta presupune ca la contactul dintre vârful piesei de facoemulsificare și materialele intraoculare să se transmită aproape instant un semnal de feedback către calculatorul aparatului legat de frecvența rezonantă, în vederea ajustării frecvenței oscilatorii la aceasta. Puterea generată este dată de frecvența și lungimea cursei mișcărilor vârfului piesei de mână. Frecvența are o valoare fixă în funcție de tipul de cristal piezo-electric folosit, diferă de la un producător la altul și are valori cuprinse între 28.700- 45.000 cicluri per secundă sau hertzi, ceea ce înseamnă că vârful se mișcă în față și în spate de tot atâtea ori. Observându-se relația de directă proporționalitate între energia descărcată în timpul facoemulsificării și efectul asupra structurilor camerei anterioare, s-au dezvoltat mai multe

tipare de eliberare a energiei. Aceasta poate fi eliberată continuu, sub forma unei izbucniri (burst), puls sau hiperpuls. Energia descărcată intraocular este însoțită de eliberarea de căldură. Pentru prevenirea apariției arsurilor corneene, atunci când temperatura ajunge sau depășește 45 de grade, vârful piesei de facoemulsificare este acoperit de un manșon ce are rolul de a răci vârful. Modulele de facoemulsificare ce prezintă perioade de alternare a puterii eliberate cu perioade fără eliberare de putere, prezintă o rată mai mică de creștere a temperaturii și astfel de apariție a arsurilor. De asemenea, prin fluidică se asigură menținerea vârfului la temperaturi acceptabile.

Dinamica fluidelor are la bază conceptele de irigație, rata aspirației și nivelul aspirației. *Irigația* respectă principiul gravitației. Gradientul presional astfel creat, permite intrarea lichidului în camera anterioară. Parametrii irigației, ratei aspirației (flow rate) și vacuum-ul trebuie setați astfel încât să nu se creeze fluctuații de presiune deoarece influențează negativ endoteliul cornean și cresc riscul de ruptură a capsulei posterioare cristaliniene cu pierdere de vitros. Rata aspirației determină ușurința cu care se deplasează materialele intraocular către vârful sondei de facoemulsificare. Vacuum-ul sau nivelul de aspirație se referă la presiunea negativă creată pentru a menține aderent materialul intraocular la vârful sondei în ocluzie. Există la ora actuală trei tipuri de sisteme ce pot produce vacuum și anume, pompa Peristaltică, pompa Venturi și pompa Hibrid.

Factori asociați cu o rată mai mare de alterare a endoteliului cornean

Factori preoperatori. În general, chirurgia cataractei este practică la *pacienții vârstnici* la care se știe că există deja o scădere fiziologică a DCE corneene. Prezența sorbitolului în cantitate mare și glicarea proteinelor cristaliniene determină acumularea unor produși finali la nivel cristalinian cu rol în apariția cataractei la *pacienții diabetici*. (Hong et al. 2000) Cataracta este principala cauză de orbire reversibilă la nivel mondial cu un procent de 51 %, iar unul din cinci pacienți operați de cataractă asociază DZ (diabet zaharat). (Hamilton 1977) Federația Internațională de Diabet estimează că în anul 2030 vor fi circa 552 milioane de pacienți cu DZ. (Whiting et al. 2011). Studiile realizate la nivel endotelial relevă o vulnerabilitate a CE la acești pacienți cu DZ, tradusă printr-o creștere a riscului de dezvoltare a edemului cornean. (Inoue et al. 2002a) *Sindromul pseudoexfoliativ* este o afecțiune sistemică ce pare a fi cauzată de o mutație în gena LOXL1 (Lysyl Oxidase Like 1). (Lemmela et al. 2009). Prezența sa este asociată unei

scăderi a DCE, iar pacienții ce dezvoltă glaucom secundar prezintă o scădere mai mare a DCE comparativ cu pacienții ce prezintă doar sindrom pseudoexfoliativ. (Tomaszewski et al. 2014) Postchirurgia cataractei, pacienții cu sindrom pseudoexfoliativ prezintă un risc mai mare de a dezvolta o formă diferită de edem cornean, numită keratopatie pseudoexfoliativă. (Schlotzer-Schrehardt et al. 1993) Alți factori de risc sunt- durata *glaucomului* și valoarea TIO, (Janson, Alward, Kwon, Bettis, Fingert, Provencher, Goins, Wagoner, & Greiner 2018), *cornea gutatta* și *distrofia endotelială Fuchs* ce se asociază cu un risc crescut de dezvoltare a keratopatiei epiteliale buloase, *purtătorii cronici de lentile de contact* prin dezvoltarea polimegetismului (Bergmanson 1992), lungimea mai mică a *axului globului ocular* (Gharaee et al. 2011a; Walkow et al. 2000) precum și *poziția cristalinului natural în raport cu cornea*, care se pare că influențează minim endoteliul atunci când este în contact cu acesta pentru o scurtă perioadă de timp.

Factori intraoperatori. *Tipul inciziei și localizarea acesteia* influențează pierderea de CE. (Hayashi et al. 2011) Pierderea de CE este mai mare în inciziile clare decât în incizia de tip tunel scleral. (Daus et al. 1987) și mai mică pentru localizarea supero-temporală. (Gharaee et al. 2011b). *Duritatea cristalinului, trauma mecanică, durata ultrasunetelor folosite, poziția cristalinului artificial, materialul de fabricație, irigația prelungită, prezența complicațiilor* sunt factori intraoperatori cu impact asupra endoteliului. Analizele de MS realizate postchirurgia cataractei la pacienții operați prin tehnica de facoemulsificare și prin tehnica de extragere extracapsulară a cristalinului, indică o pierdere similară de CE. (George et al. 2005)

Factori postoperatori. *Inflamația intraoculară* influențează starea endoteliului cornean, asemenea hipertensiunii intraoculare postoperatorii ce reprezintă o altă posibilă complicație însă care, este în general relativ ușor de controlat. Facoemulsificarea induce mai puțină inflamație intraoculară postoperator comparativ cu alte tehnici chirurgicale. (Spalton and Koch 2000)

3. Inflamația intraoculară și controlul acesteia

Orice injurie face ca celulele prezentatoare de antigen să activeze Limfocitele T. O serie de mediatori se secretă în umoarea apoasă și determină creșterea permeabilității vasculare, creșterea diapedezei limfocitelor și macrofagelor. LTh1 eliberează IL2 și INF γ (Interferon γ) cu rol în medierea inflamației pe cale celulară iar LTh2 eliberează IL4, IL6, IL9

și IL10 cu rol în medierea inflamației pe cale umorală. Creșterea în umoarea apoasă a nivelului de interleukine (IL1 α , IL4 și IL13), citokine TNF α (Factorul de necroza tumorală α), de proteine inflamatorii ale macrofagului 1 β (MIP 1 β) și a E-selectinei, determină o reducere a DCE prin distrucție tisulară. Acestea acționează direct, prin creșterea apoptozei celulare. O acțiune sinergică cu factorii umorali o au speciile reactive de oxigen, produșii de peroxidare lipidică și enzimele litice eliberate de celulele inflamatorii cu rol în distrugerea celulară non-apoptotică. În procesul inflamator este inițiată sinteza de eicosanoizi ce își exercită efectele interacționând cu celulele țintă prin intermediul unor receptori specifici cuplați cu proteina G. (Harizi et al. 2008; Yin et al. 2013) Asocierea AIS (antiinflamatoarelor steroidiene) și AINS (antiinflamatoarelor nesteroidiene) conferă o eficacitate sporită în **controlul inflamației postoperatorii** comparativ cu utilizarea doar a AIS. (Kessel et al. 2014)

Antiinflamatoarele steroidiene. Acționează prin scăderea metabolismului acidului arahidonic și diminuarea secundară a eliberării de prostaglandine, leucotriene care au un efect puternic antiinflamator. La acestea se adaugă, scăderea diapedezei celulelor inflamatorii, scăderea migrației leucocitelor, efecte imunosupresive, reducerea vasodilatației, scăderea concentrației de mediatori proinflamatorii, scăderea exudației de la nivelul corpului ciliar și reducerea gradului de mioză. La nivel endotelial, cresc activitatea pompelor de Na⁺/K⁺-ATP-aza. (Hatou et al. 2009; Hatou et al. 2010) Majoritatea pacienților nu prezintă efecte generale secundare la steroizi.

Acestea se pot administra postoperator topic, subconjunctival, subtenonian, intracameral, transzonular sau în sacul cristalinian (Ozurdex). Nu există la ora actuală în literatura de specialitate articole sau indicații ale administrării de metilprednisolon sodiu acetat (SOLU-MEDROL) în pulsterapie postchirurgia cataractei, însă reprezintă un subiect al cercetării noastre. Administrarea este însoțită de o frecvență redusă a reacțiilor adverse. (Charkoudian et al. 2012) (Afandi et al. 2003; Krupin et al. 1976; Scherrer et al. 2015)

Antiinflamatoarele nesteroidiene. La nivel ocular, AINS prin inhibarea COX, reduc cantitatea de prostaglandine cu rol antiinflamator, scad celularitatea de la nivelul camerei anterioare, reduc mioza și îmbunătățesc AV. Un efect specific AINS, mai ales în cazul celor cu o bună penetranță intraoculară, de tipul bromfenac sau nepafenac, îl constituie scăderea edemului macular cistoid care poate însoți trauma oculară. (Gaynes and Onyekwuluje 2008). Beneficiul major al acestei grupe de medicamente îl constituie absența efectelor adverse date de

steroidi cum ar fi creșterea presiunii intraoculare și scăderea rezistenței la infecții. În controlul inflamației postchirurgia cataractei, tratamentul cu AINS este adjuvant corticoizilor, care sunt de primă intenție.

II. Contributii personale

4. Ipoteza de lucru și obiectivele generale

Odată cu înaintarea în vârstă, asocierii unor afecțiuni oculare sau sistemice concomitente, secundar manevrelor intraoperatorii și inflamației postoperatorii declanșate de trauma chirurgicală se pierd invariabil CE, ceea ce poate duce la o disfuncționalitate mai mare sau mai mică a celulelor restante. Dintre factorii preoperatorii predispozanți, DZ de tip 2 constituie o asociere frecventă, iar ochiul este un organ țintă. Motiv pentru care teza și-a propus atingerea următoarelor obiective:

- Studiul viabilității, funcției și comportamentului CE preoperator la pacienții cu DZ de tip 2 comparativ cu pacienții non-diabetici.
- Evaluarea răspunsului CE la trauma chirurgicală în funcție de prezența sau absența DZ de tip 2.
- Studiul viabilității, funcției și comportamentului CE postoperator, urmărind efectele ultrasunetelor descărcate intraocular în timpul facoemulsificării precum și ale fenomenelor inflamatorii generate, sub tratament antiinflamator local și/sau general.
- Studiul viabilității, funcției și comportamentului CE în inflamația polului anterior în funcție de durata și intensitatea fenomenelor inflamatorii.
- Elaborarea unor modele terapeutice postoperatorii, pe baza observațiilor obținute, în vederea unui mai bun control al fenomenelor inflamatorii generate de trauma chirurgicală, menite să scadă vulnerabilitatea endotelială, rata de pierdere a DCE și gradul de edem cornean postoperator.
- Creșterea calității vieții pacienților considerați cu risc crescut de decompensare endotelială prin creșterea performanței vizuale și scăderea perioadei de recuperare.
- Punerea bazelor unui sistem de calcul estimativ al pierderilor postoperatorii de DCE în funcție de caracteristicile preoperatorii ale pacienților, de duritatea cristalinului, tehnica operatorie aleasă, materialul pseudofacului și aparatul de facoemulsificare.

5. Efectele chirurgiei cataractei asupra celulelor endoteliale la pacienții diabetici

5.1. Introducere

Ipoteza de lucru

Se cunoaște că, așa cum stresul metabolic cronic întâlnit la pacienții cu DZ induce modificări la nivelul cristalinului, așa induce și alterări la nivelul CE corneene, mai mult sau mai puțin semnificative. Totodată, se pare că CE ale pacienților cu DZ răspund diferit la chirurgia cataractei comparativ cu pacienții non-diabetici.

Obiective

- Studierea efectelor hiperglicemiei cronice din DZ de tip 2 asupra endoteliului cornean
- Studierea comportamentului CE postchirurgia cataractei
- Stabilirea gradului de vulnerabilitate a endoteliului cornean la această categorie de pacienți

5.2. Material și metodă

În funcție de valorile preoperatorii ale glicemiei à jeun și hemoglobinei glicozilate am creat două grupuri de studiu, un grup alcătuit din pacienți cu DZ de tip 2 și un grup similar ca vârstă, sex, duritatea cristalinului alcătuit din pacienți non-diabetici. Aceștia au fost operați de cataractă prin facoemulsificare cu tehnica “stop and chop” și implantarea în camera posterioară a unui cristalin artificial foldabil. S-a notat EPT-ul (Effective Phacoemulsification Time -timp efectiv de facoemulsificare) utilizat intraoperator pentru fiecare pacient. Toți pacienții au urmat postoperator tratament local cu AIS și AINS. S-au notat parametrii obținuți prin fotografierea endoteliului cornean central, cu ajutorul microscopului specular Topcon SP-3000P (Topcon Corp., Tokyo, Japan), preoperator și postoperator la o săptămână și la o lună. Am introdus manual datele colectate în programul Excel, de unde au fost preluate și analizate statistic cu ajutorul programelor Excel și SPSS 19 (Statistical Package for the Social Sciences – Pachet Statistic pentru Științe Sociale 19). Pentru procesarea statistică a datelor s-au utilizat testele T Student și ANOVA (One-way analysis of variance - analiza varianței

unidirecționale). Am considerat a avea semnificație statistică, valorile $p < 0.05$ iar rezultatele obținute au fost prezentate sub forma Mediei \pm Deviației Standard.

5.3. Rezultate

Pacienții diabetici au prezentat **anterior chirurgiei cataractei** o valoare semnificativ statistică ($p < 0.05$) a CV, de $37,81 \pm 15,52 \mu\text{m}^2$ comparativ cu $28,93 \pm 6,21 \mu\text{m}^2$ înregistrată în grupul de pacienți non-diabetici. (Figura 5.8.)

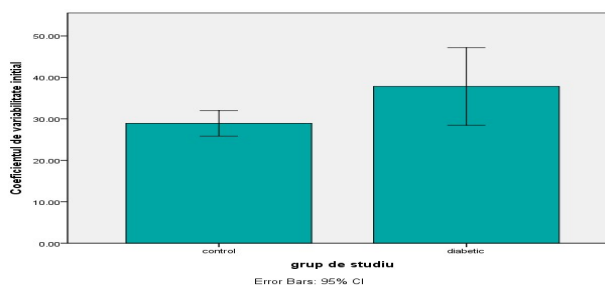


Figura 5.8. CV inițial în loturile control și diabetic

HEX a fost de $51,25 \pm 23,63 \%$ în grupul pacienților cu DZ de tip 2 și de $50,88 \pm 11,1\%$ în grupul pacienților fără DZ. Pacienții cu DZ prezintă preoperator o DCE de $2,463.07 \pm 575,30$ celule/ mm^2 iar pacienții incluși în lotul control de $2,223.11 \pm 389,14$ celule/ mm^2 . Preoperator, pacienții cu DZ prezintă o GCC ușor mai mare comparativ cu a pacienților non-diabetici însă, fără a prezenta semnificație statistică.

La o **săptămână postoperator** CV în grupul pacienților cu DZ de tip 2 se menține semnificativ statistic crescut, ($p < 0.05$). În grupul pacienților cu DZ de tip 2 am înregistrat o valoare de $43,62 \pm 10,58\%$ a HEX iar în grupul de non-diabetici avem o valoare de $51,66 \pm 14,32\%$ HEX. La o săptămână postchirurgia cataractei, DCE este de $2,142.92 \pm 477,92$ celule/ mm^2 la pacienții cu DZ și de $2,090.17 \pm 381,34$ celule/ mm^2 la pacienții non-diabetici. La o săptămână postoperator observăm creșteri de GCC similare între grupuri și nu prezintă semnificație statistică.

La o **lună postoperator** valorile CV înregistrate sunt de $36,69 \pm 13,65 \mu\text{m}^2$ la pacienții diabetici versus $29,83 \pm 5,74 \mu\text{m}^2$ la pacienții non-diabetici, fără semnificație statistică ($p > 0.05$). HEX în grupul de pacienți cu DZ de tip 2 este de $51,37 \pm 16,16\%$ și de $54,44 \pm 14,12\%$ în grupul de pacienți non-diabetici. DCE a fost de $2,172.23 \pm 478,54$ celule/ mm^2 în

grupul de pacienți cu DZ și de $2,111.66 \pm 424,23$ celule/mm² în lotul control. Valorile GCC au fost de $525,61 \pm 30.46$ μm în grupul de pacienți cu DZ de tip 2 și de $522,72 \pm 33.25$ μm în grupul de pacienți non-diabetici.

În grupul control am înregistrat o pierdere de $30,42 \pm 24,36$ celule/mm² la o săptămână de la chirurgia cataractei per secundă de EPT descărcat intraoperator iar în grupul pacienților cu DZ de tip 2 pierderea a fost de $118,91 \pm 132,94$ celule/mm² per secundă de EPT. (Figura 5.29.)

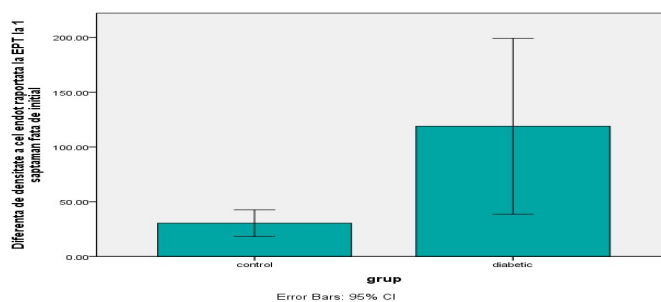


Figura 5.29. Diferența de densitate endotelială raportată la EPT la o săptămână comparativ cu inițial în ambele grupuri studiate

La o lună postoperator diferența de DCE per secundă de EPT este semnificativ statistică în ambele loturi studiate ($p < 0.001$). Astfel, în grupul pacienților cu DZ avem o pierdere de $101,57 \pm 112,54$ celule/mm² pe secundă de EPT și o pierdere de $20,92 \pm 22,56$ celule/mm² în lotul control. (Figura 5.30.)

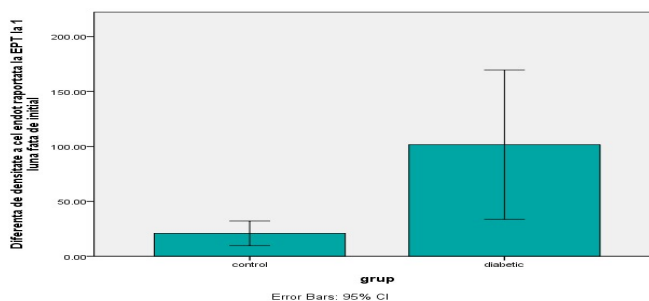


Figura 5.30. Diferența de DCE raportată la EPT la o lună comparativ cu inițial în ambele grupuri studiate

5.4. Discuții

Prezența unui CV crescut preoperator la pacienții cu DZ de tip 2 este în acord și cu alte studii din literatură. (Inoue, Kato, Inoue, Amano, & Oshika 2002a; Inoue et al. 2002b; Storr-Paulsen et al. 2014). Se pare că simpla prezență a polimegetismului indică existența unei afecțiuni capabile să determine alterări funcționale la nivelul endoteliului cornean în cazul unei traume chirurgicale, putând fi astfel considerat un factor de predicție. (Rao et al. 1979b) Pe tot parcursul analizei CV, preoperator, la o săptămână și la o lună postoperator, valorile înregistrate în grupul pacienților cu DZ de tip 2 s-au menținut ridicate comparativ cu ale pacienților fără DZ. Date similare au fost întâlnite și în literatură. (Tang et al. 2017) Contrar așteptărilor de creștere a pleomorfismului în situații de stres endotelial (Hugod et al. 2011), se pare că CE restante de la nivelul corneei centrale au reușit să-și păstreze arhitectura în ambele loturi studiate, fără alterarea funcției de barieră.

În ceea ce privește DCE, în studiul nostru nu s-au găsit diferențe semnificative între grupuri preoperator. Aceste rezultate rezonază cu datele din literatură. (Schultz et al. 1984; Storr-Paulsen, Singh, Jeppesen, Norregaard, & Thulesen 2014; Sudhir et al. 2012) La o săptămână și la o lună postoperator există pierdere de CE mai mare și semnificativ statistică în grupul pacienților cu DZ de tip 2. Valorile normale ale pahimetriei centrale înregistrate preoperator în ambele grupuri semnifică o funcție endotelială bună. Aceste rezultate sunt în concordanță cu cele prezentate și în alte studii. Postoperator CE restante au fost în număr suficient și apte să realizeze eficient funcția de deturgescență. Diferența de GCC la o lună față de inițial este ușor mai mică în grupul pacienților cu DZ, ceea ce indică o tendință de recuperare mai rapidă a funcției endoteliale în cazul pacienților din grupul control.

5.5. Concluzii

Pacienții cu DZ de tip 2 prezintă preoperator un polimegetism crescut. Prezența acestuia semnaleză o vulnerabilitate crescută a endoteliului cornean la trauma chirurgicală și fenomenele inflamatorii secundare, deoarece acesta se comportă și răspunde diferit comparativ cu pacienții non-diabetici. Astfel că, un pacient cu DZ pierde de circa cinci ori mai multe CE per secundă de EPT comparativ cu un pacient non-diabetic.

6. Efectul corticosteroizilor administrați în puls terapie asupra celulelor endoteliale corneene în chirurgia cataractei

6.1. Introducere

Ipoteza de lucru

Manevrele chirurgicale determină, în funcție de intensitate, eliberarea de factori proinflamatori. Prin administrarea topică de AINS și AIS postchirurgia cataractei, scade rata de pierdere a CE și crește capacitatea de funcționare a pompelor membranare. În practica medicală, asocierea postoperatorie a celor două tipuri de medicații antiinflamatorii s-a dovedit eficientă.

Obiective generale

Stabilirea eficacității și beneficiilor pulsterapiei cu Metilprednisolon sodiu acetat asupra endoteliului cornean la pacienții operați de cataractă prin facoemulsificare.

Stabilirea oportunității utilizării pulsterapiei cu Metilprednisolon sodiu acetat ca terapie adjuvantă în cazurile de cataractă dură, aflate la risc de decompensare endotelială permanentă, devenind astfel un tratament adjuvant viabil cu rol de a maximaliza șansele de supraviețuire și funcționare ale CE.

6.2. Pacienți și metode

Am creat patru grupuri de studiu, un grup alcătuit din pacienți cu cataractă dură și tratament local (CDTL), un grup alcătuit din pacienți cu cataractă dură și tratament local și general (CDTGL), un grup format din pacienți cu cataractă moale și tratament local (CMTL) și un grup format din pacienți cu cataractă moale și terapie topică și sistemică. (CMTGL).

Tehnica chirurgicală aplicată a fost de “stop and chop”, cataracta dură a fost considerată la un EPT mai mare de 10 secunde și moale la un EPT mai mic de 10 secunde. Tratamentul topic a constat în administrarea de AIS, iar cel sistemic a presupus administrarea a 500 mg/zi, în pulsterapie, timp de 3 zile consecutiv, începând din ziua intervenției chirurgicale, de Metilprednisolon sodiu acetat (Solu-Medrol). Pentru fiecare pacient am realizat MS preoperator, la o săptămână și la o lună postoperator, la același ochi la care a avut

loc intervenția chirurgicală. Am introdus manual datele colectate în programul Excel, de unde au fost preluate și analizate statistic cu ajutorul programelor Excel și SPSS 19. Pentru procesarea statistică a datelor s-au utilizat linia de tendințe, testele T Student și ANOVA. Am considerat a avea semnificație statistică, valorile $p < 0.05$ iar rezultatele obținute au fost prezentate sub forma Mediei \pm Deviației Standard.

6.3. Rezultate

La o săptămână postoperator comparativ cu valorile inițiale, observăm o pierdere procentuală de **DCE** semnificativ statistică și anume, $32,29 \pm 13,02$ % celule/mm² în grupul CDTGL ($p < 0,01$), $22,19 \pm 4,92$ % celule/mm² în grupul CDTL ($p < 0,01$), $17,15 \pm 19,47$ % celule/mm² ($p < 0,05$) în grupul CMTL și $15,05 \pm 13,32$ % celule/mm² ($p = 0,01$) în grupul CMTGL. La o lună postoperator când se instalează procesele de redistribuție, avem o pierdere procentuală de $20,89 \pm 10,04$ % celule/mm² în grupul CDTGL ($p < 0,01$), de $21,87 \pm 4,07$ % celule/mm² în grupul CDTL ($p < 0,01$), de $15,29 \pm 12,26$ % celule/mm² în grupul CMTL ($p < 0,01$) și de $11,43 \pm 12,03$ % celule/mm² în grupul CMTGL ($p < 0,05$). (Figura 6.8.)

La analiza întregului lot cu tratament local (CDTL și CMTL) versus lotul cu tratament local și general (CDTGL și CMTGL), avem la o lună postoperator o îmbunătățire în cel din urmă, semnificativ statistică ($p < 0,05$).

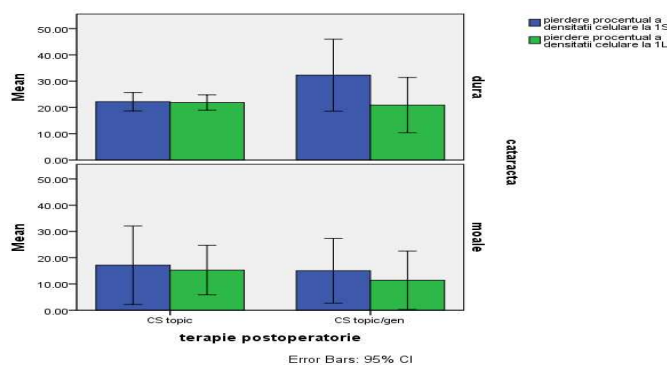


Figura 6.8. Valorile medii și deviația standard ale pierderilor procentuale de CE înregistrate la o săptămână și la o lună postoperator

Scăderea medie de DCE la o săptămână postoperator, per secundă de EPT utilizată intraoperator, este de $58,81 \pm 64,79$ celule/mm² sau $2,95 \pm 3,59$ % celule/ mm² în grupul de pacienți cu tratament topic și mai mare decât $50,55 \pm 35,97$ celule/mm² sau $2,48 \pm 2,53$ % celule/ mm² în grupul de pacienți cu tratament topic și sistemic. La o lună postoperator se mențin proporțiile astfel, în primul grup pierderea înregistrată este de $54,72 \pm 51,73$ celule/mm² sau $2,73 \pm 2,85$ % celule/ mm² versus $35,37 \pm 33,68$ celule/mm² sau $1,74 \pm 2,22$ % celule/ mm². (Figura 6.10.)

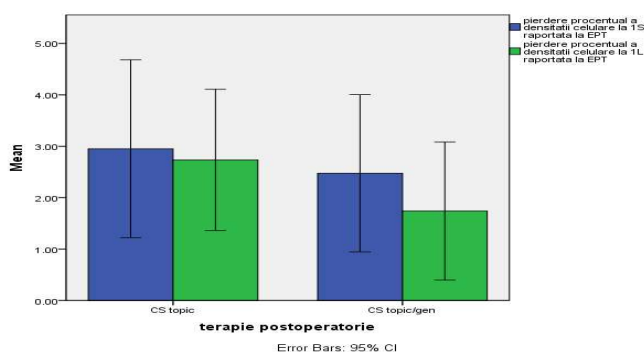


Figura 6.10. Valorile medii și deviațiile standard ale pierderilor procentuale de DCE la o săptămână și la o lună postoperator, raportate la EPT

La o săptămână postoperator identificăm o pierdere procentuală a DCE, raportată la EPT și la valoarea inițială, de $1,89 \pm 0,65$ % celule/mm² în grupul de pacienți cu cataractă dură și tratament topic versus $1,64 \pm 0,5$ % celule/mm² în grupul de pacienți cu cataractă dură și corticosteroizi administrați topic și sistemic. La o lună postoperator, prin redistribuție, valorile ajung la $1,81 \pm 0,46$ % celule/mm² versus $1,03 \pm 0,26$ % celule/mm² și sunt semnificativ statistice în ambele grupuri.

La o săptămână postoperator, avem o creștere a GCC, valoarea cea mai mare de $573,50 \pm 18,50$ μ este în grupul CDTL și cea mai scăzută, de $533 \pm 30,85$ μ, în grupul CMTGL. Pentru ca la o lună postoperator, valorile să se apropie de cele inițiale. Cea mai mare scădere a pahimetriei la o lună se regăsește în grupurile de pacienți cu cataractă moale, iar în funcție de tratamentul administrat, pacienții cu tratament local au prezentat diferențele cele mai mari.

6.4. Discutii

La o săptămână și la o lună postoperator, cele mai mari pierderi semnificativ statistice de DCE, le-am întâlnit în grupurile de pacienți cu cataractă dură, ceea ce subliniază că există o legătură direct proporțională între duritatea cristalinului, nivelul de energie descărcat intraoperator și numărul de CE pierdute.

În ambele grupuri studiate, pe lângă faptul că adăugarea de corticosteroizi sistemic determină o pierdere mai mică de CE în valoare raportată la EPT, atât la o săptămână cât și la o lună postoperator, deci o protecție mai bună a rezervei endoteliale, observăm la o lună și o bună instalare a fenomenelor de redistribuție posttrauma chirurgicală precum și, creșterea funcției celulelor restante.

Indiferent de duritatea cataractei și modalitatea de tratament, valorile postoperatorii ale DCE se mențin sub cele inițiale. Această observație este în acord și cu alte studii realizate în literatură.

Evaluarea de la o lună arată în toate grupurile, o scădere semnificativ statistică a GCC față de examinarea de la o săptămână, semn al îmbunătățirii activității pompelor de la nivelul endoteliului cornean.

6.5. Concluzii

Pacienții cu cataractă dură au avut o rată mai mare de pierdere de CE postoperator decât pacienții cu cataractă moale, la care se adaugă creșterea polimorfismului și a polimegetismului. Gradul de scădere a DCE se corelează pozitiv cu pahimetria.

La o lună postoperator, pierderea de DCE a fost mai mare în grupul de pacienți cărora li s-a administrat doar tratament topic comparativ cu pacienții care au urmat tratament local și sistemic cu corticosteroizi. În ambele grupuri pierderile au fost semnificativ statistice.

Având în vedere beneficiile minime în grupul de pacienți cu cataractă moale și riscul de apariție a unor eventuale reacții adverse asociate terapiei sistemice cu corticosteroizi, recomandăm utilizarea acestui tratament doar în cazuri atent selecționate de cataractă dură la care riscurile de decompensare endotelială sunt mari sau când se dorește modularea răspunsului inflamator așteptat.

7. Efectele inflamației și ale tratamentului antiinflamator asupra endoteliului cornean în uveita anterioară acută

7.1. Introducere

Ipoteza de lucru

Inflamația intraoculară de la nivelul polului anterior, prin răspunsul complex umoral și celular inițiat, determină distrucție tisulară alterând CE din punct de vedere structural și funcțional. Datele actuale existente în literatura de specialitate sunt însă incomplete, contradictorii și nu abordează subiectul din perspectiva prezentului studiu.

Obiective

- Studiul vulnerabilității endoteliului cornean în prezența fenomenelor inflamatorii din polul anterior.
- Observarea comportamentului endoteliului cornean în prezența proceselor inflamatorii în funcție de durata procesului inflamator.
- Urmărirea efectului tratamentului topic antiinflamator asupra CE.
- Compararea datelor obținute de la ochiul cu uveită anterioară acută (UAA) cu cele ale ochiului congener.
- Instuirea unor principii de abordare a inflamației intraoculare pe baza observațiilor obținute.

7.2. Pacienți și metode

În studiu au fost incluși 27 de pacienți Caucazieni aflați la primul episod de uveită anterioară acută unilaterală (UAAU). Ulterior, acești pacienți cu UAA au fost împărțiți în două grupuri, în funcție de momentul prezentării în departamentul nostru. Primul grup, denumit grupul uveitic cu tratament inițiat precoce (GUTP), a fost format din 12 pacienți care s-au prezentat la medic și au urmat tratament local de la primele semne și simptome de boală. Al doilea grup, denumit grupul uveitic cu tratament inițiat tardiv (GUTT), a fost format din 15 pacienți care s-au prezentat la medic și au început administrarea tratamentului local la mai mult de cinci zile de la debutul simptomatic al afecțiunii. Pentru toți pacienții înrolați, s-a practicat analiza endoteliului cornean central, la ambii ochi, cu ajutorul microscopului

specular Tomey EM-3000, de către același investigator, la două săptămâni de la inițierea planului terapeutic local. Acesta a constatat în administrarea de patru ori pe zi a colirurilor cu uz oftalmic ce conțin midriatice, AIS și AINS. Din studiu s-au exclus pacienții cu intervenții oculare chirurgicale în antecedente sau alte afecțiuni oculare care puteau influența analiza endoteliului cornean atât pentru ochiul uveitic cât și pentru ochiul congener. Am introdus manual datele colectate în programul Excel, de unde au fost preluate și analizate statistic cu ajutorul programelor Excel și SPSS 19. Pentru procesarea statistică a datelor s-au utilizat linia de tendințe, testele T Student și ANOVA. Am considerat a avea semnificație statistică, valorile $p < 0.05$ iar rezultatele obținute au fost prezentate sub forma Mediei \pm Deviației Standard.

7.3. Rezultate

În GUTP am regăsit un polimorfism mai mare și statistic nesemnificativ la nivelul ochiului cu UAA. În ambele grupuri observăm scăderea semnificativ statistică ($p < 0,01$) a DCE la ochiul uveitic, comparativ cu ochiul congener, mai importantă însă în GUTT. (Figura 7.5.)

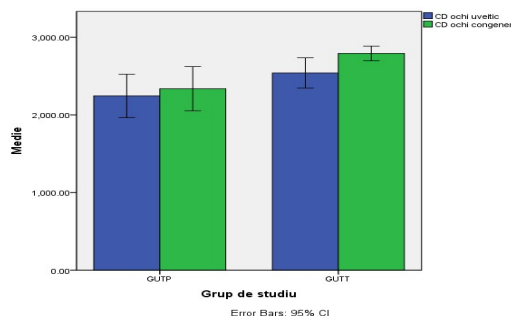


Figura 7.5. DCE înregistrată la ochii uveitici și la ochii congenieri în ambele grupuri studiate

În GUTT s-au observat creșteri atât ale polimorfismului (procentul de HEX este cu $19,95 \pm 29,66$ % mai mic) cât și ale polimegetismului (CV este mai mare cu $23,48 \pm 39,57$ %) la nivelul ochilor cu uveită comparativ cu ochii neafectati, iar aceste valori sunt semnificativ statistice ($p < 0,01$). (Figura 7.6., Figura 7.7.)

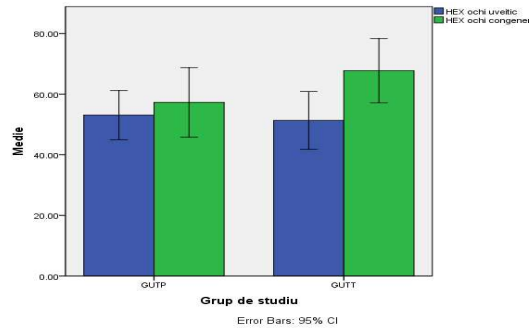


Figura 7.6. Reprezentarea grafică a procentului de HEX înregistrat la nivelul ochiului uveitic și ochiului congener, în ambele grupuri studiate

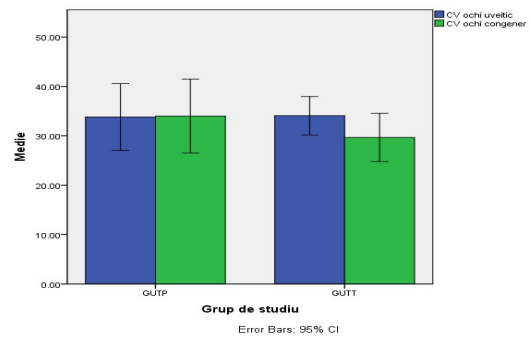


Figura 7.7. Reprezentarea grafică a CV înregistrat la nivelul ochiului uveitic și ochiului congener, în ambele grupuri studiate

În ceea ce privește GCC, în GUTP valorile de la nivelul ochiului uveitic sunt similare celor ale ochiului congener, însă în GUTT întâlnim o creștere semnificativ statistică $p < 0,05$, ceea ce indică o scădere a activității pompei endoteliale. (Figura 7.8.)

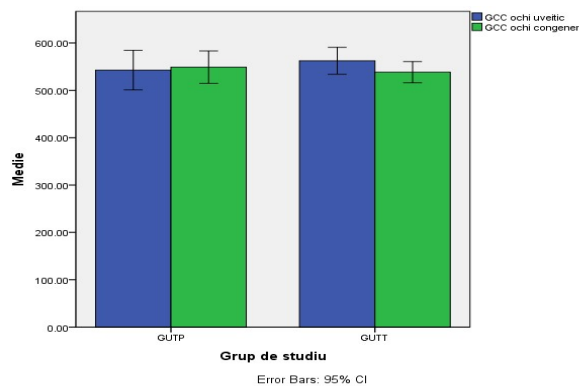


Figura 7.8. GCC înregistrată la nivelul ochiului uveitic și ochiului congener, în ambele grupuri studiate

7.4. Discutii

Pacientii cu UAAU și prezentare tardivă au prezentat mai multe alterări structurale și funcționale, statistic semnificative față de cei ce s-au prezentat la medic de la primele semne și simptome. Prin urmare, judecând în funcție de momentul inițierii tratamentului topic, putem spune ca fenomenele inflamatorii din UAA sunt capabile să inducă disfuncție endotelială direct proportional cu intensitatea și durata acestora. Faptul că factorii inflamatori sunt direct responsabili de modificările endoteliale înregistrate este explicat de constatarea reducerii intensității alterărilor determinate, cu o conservare mai bună a CE sub acțiunea imediată a medicației antiinflamatorii. AIS și AINS acționează direct asupra proceselor inflamatorii prin scăderea eliberării de mediatori ai inflamației.

7.5 Concluzii

Pacienții care întârzie prezentarea la medic și astfel inițierea tratamentului, au o pierdere de aproximativ 2,5 ori mai mare de CE comparativ cu pacienții al căror tratament este inițiat în primele cinci zile de la debutul semnelor și simptomelor oculare. Celulele restante prezintă polimorfism și polimegetism crescute. Modificărilor morfologice li se asociază scăderea funcției de pompă evidențiată prin creșterea valorilor pahimetrii.

Un tratament inițiat precoce cu antiinflamatoare topice limitează intensitatea, durata și progresia proceselor de distrucție tisulară asociate proceselor inflamatorii de la nivelul polului anterior.

8. Concluzii si contribuții personale

8.1. Concluzii

Stresul asociat hiperglicemiei cronice influențează morfologia endoteliul cornean. Dintre toți parametrii înregistrați preoperator, CV a fost mai crescut la pacienții cu DZ, ceea ce indică existența unui polimegetism mai mare, comparativ cu non-diabeticii. Nu s-au identificat diferențe semnificativ statistice în ceea ce privește DCE, HEX sau GCC. Prin urmare, funcțiile de barieră și de pompă ale endoteliului funcționează la parametrii optimi.

Chirurgia cataractei determină o pierdere accelerată de CE în toate grupurile de studiu însă, pacienții cu cataractă dură și un EPT înregistrat intraoperator mai mare de 10 s, pierd mai multe CE comparativ cu pacienții cu cataractă moale și un EPT mai mic de 10 s. Pierderea fiind direct proporțională cu durata ultrasunetelor descărcate.

Asocierea DZ de tip 2 determină o pierdere suplimentară, de până la cinci ori mai mare de CE. Celulele restante au realizat o bună deturgescență corneană în grupul diabetic, valorile ușor crescute ale pahimetriei de la o lună postoperator fiind ne semnificative statistic, însă ușor mai mari comparativ cu lotul control, ceea ce indică o tendința de recuperare mai lentă.

Indiferent de duritatea cristalinului, pacienții cărora li s-a administrat și terapie sistemică cu Metilprednisolon sodiu acetat, 500 mg/zi, în puls terapie, începând din aceeași zi cu intervenția chirurgicală, timp de trei zile, au prezentat o pierdere de aproximativ 1.5 ori mai mică de CE/1 s EPT, comparativ cu pacienții care au urmat doar tratament local cu AIS și AINS. De asemenea, pacienții cu tratament topic și general, au prezentat la o lună o recuperare mai bună comparativ cu pacienții care au urmat doar terapie locală. Această terapie adjuvantă s-a dovedit eficientă în scăderea stresului asupra endoteliului cornean și o recomandăm în cazurile atent selecționate de pacienți cu cataractă dură, fără contraindicații în ceea ce privește administrarea sistemică de corticoizi, ce prezintă o rezervă endotelială scăzută preoperator, exprimată nu numai sub forma unui număr efectiv scăzut de celule, ci și cu polimegetism și polimorfism crescute.

Intraoperator are loc o pierdere acută de CE secundară traumei chirurgicale iar procesele inflamatorii care se declanșează în mod natural, reactiv, intensifică procesele

declanșate de factorul principal, traduse prin creșterea procentului de CE care își pierd viabilitatea, creșterea polimorfismului și polimegetismului și scăderea funcției celulelor restante.

Prin faptul ca pacienții cu DZ de tip 2 prezintă polimegetism crescut preoperator, o rată mai mare de pierdere celulară postchirurgical, imposibilitatea asocierii terapiei sistemice cu corticoizi precum și posibilitatea asocierii unei cataracte dure considerăm acești pacienți ca fiind vulnerabili și la risc de decompensare endotelială. În vederea creșterii performanței vizuale și scăderea perioadei de recuperare postchirurgia cataractei prin facoemulsificare considerăm utilă realizarea intervenției chirurgicale la pacienții cu DZ încă din stadiile incipiente de evoluție în vederea scăderii stresului asupra endoteliului cornean.

Evaluând impactul inflamației independent de trauma chirurgicală, am observat că există o relație de directă proporționalitate între magnitudinea factorului inflamator și efectele asupra endoteliului cornean. Prin urmare, pentru toți pacienții, postoperator considerăm important obținerea unui control bun și rapid al inflamației prin tratamentul antiinflamator, menținut până la dispariția completă a oricărui semn de inflamație intraoculară în vederea creșterii viabilității CE și performanța celor restante. Având în vedere aceste observații, considerăm util în practica medicală, ca în cadrul evaluării de la o lună postoperator să se analizeze GCC, ca marker al funcției endoteliale, pe care să o comparăm cu valoarea inițială, evitând astfel sistarea timpurie a medicației topice antiinflamatorii.

Coroborând rezultatele studiilor, găsim importantă identificarea preoperatorie a pacienților vulnerabili precum și controlul factorului inflamator cheie.

8.2. Contribuții personale și direcții de studiu

Având în vedere rezultatele contradictorii din literatură, o contribuție personală o constituie semnalarea prezenței vulnerabilității endoteliale crescute la pacienții cu DZ de tip 2. (Capitolul 5, Subcapitolul 5.5., Paragraful 1) Motiv pentru care, recomandăm ca programarea pentru intervenția chirurgicală să se facă pentru pacienții cu DZ de tip 2 încă din stadiile incipiente spre moderate ale opacităților cristaliniene precum și, testarea preoperatorie a tuturor pacienților în vederea verificării statusului glicemic.

Asocierea terapeutică de Metilprednisolon sodiu acetat în puls terapie, ca tratament antiinflamator adjuvant postchirurgia cataractei, a fost abordată pentru prima dată în literatură în cadrul acestei lucrări, neexistând studii similare anterioare. Astfel, am arătat că această formă de terapie adjuvantă aduce beneficii indiferent de duritatea cristalinului, însă îl recomandăm doar în cazurile selecționate de cataractă dură cu rezervă endotelială scăzută, ca factor protector al endoteliului scăzând vulnerabilitatea celulelor și astfel incidența decompensărilor corneene. (Capitolul 6, Subcapitolul 6.5., Paragrafele 3 și 4)

Studiul viabilității și funcției CE sub tratament local antiinflamator la pacienții aflați la primul episod de inflamație intraoculară de cauză nechirurgicală și raportarea la ochiul congener, reprezintă o abordare diferită, date similare nefiind întâlnite în literatură.

Ca urmare a cercetării acestui subiect, am căutat să obiectivăm efectele negative ale mecanismelor inflamatorii asupra morfologiei și funcției endoteliului cornean precum și importanța instituirii unei terapii antiinflamatorii locale cât mai precoce, indiferent de factorul declanșator al inflamației, în vederea minimalizării acestora. (Capitolul 7, Subcapitolul 7.5., Paragraful 3)

Temele abordate și concluziile obținute în această teză au dat naștere la două proiecte mai ample, aflate în lucru în acest moment.

I. **ECDL CALCULATOR** (Endothelial Cells Density Calculator) este un program ce presupune realizarea unui calcul preoperator estimativ al pierderilor de DCE la care să ne așteptăm postchirurgia cataractei prin facoemulsificare și implant de cristalin artificial foldabil de cameră posterioară.

Avantajele cunoașterii pierderilor estimative de DCE preoperator conferă:

O predictibilitate mai mare a rezultatului postoperator și setarea așteptărilor, o mai bună informare a pacienților vulnerabili asupra riscurilor de decompensare endotelială, stabilirea oportunității tratamentului chirurgical, posibilitatea stabilirii unui plan operator, ajustarea terapiei postoperatorii precum și o măsură adițională de protecție a medicului curant în fața eventualelor nemulțumiri ale pacienților în fața rezultatului postoperator.

ECDL Calculator are la bază date legate

- 1) De pacient: Vârsta, prezența sau absența DZ, DCE inițială, gradul nuclear al cataractei având la bază bine-cunoscutul LOCS III
- 2) De manevrele intraoperatorii: Tehnica chirurgicală și tipul de aparat de facoemulsificare utilizat – EPT este utilizat de Sistemul Bausch & Lomb Stellaris Elite și CDE (Cumulative Dissipated Energy - energia disipată cumulativ) de către Sistemul Alcon Centurion Vision.
- 3) De materialul pseudofacului – hidrofil sau hidrofob

În vederea definirii soft-ului ECDL Calculator continuăm cercetarea astfel:

- Urmărim pacienții deja incluși în studiu cărora li s-a practicat facoemulsificare prin tehnica stop and chop, și implantarea unui cristalin artificial de cameră posterioară, utilizând Sistemul Bausch & Lomb Stellaris Elite
- Includem noi pacienți, utilizând și tehnicile Divide and Conquer și Vertical Phaco Chop, în vederea creșterii preciziei legate de numărul de CE care se pierd per secundă de EPT descarcată intraoperator.
- Realizăm un studiu nou în care să includem pacienți cu cataracta operați cu Sistemul Alcon Centurion Vision urmărind pierderea de CE per secundă de CDE, utilizând una din cele trei tehnici enunțate anterior.
- Analizăm anual acești pacienți postoperator, pe o perioadă de 2 ani, prin MS în vederea stabilirii ratei de pierdere a CE.
- Dorim includerea în studiu și a pacienților cu cataractă ce au prezentat preoperator un număr mai mic de 1500 celule/mm².
- Luăm în calcul analiza cu ajutorul MS a întregii corneei și nu doar a corneei centrale.

II. Realizarea unui registru național asupra caracteristicilor endoteliului cornean cu ajutorul microscopului specular Tomey EM-3000, cunoscându-se faptul ca există diferențe interrasiale.

ECDL CALCULATOR

Nume pacient:

Data nașterii:

Statusul glicemic: DZ

DCE: celule/mm²

Materialul pseudofacului: hidrofil

hidrofob

Gradul Nuclear	Tehnica chirurgicală	Aparat de facoemulsificare
NO ₁ NC ₁	Divide and conquer	Sistemul Bausch & Lomb Stellaris Elite
NO ₂ NC ₂	Stop and chop	Sistemul Alcon Centurion Vision
NO ₃ NC ₃	Vertical phaco chop	
NO ₄ NC ₄		
NO ₅ NC ₅		
NO ₆ NC ₆		

NC = nuclear color – culoarea nucleului

NO - nuclear opalescence - opalescența nucleară

DCE estimată = DCE inițială – Nr. celule endoteliale pierdute/1s (EPT sau CDE) – Rata de pierdere a celulelor endoteliale % /an x Sperața de viață

Bibliografie selectivă

(din cadrul celor 147 de note bibliografice ale tezei de doctorat)

Afandi, B., Toumeh, M.S., & Saadi, H.F. 2003. Cushing's syndrome caused by unsupervised use of ocular glucocorticoids. *Endocr.Pract.*, 9, (6) 526-529 available from: PM:14715481

Bahn, C.F., Glassman, R.M., MacCallum, D.K., Lillie, J.H., Meyer, R.F., Robinson, B.J., & Rich, N.M. 1986. Postnatal development of corneal endothelium. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.*, 27, (1) 44-51 available from: PM:3941037

Bednarz, J., Rodokanaki-von, S.A., & Engelmann, K. 1998. Different characteristics of endothelial cells from central and peripheral human cornea in primary culture and after subculture. *In Vitro Cell Dev.Biol.Anim*, 34, (2) 149-153 available from: PM:9542652

Bergmanson, J.P. 1992. Histopathological analysis of corneal endothelial polymegethism. *Cornea*, 11, (2) 133-142 available from: PM:1582216

Bourne, W.M., Nelson, L.R., & Hodge, D.O. 1994. Continued endothelial cell loss ten years after lens implantation. *Ophthalmology*, 101, (6) 1014-1022 available from: PM:8008341

Charkoudian, L.D., Ying, G.S., Pujari, S.S., Gangaputra, S., Thorne, J.E., Foster, C.S., Jabs, D.A., Levy-Clarke, G.A., Nussenblatt, R.B., Rosenbaum, J.T., Suhler, E.B., & Kempen, J.H. 2012. High-dose intravenous corticosteroids for ocular inflammatory diseases. *Ocul.Immunol.Inflam.*, 20, (2) 91-99 available from: PM:22409561

Daus, W., Voleker, H.E., & Meysen, H. 1987. [Effect of the cataract incision site on postoperative regional endothelial cell distribution]. *Fortschr.Ophthalmol.*, 84, (6) 592-595 available from: PM:3436589

- Eghrari, A.O., Riazuddin, S.A., & Gottsch, J.D. 2015. Overview of the Cornea: Structure, Function, and Development. *Prog.Mol.Biol.Transl.Sci.*, 134, 7-23 available from: PM:26310146
- Fischbarg, J. 2003. On the mechanism of fluid transport across corneal endothelium and epithelia in general. *J.Exp.Zool.A Comp Exp.Biol.*, 300, (1) 30-40 available from: PM:14598383
- Gaynes, B.I. & Onyekwuluje, A. 2008. Topical ophthalmic NSAIDs: a discussion with focus on nepafenac ophthalmic suspension. *Clin.Ophthalmol.*, 2, (2) 355-368 available from: PM:19668727
- George, R., Rupauliha, P., Sripriya, A.V., Rajesh, P.S., Vahan, P.V., & Praveen, S. 2005. Comparison of endothelial cell loss and surgically induced astigmatism following conventional extracapsular cataract surgery, manual small-incision surgery and phacoemulsification. *Ophthalmic Epidemiol.*, 12, (5) 293-297 available from: PM:16272048
- Geroski, D.H., Kies, J.C., & Edelhauser, H.F. 1984. The effects of ouabain on endothelial function in human and rabbit corneas. *Curr.Eye Res.*, 3, (2) 331-338 available from: PM:6705557
- Gharaee, H., Kargozar, A., Daneshvar-Kakhki, R., Sharepour, M., & Hassanzadeh, S. 2011a. Correlation between Corneal Endothelial Cell Loss and Location of Phacoemulsification Incision. *J.Ophthalmic Vis.Res.*, 6, (1) 13-17 available from: PM:22454701
- Hamilton, A.M. 1977. Management of diabetic retinopathy. *Trans.Ophthalmol.Soc.U.K.*, 97, (4) 494-496 available from: PM:281779
- Harizi, H., Corcuff, J.B., & Gualde, N. 2008. Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. *Trends Mol.Med.*, 14, (10) 461-469 available from: PM:18774339
- Hatou, S., Yamada, M., Akune, Y., Mochizuki, H., Shiraishi, A., Joko, T., Nishida, T., & Tsubota, K. 2010. Role of insulin in regulation of Na⁺-/K⁺-dependent ATPase activity and

pump function in corneal endothelial cells. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.*, 51, (8) 3935-3942 available from: PM:20335606

Hatou, S., Yamada, M., Mochizuki, H., Shiraishi, A., Joko, T., & Nishida, T. 2009. The effects of dexamethasone on the Na,K-ATPase activity and pump function of corneal endothelial cells. *Curr. Eye Res.*, 34, (5) 347-354 available from: PM:19401877

Hayashi, K., Yoshida, M., Manabe, S., & Hirata, A. 2011. Cataract surgery in eyes with low corneal endothelial cell density. *J. Cataract Refract. Surg.*, 37, (8) 1419-1425 available from: PM:21684110

Hong, S.B., Lee, K.W., Handa, J.T., & Joo, C.K. 2000. Effect of advanced glycation end products on lens epithelial cells in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 275, (1) 53-59 available from: PM:10944440

Hugod, M., Storr-Paulsen, A., Norregaard, J.C., Nicolini, J., Larsen, A.B., & Thulesen, J. 2011. Corneal endothelial cell changes associated with cataract surgery in patients with type 2 diabetes mellitus. *Cornea*, 30, (7) 749-753 available from: PM:21317781

Inoue, K., Kato, S., Inoue, Y., Amano, S., & Oshika, T. 2002a. The corneal endothelium and thickness in type II diabetes mellitus. *Jpn. J. Ophthalmol.*, 46, (1) 65-69 available from: PM:11853716

Inoue, K., Tokuda, Y., Inoue, Y., Amano, S., Oshika, T., & Inoue, J. 2002b. Corneal endothelial cell morphology in patients undergoing cataract surgery. *Cornea*, 21, (4) 360-363 available from: PM:11973383

Janson, B.J., Alward, W.L., Kwon, Y.H., Bettis, D.I., Fingert, J.H., Provencher, L.M., Goins, K.M., Wagoner, M.D., & Greiner, M.A. 2018. Glaucoma-associated corneal endothelial cell damage: A review. *Surv. Ophthalmol.*, 63, (4) 500-506 available from: PM:29146208

Kessel, L., Tendal, B., Jorgensen, K.J., Erngaard, D., Flesner, P., Andresen, J.L., & Hjortdal, J. 2014. Post-cataract prevention of inflammation and macular edema by steroid and nonsteroidal anti-inflammatory eye drops: a systematic review. *Ophthalmology*, 121, (10) 1915-1924 available from: PM:24935281

- Krupin, T., Mandell, A.I., Podos, S.M., & Becker, B. 1976. Topical corticosteroid therapy and pituitary-adrenal function. *Arch.Ophthalmol.*, 94, (6) 919-920 available from: PM:938282
- Laing, R.A., Sandstrom, M.M., & Leibowitz, H.M. 1979. Clinical specular microscopy. I. Optical principles. *Arch.Ophthalmol.*, 97, (9) 1714-1719 available from: PM:475644
- Lemmela, S., Forsman, E., Onkamo, P., Nurmi, H., Laivuori, H., Kivela, T., Puska, P., Heger, M., Eriksson, A., Forsius, H., & Jarvela, I. 2009. Association of LOXL1 gene with Finnish exfoliation syndrome patients. *J.Hum.Genet.*, 54, (5) 289-297 available from: PM:19343041
- Matsuda, M., Yee, R.W., & Edelhauser, H.F. 1985. Comparison of the corneal endothelium in an American and a Japanese population. *Arch.Ophthalmol.*, 103, (1) 68-70 available from: PM:3977679
- Rao, G.N., Shaw, E.L., Arthur, E.J., & Aquavella, J.V. 1979a. Endothelial cell morphology and corneal deturgescence. *Ann.Ophthalmol.*, 11, (6) 885-899 available from: PM:496182
- Scherrer, K.S., Weitz, M., Eisenack, J., Truffer, B., & Konrad, D. 2015. Cushing syndrome after bilateral lensectomy. *Eur.J.Pediatr.*, 174, (3) 399-401 available from: PM:25535172
- Schlotzer-Schrehardt, U.M., Dorfler, S., & Naumann, G.O. 1993. Corneal endothelial involvement in pseudoexfoliation syndrome. *Arch.Ophthalmol.*, 111, (5) 666-674 available from: PM:8489451
- Schultz, R.O., Matsuda, M., Yee, R.W., Edelhauser, H.F., & Schultz, K.J. 1984. Corneal endothelial changes in type I and type II diabetes mellitus. *Am.J.Ophthalmol.*, 98, (4) 401-410 available from: PM:6486211
- Spalton, D. & Koch, D. 2000. The constant evolution of cataract surgery. *BMJ*, 321, (7272) 1304 available from: PM:11090501
- Storr-Paulsen, A., Singh, A., Jeppesen, H., Norregaard, J.C., & Thulesen, J. 2014. Corneal endothelial morphology and central thickness in patients with type II diabetes mellitus. *Acta Ophthalmol.*, 92, (2) 158-160 available from: PM:23387877

Sudhir, R.R., Raman, R., & Sharma, T. 2012. Changes in the corneal endothelial cell density and morphology in patients with type 2 diabetes mellitus: a population-based study, Sankara Nethralaya Diabetic Retinopathy and Molecular Genetics Study (SN-DREAMS, Report 23). *Cornea*, 31, (10) 1119-1122 available from: PM:22357387

Tang, Y., Chen, X., Zhang, X., Tang, Q., Liu, S., & Yao, K. 2017. Clinical evaluation of corneal changes after phacoemulsification in diabetic and non-diabetic cataract patients, a systematic review and meta-analysis. *Sci.Rep.*, 7, (1) 14128 available from: PM:29074989

Tomaszewski, B.T., Zalewska, R., & Mariak, Z. 2014. Evaluation of the endothelial cell density and the central corneal thickness in pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *J.Ophthalmol.*, 2014, 123683 available from: PM:25105017

Urquhart, J.E., Biswas, S., Black, G.C., Munier, F.L., & Sutphin, J. 2006. Exclusion of COL8A1, the gene encoding the alpha2(VIII) chain of type VIII collagen, as a candidate for Fuchs endothelial dystrophy and posterior polymorphous corneal dystrophy. *Br.J.Ophthalmol.*, 90, (11) 1430-1431 available from: PM:17057173

Walkow, T., Anders, N., & Klebe, S. 2000. Endothelial cell loss after phacoemulsification: relation to preoperative and intraoperative parameters. *J.Cataract Refract.Surg.*, 26, (5) 727-732 available from: PM:10831904

Whiting, D.R., Guariguata, L., Weil, C., & Shaw, J. 2011. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res.Clin.Pract.*, 94, (3) 311-321 available from: PM:22079683

Yee, R.W., Matsuda, M., Schultz, R.O., & Edelhauser, H.F. 1985a. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr.Eye Res.*, 4, (6) 671-678 available from: PM:4028790

Yin, H., Zhou, Y., Zhu, M., Hou, S., Li, Z., Zhong, H., Lu, J., Meng, T., Wang, J., Xia, L., Xu, Y., & Wu, Y. 2013. Role of mitochondria in programmed cell death mediated by arachidonic acid-derived eicosanoids. *Mitochondrion.*, 13, (3) 209-224 available from: PM:23063711

Lucrări științifice publicate

a) Lucrări publicate în cărți în cadrul cercetării doctorale (autor principal)

1. **Ghita, A.C.**, Ghita, A.M., Alexandrescu C., & Popa, C.A. 2015. The effects of inflammation on viability and function of corneal endothelium. Proc. Monduzzi Editoriale, Actualities in Diagnosis and Treatment in Ophthalmology, ISBN 9788865210826.

https://www.monduzzieditoriale.it/wp-content/uploads/2017/03/Ophtalmology_IX-Regional-Congress_Table-of-Contents.pdf

b) Lucrări publicate în reviste de specialitate în cadrul cercetării doctorale (autor principal)

1. **Ghita, A.C.**, Ghita, A.M., Noaghi, M., & Popa, C.A. 2014. The corticosteroids effect on corneal endothelial cell in pulse therapy, specific to the cataract surgery. J.Med.Life, 7 Spec No. 4, 46-53 available from: PM:27057248. ISSN 1844-122x.

<https://www.medandlife.ro/special-issues/880-the-corticosteroids-effect-on-corneal-endothelial-cell-in-pulse-therapy-specific-to-the-cata-pdf/viewdocument.html>

2. **Ghita, A.C.**, Ghita, A.M., Alexandrescu C. 2015. The effects of cataract surgery on endothelial cells in diabetic patients. Proc. Rom. Acad., Series B: Chemistry, Life Sciences and Geoscience, 17 (Supplement 1). ISSN 2068-8245.

https://academiaromana.ro/sectii2002/proceedingsChemistry/doc2015-3s/art27_100.pdf

3. **Ghita, A.C.**, Ilie, L., & Ghita, A.M. 2019. The effects of inflammation and anti-inflammatory treatment on corneal endothelium in acute anterior uveitis. Rom.J.Ophthalmol.,

63, (2) 161-165 available from: PM:31334395. ISSN 2457 – 4325. http://rjo.ro/wp-content/uploads/2018/07/images_rjo_issue2_2019_9.Mihai_Ghita_RJO_2019.pdf

c) Prezentări orale la manifestări științifice

1. **Ghita, A.C.**, Ghita, A.M., Alexandrescu C., & Popa, C.A. The effects of inflammation on viability and function of corneal endothelium. Lucrare prezentată în cadrul The IXth Regional Conference of Ophthalmology with International Participation, 23-25 Aprilie 2015, Timișoara

d) Postere în cadrul cercetării doctorale

1. **Ghita, A.C.**, Ghita, A.M., Alexandrescu C. The effects of cataract surgery on endothelial cells in diabetic patients. Prezentat în cadrul 4th International Symposium on Adipobiology and Adipopharmacology (ISAA), 28-31 Octombrie 2015, București

e) Contracte de cercetare

Această lucrare doctorală a fost cofinanțată din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial pentru Dezvoltarea Resurselor Umane în cadrul proiectului cu titlul: Programe doctorale în avangarda cercetării de excelență în domenii prioritare: sănătate, materiale, produse și procese inovative, prin contractul POSDRU/187/1.5/S/155631.