

На правах рукописи

ГЕТАДАРЯН
Востан Рафаелович

**УСОВЕРШЕНСТВОВАННАЯ МЕТОДИКА ТРАНСПЛАНТАЦИИ
БОУМЕНОВОГО СЛОЯ В ЛЕЧЕНИИ ПРОГРЕССИРУЮЩЕГО
КЕРАТОКОНУСА**

14.01.07 – глазные болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России (директор – Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН В.В. Нероев).

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

доктор медицинских наук Оганесян Оганес Георгиевич

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

Калинников Юрий Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры глазных болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России

Слонимский Алексей Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, ведущий офтальмохирург Общества с ограниченной ответственностью «Московская глазная клиника»

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт глазных болезней»

Защита состоится « ...» декабря 2020 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 208.042.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России (105062, г. Москва, ул. Садовая - Черногрязская, д.14/19).

С диссертацией можно ознакомиться на сайте www.igb.ru и в научной библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России (105062, г. Москва, ул. Садовая - Черногрязская, д.14/19)

Автореферат разослан « ____ » _____ 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

И.А. Филатова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Кератоконус (КК) – многофакторное, билатеральное, чаще ассиметричное прогрессирующее конусовидное выпячивание роговицы с ее истончением на вершине эктазии, приводящее к нерегулярному астигматизму и ухудшению остроты зрения (Rabinowitz Y.S., 1998; Miháltz K., 2011). КК является наиболее частой формой первичных кератэктазий и входит в тройку ведущих показаний к пересадке роговицы (Maeno A., 2000). Частота заболеваемости и выявляемости этой патологии растет ежегодно.

Благодаря технологическому прорыву, диагностика КК возможна на начальных и даже доклинических стадиях (Masiwa L.E., 2020), что в сочетании с методикой ультрафиолетового (УФ) кросслинкинга (Wollensak G., 2003) в долгосрочной перспективе может существенно снизить частоту трансплантаций роговицы при этой патологии (Wittig-Silva C., 2014). В то же время, при развитом и далеко зашедшем КК, для проведения кросслинкинга, в том числе альтернативными протоколами, и имплантации различных моделей интрастромальных сегментов (ИРС) имеются противопоказания по кератопахиметрическим показателям, функциональной эффективности и частоте осложнений. Параллельно, методика DALK (глубокая передняя послойная кератопластика) при КК в долгосрочной перспективе может также снизить частоту трансплантаций ввиду исключения эндотелиального отторжения (Anwar M., 2002; Melles G.R., 2000). Однако эталонный биологически результат как сквозной (СКП), так и послойной кератопластики при КК в подавляющем большинстве случаев нивелируется по причине высоких величин посткератопластического астигматизма (Solano J.M., 2003; Spadea L., 2002). Согласно литературе, средний посткератопластический астигматизм составляет 3-7 дптр., что соответствует астигматизму неоперированных глаз с КК (Maeno A., 2000; Swinger C.A., 1987), а разброс сферического эквивалента после кератопластики варьирует от - 6,75 до + 7,25 дптр. (Isager P., 2000). В итоге после кератопластики до 60% пациентов нуждаются в контактной коррекции (Severinsky B., 2014; Smiddy W.E., 1988; Silbiger J.S., 1996; Sutton G., 2008)

Предпочтения врачей и пациентов в последнее время отдаются новым методикам контактной коррекции (жесткие склеральные контактные линзы, гибридные линзы, минисклеральные линзы и другие). Они внесли и продолжают вносить большой вклад в функциональную реабилитацию пациентов как до кератопластики, так и после нее. Высокая функциональная эффективность, хорошая переносимость, минимальные осложнения и отсутствие травматизации роговицы в

ряде случаев обеспечивают преимущества контактной коррекции перед имплантацией ИРС и кератопластикой.

Предложенная несколько лет тому назад van Dijk К. с соавт. методика трансплантации боуменоваго слоя (БС), согласно данным литературы, способствует купированию прогресса КК (van Dijk К., 2014). Таким образом пациенты с развитым и далеко зашедшим прогрессирующим КК с кератопахиметрическими показателями роговицы, неблагоприятными для кросслинкинга и имплантации ИРС, но с высокой остротой зрения в контактных линзах, после трансплантации БС могут избежать трансплантации роговицы и продолжать корригировать зрение современными контактными линзами.

Методика трансплантации БС обладает существенными преимуществами и большим потенциалом для ее совершенствования и оптимизации. В то же время технология формирования трансплантата БС трудоемка и нестандартизирована.

Актуальность проблемы КК, перспективность и малоизученность методики трансплантации БС позволили нам определить следующие цель и задачи нашего исследования.

Цель исследования

Разработать усовершенствованную методику трансплантации боуменоваго слоя при прогрессирующем кератоконусе III-IV ст. и оценить ее эффективность.

Задачи исследования

1. Разработать стандартизированную методику формирования трансплантата изолированного боуменоваго слоя.
2. На основании сканирующей электронной микроскопии и дифференциальной сканирующей калориметрии оценить возможность кросслинкинга в изолированном боуменовом слое.
3. Изучить клиническую эффективность трансплантации изолированного боуменоваго слоя без и после его кросслинкинга на основании функциональных результатов и кератопахиметрических показателей роговицы.
4. Оценить возможность применения альтернативной боуменовому слою ткани для купирования прогрессирования кератоконуса III-IV ст., разработать технику операции и изучить предварительные результаты.

Дизайн исследования: клиническое (in vivo), наблюдательное, проспективное, моноцентровое, когортное.

Новизна исследования

Впервые на основании сканирующей электронной микроскопии и дифференциальной сканирующей калориметрии показан факт кросслинкинга в изолированном боуменовом слое.

Впервые разработаны стандартизированные методики формирования изолированного боуменова слоя, позволяющие минимизировать выбраковку донорской ткани.

Установлено отсутствие зависимости эффективности лечения методикой интрастромальной трансплантации боуменова слоя от глубины формирования интрастромального кармана.

Впервые в качестве альтернативы боуменовому слою в формате пилотного исследования осуществлена интрастромальная трансплантация десцеметовой мембраны и оценена ее эффективность.

Практическая значимость работы

Проведенные объективные исследования позволяют рекомендовать разработанные методики мануального и фемтолазерного формирования трансплантата боуменова слоя для клинического применения в хирургии трансплантации боуменова слоя.

Разработанные методики формирования трансплантата боуменова слоя позволяют значимо минимизировать выбраковку кадаверного материала, что особо актуально в условиях дефицита донорской ткани.

Внедрение трансплантации боуменова слоя существенно сократит продолжительность пребывания пациента в стационаре после операции и продолжительность ограничений и нетрудоспособности.

Методология и методы исследования

Методологической основой диссертационной работы явилось последовательное применение методов научного познания. Работа выполнена с использованием клинических, инструментальных, аналитических и статистических методов.

При проведении данного исследования соблюдали требования Национального стандарта Российской Федерации «Надлежащая клиническая практика» по ГОСТу Р 52379-2005, были использованы современные методы обработки информации и статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту

1. В изолированном боуменовом слое возможен кросслинкинг.
2. Эффект утолщения роговицы, как и стабилизирующий эффект трансплантации изолированного боуменоваго слоя, не зависят от глубины интрастромального кармана.
3. Эффективность трансплантации боуменоваго слоя без его предварительного кросслинкинга и после его кросслинкинга в имеющиеся сроки наблюдения идентичны.
4. Интрастромальная трансплантация десцеметоваго мембранаго технически реализуема и в имеющиеся сроки так же эффективна, как трансплантация боуменоваго слоя.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности полученных результатов проведенных исследований определяется достаточным и репрезентативным объемом проанализированных данных, выборкой исследований и количества обследованных пациентов, использованием адекватных современных методов исследования, а также применением корректных методов статистической обработки данных.

Работа прошла апробацию на межотделенческой конференции в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на научно-практических конференциях: «Осенние рефракционные чтения» (Москва, 2017), 23-й, 24-й и 25-й конгресс «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2017, 2018, 2019), XIII Всероссийская научная конференция молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2018), EuCornea (Вена, 2018, Париж, 2019), NIOS event (Вена, 2017), DOG (Бонн, 2018, Берлин 2019), XI Российский общенациональный офтальмологический форум (Москва, 2018), «Общая и военная офтальмология» (Санкт-Петербург, 2018), «Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии» (Москва, 2018), II офтальмологический конгресс (Ереван, 2019).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них – 3 в журналах, рекомендованных ВАК, и 5 в зарубежной печати. Получено 2 патента РФ на изобретение (патент № 2645931 — способ лечения кератэктазий, патент № 2647197 — способ получения донорского трансплантата боуменоваго мембранаго). Подана заявка на изобретение № 2020118353 от 25.05.2020.

Внедрение в практику

Результаты исследований и вытекающие из них рекомендации внедрены в клиническую практику отдела травматологии и реконструктивной хирургии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Минздрава России. Материалы диссертации включены в программы лекций на курсах повышения квалификации специалистов и сертификационных циклов последипломного образования для врачей-офтальмологов, проводимых на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Минздрава России. Методики получения трансплантата боуменоваго слоя и методики трансплантации боуменоваго слоя в различных модификациях внедрены в практику «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Минздрава России.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 155 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы и 5 глав, в которых представлены материал и методы исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 35 рисунками и 18 таблицами. Библиографический указатель содержит 310 источника (47 отечественных и 263 зарубежных).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы

Исследования *ex vivo*

Сканирующая электронная микроскопия выполнена совместно к.х.н. Баранчиковым А.Е. на базе ИОНХ РАН им. Н.С. Курнакова, а также на базе ФГБУ ИТЭБ РАН совместно с д.б.н., проф. А.Г. Погореловым. Для изучения качества изолированного БС были проведены серии СЭМ (сканирующая электронная микроскопия) эпителиальной, стромальной поверхности трансплантата БС и поверхности стромы роговицы после отслоения БС. Для исследования использованы 6 пар глаз доноров, непригодных для кератопластики, из которых стандартно выкраивали корнеосклеральные диски.

Трансплантат БС из пар роговицы № 1 и 2 получали мануально, круговую насечку осуществляли с помощью алмазного ножа с микрометром, с величиной на 20 мкм меньше нулевой отметки.

Трансплантат БС из пар роговицы № 3 и 4 получали мануально, однако круговую периферическую насечку осуществляли при помощи инсулиновой иглы 20 G.

Трансплантат БС из пар роговицы № 5 и 6 формировали при помощи фемтолазерной системы Ziemer FEMTO LDV Z8 (Швейцария) (заявка на патент РФ № 2020118353 от 25.05.2020). После фиксации в 2,5% растворе фосфатного буферного глютаральдегида образцы промывали PBS (раствор фосфатно-солевого буфера) и дегидратировали при 4°C последовательно в батарее водных растворов этанола возрастающей концентрации: 50%, 75%, 80%, 90% и в абсолютном этаноле на заключительном этапе. На каждой стадии образцы дважды погружали на 5 мин. в раствор этилового спирта. Для удаления спирта образцы переносили на 30 мин. в гексаметилдисилазан (HMDS), после чего высушивали на воздухе. Подготовленные образцы монтировали на объектодержатель электронного микроскопа посредством токопроводящего клея. Анализ структуры образцов осуществляли на сканирующем электронном микроскопе Carl Zeiss Invision 40 с высоким разрешением, работающем при ускоряющем напряжении 1 кВ. Образцы не были покрыты проводящим слоем перед измерениями. Изображения были взяты с детектором Everhart-Thornley (SE2) в увеличениях $\times 100-100000$.

Для изучения уровня поперечной связанности коллагена до и после кросслинкинга БС нами была проведена **дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК)** с помощью калориметра Phoenix DSC 204 (Netzsch, Германия) образцов изолированного БС. Исследование выполнено совместно с д.х.н., доцентом кафедры физической химии химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова Игнатъевой Н.Ю. на базе факультета биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова. Методика ДСК позволяет определить тепловые эффекты денатурации коллагеновых структур, температуру денатурации (Тд) и теплоту конформационного перехода “спираль-клубок” в белках, энтальпию денатурации (ΔH_m), которые характеризуют посттрансляционную модификацию макромолекул коллагена, включая формирование внутри- и межмолекулярных поперечных сшивок.

Всего использовали 5 корнеосклеральных дисков без десцеметовой мембраны (ДМ). Высекателем донорской роговицы (Barron vacuum donor Punch; Katena Products Inc, США) формировали трансплантат БС диаметром 9 мм и осуществлялось разделение образцов БС на две равные половины. $\frac{1}{2}$ каждого трансплантата погружали на 15 мин в раствор нормотонического рибофлавина (рибофлавин 0,1 % и декстран 20 %) после чего подвергали кросслинкингу в течение 15 мин (UV- X, 1000, Iroc Ag, Швейцария) лазером с длиной волны 370 мкм,

мощностью излучения 3,0 МВт/см² и с энергией экспозиции (2,7 Дж/см²) (патент РФ № 2645931 от 29.06.2017). Другие ½ части трансплантатов БС оставались интактными.

Морфологические исследования изолированных БС проведены в отделе патологической анатомии и гистологии ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» Минздрава России (начальник – проф., д.м.н. Хорошилова – Маслова И.П.). Парафиновые срезы толщиной 0,5–1,5 мкм готовили на микротоме Leica RM2235 (Германия) и окрашивали гематоксилинэозином. Препараты исследовали и фотографировали с помощью светового микроскопа на микросистеме Leica (Германия) при увеличении × 200 - 600. Изучались образцы БС с кросслинкингом и без него.

Клиническая часть

Работа выполнена на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней имени Гельмгольца» Министерства здравоохранения Российской Федерации с 2016 по 2019 годы. Все исследования и операции выполнены с информированного согласия пациентов, с разрешения локального этического комитета (№ 33/3 от 17.11.2016) с соблюдением положений Хельсинкской декларации.

В исследовании приняли участие только пациенты с прогрессирующим КК III-IV ст. (по классификации Amsler-Krumeich), без офтальмохирургии в анамнезе. Согласно функциональным и кератопахиметрическим показателям, кросслиндинг или имплантация ИРС были либо нецелесообразны, либо противопоказаны. Все пациенты были удовлетворены остротой зрения в склеральных линзах и их переносимостью. По этой причине все пациенты воздерживались от радикальной трансплантации роговицы.

Все операции по трансплантации БС и ДМ выполнены одним хирургом (д.м.н. Оганесяном О.Г.), при ассистенции автора. Все дооперационные и послеоперационные обследования, а также анализ хода операций, автор проводил самостоятельно.

Критериями включения пациентов в исследование явились:

1. Прогрессирующий КК (изменение 2 и более параметров за 12 мес.):
 - - увеличение K_{max} на 1 дптр. и более
 - - изменение на 50 мкм или более величины TP_{min}
2. $TP_{min} \leq 400$ мкм
3. $K_{max} \geq 58$ дптр
4. Удовлетворяющая пациента острота зрения в ЖСКЛ
5. Отказ от трансплантации роговицы

Всего в исследование вошли 51 человек (51 глаз), из них 43 (85%) мужчин и 8 женщин (15%), средний возраст которых на момент операции составил $28,8 \pm 5,5$ (от 14 до 38 лет). Старше 35 лет было 6% пациентов, моложе 30 лет было 76%.

В зависимости от методики хирургического лечения роговицы пациенты разделены на 3 основные группы.

В группу 1 включены 30 пациентов (25 мужчин и 5 женщин), которым была проведена трансплантация БС. Средний возраст пациентов составил $26,6 \pm 6,2$ лет (от 14 до 38 лет). Средние дооперационные показатели толщины роговицы в самом тонком месте (TP_{\min}), максимального кератометрического показателя (K_{\max}) и максимально корригируемой остроты зрения (МКОЗ) в склеральных линзах составили 342 ± 56 мкм, $66,2 \pm 3,4$ дптр и $0,76 \pm 0,13$ соответственно. Формирование трансплантата и стромального кармана осуществлялось как мануально, так и с помощью фемтосекундного лазера.

В группу 2 вошли 15 пациентов (15 глаз), которым была проведена трансплантация БС после его кросслинкинга. Средний возраст пациентов (среди которых 13 мужчин и 2 женщины) составил $28,3 \pm 4,6$ года, TP_{\min} роговицы 354 ± 40 мкм, средний K_{\max} $65,1 \pm 3,4$ дптр, средняя МКОЗ в склеральных линзах составила $0,73 \pm 0,15$. Формирование трансплантата и стромального кармана осуществляли как мануально, так и с помощью фемтосекундного лазера.

Группу 3 составили 6 пациентов (5 мужчин и 1 женщина), которым в качестве альтернативы БС и вместо него в интрастромальный карман была трансплантирована ДМ. В группе 3 средний возраст пациентов составил $19,2 \pm 3,2$ года, TP_{\min} роговицы 355 ± 37 мкм, средний K_{\max} $66 \pm 1,8$ дптр, средняя МКОЗ в склеральных линзах составила $0,7 \pm 0,06$.

Всем пациентам, помимо подробного сбора анамнеза, проводили **визометрию** (в мезопических условиях, без коррекции, в очковой коррекции и в склеральных контактных линзах ОК Vision Onefit или Zenlens (материал Contamac Optimum Extra, диаметр 13,4-16,2 мм), офтальморейфрактометрию, оптическую когерентную томографию (ОКТ), кератоанализирование, биомикроскопию, офтальмоскопию, конфокальную микроскопию, тонометрию, ультразвуковые исследования. Фоторегистрацию биомикроскопической картины роговицы и видеофиксацию операций выполняли во всех случаях.

Средний срок наблюдения после операции составил $19,2 \pm 3,2$ мес. (15–23 мес.). Для статистического описания отдельной группы измерений рассчитывали среднее арифметическое (М) и среднеквадратичное отклонение (Б). Исследование достоверности различий средних значений изучаемых данных в группах сравнения

выполняли с помощью t-критерия Стьюдента. Для оценки статистической достоверности различий результатов в группе 3 и результатов ДСК использовали T-критерий Вилкоксона. Считали статистически значимыми результаты сравнения показателей до и после операций при достоверности различий $p < 0,05$. Статистическая обработка данных проведена автором самостоятельно на персональном компьютере с помощью статистической программы SPSS 10.0 for Windows (SPSS Inc., США).

Техника выполненных операций

Описанная в литературе техника формирования трансплантата не стандартизирована и в 1/3 случаев приводит к выбраковке ткани (Lie J., 2010; Groeneveld-van Beek E.A., 2016). Нами предложены две методики формирования трансплантата БС – мануальная (патент № 2647197 от 29.06.2017) и автоматизированная фемтосекундным лазером (заявка на изобретение № 2020118353 от 25.05.2020), позволяющие стандартизировать процесс формирования трансплантата. Предложенные методики позволили нам минимизировать выбраковку донорской ткани и уменьшить этот показатель до 5%.

Методика мануального формирования трансплантата БС.

Корнеосклеральный диск диаметром 17-18 мм фиксировали в искусственной передней камере (Katena, USA). После деэпителизации осуществляли разметку роговицы диаметром 9 мм. В 1-2 мм периферичнее от нее производили насечку кератотомическим алмазным ножом с микрометром с установлением величины на 20 мкм ниже нулевой отметки (патент РФ № 2647197 от 29.06.2017). Плоским микрохирургическим пинцетом БС отслаивали от подлежащей стромы. Ткань на 30 сек. погружали в 70% раствор этилового спирта для контрольной деэпителизации, после чего на 30 сек. погружали в сбалансированный физиологический раствор (BSS), и далее трансплантат окрашивали 0,06% раствором трипанового синего.

Методика формирования трансплантата БС фемтолазером.

После деэпителизации донорской роговицы на нее надевается мягкая контактная линза диаметром 11 мм и толщиной 170 мкм. Далее осуществляется фемтодиссекция в режиме послойной кератопластики (диаметр 9 мм, глубина 200 мкм, скорость вертикальной диссекции - 35 мм/сек, мощность - 135%, скорость горизонтальной диссекции 10 мм/сек, мощность 120%). Далее пинцетом и шпателем БС отделяется от подлежащей стромы, переворачивается стромальной поверхностью вверх и укладывается эпителиальной стороной на ложе роговицы. Для удаления остаточных волокон стромы и достижения гладкой стромальной поверхности эксимерным лазером производится абляция ткани 10 мкм.

Трансплантат на 30 секунд погружают в 70% этиловый спирт для элиминации клеток эпителия и после промывают раствором BSS (сбалансированный солевой раствор).

Основными особенностями и преимуществами разработанной автоматизированной методики являются: стандартизация процесса, наличие контактной линзы, дополнительная эксимерлазерная абляция.

Формирование интрастромального кармана.

При мануальной технике в меридиане 11-13 часов производится разрез конъюнктивы по лимбу. В 1-2 мм от лимба и параллельно ему производится 3 мм надрез на $\frac{1}{2}$ глубины склеры. Через парацентез переднюю камеру заполняют воздухом. Ножом-расслаивателем, начиная с меридиана 12 часов, формируют интрастромальный карман роговицы в пределах лимбального кольца. Фемтолазерная интрастромальная диссекция диаметром 9-10 мм осуществлялась в режиме послойной кератопластики, со скоростью диссекции 10 мм/с и мощностью 120%. После фемтодиссекции полуострым расслаивателем рассекаются остаточные тканевые мостики в роговичном кармане.

Трансплантация боуменоваго слоя и десцеметовой мембраны.

Высекателем роговицы формируется трансплантат БС нужного диаметра (9 мм). Трансплантат окрашивается 0,06% раствором трипанового синего и далее пинцетом либо с помощью проводника вводят в карман роговицы реципиента. Манипулируя *ab interno* трансплантат БС центрируют и расправляют. Операция заканчивается наложением конъюнктивального шва и введением антибиотика и кортикостероида под слизистую.

После окрашивания трансплантата ДМ 0,06% раствором трипанового синего ДМ помещается на мягкую контактную линзу, в свою очередь, расположенную в высекателе донорской роговицы. Стандартным высекателем диаметром 9 мм ДМ иссекается вместе с контактной линзой. Контактная линза с ДМ устанавливается в стандартный картридж для ИОЛ и имплантируется в интрастромальный карман роговицы. После временного ушивания тоннельного входа в карман манипуляциями *ab externo* контактная линза с находящейся на ней ДМ полностью расправляется. Шов удаляется, и контактная линза выводится из роговицы пинцетом. Операция заканчивается наложением конъюнктивального шва и введением антибиотика и глюкокортикостероида под слизистую.

После всех операций, лечение включало ежедневную четырехкратную инстилляцию дексаметазона 0,1%, с постепенным уменьшением количества инстилляций в течение 3-6 месяцев, и трехкратную ежедневную инстилляцию 0,5% моксифлоксацина гидрохлорида в течение 3-4 недель. Назначались

слезозаменители без консервантов (каждые четыре часа) на весь период наблюдения.

Результаты собственных исследований.

Результаты исследований ex vivo

После выполнения ДСК исследования установлено, что Δ (разница между температурой конца процесса денатурации образца и его начала) опытных образцов БС (после кросслинкинга) выше ($6,7 \pm 0,19^\circ\text{C}$), чем образцов без кросслинкинга ($5,7 \pm 0,13^\circ\text{C}$), $p < 0,05$. Выявленная разница температур начала процесса денатурации и его окончания свидетельствует о повышении уровня поперечных сшивок после кросслинкинга в группе опытных образцов. Данный факт свидетельствует о состоявшемся кросслинкинге коллагена в изолированных образцах БС. Для визуальной оценки эффективности проведенного кросслинкинга контрольный и опытный образец были помещены в жидкую среду (рис. 1).

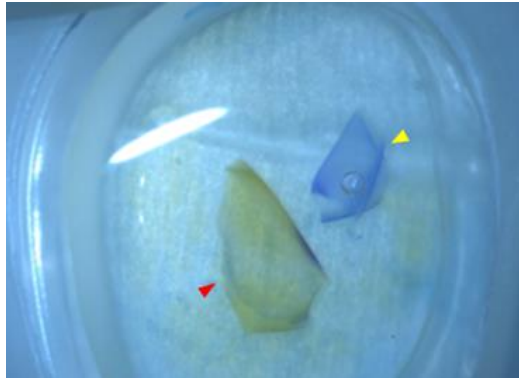


Рис. 1. Изолированный БС в жидкой среде. Красной стрелкой обозначен опытный образец. Желтой стрелкой обозначен интактный образец.

Находясь в жидкой среде, интактный образец быстро свернулся в рулон, а опытный образец остался в расправленном состоянии. Данное обстоятельство косвенно свидетельствует об уплотнении образца после кросслинкинга в сравнении с интактным образцом.

Изучение микроструктур на СЭМ при увеличении 100000 крат в образцах БС после кросслинкинга выявили изменения, индуцированные перекрестным связыванием коллагена, которые приводят к увеличению межмолекулярного расстояния и диаметра коллагеновых волокон. Для сравнения приведена вторая половина БС, которая осталась интактной (рис. 2).

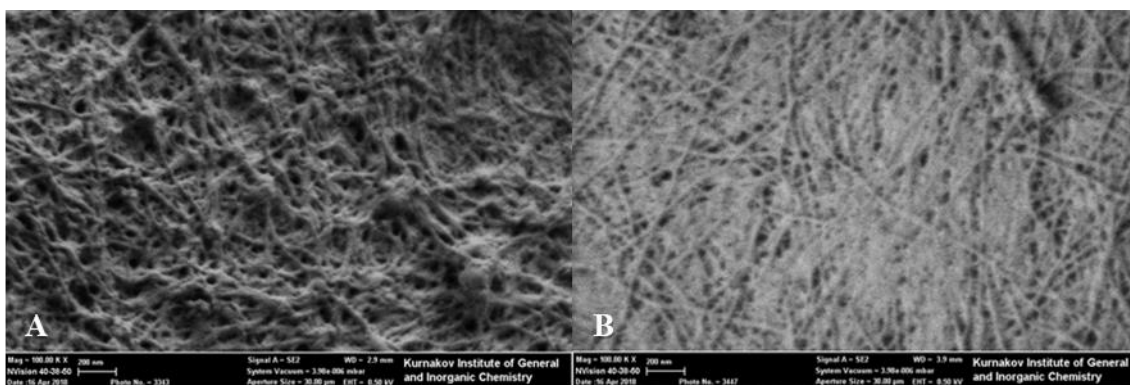


Рис. 2. А - СЭМ эпителиальной поверхности БС после УФ кросслинкинга. В - СЭМ эпителиальной поверхности интактного БС.

Полученные данные СЭМ свидетельствуют о том, что образцы БС спустя 24 ч. после УФ-кросслинкинга претерпевают структурные изменения, аналогичные изменениям роговиц после облучения.

Анализ ДСК и результаты СЭМ подтверждают факт кросслинкинга в изолированном БС. Для оценки поверхности обеих сторон БС, полученные изображения СЭМ были субъективно оценены тремя независимыми исследователями.

Морфологическое исследование. Интактные образцы, зафиксированные непосредственно после отслоения и спустя 24 ч., характеризуются отсутствием изменений в БС, который плотно соединен с подлежащей стромой роговицы (рис. 3. А).

В строме визуализируются единичные кератоциты и сохраняется пластинчатость и структурность из коллагеновых волокон. Образцы изолированного БС, которые были подвергнуты УФ-кросслинкингу и зафиксированы непосредственно после облучения, сохранили неизменность БС, однако, строма под БС стала отечной, наблюдается нарушение пластинчатости строения. Кератоциты имеют тенденцию к миграции в поверхностные слои роговицы. Образцы БС, которые были подвергнуты облучению и зафиксированы спустя 24 ч., характеризуются неизменностью БС. Несмотря на это, строма поверхностных слоев более отечная, ее волокна рыхлые, наблюдаются начальные деструктивные изменения у основания БС. Кератоциты имеют тенденцию к миграции в поверхностные слои роговицы (рис. 3.В).

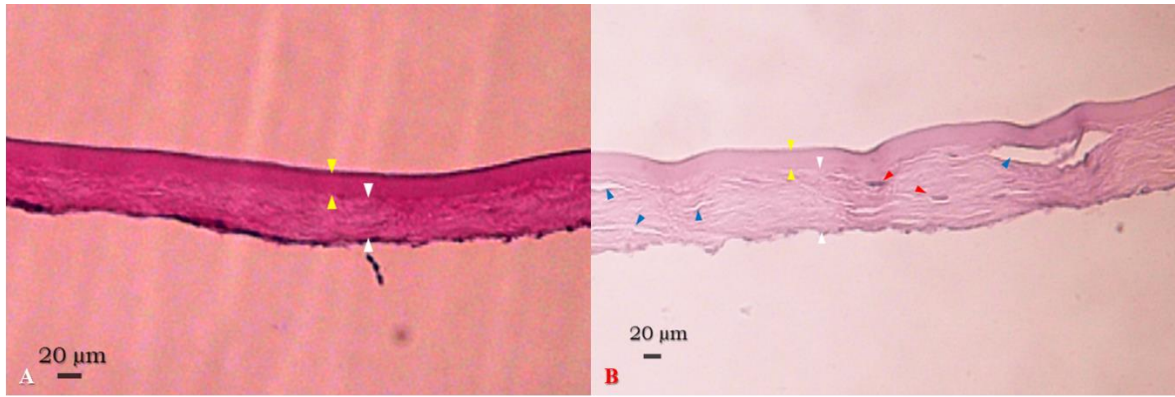


Рис. 3. Морфологическая картина БС с подлежащей стромой А - зафиксированная непосредственно после отслоения. В: после проведения кросслинкинга и зафиксированная спустя 24 ч. после облучения. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение $\times 400$.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что после УФ-кросслинкинга происходят изменения как в БС, так и подлежащей строме. Данные изменения характеризуются утолщением коллагеновых волокон, увеличением межколлагенового пространства, активностью и миграцией кератоцитов. Таким образом, установлено, что в условиях *ex vivo* происходят изменения, аналогичные изменениям *in vivo*. Исходя из морфологических изменений, как в БС, так и в подлежащей строме происходят структурные изменения, характерные для коллагена поверхностных слоев роговицы, а следовательно, процесса кросслинкинга.

Результаты клинических исследований.

В группе 1 интраоперационных осложнений не наблюдалось. В 1 случае с крайне тяжелым атопическим дерматитом на единственном глазу после операции развился инфекционный кератит. В таблице 1 представлены послеоперационные показатели пахиметрии и кератометрии пациентов группы 1.

В сравнении с дооперационными данными, на момент последнего обследования показатель K_{\max} в группе 1 уменьшился в среднем на $0,3 \pm 0,5$ дптр. ($p < 0,05$), а показатель TR_{\min} увеличился в среднем на 35 ± 12 мкм. ($p < 0,05$).

Отсутствие отрицательной динамики в кератопахиметрических величинах после трансплантации БС доказывает отсутствие прогрессии КК, что можно объяснить только проведенной операцией. Одной из причин отсутствия в нашем исследовании выраженного уплощения роговицы, в сравнении с данными литературы, может быть разнородность исследуемых контингентов по стадиям КК. Несмотря на то, что все пациенты имели далеко зашедший КК III-IV стадии, в группе 1 средняя дооперационная МКОЗ (в склеральных линзах) была равна $0,76 \pm$

0,13, средняя TP_{\min} 342 ± 55 , 7 мкм, K_{\max} $66,2 \pm 3,4$ дптр., помутнения имели место у 18% пациентов.

Таблица 1. Послеоперационные данные кератопахиметрии пациентов группы 1 и разница (Δ) с дооперационными показателями.

Пациент №/ пол / возраст (лет)	TP_{\min} μm				K_{\max} D				Срок наблю- дения (мес.)
	До опер.	12 мес.	Последнее	Δ	До опер	12 мес.	Последнее	Δ	
1.М/25	405	440	436	31	64,4	65,1	64	-0,6	44
2.М/29	384	419	410	26	64,1	64,2	63,2	-0,8	41
3.Ж/35	361	402	399	38	61,2	61,3	61,9	-0,6	40
4.М/27	274	295	300	26	69,9	69,7	70,9	0,2	39
5.М/26	343	389	386	43	65,2	65,4	66,1	0,4	39
6.М/25	410	456	448	38	63,9	63,7	63,8	-0,6	37
7.М/30	409	420	433	24	67,3	65,3	66	-1,6	37
8.М/21	374	405	401	27	63,6	62,7	63	-0,5	37
9.М/22	351	389	394	43	64,9	63,4	64,6	0,4	37
10.М/14	367	384	388	21	69	68,6	68,8	-0,3	35
11.Ж/32	329	366	364	35	65,6	65,3	66,4	0,3	35
12.М/38	335	382	376	41	70,7	70,2	70	-0,2	33
13.М/23	185	272	252	67	69,5	69,1	68,4	-0,7	32
14.Ж/17	415	449	452	37	68,1	67,4	66,9	-0,1	31
15.М/25	352	375	372	20	66,2	65,7	66,6	0,4	29
16.Ж/37	265	310	293	28	54	53,2	53,9	0,5	28
17.М/17	367	392	401	34	62,9	63,7	63,8	-1,1	27
18.М/17	403	443	450	47	66,6	65,2	65,8	0,2	26
19.М/29	409	469	460	57	66,7	66,3	67,5	-0,6	26
20.Ж/19	397	422	430	33	66,3	66,6	66,4	0,1	23
21.М/38	351	375	382	31	61	60,2	61,3	-0,4	23
22.М/29	312	362	370	58	63,7	64,6	64,3	0,1	23
23.М/27	301	348	337	36	68,9	67,1	68	0,5	20
24.М/25	258	272	279	21	69	68,3	68,7	-0,4	20
25.М/32	319	379	364	44	68,2	67,2	68,5	-0,3	18
26.М/26	355	396	396	29	68,7	67,6	67,7	0,1	18
27.М/26	254	290	285	31	65,5	65,1	65,9	-0,6	18

28.M/29	345	385	376	31	67,3	67,6	68	-0,1	17
29.M/30	332	378	368	36	68,2	68,6	68	-1,1	14
30.M/27	295	342	345	13	69,9	69,3	69,6	-0,9	14
средняя / SD	342 ± 26,6 ± 6,2	380 ± 56	378 ± 54	35 ± 12	66 ± 3,4	65,6 ± 3,4	65,9 ± 3,3	-0,3 ± 0,5	28,7 ± 8,9

В отличие от этого, в исследовании van Dijk К. с соавт. средняя дооперационная МКОЗ в линзах была равна 0,5, средняя TP_{\min} 332 ± 59 , K_{\max} $77,2 \pm 6$, рубцовые помутнения роговицы имели место у 60% пациентов. Мы считаем, что чем больше выражен КК и тоньше роговица, тем она более податлива к уплощению.

Острота зрения без коррекции после трансплантации БС в группе 1 улучшилась со средних дооперационных $0,07 \pm 0,03$ до $0,12 \pm 0,03$ у 10%, что можно объяснить небольшим уменьшением величин кератометрии. У 13% пациентов острота зрения без коррекции ухудшилась со средних дооперационных $0,19 \pm 0,2$ до $0,14 \pm 0,18$, однако, МКОЗ в линзах осталась неизменной. Во всех случаях трансплантат находился в строме роговицы равномерно и без складок. (рис. 5).

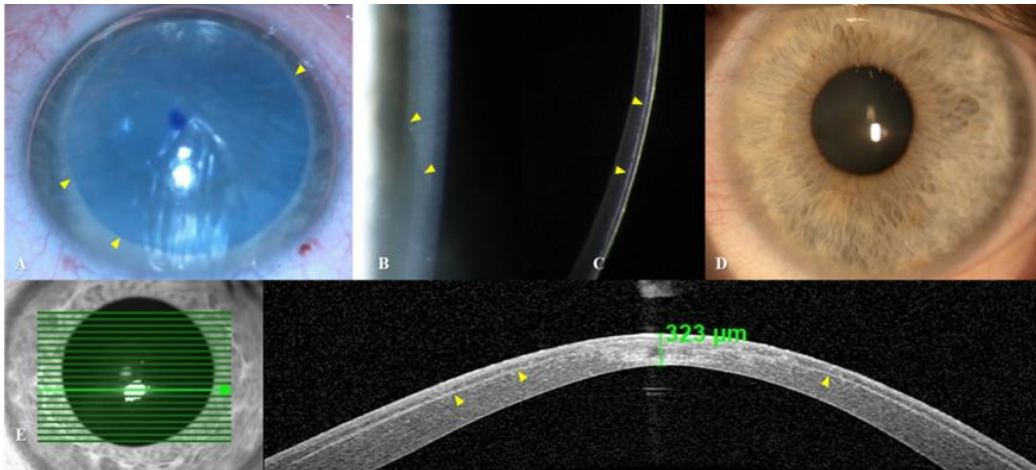


Рис. 5. Биомикроскопическая картина и изображение ОКТ после интрастромальной трансплантации БС. Пациент № 23. Интрастромальный карман и трансплантат сформированы при помощи фемтосекундного лазера. А - трансплантат БС в стромальном кармане. Желтыми стрелками указаны границы трансплантата БС. В, С - спустя 12 месяцев после операции. Желтыми стрелками указан трансплантат БС; D - биомикроскопически роговица полностью прозрачна; E - оптическая когерентная томография демонстрирует равномерное прилегание трансплантата БС на глубине 1/3 толщины роговицы.

Анализ эффективности интрастромальной трансплантации БС после его кросслинкинга (группа 2) осуществлялся на основании учета осложнений, сравнения до- и послеоперационных показателей, а также сравнения с результатами трансплантации БС без предварительного кросслинкинга (группа 1).

В группе 2 в ходе выполнения и после 15 трансплантаций БС, подвергнутого кросслинкингу, осложнений не было.

Послеоперационные показатели пахиметрии, кератометрии и разница этих показателей в сравнении с дооперационными величинами представлены в таблице 2.

Таблица 2. Послеоперационные данные кератопахиметрии пациентов группы 2 и разница (Δ) с дооперационными показателями.

Пациент №/ пол / возраст (лет)	TP _{min} μ m				K _{max} D				Срок наблю- дения (мес.)
	До опер	12 мес.	Последнее	Δ	До опер.	12 мес.	Последнее	Δ	
1.М/29	388	419	410	22	63,7	64,9	63	-0,7	39
2.Ж/35	356	398	400	44	59,5	60,5	59,9	0,4	38
3.М/27	265	295	304	39	70,1	69,2	69,9	-0,2	37
4.М/26	367	388	388	21	64,7	65,4	64	-0,7	37
5.М/25	423	459	441	18	63,7	63,8	63,6	-0,1	35
6.М/21	397	429	427	30	62,6	62,7	62	-0,6	35
7.М/22	375	391	399	24	59,1	58,9	58,4	-0,7	35
8.М/32	324	368	362	38	65,7	66,1	65,9	0,2	33
9.М/25	376	419	418	42	66	65,9	66,8	0,8	27
10.М/38	359	374	389	30	61,2	61,2	60,1	-1,1	21
11.М/27	298	347	333	35	66,2	65,9	66,3	-0,2	18
12.М/32	324	373	361	37	68,6	67,2	68	-0,6	16
13.М/26	367	389	390	23	69,3	68,9	68,9	-0,4	16
14.М/29	342	375	377	35	67,2	65,6	66	-1,2	15
15.М/30	343	379	375	32	68,5	68,8	68,4	-0,4	12
Средняя / SD 28,3 \pm 4,6	354 \pm 40	387 \pm 38	384 \pm 35	31,3 \pm 8	65,1 \pm 3,4	65 \pm 3,1	64,7 \pm 3,5	-0,4 \pm 0,5	27,6 \pm 10

В сравнении с дооперационными данными на момент последнего обследования показатель K_{max} уменьшился в среднем на $0,4 \pm 0,5$ дптр. ($p < 0,05$), а TP_{min} увеличилась в среднем на 31 ± 8 мкм. ($p > 0,05$).

Показатели остроты зрения без коррекции после трансплантации БС в группе 2 улучшились от средних дооперационных $0,11 \pm 0,12$ до $0,13 \pm 0,12$ у 20% пациентов, в 7% острота зрения без коррекции ухудшилась (с дооперационных 0,1 до 0,05). Тем не менее МКОЗ в склеральных линзах ни в одном случае не изменилась.

Изучение снимков послеоперационной ОКТ показало, что глубина расположения трансплантата в группе 2 варьировала от 21% до 73% и в среднем составила $46 \pm 17\%$. Во всех случаях трансплантат располагался в роговичном кармане равномерно, без складок. Причем расположение трансплантата в кармане, сформированном мануально, было параллельно задней поверхности, в то время как в кармане, сформированном фемтолазером, – параллельно передней поверхности (рис. 6).

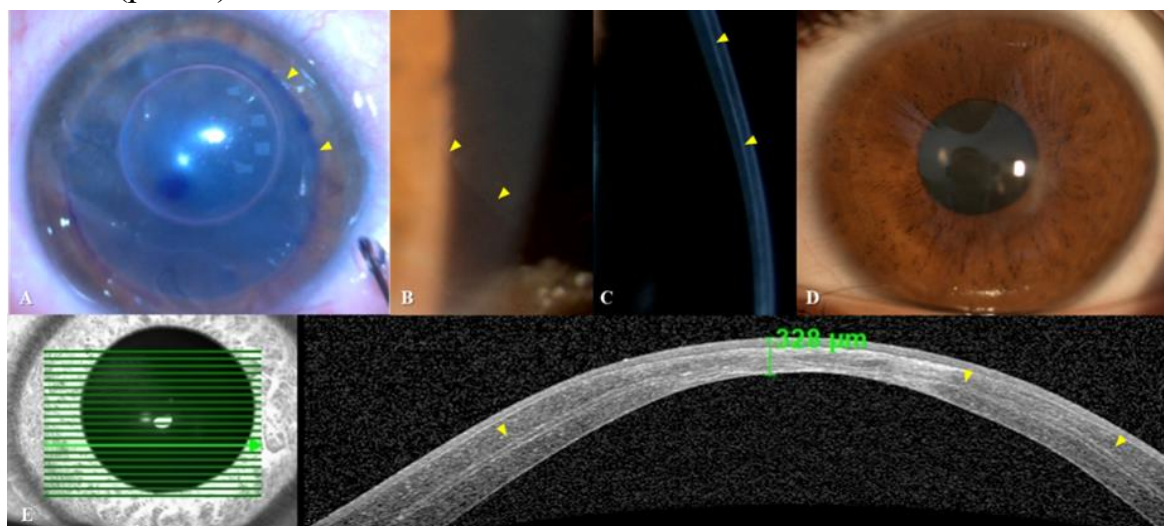


Рис. 6. Биомикроскопическая картина и изображение ОКТ после интрастромальной трансплантации БС с предварительным СХЛ трансплантата. Пациент № 8. А-трансплантат БС в стромальном кармане. Желтыми стрелками указаны границы трансплантата БС. В, С - спустя 12 месяцев после операции. Желтыми стрелками указан трансплантат БС; D - биомикроскопически роговица полностью прозрачна; E - оптическая когерентная томография демонстрирует равномерное прилегание трансплантата БС на глубине 2/3 толщины роговицы.

В итоге за весь период наблюдения после трансплантации БС с его предварительным кросслинкингом ни в одном случае признаков прогрессирования КК не выявлено. На парных глазах пациентов группы 2 за этот же период в 13,3 % случаев выявлено прогрессирование КК, потребовавшее вмешательство. Проведенный нами анализ зависимости глубины расположения кармана и трансплантата и изменения кривизны роговицы не выявил статистически достоверной зависимости.

Сравнительный анализ результатов операций в группах 1 и 2 показал, что в имеющиеся сроки наблюдения кросслинкинг БС и его последующая трансплантация не предоставляют существенных преимуществ по сравнению с методикой без предварительного кросслинкинга трансплантата.

Вместе с тем, мы считаем, что необходимо учитывать, что имеющиеся сроки наблюдения не являются максимальными и нельзя исключить дальнейшие

изменения в изучаемых группах. Тем не менее, доказанный факт кроссликинга в изолированном БС на наш взгляд имеет большое научное значение и перспективу клинического применения в новых и усовершенствованных методиках.

У пациентов группы 3 обоснованием замены БС на ДМ явилось то, что и ДМ, и БС – это структуры, идентичные по толщине (10–25 мкм), состоящие из коллагена и являющиеся бесклеточными, а также имеющие схожие эластические свойства, благодаря чему сворачиваются в жидкой среде в рулон. И ДМ, и БС могут быть трансплантированы с использованием идентичных принципов. Формирование группы 3 и операции в этой группе были выполнены только после периода наблюдений за группами 1 и 2. Полученные результаты после интрастромальной трансплантации ДМ у 6 пациентов представлены в таблице 3.

Таблица 3. Послеоперационные данные кератопакиметрии пациентов группы 3 и разница (Δ) с дооперационными показателями.

Пациент №/ пол / возраст (лет)	TP _{min} μ m				K _{max} D				Срок наблю- дения (мес.)
	До опер.	12 мес.	Последнее	Δ	До опер.	12 мес.	Последнее	Δ	
1.М/29	304	311	312	8	68,3	66,7	66,9	-1,4	23
2.Ж/35	388	404	400	12	65,3	65,9	65,6	0,3	22
3.М/27	396	417	419	23	63,7	62,9	63,8	0,1	20
4.М/23	327	338	340	13	67,3	65,8	66,7	-0,6	19
5.М/29	341	361	358	17	66,9	66,9	66,4	-0,5	16
6.М/20	375	397	395	20	64,3	64,5	63,9	-0,4	15
Средняя / SD 27,2 \pm 5,2	355 \pm 37	371 \pm 41	376 \pm 32	17 \pm 4	66 \pm 1,8	65,4 \pm 1,4	65,5 \pm 1,4	-0,4 \pm 0,6	19,2 \pm 3,2

В группе 3 за имеющийся период наблюдения ни в одном из 6 случаев признаков прогресса КК не выявлено. Однако на в 50% случаев на парных глазах прогресс КК доказан. Спустя 12 мес. острота зрения без коррекции улучшилась у 1/3 пациентов с дооперационных $0,12 \pm 0,1$ до $0,17 \pm 0,1$, а МКОЗ в склеральной линзе, по сравнению с дооперационной, не изменилась. Статистически достоверных изменений кератометрических показателей (Sim_K , K_{max}), TP_{min} и плотности эндотелиальных клеток (ПЭК) не выявлено.

В послеоперационном периоде на всех глазах трансплантат ДМ едва визуализировался в роговичном кармане. Определялись лишь границы

трансплантата по периферии. Послеоперационная прозрачность роговицы была полностью сопоставима с дооперационной (рис. 7).

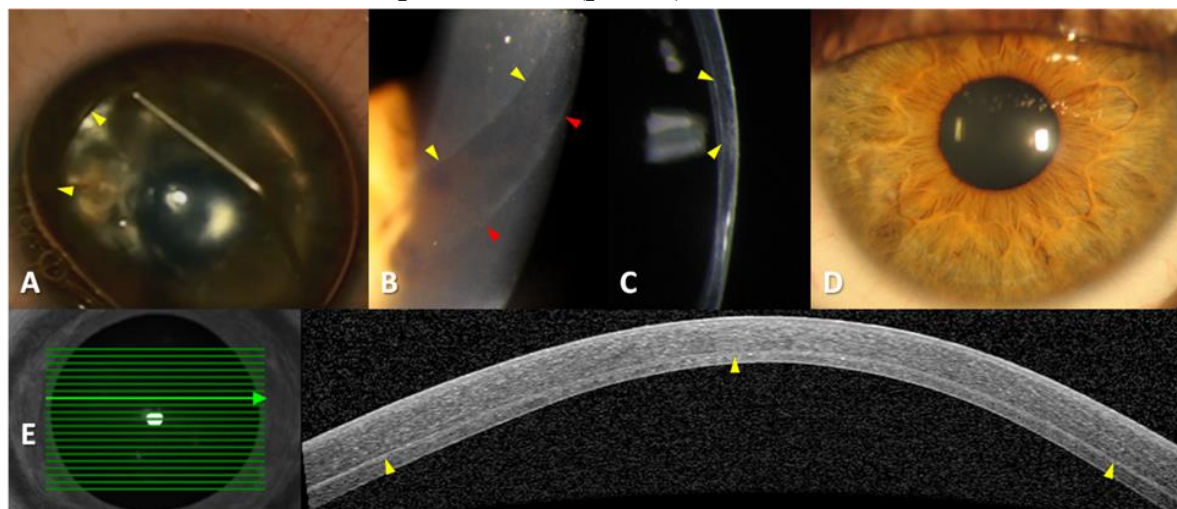


Рис. 7. Биомикроскопическая картина и изображение ОКТ после интрастромальной трансплантации ДМ. Пациент № 5. А-трансплантат БС в стромальном кармане. Желтыми стрелками указаны границы трансплантата БС. В, С - спустя 12 месяцев после операции. Желтыми стрелками указан трансплантат БС, красными стрелками указаны границы сформированного кармана; D - биомикроскопически роговица полностью прозрачна; E - оптическая когерентная томография демонстрирует равномерное прилегание трансплантата.

Сравнение результатов трансплантации групп 1, 2 и 3 представлено в таблице 4.

Очевидно, что полученные результаты предварительные и эффективность применения ДМ как альтернативы БС у пациентов с далеко зашедшим КК предстоит определить при более длительных сроках наблюдения.

Выявлена тенденция к остановке прогресса КК ($p > 0,05$), которая, по нашему мнению, станет достоверной при более длительных сроках наблюдения.

Таблица 4. Сравнение разниц дооперационных и послеоперационных величин остроты зрения, максимального значения кератометрии, минимальной толщины роговицы, плотности эндотелиальных клеток, оптической плотности роговицы группы 1, группы 2 и группы 3.

№ группы	Δ НКОЗ	Δ МКОЗ	Δ К _{max}	Δ TP _{min}	Δ ПЭК
Группа 1	$0 \pm 0,02$	0 ± 0	$-0,3 \pm 0,5$	35 ± 12	$-0,3 \pm 20$
Группа 2	$0 \pm 0,02$	0 ± 0	$-0,4 \pm 0,5$	31 ± 8	$-0,1 \pm 18$
Группа 3	$0,02 \pm 0,02$	0 ± 0	$-0,4 \pm 0,6$	17 ± 4	$-0,4 \pm 0,6$

Согласно ОКТ, глубина расположения трансплантата в группе 3 варьировала от 21% до 82% и в среднем составила $49 \pm 29\%$. Во всех случаях трансплантат располагался в роговичном кармане равномерно, без складок. Расположение трансплантата в кармане, сформированном мануально, было параллельно задней поверхности, а в сформированном фемтолазером – параллельно передней поверхности. Анализ зависимости глубины расположения кармана (и трансплантата) и изменения кривизны роговицы, не выявил статистически достоверной зависимости. Динамика эндотелиальных клеток в послеоперационном периоде не выявила статистически значимых изменений в сравнении с дооперационными показателями. В группе 3 интра- и постоперационных осложнений не было. Отсутствие прогресса КК на оперированных глазах и прогресс КК на парных глазах в 50% случаев, свидетельствует о стабилизирующем влиянии трансплантата ДМ на КК. Таким образом, результаты группы 3 показали, во-первых, что наличие трансплантата ДМ внутри стромы роговицы не вызывает помутнений и/или осложнений в послеоперационном периоде. Во-вторых, по данным K_{\max} , Sim_K и TP_{\min} , за весь период наблюдения признаков прогрессирования КК не выявлено. Кроме того, во всех случаях показатели некорригированной и максимально корригируемой остроты зрения в контактной линзе и ПЭК не изменились по сравнению с дооперационными данными. Если при дальнейших исследованиях эффективность трансплантации ДМ окажется сравнима с эффективностью трансплантации БС, это будет свидетельствовать о том, что раневой процесс в интрастромальном кармане играет бóльшую роль, чем происхождение трансплантата.

Таким образом, интрастромальная трансплантация БС является новой тканесберегающей, экстраокулярной методикой, целью которой является стабилизация эктатического процесса, улучшение переносимости контактной коррекции, отсрочка либо полный отказ от пересадки роговицы. К преимуществам трансплантации БС можно отнести следующие позиции:

- простая хирургическая техника,
- экстраокулярный характер операции,
- отсутствие швов,
- отсутствие реакции отторжения,
- короткий и «легкий» период реабилитации,
- эффективное использование донорской ткани,
- возможность реоперации методиками СКП/DALK,
- отсутствие необходимости в общей анестезии.

Дополнительным аргументам в пользу трансплантации БС являются данные литературы, согласно которым после кератопластики (СКП/DALK) до 60% пациентов имеют астигматизм высокой степени и, как неоперированные пациенты, нуждаются в контактной коррекции.

ВЫВОДЫ

1. Разработанные методики формирования изолированного боуменового слоя стандартизируют этап подготовки донорской ткани и минимизируют ее выбраковку по причине ее повреждения или избыточной толщины.
2. После выполнения кросслинкинга образцов изолированного боуменового слоя, согласно данным дифференциальной сканирующей калориметрии, достоверно установлено повышение температуры денатурации в сравнении с интактными образцами, что свидетельствует о состоявшемся кросслинкинге.
3. На основании динамического анализа максимального кератометрического показателя и минимальной толщины роговицы установлен стабилизирующий эффект как после трансплантации боуменового слоя, так и после трансплантации боуменового слоя после его предварительного кросслинкинга. Статистически достоверной разницы максимального кератометрического показателя и минимальной толщины роговицы после выполнения двух методик не выявлено, что свидетельствует об одинаковой эффективности трансплантации Боуменового слоя без и после его кросслинкинга.
4. Изменение величины максимального кератометрического показателя не зависит от глубины расположения интрастромального кармана роговицы. Для стабилизации прогресса КК после трансплантации БС уменьшение величины максимального кератометрического показателя не является обязательным условием.
5. Интрастромальное присутствие трансплантата ДМ не вызывает помутнений роговицы или осложнений. Согласно кератотомографическим данным, при наличии трансплантата ДМ в стромальном кармане роговицы признаков прогрессирования кератоконуса и изменения значений НКОЗ, МКОЗ и ПЭК не происходит. Можно предположить, что трансплантация ДМ в перспективе может быть альтернативой трансплантации БС с целью купирования прогрессирования кератоконуса III-IV ст.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение алмазного ножа с микрометром позволит дозированно производить периферическую насечку БС и минимизировать выбраковку донорского материала.

2. Для получения трансплантата необходимой толщины с более гладкой стромальной поверхностью целесообразно формировать трансплантат БС при помощи фемтосекундного лазера Ziemer FEMTO LDV Z8.
3. У больных с прогрессирующим КК необходимо проводить оценку состояния эндотелия роговицы с целью исключения сочетанной патологии.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

1. **Гетадарян, В.Р.** Современный подход к кератопластике при кератоконусе / В.Р. Гетадарян, О.Г. Оганесян // Осенние рефракционные чтения: материалы междунаро. симпоз. – Москва, 2017. – С. 17
 2. **Гетадарян, В.Р.** Кросслинкинг боуеновой мембраны с последующей ее трансплантацией (предварительное сообщение) / В.Р. Гетадарян, О.Г. Оганесян // Современные технологии в офтальмологии. – 2018. - № 4. – С. 57-59.
 3. Bowman layer transplantation (BLT) in advanced keratoconus: 6 months follow up / Abstracts zur DOG / **V. R. Getadaryan**, O. G. Oganesyanyan, P. V. Makarov, V.S. Markaryan // Der Ophthalmologe. – 2018. – Vol. 115, № 1. – P. 119.
 4. Bowman layer transplantation (BLT) and inverse BLT in advanced keratoconus: 6 months follow up / Abstracts zur DOG / **V. R. Getadaryan**, O. G. Oganesyanyan, V.S. Markaryan, P. V. Makarov, // Der Ophthalmologe. – 2018. – Vol. 115, № 1. – P. 119.
 5. Descemet membrane (DM) transplantation into the stroma in a case of keratoconus / Abstracts zur DOG / **V. R. Getadaryan**, O. G. Oganesyanyan, P. V. Makarov, V.S. Markaryan // Der Ophthalmologe. – 2018. – Vol. 115, № 1. – P. 120.
 6. Six months follow-up of patients after Bowman layer transplantation (BLT) and inverse BLT in advanced keratoconus / O. G. Oganesyanyan, A.A. Grdikanyan, **V. R. Getadaryan** [et al.] // National journal of health. – 2019. – Vol. 1. – P. 75.
 7. Descemet membrane transplantation into the stromal pocket in patients with keratoconus / O. G. Oganesyanyan, A.A. Grdikanyan, **V. R. Getadaryan** [et al.] // National journal of health. – 2019. – Vol. 1. – P. 77.
 8. Трансплантация Боуенового слоя при прогрессирующем кератоконусе / О.Г. Оганесян, **В.Р. Гетадарян**, П.В. Макаров, А.А. Грдиканян // **Российский офтальмологический журнал**. – 2019. Том 12, № 4. – С. 43-50.
 9. Сравнительный анализ результатов трансплантации боуенового слоя без и после кросслинкинга при прогрессирующем кератоконусе / О.Г. Оганесян, **В.Р. Гетадарян**, П.В. Макаров [и др.] // **Офтальмологические ведомости**. - 2020. - Т. 13. - №1. - С. 17-27.
 10. Интрастромальная трансплантация Десцеметовой мембраны при далекозашедшем кератоконусе / О.Г. Оганесян, **В.Р. Гетадарян**, П.М. Ашикова [и др.] // **Офтальмологические ведомости**. - 2020. – Т. 13, №. 2. – С. 43-48.
- В том числе патенты:**
11. **Патент РФ № 2645931.:** опубл. 28.02.2018 / О.Г. Оганесян, **В.Р. Гетадарян**, П.В. Макаров. Способ лечения кератэктазий. Бюл. № 7

12. Патент РФ № 2647197.: опублик. 14.03.2018 / О.Г. Оганесян, В.Р. Гетадарян, П.В. Макаров.
Способ получения донорского трансплантата боуеновой мембраны. Бюл. № 8

Подана заявка на изобретение № 2020118353 от 25.05.2020 г. - способ получения донорского трансплантата боуенового слоя роговицы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

КК - кератоконус

УФ - ультрафиолет

ИРС – интрастромальный сегмент

DALK – глубокая передняя послойная кератопластика

СКП – сквозная кератопластика

БС – боуеновый слой

СЭМ – сканирующий электронный микроскоп

PBS – раствор фосфатно-солевого буфера

ДСК – дифференциальный сканирующий калориметр

ДМ – десцеметова мембрана

K_{max} – максимальный кератометрический показатель

TP_{min} – минимальная толщина роговицы

МКОЗ – максимально корригируемая острота зрения

ОКТ – оптическая когерентная томография

BSS – сбалансированный солевой раствор

Sim_K – смоделированное кератометрическое измерение

ПЭК – плотность эндотелиальных клеток