

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Усубов Эмин Логман оглы

**СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ПРИМЕНЕНИЮ
УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО КРОССЛИНКИНГА РОГОВИЦЫ В
ЛЕЧЕНИИ КЕРАТОКОНУСА**

3.1.5 Офтальмология (медицинские науки)

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук,
профессор Бикбов Мухаррам Мухтарамович

Уфа – 2025

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	17
1.1. Эпидемиология и распространенность кератоконуса	17
1.2. Этиологические и патогенетические аспекты кератоконуса	21
1.3. Классификация кератоконуса	27
1.4. Характер иммунологического ответа роговицы при кератоконусе	32
1.5. Механизмы индукции апоптоза при кератоконусе	39
1.6. Роль свободно-радикальных процессов в патогенезе кератоконуса	44
1.7. Ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы	48
1.7.1. Современные клинические протоколы ультрафиолетового кросслинкинга роговицы	52
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	59
2.1. Общая характеристика материала и методов исследования	59
2.2. Эпидемиологические методы исследования	61
2.3. Экспериментальные методы исследования	64
2.4. Общая характеристика клинического материала	66
2.5. Клинические протоколы УФ кросслинкинга роговицы	68
2.6. Клинико-функциональные методы исследования	74
2.7. Методы статистической обработки результатов	76
ГЛАВА 3. РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ КЕРАТОКОНУСА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН	80
3.1. Распространенность и заболеваемость кератоконусом в Республике Башкортостан	80
3.2. Распространенность пограничных состояний с повышенным фактором риска по данным эпидемиологических исследований	91
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ	99

ГЛАВА 4. УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫЙ КРОССЛИНКИНГ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ИНДУКЦИЮ АПОПТОЗА В ТКАНЯХ ГЛАЗА	99
4.1. Влияние УФ облучения роговицы с раствором рибофлавина на свободно-радикальные процессы во влаге передней камеры глаза кролика	99
4.2. Особенности морфологических изменений роговицы кролика после УФ кросслинкинга на основании конфокальной микроскопии	103
4.3. Иммуногистохимическая оценка влияния УФ кросслинкинга на процессы апоптоза и некроза в роговой оболочке глаза	108
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО КРОССЛИНКИНГА РОГОВИЦЫ НА ДИНАМИКУ ЛОКАЛЬНОГО И СИСТЕМНОГО УРОВНЯ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ	121
5.1. Особенности локального уровня антиоксидантных ферментов у пациентов с кератоконусом после различных протоколов ультрафиолетового кросслинкинга роговицы	121
5.2. Динамика системного уровня антиоксидантных ферментов у пациентов с кератоконусом после различных протоколов ультрафиолетового кросслинкинга роговицы	123
ГЛАВА 6. КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ УФ-КРОССЛИНКИНГА	126
6.1. Разработанные медицинские изделия для ультрафиолетового кросслинкинга роговицы	126
6.2. Результаты дооперационного обследования, показания и противопоказания к процедуре	134
6.2.1. Результаты лечения с применением стандартного протокола УФ-кросслинкинга	141
6.2.2. Результаты применения трансэпителиального кросслинкинга	147

роговицы	
6.2.3. Результаты использования акселерированного и импульсного-акселерированного кросслинкинга	154
6.2.4. Результаты лечения пациентов с тонкой роговицей модифицированным протоколом кросслинкинга	163
6.2.5. Повторный УФ-кросслиндинг роговицы при прогрессировании кератоконуса	172
ГЛАВА 7. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РОГОВИЦЫ ПОСЛЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО КРОССЛИНКИНГА	179
7.1. Демаркационная линия стромы и ее роль для оценки эффективности процедуры кросслинкинга	179
7.2. Конфокальная микроскопия роговицы после различных протоколов ультрафиолетового кросслинкинга роговицы	191
7.3. Плотность макулярного пигмента как критерий оценки безопасности протоколов кросслинкинга	200
ГЛАВА 8. ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С КЕРАТОКОНУСОМ ПРИ РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНИ РИСКА РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ	207
8.1. Оценка показателей проекционного сканирующего томографа Orbscan в диагностике кератоконуса	207
8.2. Разработка шкалы значимости комплекса показателей в диагностике кератоконуса	213
8.3. Создание алгоритма ведения пациентов с различной степенью риска развития кератоконуса	219
8.4. Алгоритм выбора оптимального протокола ультрафиолетового кросслинкинга роговицы у пациентов с различной стадией и проявлениями кератоконуса	222
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	230
ВЫВОДЫ	249

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	252
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	253
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	256

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность. Кератоконус (КК) – дегенеративное, как правило, прогрессирующее заболевание, поражающее роговицу глаза у лиц молодого возраста, изучение которого имеет большое медико-социальное значение (Слонимский А.Ю., 2004; Аветисов С.Э., 2023). Среди первичных кератэктазий, кератоконус является наиболее частой патологией у трудоспособного населения (Бикбов М.М., Бикбова Г.М., 2011; Малюгин Б.Э., Измайлова С.Б., 2014; Калинин Ю.Ю., 2021; Суркова В.К., Халимов А.Р., 2021). Известно возникновение вторичной (ятрогенной) или манифестация первичной латентной кератэктазии после лазерных рефракционных вмешательств (Seiler T. et al., 1998; Wagner F.M., Sekundo W., 2023). КК примерно в 85% случаев носит двусторонний характер, часто являясь асимметричным (Galperín G., Berra M., 2021; Santodomingo-Rubido J. et al., 2022).

КК - распространенная форма дегенерации роговицы, поражающая примерно 1 из 1750 человек, частота его встречаемости в разных странах варьирует от 50 до 2300 на 100 тыс. населения (Gomes J.A., 2015; Hashemi H. et al., 2020; Munir S Z. et al., 2021). Заболевание многофакторное, этиология включает множество теорий: генетическую, биохимическую, физическую, инфекционную и др. (Бикбов М.М., Малюгин Б.Э., 2019; de Azevedo Magalhães O. et al., 2021). КК может быть одним из проявлений различных патологий системного характера (Измайлова С.Б., 2015; Moshirfar M., 2024). КК иногда сочетается с весенним катаром, атопией, синдромом Дауна, синдромом Тернера и коллагенозами, синдромом Марфана и Элерса-Данлоса, дефицитом магния и др. (Оганисян К.Х., 2018; Aatila M. et al., 2021).

Значительную роль в развитии и прогрессировании болезни играет локальный оксидативный стресс. По данным ряда исследований, у пациентов с КК выявлена повышение активности протеиназ в структуре роговицы и снижение функционального состояния их ингибиторов (Халимов А.Р., 2018; Гиля А.П., 2020; Dou S. et al., 2022), сопровождающееся избыточным

расщеплением стромального белка, что приводит к снижению биомеханической стабильности и истончению роговицы (Andreassen T., 2016). Поэтому актуальным является изучение окислительно-восстановительных процессов в слезной жидкости на местном и системном уровне, а также дальнейшее изучение патогенеза КК и разработка на этой основе новых эффективных методов лечения.

На сегодняшний день лечение КК включает 2 основных направления: остановку прогрессирования заболевания и нивелирование рефракционных нарушений (Калинников Ю.Ю., 2008; Измайлова С. Б., 2014, 2022; Поздеева Н.А., 2022).

Одной из причин повышения жесткости роговой оболочки глаза с возрастом является естественный метаболический кросслинкинг ее структуры, в т.ч. за счет реализации ферментативного пути с участием транскляминазы и лизилоксидазы (O'Brat, 2014).

В 2003 г. T. Zeiler и G. Wollensak с соавторами предложили метод ультрафиолетового кросслинкинга роговицы (УФ КЛР), обеспечивающий биомеханическую стабилизацию роговицы у пациентов с КК (Wollensak G., Zeiler T., 2003). Морфологические изменения при этом наблюдаются в основном в передних слоях стромы, где происходит большая часть поглощения УФ излучения (Iomdina E., 2009; Kohlhaas M., 2017), что указывает на патогенетическую ориентированность данной методики (Бубнова И.А., 2020; Серебряков В.А., Бойко Э.В., 2020). С появлением метода перекрестного связывания коллагена и макромолекул роговицы – УФ КЛР – в последние десятилетия удалось добиться стабилизации течения КК, а в ряде случаев и регресса вызванных рефракционных нарушений (Астахов С.Ю., 2020; Анисимова Н.С. и др., 2020; Маркова Е.Ю., 2022; Голяков А.А. и др., 2023; Селиверстова К.Е. и др., 2023).

Учитывая направленность процедуры на механизмы развития КК, активно ведутся работы по внедрению альтернативных способов индукции процессов сшивания коллагена в структуре роговицы, в т.ч. имеются данные

об успешном применении отечественного эксимерного лазера (Корниловский И.М. и др., 2020, 2021).

Изучению функциональных результатов УФ КЛР посвящено достаточно много работ, однако данные о длительности эффекта и качестве структурных изменений, происходящих в роговице в отдаленном послеоперационном периоде, по-прежнему вызывают интерес исследователей. В научной литературе недостаточно освещены вопросы дифференцированного подхода к срокам и видам операций при КК, отличающихся большим разнообразием клинических проявлений и степенью снижения функциональных результатов. Недостаточно отражены в научных публикациях долгосрочные результаты УФ КЛР (Pinelli R., 2009; Friedrich J. et al., 2024).

Степень разработанности темы исследования. На сегодняшний день для лечения эктатических заболеваний роговицы предложены разные протоколы УФ КЛР: с удалением и сохранением эпителия, изменением мощности и времени ультрафиолетового облучения, использованием различных источников и режимов светового воздействия - ультрафиолетового, эксимерлазерного, непрерывного, импульсного (Корниловский И.М., 2023; Юсеф Ю.Н. и др., 2024). Однако нет четких критериев отбора пациентов для выбора определенного протокола УФ КЛР с учетом индивидуальных особенностей (течения болезни, возраста, давности манифестации и т.д.). Также проводятся попытки совершенствования клинических протоколов УФ КЛР для расширения показаний к выполнению процедуры (Анисимова Н.С., Анисимов С.И., 2020). С развитием технологий растут требования пациентов к послеоперационному результату, учитывая развитие КК в молодом работоспособном возрасте. Поэтому актуальной задачей для офтальмологической практики является разработка собственных технологий, аппаратов и расходных материалов для проведения УФ КЛР.

Эффективность УФ КЛР не всегда прогнозируемая (Кутузова Ю.В., Со-рокин Е.Л., 2022), т.к. отсутствует систематизированный подход к

применению методики в лечении кератоконуса. Экспериментально-клиническое изучение фундаментальных аспектов развития патологических процессов при КК (эпидемиологических, биохимических, иммунологических) и УФ сшивании в роговице могут лечь в основу совершенствования технологии, повышения клинической эффективности процедуры и расширения показаний к ее применению. Актуальным представляется разработка и совершенствование показаний к использованию различных протоколов УФ КЛР у пациентов с КК с изучением эффективности и безопасности в отдаленные сроки. Таким образом, вышеизложенное определяет актуальность настоящего исследования. **Цель работы** – создать систему лечения кератоконуса методом ультрафиолетового кросслинкинга роговицы для стабилизации и профилактики прогрессирования заболевания на основании оценки результатов эпидемиологических и клинико-иммунологических исследований, предложить дифференцированный подход к выбору протокола процедуры, разработать хирургические технологии и медицинские изделия.

Задачи исследования

1. Изучить распространенность кератоконуса, а также частоту пограничных состояний среди населения Республики Башкортостан на основании данных популяционных исследований.
2. Экспериментально-клиническим путем оценить влияние УФ-кросслинкинга на окислительно-восстановительные процессы, механизмы апоптоза, динамику состояния локальной антиоксидантной системы глаза и характер морфологических изменений в роговице.
3. Разработать и внедрить в клиническую практику медицинские изделия для технологии ультрафиолетового кросслинкинга роговицы.
4. Изучить клинико-функциональные результаты ультрафиолетового кросслинкинга роговицы с применением разработанных медизделий и

предложить клинические протоколы для расширения показаний к применению технологии.

5. Оценить характер морфологических изменений в роговице методами оптической когерентной томографии, конфокальной микроскопии при использовании различных протоколов ультрафиолетового кросслинкинга у пациентов с кератоконусом.
6. На основании значимости кератотопографических показателей разработать автоматизированную программу диагностики кератоконуса.
7. Предложить алгоритм и разработать показания к применению различных протоколов ультрафиолетового кросслинкинга роговицы при кератоконусе.

Научная новизна

Впервые изучена распространенность и заболеваемость КК с учетом гендерных и этнических особенностей населения Республики Башкортостан за 6-летний период с 2018 по 2023 гг., а также впервые выявлена частота пограничных состояний по данным популяционных исследований: Ural Children Eye Study (UCES), Ural Eye and Medical Study (UEMS) и Ural Very Old Study (UVOS).

В экспериментальных исследованиях доказана безопасность воздействия УФ облучения на окислительно-восстановительные процессы, механизмы апоптоза и характер морфологических изменений в роговице.

Впервые в эксперименте и клинике изучены локальные биохимические процессы и особенности морфологических изменений структур глаза и дана оценка воздействия УФ кросслинкинга на роговицу и сетчатку глаза.

Выявлена роль окислительно-восстановительных процессов в роговице на фоне ослабления системы местной антиоксидантной защиты у больных с кератоконусом и индуцированного оксидативного стресса при воздействии УФ излучения, показано снижение локального уровня супероксиддисмутазы

(СОД) и общего антиоксидантного статуса (ОАС) в слезе в различные сроки после УФ КЛР.

Разработаны и зарегистрированы новые аппараты для кросслинкинга с системой гомогенизации ультрафиолетового излучения и фотопротектор роговицы, подтверждена их эффективность и безопасность.

Усовершенствованы протоколы ультрафиолетового кросслинкинга роговицы, расширяющие показания к их применению.

Предложена автоматизированная программа диагностики кератоконуса, позволяющая упростить верификацию стадийности заболевания и определить тактику лечения пациентов.

Изучены отдаленные результаты эффективности ультрафиолетового кросслинкинга роговицы с применением различных протоколов, сформулированы клинические подходы и алгоритм выбора протокола.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные результаты изучения характера патоморфологических процессов в роговице при КК и его лечении методом УФ-кросслинкинга вносят дополнения в патогенез заболевания и важны в коррекции нарушений окислительно-восстановительных процессов при лечении пациентов.

Определение особенностей патогенетических механизмов в развитии эктатических заболеваний и разработка медицинских изделий позволили предложить новые протоколы УФ кросслинкинга и дифференцированный подход к лечению пациентов с КК.

Разработаны, зарегистрированы и успешно внедрены в медицинскую практику РФ и ближнего зарубежья новые отечественные медицинские устройства и растворы для УФ КЛР, обеспечивающие эффективность лечения пациентов с КК, доступны для применения при патологиях роговицы.

Разработанные показания и предложенный алгоритм выбора протокола УФ КЛР с учетом индивидуальных особенностей архитектоники роговицы и

течения заболевания у пациентов с КК позволяют выбрать наиболее оптимальный из них для стабилизации патологического процесса, профилактики прогрессирования и повышения эффективности лечения.

Методология и методы диссертационного исследования

Работа основана на проведении двух категорий исследований: 1) анализ результатов клинико-популяционных исследований по распространенности пограничных состояний и встречаемости кератоконуса в Республике Башкортостан в различных возрастных группах; 2) экспериментальные исследования; 3) клинический анализ применения различных протоколов УФ кросслинкинга у пациентов с КК в сроки наблюдения до 10 лет. Методология диссертационного исследования заключается в последовательном применении доказательных методов научного познания, базирующихся на общепринятых теоретических и практических принципах доказательной экспериментально-клинической медицины.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования были интегрированы в учебно-образовательный процесс на курсах повышения квалификации для врачей, проводимых научно-образовательным отделом Уфимского НИИ глазных болезней федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Разработанные протоколы проведения УФ КЛР внедрены в практическую деятельность Уфимского НИИ глазных болезней ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Чебоксарского филиала ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России (Чебоксары), офтальмологического

центра ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница» Минздрава России (Челябинск).

Медицинские изделия и устройства для ультрафиолетового кросслинкинга вместе с разработанными клиническими протоколами имеют регистрационные удостоверения и используются во многих офтальмологических учреждениях Российской Федерации и стран ближнего зарубежья.

Положения, выносимые на защиту

1. Увеличение показателей заболеваемости кератоконусом по обращаемости и его распространенности за период с 2018 по 2023 гг. связаны с повышением качества оказания офтальмологической помощи в сфере ранней диагностики, своевременной выявляемости данной патологии и внедрением технологии УФ кросслинкинга. Заболевание носит преимущественно спорадический характер, при этом в общей популяции мужчины болеют в 2 раза чаще. Распространенность пограничных состояний (крутая роговица и др.), по данным популяционных исследований, увеличивалась с возрастом, составляя: в группе детей и подростков - 0,02%, во взрослой группе – 0,07%, а среди пожилых респондентов - 0,06%.

2. Выявленные нарушения окислительно-восстановительного баланса в слезной жидкости у пациентов с кератоконусом носят локальный характер, а вызванные УФ кросслинкингом оксидативные процессы являются обратимыми и не вызывают стойких патологических изменений.

3. Предложен комплекс клинико-функциональной реабилитации пациентов с использованием технологии УФ КЛР, основанный на применении разработанных отечественных устройств и средств. Клинические протоколы УФ КЛР с использованием предложенных медицинских изделий позволяют в различной степени эффективно стабилизировать патологический процесс, что сопровождается уменьшением

преломляющей силы роговицы, коррелирующей с длительностью и силой облучения и выполнением этапа деэпителизации роговицы.

4. Основные морфологические изменения роговицы на фоне УФ кросслинкинга носят локальный транзиторный характер, отмечаются в передних слоях стромы роговицы, их выраженность зависит от клинического протокола, о чем свидетельствуют частота выявляемости и глубина демаркационной линии, а также динамика плотности кератоцитов.

5. «Автоматизированная система диагностики кератоконуса», разработанная на основании бальной шкалы значимости клинических признаков, а также алгоритм выбора клинического протокола кросслинкинга позволяют оптимизировать лечебный процесс и повысить эффективность терапии.

6. Наиболее значимыми факторами эффективности и безопасности УФ-КЛР при выборе клинического протокола являются возраст пациента, сроки манифестации эктатического процесса, длительность УФ облучения и выполнение этапа деэпителизации.

7. Предложенный алгоритм выбора протокола УФ-кросслинкинга позволяет осуществить индивидуальный дифференцированный подход к лечению пациентов с КК и получить наиболее высокий функциональный результат.

Объективность исследований

Экспериментальная часть исследования была выполнена на животных, полученных из специализированного питомника лабораторных животных ФГУП «НПО «Микроген» и с использованием необходимого количества образцов. Создана экспериментальная модель вариантов УФ облучения и проведен широкий спектр исследований, включая биохимические, иммунологические, морфологические и электронномикроскопические анализы на сертифицированном оборудовании, зарегистрированном для данных видов работ. Достоверность выполненной работы подтверждается

достаточной выборкой экспериментального материала для проведения исследований.

Эпидемиологический раздел включал ретроспективный анализ отчетных данных организационно-методического отдела Уфимского НИИ глазных болезней и результатов популяционных исследований.

Клинический раздел работы проведен на базе Уфимского НИИ глазных болезней на достаточном количестве выборки пациентов с необходимым перечнем исследований.

Полученные результаты были подвергнуты статистическому анализу, который соответствовал поставленным задачам и позволил считать данные достоверными. Их анализ позволил сформулировать аргументированные выводы.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность полученных результатов обусловлена значительным и репрезентативным объемом данных, включая выборки исследований и количество пациентов, подвергнутых обследованию. Исследования проводились с использованием современных высокоинформативных методов, а также применялись надлежащие статистические методы обработки данных.

Научные положения и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, основаны на изучении большого клинического материала и теоретических положений последних лет по проблеме лечения пациентов с КК. В работе использованы современные экспериментальные, клинические и статистические методы исследования, полностью соответствующие поставленным задачам. Выводы аргументированы и вытекают из проведенных исследований.

Апробация результатов работы

Материалы исследования были представлены на российских и зарубежных конференциях и конгрессах: Конгрессе специалистов по лечению

заболеваний роговицы «Euscornea» (Вена, Австрия, 2018); Конгрессах Европейского общества катарактальных и рефракционных хирургов «ESCRS» (Лиссабон, Португалия, 2017; Вена, Австрия, 2018; Париж, Франция, 2019); XIII юбилейной офтальмологической конференции «Рефракция» (Самара, 2018); Международной конференции по офтальмологии «Восток-Запад» (Уфа, 2018, 2021, 2023); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы офтальмологии» (Баку, Азербайджан, 2017, 2018, 2023); Юбилейной научно-практической конференции с международным участием «Современная офтальмология: интеграция науки и практики» (Алматы, Казахстан, 2018); Российском Общенациональном Офтальмологическом Форуме (Москва, 2019, 2022, 2024); Всероссийском научно-практическом конгрессе с международным участием «Современные технологии катарактальной, рефракционной и роговичной хирургии» (Москва, 2019, 2022, 2023); Всероссийском конгрессе с международным участием «Настоящее и будущее офтальмологии» (Иркутск, 2019); Ежегодном конгрессе Общества офтальмологов Турции (Анталья, Турция, 2019); Всероссийской конференции «Роговица 2020: инновации диагностики, лечения и хирургии» (Москва, 2020); Всероссийской конференции «Катаракта Онлайн» (Москва, 2020); Международных онлайн конференциях «International CXL Experts Meeting» (Цюрих, Швейцария, 2020, 2021); Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы офтальмологии» (Сургут, 2021); научно-практической конференции врачей офтальмологов (Тюмень, 2021); 17-м Международном конгрессе стран Ближнего востока (МЕАСО-МИОС, Мускат, Оман, 2023); Евро-Азиатской конференции по офтальмохирургии «Дискуссионные вопросы современной офтальмохирургии» (Екатеринбург, 2023); Всероссийской научно-практической конференции «Все грани офтальмологии. Продолжая традиции» (Челябинск, 2024); научно-практической конференции Индийского Общества хирургов роговицы и кераторефракционных хирургов (Нью-Дели, Индия, 2024), XIII Съезде Общества офтальмологов России (Москва, 2024).

Публикации

По материалам диссертации опубликована 61 работа, в том числе 26 – в журналах, входящих в перечень, утверждённый ВАК при Министерстве образования и науки РФ; получено 14 Патентов РФ на изобретения и полезные модели, издана 1 монография.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 295 страницах машинописного текста, включая 33 таблицы и 83 рисунка. Она включает введение, обзор литературы, главу с описанием материала и методов исследования, 6 глав с результатами собственных исследований и их обсуждением, выводы, практические рекомендации и список литературы. Список литературы включает в себя 344 источников российской (169) и зарубежной (175) литературы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология и распространенность кератоконуса

Кератэктазия – это клинический термин, описывающий патологическое состояние роговицы, при котором последняя приобретает сферически неправильную коническую форму за счет ослабления ее биомеханической резистентности, вследствие деструкции, истончения, выпячивания стромы и других корнеальных слоев. Среди выявленных кератэктазий более чем в 98% случаев встречается кератоконус (КК). Впервые признаки этой болезни были описаны в 1729 г. британским доктором Benedict Duddell [335]. Позднее подробные сведения о КК опубликовали профессор Burchard Mauchart из Германии (1748) и британский врач John Nottingham (1854).

Кератоконус – хроническое билатеральное невоспалительное заболевание роговицы глаза, сопровождающееся прогрессирующим снижением зрительных функций и ухудшением качества жизни. Неравномерное истончение и, как следствие, изменение топографии роговицы являются характерными особенностями этого эктатического расстройства, при котором более всего поражается височная нижняя парацентральная область роговой оболочки, приводя к высокому нерегулярному астигматизму и развитию миопии [18, 35, 76, 99, 125, 133, 137, 140].

Обычно КК начинается в подростковом периоде до совершеннолетия и прогрессирует, примерно, до 35-40 лет. Степень снижения остроты зрения может варьировать в зависимости от сопутствующих местных и общих патологических изменений и включения компенсаторных механизмов в организме.

По данным разных авторов, распространенность КК варьирует в широких пределах в зависимости от региона земного шара и этнической принадлежности популяции – от 0,3 до 2300 человек на сто тысяч населения [1, 10, 213, 222, 224]. В ряде исследований указывается более высокая частота заболевания среди населения Юго-Восточной Азии, Ближнего

Востока, Южной Африки, Новой Зеландии, по сравнению со странами Европы [246, 247]. Британские ученые полагают, что люди, проживающие в странах Азии, болеют КК в 4,4 раза чаще, чем в европейских государствах [211, 257]. Многолетние эпидемиологические наблюдения подтверждают более высокую встречаемость КК среди населения Ирана по сравнению с лицами европейской популяции [222]. Достаточно высокая частота встречаемости КК отмечается в Сирии. Так, проведенные многоцентровые популяционные исследования среди 1479 пациентов, готовящихся к рефракционной хирургией, показали, что частота встречаемости КК составляет 18,19%, подозрение на КК – 13,52% [301]. Распространенность КК в Турции намного выше, чем в европейских странах и составляет 1538 случаев на 100 000 населения (1,5%), но аналогична показателям в соседних странах Ближнего Востока [284]. Существенными факторами риска были протирание глаз и наличие в анамнезе кровнородственных браков. Сообщается, что распространенность КК в Индии составляет 2300 на сто тысяч населения [213].

В США в 80-90-х годах XX века заболевание диагностировалось примерно у 1 из 2000 человек [293], при этом, по данным R. Kennedy, в американском штате Миннесота (США) распространенность КК регистрировали на уровне 6:1000 и согласно Applebaum – 4:1000 населения [237]. Проведенное в 2016 г. изучение распространенности КК по данным глобальной базы программы Vision Service Plan в Соединенных Штатах установило, что данный показатель составляет 0,15%. При этом распространенность КК была самой высокой в западных штатах, а частности, в Колорадо она составила 0,51%, а также среди мужского населения [279].

Проведенный в Норвегии анализ встречаемости КК по данным национального реестра пациентов государственных медицинских учреждений показал, что предполагаемая распространенность среди населения в целом составила 192,1 на 100 000, а предполагаемая ежегодная заболеваемость – 19,8 на 100 000 [248].

В ряде исследований частоту КК определяли в пределах от 1:250 до 1:250 000, что связывают с влиянием на человека разнообразных климатических, географических и экологических факторов, включая воздействие повышенной инсоляции и температуры окружающей среды [237]. Избыточное ультрафиолетовое (УФ) воздействие на человека, особенно в районах высокогорья с высоким уровнем ультрафиолета диапазона В, может индуцировать локальные прооксидантные и ферментативные процессы в тканях глаза и роговице, приводящие к разрушению роговичного коллагена, гибели или полиморфизму клеток роговицы [64, 69].

Распространенность КК, выявленная в предыдущих исследованиях на 100 000 населения, различается: 53 случая – в Гане [241], 54,5 случаев – в округе Олмстед, штат Миннесота, 138 (0,138%) случаев – по данным общенационального регистрационного исследования в Нидерландах, 265 (0,265) случаев – метаанализ опубликованных исследований, 524 (0,524%) – по данным исследования старшеклассников в Новой Зеландии и 2,3% - в сельских районах Центральной Индии.

В Уральском регионе Российской Федерации был проведен ряд работ по изучению распространенности КК, в которых показана его встречаемость в индустриальных областях. Встречаемость КК на Урале была на уровне 1:500 000 населения с максимальной частотой в Челябинской области — 1:250 000. В 83% случаев КК наблюдался в педиатрической практике, у подростков и лиц молодого возраста до 29 лет. Лица мужского пола при этом страдают кератоконусом в 3 раза чаще. По данным Е.Н. Горсковой и Е.Н. Севостьянова распространенность КК в Челябинской области составила 11 случаев на сто тысяч населения [45, 111].

В ранних исследованиях КК определяли при офтальмоскопическом обнаружении характерного нерегулярного отражения глазного дна или по кератометрическим данным при диагностике неправильного астигматизма, как, например, в исследовании в округе Олмстед (Миннесота). Позднее для

измерения кератометрических параметров при выявлении КК стали применять технологию визуализации по принципу Шеймфлюга, что позволило получить количественные данные и отметить рост распространенности заболевания [48, 49, 121, 143, 159, 183].

Большинство исследований с использованием технологии визуализации по принципу Шеймфлюга, как наиболее подходящего метода для морфометрии роговицы, проводились в западных странах. Отбор участников проходил на базе больницы или на популяционном уровне, но либо включал лишь отдельные группы, например, школьников, либо не охватывал весь возрастной диапазон популяции. Ни в одном из предыдущих исследований не изучалась распространенность КК в Восточной Европе, России и Центральной Азии. Однако знание о распространенности КК и его ассоциациях необходимо, важно внедрить скрининговые обследования для выявления пациентов на ранней стадии, обеспечив им возможность проведения кросслинкинга роговицы для предотвращения прогрессирования заболевания [283].

Доказано, что одним из факторов развития КК является наследственная предрасположенность, обуславливающая появление врожденной патологии в 10% случаев. Заболевание может передаваться по аутосомно-доминантному типу наследования, даже если генетический дефект наблюдается хотя бы у одного из родителей [329]. Исследования, проведенные в США, показали, что уровень семейных случаев КК составлял 13,5%, в Израиле – 21,74% [340]. Наследственная предрасположенность к развитию КК была доказана в проведенном исследовании во Франции: из 221 родственника у 9,05% был клинически выраженный КК, а у 15,4% - субклиническая форма заболевания. Семейная корреляция КК среди родственников первой степени родства пробандов была оценена в 0,55 среди родителей, 0,29 – среди потомков и 0,49 – среди братьев и сестер [254].

Показано, что на вероятность развития заболевания влияют образ жизни, рацион питания и уровень доходов [239]. При этом

распространенность КК также связана с низким уровнем образования, наличием в анамнезе миопии или истончения центральной части роговицы, более ранней манифестацией заболевания [57, 88, 213].

Рост количества диагностированных случаев КК в настоящее время связан с влиянием на человека разнообразных техногенных факторов, ростом числа травм и воспалительных поражений роговицы, интенсификацией глазной, в т.ч. рефракционной хирургии и развитием отсроченных вторичных послеоперационных осложнений, а также большей доступностью применения наиболее передовых методов диагностики и выявления заболевания. Неблагоприятные условия окружающей среды могут выступать в качестве триггера заболевания, особенно на фоне наследственной предрасположенности. Кроме этого, негативное воздействие на орган зрения могут оказывать: продолжительное механическое раздражение (растирание глаз или ношение контактных линз), хроническое пылевое загрязнение, аллергии, избыточное воздействие УФ излучения, а также работа в условиях вредных производств и экстремальных ситуаций [200, 201, 272].

Таким образом, показатели распространенности КК в разных регионах земного шара весьма неоднозначные, требуют детального изучения специалистами различных научных дисциплин и дальнейших масштабных эпидемиологических исследований, позволяющих оценить влияние многочисленных факторов на появление, развитие и течение заболевания.

1.2. Этиологические и патогенетические аспекты кератоконуса

Факторы риска

Кератоконус – многофакторное заболевание, обусловленное наследственной предрасположенностью и внешним патогенетическим (техногенным, экологическим, природным) влиянием окружающей среды, вызывающим биохимическое и в последующем биомеханическое расстройство роговицы [1, 211, 341]. Считается, что наиболее встречаемый

тип возникновения КК – спорадический. Результаты многолетних научных исследований, посвященных изучению этиологии КК, свидетельствуют о выраженной генетической и популяционной гетерогенности заболевания. Многочисленные наблюдения пациентов с КК дали возможность идентифицировать среди них значительное число лиц, имеющих семейный анамнез заболевания, что позволяет большинству специалистов считать наследственную теорию доказанной [6, 7, 17, 177, 215, 216].

Этнические группы

Установлено, что распространенность КК может отличаться среди населения различных этнических групп, даже постоянно проживающих в одном географическом регионе. В частности, у азиатов, населяющих Великобританию, распространенность КК в 7,6 раза превышает таковую у кавказцев. Было показано, что частота заболевания была гораздо выше у неперсидских этнических групп (арабов, курдов и турок), проживающих в Тегеране (7,6%), в сравнении с персами (2,5%) [172]. Исследования распространенности КК среди определенных этнических групп были проведены в Македонии, где показатели составили 6,8 случаев на сто тысяч населения, в Японии – от 20:100 000 до 25:100 000 [322]. Сингапурские исследования продемонстрировали более высокую распространенность КК у индийцев, чем у китайцев и малайцев [285]. В другом наблюдении КК больше выявляли среди арабских студентов Израиля (3,18%) в отличие от молодых людей других национальностей [310].

Влияние механического фактора на роговицу

Механическое трение глаз рассматривается как один из признанных факторов индукции КК. Эпителиальная травма в результате продолжительного механического раздражения поверхности роговицы, в т.ч. при ношении корригирующих контактных линз, может индуцировать высвобождение провоспалительных медиаторов (IL-1, IL-6, TNF-α) и ряд

матриксных металлопротеиназ (ММР-13), вызывающих активацию апоптоза кератоцитов и негативные изменения в структуре стромы [233]. Было показано, что больные КК проводят больше времени за растиранием глаз, относительно здоровых людей или лиц с офтальмопатологией, в частности, с аллергическими или инфекционными поражениями органа зрения [135, 179, 192]. По данным Y. Mou и соавт. (2022), 91,3% обследованных пациентов (357 из 391) указали на привычку тереть глаза, при этом 191 пациент (48,8%) делали это часто. Кроме того, у пациентов старше 21 года частое протирание глаз было достоверно ассоциировано с более высокой Kmax и более выраженным астигматизмом ($p < 0,05$) [277].

Ультрафиолетовое и солнечное воздействие

Известно что ультрафиолет диапазона А и В, достигающий поверхности Земли, неизбежно контактирует с роговицей и интраокулярными структурами. УФ излучение в составе солнечного света, воздействуя на глаз в течение длительного времени, может стать одной из причин КК. Механизм этого процесса описывается следующим образом: энергия фотонов, передающаяся поглотившим их молекулам, становится причиной появления высокореактивных свободных радикалов (частицы с неспаренным электроном), вызывающих повреждения клеток, компонентов экстрацеллюлярного матрикса и морфологических структур глаза. При этом с уменьшением длины волны энергия УФ излучения возрастает: УФ-В способен непосредственно воздействовать на ДНК клеток, а УФ-А влияет опосредованно – только через индукцию свободно-радикальных процессов. Дефектные клетки с измененным генетическим аппаратом или повреждением клеточных мембран, в частности, кератоциты, подвергаются апоптозу. УФ излучение, активируя свободно-радикальные реакции и одновременно ослабляя антиоксидантную защиту глаз, может вызывать серьезные осложнения. Окислительный стресс избыток свободных радикалов повреждает клетки, нарушая нормальное функционирование тканей глаза.

Дегенерация и истончение роговицы: УФ излучение может повреждать коллаген, основной компонент роговицы, что приводит к ее истончению и дегенерации.

Хрусталик и сетчатка также подвержены воздействию ультрафиолетового излучения, что может привести к развитию катаракты, макулярной дегенерации и других серьезных заболеваний. Поэтому важно защищать глаза от ультрафиолетового излучения [172].

Пол

В настоящее время нет убедительных данных о том, что развитие КК связано с полом пациента. Оценка влияния гендерного фактора на частоту КК, проведенного в ряде исследований, не выявила прямой зависимости от пола больного [172, 224]. В то же время ряд авторов указывает на преобладание лиц мужского пола, в частности, в Норвегии они составили 73% [248], в Македонии – 71,7% [212]. Аналогичный результат преобладания КК у мужчин был выявлен в США [279].

Была показана разница в распространенности семейных наследственных форм КК, которую отмечали у 17% женщин и 11% мужчин [207].

Эндокринные изменения

Изменения гормонального статуса также рассматриваются как один из вероятных признаков развития заболевания и, в частности, его возможной ассоциации с периодом полового созревания у подростков.

Эндокринная перестройка организма женщины во время беременности может негативно повлиять на биомеханику роговицы и стать фактором риска прогрессирования КК [187].

Общеизвестно, что метаболические изменения, происходящие в организме при сахарном диабете, неизменно затрагивают структуры роговицы и глазного яблока [26]. Ранее сообщалось, что пациенты с диабетом имеют более низкий риск развития КК за счет метаболического

кросслинкинга роговичного коллагена, вызванного гипергликемией. Тем не менее, это обстоятельство остается обсуждаемой темой, поскольку другие исследования указывают на положительную связь между этими хроническими заболеваниями. В настоящее время изучение потенциальных генетических факторов, лежащих в основе КК и сахарного диабета, становится важным направлением научных исследований, способных дать разъяснения по этому вопросу [34, 43, 97, 123, 144, 174, 271].

Рядом авторов было изучено содержание половых гормонов: эстриола, эстрадиола, прогестерона и тестостерона, а также проведена оценка морфологических параметров роговицы (центральная толщина роговицы, наименьшая толщина роговицы и максимальная кератометрия - Kmax) в двух группах пациентов - с КК и миопией и астигматизмом. В результате исследования было установлено, уровень тестостерона был снижен как в плазме крови женщин, так и мужчин, тогда как уровень эстрадиола был повышен у мужчин. У пациенток женского пола наблюдалась положительная корреляция между концентрацией тестостерона, центральной толщиной роговицы и наименьшей ее толщиной, у мужчин – уровнем эстрадиола и Kmax. Авторы считают, что изменение уровней половых гормонов при КК является одной из составляющих этиопатогенеза заболевания [22, 343].

Возраст

Возраст – важный критерий в развитии и выявлении КК, играющий ключевую роль в стратегии диагностики и лечения заболевания. КК – болезнь молодых людей, как правило, с клинической манифестацией в возрасте полового созревания [207].

Представлены данные о том, что для возраста $18,8 \pm 5,35$ лет характерно наиболее частое начало и более выраженное проявление болезни. Средний возрастной период, когда диагностируется заболевание, приходится на $20,0 \pm 6,4$ – $24,05 \pm 8,97$ года [300], в норвежском исследовании средний возраст всех пациентов на момент первой регистрации заболевания составлял 37,5

лет [248]. Исследование в Македонии показало, что КК чаще встречался у мужчин и был характерен для более молодых пациентов. Увеличение возраста пациентов снижало вероятность постановки диагноза КК на 3,7% в год [212]. В США особенно высокая распространенность наблюдалась у мужчин в возрастных группах от 18 до 39 лет и от 40 до 64 лет [279].

При этом, следует отметить, что поначалу КК протекает, как правило, бессимптомно без явных признаков заболевания.

С возрастом наблюдается снижение темпов прогрессирования заболевания, связанное с естественным метаболическим кросслинкингом, в частности, соединительнотканых компонентов стромы, который приводит к некоторому повышению жесткости и снижению эластичности роговицы. Сообщается о низкой распространенности КК (7,4-15%) у лиц старше 50 лет [27, 145, 290, 298].

Соматические заболевания

Было показано, что фактором риска развития КК может быть атопия. Согласно данным научной литературы, в 23% случаев пациенты с КК страдали также астмой, в 14% – экземой, в 30% – аллергическим ринитом [303, 328]. До настоящего времени специалистами обсуждается вопрос об ассоциации КК с синдромом Дауна [262]. Из-за характерных иммунологических нарушений КК часто может сочетаться с системными дисплазиями соединительной ткани [16]. Исследователями из Нидерландов выявлена высокая взаимосвязь КК с тиреоидитом Хашимото и воспалительными заболеваниями кожи, подтверждена корреляция с атопическими состояниями, включая аллергическую сыпь, астму и гиперчувствительность бронхов, аллергический ринит [199].

Кератоконус - наиболее распространенное заболевание роговицы эктатического характера. Заболевание затрагивает представителей мужского и женского пола, и практически все этносы мирового населения. При этом распространенность КК разнится у лиц, представляющих различные

этнические группы и регионы проживания. На развитие заболевания влияют разнообразные факторы: генетические, экологические, техногенные. Кроме этого, свой вклад в патологический процесс способны вносить сопутствующие системные заболевания, особенности гормонального статуса, образа жизни, питания пациента.

Знание этиопатогенетических механизмов развития КК позволит разработать эффективные методы ранней доклинической диагностики этого заболевания, в т.ч. с использованием специфичных генетических и биохимических маркеров, а также предложить новые подходы этиотропного лечения этого прогрессирующего заболевания.

1.3. Классификация кератоконуса

На текущий момент не существует общепризнанной и унифицированной классификации КК, которая учитывала бы современные возможности диагностики и методы лечения. Одним из ранних и популярных классификационных подходов остается система М. Amsler (1961), основанная на биомикроскопическом изучении роговицы и данных офтальмометрии. Он выделил 4 стадии заболевания, где первые две (I-II стадии) считаются «скрытыми» (субклиническими) формами кератоконуса [209].

Эта классификация была пересмотрена и расширена Т.Д. Абуговой, что делает ее удобной для специалистов, занимающихся контактной коррекцией [2]. Автор, помимо классификации КК по 4 стадиям, определяемым микроскопическим исследованием, предложил дополнительную классификацию, основываясь на следующих критериях:

- по типу кератоконуса, определяемому с помощью кератотопографии: островершинный, туповершинный, пикообразный, низковоершинный, низковоершинный атипичный, пикообразный атипичный;
- по характеру прогрессирования: непрогрессирующий, медленно прогрессирующий, быстро прогрессирующий;

- по клиническим формам: несостоявшийся кератоконус, abortивная форма, классический кератоконус.

В 1982 году З.Д. Титаренко предложил классификацию заболевания, основанную на визометрии и биомикроскопии, которая включает 5 стадий. Однако данная классификация имеет недостаток – она не учитывает пахиметрические и кератотопографические данные, играющие важную роль в постановке диагноза и выборе тактики лечения [136].

Классификации J. Buxton (1973) и J. Kanski (2006) просты и удобны в использовании, однако они ограничены информацией об офтальмометрии и могут не справиться с потребностями широкого спектра специалистов в области офтальмологии и офтальмохирургии.

В 1992 году Ю.Б. Слонимский разработал классификацию КК, которая позволяет определить оптимальное время для проведения хирургического лечения. Эта классификация содержит три стадии болезни. Первая стадия, до хирургического вмешательства, характеризуется ухудшением зрения, неэффективностью очковой коррекции и успешным исправлением контактными линзами. На второй стадии, подходящей для хирургического лечения, присутствует эпителиопатия и трудности с ношением контактных линз. Третья стадия, терминальная, характеризуется серьезными рубцовыми изменениями роговицы и острой потерей зрения, требующей сквозной субтотальной кератопластики [14].

Изначальная классификация стадий хронической почечной недостаточности устарела из-за появления новых методов лечения и улучшения возможностей диагностики. В 2010 году она была обновлена и дополнена Ю.Б. и А.Ю. Слонимскими, выделившими 4 стадии болезни, включая субклиническую, первую (хирургическую) и терминальную стадии.

На сегодняшний день количество рабочих классификаций КК огромное [28, 47, 61, 62].

Предложенная С.Б. Измайловой с соавт. (2014) классификация КК, основанная на субъективных и объективных методах исследования,

представляется достаточно полной. В рамках этой классификации выделены 5 стадий КК, для каждой из которых предложены методы лечения [53]. Эта классификация учитывает все современные методы диагностики КК и помогает выбрать оптимальное лечение. Однако, она не проста и имеет некоторые недостатки, так как различные методы диагностики могут указывать на разные стадии заболевания. Кроме того, для применения этой классификации часто требуются специальные диагностические аппараты, которые не всегда доступны в медицинских учреждениях.

Классификация Amsler-Krumeich (1998) является наиболее популярной и широко используемой среди различных классификаций дистрофии роговицы. Она включает в себя не только данные биомикроскопии и офтальмометрии, но также данные пахиметрии и рефракции (Таблица 1).

Таблица 1 - Классификация кератоконуса по Amsler-Krumeich (1998)

Стадии кератоконуса	Дифференциальные критерии
I стадия	Эксцентричное увеличение кривизны роговицы Миопия и/или астигматизм <5,00 Д Средние показатели кератометрии в центре <48,00 Д
II стадия	Миопия и/или астигматизм 5,00-8,00 Д Средние показатели кератометрии в центре <53,00 Д Отсутствуют помутнения роговицы Минимальная толщина роговицы >400µm
III стадия	Миопия и/или астигматизм 8,00-10,00 Д Средние показатели кератометрии в центре >53,00 Д Отсутствуют помутнения роговицы Минимальная толщина роговицы 300-400µm
IV стадия	Рефракция не определяется Средние показатели кератометрии в центре >55,00 Д Центральное помутнение роговицы Минимальная толщина роговицы 200µm

Удобство данной классификации заключается в том, что в качестве дифференциальных критериев при определении стадии КК положены базовые диагностические методы, доступные практически во всех офтальмологических клиниках. Условная градация в показателях рефракции, кератометрии, пахиметрии позволяет на основании стадийной дифференциации определить характер течения болезни в динамике. Однако,

недостатком данной классификации является отсутствие указаний на субклиническую (*forme fruste*, доклиническую) стадию болезни.

Субклинический КК - это начальная стадия заболевания, при которой изменения в форме роговицы обнаруживаются только при помощи кератотопографии, то есть специального исследования, которое позволяет получить трехмерное изображение роговицы. В это время зрение остается хорошим, а видимых изменений в роговице при обычном осмотре (биомикроскопии) не наблюдается [191].

Субклинический КК – это сложная тема, вызывающая дискуссии среди специалистов. Некоторые авторы считают, что его нельзя рассматривать как предстадию кератоконуса, поскольку появление характерных кератотопографических паттернов уже свидетельствует о начале клинических признаков заболевания. Другие исследователи, наоборот, классифицируют субклинический КК как раннюю стадию, если отсутствуют характерные паттерны на роговице, но имеются отклонения в показателях задней поверхности или диагностирован КК на другом глазу.

Важность выделения формы *fruste* КК и своевременной диагностики заключается в том, что именно на этой стадии он может привести к послеоперационным осложнениям [296].

Распространение рефракционной хирургии и появление кросслинкинга роговицы при кератэктазиях подчеркнуло необходимость распознавания ранней или субклинической стадии заболевания. Если ранее оценивали изменения передней поверхности роговицы, которые происходят на поздних стадиях заболевания и обычно связаны с потерей зрения, то современная томографическая визуализация позволяет получить данные о задней поверхности роговицы и распределении толщины роговицы. Это способствовало разработке методов диагностики субклинического КК. В частности, M.W. Belin и соавт. (2020, 2022) предложили новую систему диагностики ABCD, которая включает определение показателей передней и задней кривизны с центром в самой тонкой точке роговицы, минимальные

показатели пахиметрии и остроту зрения вдаль в диапазоне от 0 до 4 баллов. Благодаря оценке именно этих показателей данная система определения стадии более точно отражает анатомические изменения, наблюдаемые при КК и других видах кератэктазии, и может быть использована для более раннего вмешательства и профилактики потери зрения [134, 184, 185].

Еще одним современным методом оценки топографии роговицы при КК является видеокератография на основе Placido disc, которая используется для более точного установления стадии. Так, при изучении топографии роговиц в глазах без патологии и при ее наличии с помощью видеокератографии на основе Placido disc (Oculus Keratograph [Oculus Optikgeräte GmbH, Вецлар, Германия]) было выявлено достоверное отличие во всех аберрациях волнового фронта. Наиболее высокую чувствительность показали среднеквадратичные значения комы и третьего порядка для распознавания КК (стадия 1) на здоровых глазах – 99% и 100% соответственно. Кроме того, данные показатели имели максимальную специфичность (100%) и высокую чувствительность (90 и 87% соответственно) для дифференцировки 1 и 2 стадий, а также хорошую чувствительность (97% и 100%) и специфичность (81% и 88%) - для дифференцировки 2 и 3 стадий [282].

На современном этапе активно развиваются методы диагностики КК с использованием методик машинного и глубокого обучения. В частности, ряд исследователей изучали наиболее релевантные параметры в отношении различных классификаторов, используемых для классификации КК, на основе набора данных Harvard Dataverse. В общей сложности был проведен анализ 446 параметров из 3162 наблюдений с помощью 11 различных алгоритмов выбора признаков. Авторы установили наивысшую эффективность классификации при использовании классификатора случайного леса (RF), точность которой составляет 98% и 95% для 2 и 4 стадий КК соответственно [170].

Появление алгоритмов машинного обучения, в частности, сверточных нейронных сетей (convolutional neural networks - CNN) способствовало более быстрой и точной идентификации и классификации КК по топографическим картам. Авторы считают, что эффективность системы с точки зрения точности составляет 95,9% для классификации КК легкой степени тяжести или усеченного кератоконуса [319].

Для выявления субклинического КК китайские исследователи изучали полезность коэффициентов Цернике, полученных на основе топографии и томографии роговицы, для искусственных нейронных сетей (KeratoScreen). Показатели чувствительности и точности составили 93,9% и 96,1% при субклинических формах КК и 97,6% и 95,1% - при КК, соответственно, что свидетельствовало о возможности применения нейронных сетей с целью выявления ранних стадий данного заболевания [210].

Таким образом, вопросы совершенствования классификации и диагностики КК по-прежнему остаются в центре внимания офтальмологов и требуют проведения дальнейших работ в этом направлении, включая и методы искусственного интеллекта.

1.4. Характер иммунологического ответа роговицы при кератоконусе

Предопределять особенности манифестации и течения КК могут местные изменения иммунологического статуса глаза. Отсутствие кровеносных сосудов в роговице затрудняет обмен веществ в этой области, способствуя развитию хронических форм КК и других глазных заболеваний.

Отсутствие сосудов и лимфодренажных путей в роговице, а также ее «изоляция» от остального организма, создают уникальные условия для развития патологических процессов, позволяют придать ему статус органа с «иммунной привилегией». Вероятно, в связи с этим гипореактивность роговицы названа одной из причин успешной приживляемости донорского роговичного имплантата при выполнении кератопластики [255].

Повреждения глаз, операции на роговице, хронические заболевания, воздействие вредных факторов среды и работы могут вызывать нарушения в иммунной системе, которые могут быть как локальными, так и общими [158]. Научные обобщения этой проблемы убедительно доказывают, что глазные ткани, включая роговицу, способны вносить свой вклад в иммунный ответ организма [158, 220, 317, 318]. Так, были получены данные о биорегуляторной роли про- и противовоспалительных цитокинов в иммунопатогенезе глазных заболеваний [157].

Несмотря на высокую распространенность КК, его этиология до конца не изучена. Строма роговицы представляет собой высокоупорядоченную сеть коллагеновых фибрилл и внеклеточного матрикса. Ранее патогенез КК объяснялся деградацией коллагена из-за повышенного уровня желатиназ, металлопротеиназ и каталаз в стромальных клетках, изменения которых были выявлены с помощью гистологических или биохимических исследований.

В настоящее время проводятся более углубленные исследования, позволяющие определить геномные, транскриптомные или протеомные изменения при КК. Для определения участия каждого типа клеток центральной части роговицы пациентов с КК и здоровых людей в прогрессировании заболевания был проведен анализ данных РНК-секвенирования (scRNA-Seq). В ходе данного исследования была подтверждена главная роль стромальных клеток роговицы в развитии заболевания, при котором происходит нарушение регуляции коллагена и внеклеточного матрикса. Авторы выявили два потенциальных новых маркера стромальных клеток кератоконуса - катепсин D (CTSD) и катепсин К (CTSK), а также повышенную регуляцию механотрансдуктора YES-ассоциированного белка 1 (YAP1) и фактора транскрипции TEA-домена (TEAD1). Дальнейшие циклические механические эксперименты показали, что несколько генов протеаз (включая MMP1, MMP3, CTSD и CTSK) могут индуцироваться растяжением, что указывает на индуктивную роль

механического растяжения в патогенезе КК. Эти результаты позволили установить патогенетическую роль оси биомеханика-ферменты в развитии КК, объяснив клинический феномен, заключающийся в том, что механические раздражители могут приводить к возникновению и усугублению симптомов заболевания. В эпителии роговицы выявлены редуцированные базальные клетки и аномально дифференцированные поверхностные клетки, свидетельствуя о повреждениях эпителия роговицы, которые обычно нелегко заметить при клинической диагностике [42, 204]. У пациентов с КК значительно увеличена доля активированных нейтрофилов, NK-клеток и $\gamma\delta$ T-клеток [205].

Полученные исследователями данные о взаимосвязи КК с такими заболеваниями как тиреоидит Хашимото, воспалительные заболевания кожи, атопические состояния свидетельствуют, что КК, по-видимому, положительно связан с многочисленными иммуноопосредованными заболеваниями. Это, в свою очередь, дает основания полагать, что системные воспалительные реакции могут влиять на его возникновение [199].

В последние годы появляется все больше доказательств, что при КК отмечается активация воспалительных процессов, в частности, повышение локального содержания провоспалительных цитокинов, инфильтрация зрелых дендритных клеток и лейкоцитов, активация путей заживления ран, нейропротекции, ангиогенеза и воспаления [263].

Исследования, проведенные X. Sun и соавт. (2022), позволили выявить в образцах эпителия роговицы пациентов с КК 547 экспрессируемых генов, которые в основном были связаны с иммунными реакциями и воспалительными процессами. Авторы сделали вывод, что нарушения путей сигнализации иммунной системы является частью патогенеза КК [320].

Показано, что в развитии КК большое значение может играть иммунное воспаление, взаимосвязанное с лизисным разрушением структур стромы. Заболевание характеризуется изменениями уровней противовоспалительных и воспалительных цитокинов, с повышением

производства IL-1 β , IL-6, IFN- γ и снижением выражения IL-10 [311]. Кроме этого, в слезе пациентов с КК обнаруживается повышенное содержание IL-5, -8 и -17 [180, 230], а также снижение уровней цитокинов, таких как IL-12, IFN- γ и IL-13, что может быть связано с развитием дегенеративных процессов. Отмечается увеличение содержания фактора некроза опухоли (TNF) α в слезе и сыворотке крови пациентов с КК или корнеосклеральными травмами [194]. Повышенная секреция цитокина в посттравматическом периоде связана с неблагоприятным течением и исходом патологического процесса.

Было показано, что при повреждениях роговицы запускаются механизмы цитокиноопосредованной постраневой модуляции, связанные с ростом содержания TNF- α , IL-1 α , TGF- β 1 [180, 194]. У пациентов с КК в слезной жидкости отмечено значительное повышение уровней IL-1 β , IL-6, LIF, IL-17A, TNF α , IFN $\alpha/\beta/\gamma$, EPO, TGF β 1, PDGF-BB, sVCAM, sL-селектина, гранзима-B, перфорина, MMP2, sFasL и IgE при существенном снижении содержания IL-1 α и IL-9. При этом изменения концентрации цитокинов коррелируют со степенью тяжести заболевания, аллергией, механическим трением глаз и показателями кератометрии или пахиметрии. Это наблюдение предполагает наличие явного иммуновоспалительного компонента в патогенезе КК [205]. О важной роли воспаления в патогенезе и развитии данного заболевания свидетельствуют и результаты других авторов, установивших изменение цитокинового профиля с повышенной концентрацией провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6 и TNF- α в слезной жидкости [342].

I.C. Ionescu и соавт. (2018) получили интересные результаты, касающиеся концентрации IL-4, IL-6, IL-10, RANTES, IFN- γ и TNF- α в слезной пленке пациентов с КК и близких их родственников. Установлено, что в среднем уровни цитокинов были одинаковыми в группе с КК и в образцах родственников, но значительно выше по сравнению с контрольной группой. Однако, уровни IL-4 существенно различались у пациентов с КК и

их родственниками, а также между родственниками и контрольной группой. Кроме того, у пациентов с КК была выявлена высокая взаимосвязь содержания IL-6 в слезной жидкости со стадией заболевания, показателями кератометрии, пахиметрии и отрицательная корреляция со значением гистерезиса роговицы. Авторы считают, что избыточная экспрессия цитокинов может быть связана с воспалительной этиологией заболевания, а повышенный уровень биомаркеров слезной жидкости у ряда членов семьи может представлять дополнительный фактор риска [229].

Изучение локального цитокинового статуса пациентов с КК показало повышенные уровни 14 цитокинов из 21 исследованных. При этом, как и в ряде других исследований отмечали существенный рост содержания IL-6, который коррелировал с тяжестью заболевания [278].

Исследование сывороточных маркеров воспаления (IL-1, IL-6 и TNF- α) и их соотношения с профилем хориоидеи у пациентов с КК показало, что уровни провоспалительных цитокинов были выше, а сосудистая оболочка была достоверно толще в каждой оцененной точке по сравнению с контрольной группой [289].

М. Fodor и соавт. (2021) установили высокий уровень IL-13 в слезе, что в сочетании с содержанием фактора роста нервов (NGF) позволяет прогнозировать прогрессирование КК со 100%-ной специфичностью и 80%-ной чувствительностью [208].

В другом исследовании показан статистически более высокий уровень IL-8 в эпителиальных клетках роговицы и образцах крови у пациентов с КК, что, возможно, связано с системным заболеванием. Необходимы дальнейшие исследования для выяснения патогенеза КК и его связи с системными заболеваниями [268].

При генотипировании полиморфизмов интерлейкина 17a G197A и интерлейкина 17f T7488C с использованием метода полимеразной цепной реакции было установлено, что полиморфизмы последнего могут оказывать влияние на развитие кератоконуса [22, 214].

Известно, что патофизиология КК связана с наличием истонченной стромы роговицы и измененным внеклеточным матриксом (ВКМ). Передача сигналов трансформирующего фактора роста β (TGF- β) является ключевым регулятором секреции и сборки ВКМ во многих тканях, включая передний сегмент глаза, и она связана с КК. Исследования показали, что клетки роговицы человека с КК имеют измененную структуру ВКМ по сравнению с нормальными фибробластами роговицы, что обусловлено изменением регуляции передачи сигналов TGF- β . Последнее, в свою очередь, способствует прогрессированию заболевания [292].

Выявлена взаимосвязь между функцией митохондрий и изоформами TGF- β , при этом TGF- β 1 серьезно нарушает функцию митохондрий в клетках роговицы при КК, в то время как TGF- β 3, напротив, поддерживает ее [304].

В роговице пациентов с КК выявлено усиление выработки TGF- β [344]. Было установлено, что повреждения слоев роговой оболочки сопровождаются ростом уровня TGF- β 1 в эпителии и строме. При более тяжелых травмах, наряду повышением содержания TGF- β , возможно рубцевание раневого участка, нередко, с развитием фиброза. Обычно при повреждениях роговицы наблюдается увеличение экспрессии белка TGF- β 1, если в строме роговицы отсутствует необходимое количество вещества, это может привести к уменьшению ее механической прочности [77, 321].

Исследования показали, что изменения в гене TGF- β 1 увеличивают вероятность возникновения КК. Так, например, изучение генетических аномалий в двух поколениях семьи из Китая, имеющих КК, показало наличие однонуклеотидного полиморфизма в гене, индуцируемом TGF- β 1, что привело к изменению аминокислоты p.R469H. В контрольной группе этот вариант не был обнаружен. Авторы заключают, что данный вариант гена TGF- β 1 может быть фактором риска развития КК [260].

Изучено влияние фотодинамической терапии с использованием красителя бенгальского розового в качестве фотосенсибилизатора на экспрессию коллагена I, коллагена V, TGF- β 1 и IL-6 в фибробластах

роговицы здорового человека и больных КК *in vitro*. Через сутки после фотодинамической терапии отмечено снижение экспрессии мРНК коллагена I, коллагена V и TGF- β 1 при одновременном повышении экспрессии мРНК IL-6 и белка в фибробластах роговицы пациентов с КК, тогда как у здоровых лиц наблюдали повышение уровня белка TGF- β 1 и IL-6 [24, 193].

Трансформирующий фактор роста β 2 – цитокин, иммуносупрессор, синтезируется эндотелиальными клетками, обнаруживается в слезе, влаге передней камеры глаза и стекловидном теле, участвует в продуцировании компонентов межклеточного матрикса при повреждениях роговицы.

TGF- β 2 подавляет пролиферацию клеток и синтез ряда провоспалительных цитокинов [327]. Р. Maier с соавт. (2007) было показано, что секреция TGF- β 2 в водянистую влагу важна для поддержания статуса иммунной привилегии в передней камере глаза. Были обнаружены высокие уровни активного TGF- β 2 в глазах с КК, что, по мнению авторов, может служить прогностическим критерием для успешного проведения сквозной кератопластики [267].

У 3/4 пациентов с КК выявляются высокие уровни иммуноглобулина А, G или М [113]. КК часто ассоциируется с аллергией и/или атопией, которые являются иммуноопосредованными воспалительными реакциями, в первую очередь вызванными IgE. Высокая доля пациентов с КК имели в анамнезе системную и/или глазную аллергию или страдали от нее с повышенным уровнем аллергенспецифического IgE и/или общего IgE в сыворотке крови. Трение глаз, являющееся одним из факторов риска обострения заболевания и развития связанных с ним осложнений при КК, связано с состояниями, обусловленными IgE [171]. Как показали ученые с помощью искусственного интеллекта, исследование содержания IgE у пациентов с КК можно использовать для прогноза прогрессирования заболевания [249]. Использование противоаллергических препаратов способствуют уменьшению уровня IgE и, таким образом, предотвращению

прогрессирования КК, вызванного трением глаз и возникающим в результате воспалением [308].

Таким образом, кератоконус – заболевание, в развитии которого одним из ключевых патогенетических факторов является нарушение иммунного баланса. Этот дисбаланс может проявляться как локально, так и системно, причем его выраженность зависит от стадии заболевания, наличия сопутствующих травм роговицы и других структур глаза.

1.5. Механизмы индукции апоптоза при кератоконусе

Апоптоз – сложный физиологический процесс, результат генетического механизма регуляции организма, обеспечивающего гомеостаз посредством самоуничтожения дефектных клеток. Программа клеточной гибели может быть индуцирована как естественными физиологическими, так и патологическими факторами. Современная классификация клеточной гибели выделяет два основных варианта: случайная (accidental cell death, ACD) и регулируемая, генетически запрограммированная гибель клетки (regulated cell death, RCD) [73, 209]. В настоящее время апоптоз как процесс стал предметом изучения в области офтальмологии для объяснения патогенеза различных глазных заболеваний, включая КК. Вызванный травмой апоптоз кератоцитов и замещение их фибробластами и миофибробластами нарушает организацию стромального матрикса, что приводит к помутнению роговицы и потере зрения. Поэтому важно понимать биологию и поведение кератоцитов и связанных с ними типов стромальных клеток (фибробласты, миофибробласты, стромальные стволовые клетки) при заживлении ран, патологиях роговицы, включая КК, а также в различных офтальмологических ситуациях, в частности, при сшивании коллагена [31, 337].

Как показали экспериментальные исследования *in vitro*, в эпителиальных клетках роговицы пациентов с КК отмечается значительно более высокая экспрессия проапоптотического маркера BAX по сравнению с

контролем, повышенная гибель клеток, слабая их дифференцировка и пролиферация [269, 309].

Ключевую роль в механизме апоптоза играют каспазы, которые активируются последовательно и вызывают каскад реакций, приводящих к клеточной гибели. Однако существуют также каспазо-независимые пути, например, с участием белка AIF, который индуцирует апоптоз без участия каспаз.

В процессе митохондриального пути индукции апоптоза происходит повреждение ДНК, а также активация белка p53, который регулирует экспрессию белков семейства Bcl-2, контролирующих проницаемость внешней мембраны митохондрий. Это приводит к изменению потенциала мембраны и высвобождению цитохрома C, активирующего каспазы и инициирующего процесс апоптоза [116].

Рецептор-зависимый (внешний) сигнальный путь апоптоза связан с взаимодействием внеклеточных лиганд с рецепторами клеточной гибели на поверхности клеточной мембраны. Fas-рецептор (CD95) является ключевым рецептором, ответственным за индукцию апоптоза в клетках. Он присутствует на поверхности различных клеток, таких как фибробласты и кератоциты. Сигнал для CD95 поступает от Fas-лиганда, который запускает механизм апоптоза через этот рецептор. Экспрессия CD95 на клетках конусной роговицы, наблюдаемая при КК, свидетельствует о готовности этих клеток к апоптозу при соответствующих сигналах. Количество клеток кератоцитов, экспрессирующих CD95, увеличивается в 8 раз в случае кератоконуса [110].

В качестве индукторов и ингибиторов клеточной гибели значимая роль отводится цитокинам. Показано, что в норме происходит незначительная продукция Fas-лиганда, тогда как при КК отмечается его экспрессия в эпителии, строме и эндотелии, приводящая к активации апоптоза кератоцитов [221].

Хроническое повреждение эпителия роговицы вследствие травм, хирургических вмешательств и даже ношения контактных линз, может индуцировать апоптоз кератоцитов, опосредованный действием ряда белков и цитокинов (Fas-L, IL1- α , - β и др.), и, таким образом, играть важную роль в патогенезе КК [98, 233]. В экспериментальных исследованиях показано, что денервация роговицы у мышей сопровождалась спонтанным отслоением эпителия роговицы и апоптозом клеток [258]. Апоптоз клеток роговицы могут вызывать большие дозы (более 1,5 мг/мл) антибиотика норфлоксацина, применяемого для лечения кератита [139, 338]. Аналогичный эффект наблюдали и при длительном и многократном использовании оксibuпрокаина – местного анестетика, широко применяемого в офтальмологических клиниках. Показано, что данный препарат в концентрациях от 0,025% до 0,4% обладает цитотоксичностью по отношению к клеткам эпителия роговицы, зависящей от дозы и времени применения, вызывая остановку клеточного цикла и индуцируя апоптоз этих клеток через митохондриально-зависимый проапоптотический путь – вызывая проницаемость плазматической мембраны, фрагментацию ДНК и образование апоптотических телец [206].

Внутриклеточные протеазы, такие как катепсины, могут выступать в роли медиаторов лизосомального апоптоза. При изменении проницаемости мембран лизосом катепсины могут высвобождаться в цитозоль и способствовать проведению программированной клеточной смерти. Этот процесс часто наблюдается при дегенерации роговицы, особенно на участках повреждения Боуменовой оболочки [217, 232]. Это может свидетельствовать о дисбалансе между протеиназами и их ингибиторами в конусной роговице при КК. Такой дисбаланс может способствовать разрушению экстрацеллюлярной матрицы и ухудшению механических свойств роговицы, что является одной из основных причин развития КК. Дальнейшие исследования в этом направлении могут помочь разработать новые методы лечения и профилактики данного заболевания [11, 13, 154, 166, 280].

Показано, что катепсины активируют внутренний путь апоптоза при участии Bid белка, одного из представителей семейства Bcl-2 [198]. Вместе с тем, катепсины могут индуцировать каспазо-независимый механизм клеточной гибели. Реализуя один из путей апоптоза, катепсины, как и матриксные металлопротеиназы (ММП), участвуют в деструкции межклеточного матрикса роговицы, не затрагивая при этом ткани конъюнктивы [217, 232]. Продукция и активация катепсинов В, G и К может быть опосредована рядом цитокинов (интерлейкины, TNF) [178].

Имеются сведения об участии матриксных металлопротеиназ (ММП) в развитии патологических состояний в роговице при КК, связанных, в частности, с процессами клеточной гибели. Матриксные металлопротеиназы – группа ферментов, функциональным предназначением которых является регуляция обмена компонентов межклеточного матрикса. ММП участвуют в ремоделировании тканей, миграции, адгезии, пролиферации и дифференцировке клеток в норме и, в частности, при КК. Активность металлопротеиназ в матриксе регулируется концентрацией естественных ингибиторов тканей, которые подавляют их функцию [109, 150]. Баланс между уровнями ММП и ТИМП играет значимую роль в процессах, влияющих на распад экстрацеллюлярного матрикса и гибель клеток [250]. Исследования показывают, что баланс между тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (ТИМП-1 и -3) может оказывать как противоапоптотическое, так и противоположное действие. Оказалось, что ТИМП-3 способен индуцировать апоптоз в клетках роговицы, в то время как ТИМП-1 снижает уровень апоптоза, вызванного ТИМП-3 [269].

Опосредованно в качестве индукторов апоптоза могут выступать активные формы кислорода [164]. Причиной гибели клеток роговицы может стать тепловое инфракрасное излучение [226].

При кератоконусе в процесс вовлекаются все слои роговицы, включая эндотелий, сопровождается процесс активацией апоптоза клеток. Исследования показывают, что изменения, происходящие при КК,

затрагивают все компоненты роговицы, но не являются воспалительными по своей природе, при этом гибель клеток осуществляется за счет реализации различных путей апоптоза (рецепторный, митохондриальный и др.) и не связана с развитием некроза. Однако следует отметить, что невоспалительный характер КК оспаривается рядом исследователей-офтальмоиммунологов [256].

Кроме «внутренних» факторов активации апоптоза клеток роговицы этот процесс индуцируется посредством влияния разнообразных «внешних» причин, таких как травмы глаза, офтальмохирургические вмешательства, неблагоприятные условия внешней среды и профессиональной деятельности, сопутствующие заболевания и пр. Развивающиеся в этом случае сценарии гибели клеток в структурах роговицы требуют детального изучения с целью формирования новых подходов к профилактике и лечению кератоконуса [30, 70, 169]. Так, например, было проведено исследование для оценки влияния загрязнения окружающей среды на развитие КК. Уровни содержания мелкодисперсных частиц были измерены в соответствии с имеющимися данными ВОЗ и соотнесены с результатами эпидемиологических исследований. Выявлена сильная взаимосвязь между развитием КК и содержанием в окружающей среде твердых частиц диаметром 10 мкм и менее, а также корреляция средней силы – с уровнем твердых частиц диаметром 2,5 мкм и менее. Считается, что мелкодисперсные частицы являются новым фактором риска развития КК, которые действуя косвенно, усиливают известные факторы риска, такие как атопия и трение глаз. Но они могут оказывать прямое воздействие на роговицу, усиливая апоптоз эпителиальных клеток и непосредственно взаимодействуя со структурой коллагена стромы [5, 231].

Таким образом, литературные данные показывают, что процессы апоптоза в клетках роговицы являются одной из составляющих патогенеза кератоконуса и его прогрессирования. Но для более полного раскрытия механизмов развития КК требуются проведение дальнейших исследований.

1.6. Роль свободно-радикальных процессов в патогенезе кератоконуса

Окислительно-восстановительный гомеостаз – деликатный процесс поддержания необходимого уровня антиоксидантных защитных механизмов и активных форм кислорода и окислителей азота. Любое нарушение этого баланса приводит к окислительному стрессу, который является ключевым патогенетическим фактором при некоторых глазных заболеваниях, включая КК.

Известно, что свободные радикалы являются участниками физиологических регуляторных процессов, а в случае нарушения баланса окислительно-восстановительных реакций становятся индукторами патологических состояний, таких как оксидативный или метаболический стресс [164, 227]. Наиболее изученные естественные метаболиты кислорода в организме человека: супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot -}$), гидроксильный радикал (ОН), гидропероксидный радикал ($HO_2^{\cdot}$), перекись водорода (H_2O_2). Высокий уровень активных форм кислорода (АФК) может быть связан со старением и различными дегенеративными заболеваниями органа зрения, включая поражение макулы и катаракту. Для роговицы было отмечено повреждение эпителия, которое наблюдалось, в частности, из-за длительного использования контактных линз или избыточного воздействия УФ излучения [286, 302].

Исследования показали, что эпителиальные клетки роговицы начинают производить активирующие факторы клеточного роста в ответ на действие эпидермального фактора роста. Эти факторы играют важную роль в процессах клеточного деления, присоединения, перемещения и заживления ран [228]. Подтвержден дозозависимый эффект воздействия АФК на ткани организма. Малое количество экзогенной перекиси водорода (10-50 μM) способствует движению и привязке клеток, а также ускоряет заживление ран на роговице в лабораторных исследованиях как *in vitro*, так и *in vivo*. Однако

при концентрации 60-70 μM происходит уменьшение жизнеспособности эпителиальных клеток [286].

Для оценки роли окислительного стресса в патогенезе КК проведено экспериментальное исследование на кератоцитах кролика. Было показано значительное увеличение выработки АФК и компенсаторная экспрессия антиоксидантных белков по сравнению с контрольной группой. Данный факт позволяет предположить, что повреждение стромальных клеток роговицы в результате окислительного стресса играет важную роль в развитии КК [261].

Мета-анализ данных по исследованию маркеров окислительного и антиоксидантного стресса при КК и у здоровых людей показал их повышение в слезной жидкости и в стромальных клетках роговицы при патологии глаз, тогда как содержание антиоксидантов в эндотелии, слезе, влаге передней камеры и крови было снижено. Следовательно, КК сопровождается нарушением регуляции маркеров окислительного стресса и антиоксидантов, что приводит к дисбалансу окислительно-восстановительного гомеостаза на локальном и системном уровне [96,148, 155, 281].

Изучение клеток роговицы пациентов с КК методом ПЦР-анализа в режиме реального времени позволило выявить при начальных стадиях заболевания статистически значимую недостаточную экспрессию ряда генов, участвующих в механической устойчивости эпидермиса. При продвинутых стадиях КК выявлено снижение экспрессии белков кератина (KRT)16 и KRT14, что указывает на нарушение механической устойчивости и защиты от окислительного стресса в эпителии роговицы при кератоконусе [265].

КК сопровождается увеличением активности ферментов, таких как катепсин В и G, которые способствуют образованию перекиси водорода. В ответ на это происходит повышение уровня каталазы – фермента, который утилизирует перекись водорода [238, 239]. Исследования М. Chwa и соавт. (2006) также показывают, что в культуре клеток (фибробласты стромы) роговицы с КК наблюдается нарастание активности каталазы и рост значений ряда активных форм кислорода, включая перекись водорода [196]. Усиление

продукции АФК может стать причиной активации процессов перекисного окисления липидов в тканях с образованием токсичных продуктов, таких как малоновый диальдегид.

Ряд исследователей считает, что дисбаланс окислительного стресса, обнаруженный в стромальных клетках роговицы у пациентов с КК, вызван нарушениями выведения АФК, а не повышенной их выработкой. Это показано в исследованиях *in vitro*, в которых наблюдали пониженную регуляцию генов антиоксидантов SOD1 и SOD3 при повышении экспрессии SOD2 [175].

Организм человека обладает сложной системой защиты от вредных свободных радикалов. Антиоксидантные ферменты, такие как супероксиддисмутаза (СОД), играют ключевую роль в этом процессе. СОД превращает токсичные супероксидные радикалы в менее опасные соединения, такие как перекись водорода, каталаза и глутатионпероксидаза. Они преобразуют перекись водорода в безопасные воду и кислород, завершая процесс детоксикации. Таким образом, эта сложная цепочка ферментов обеспечивает поддержание физиологического баланса в организме, защищая его от повреждающего действия свободных радикалов. Помимо СОД, каталазы и глутатионпероксидазы в систему антиоксидантной защиты слезной жидкости входят: церулоплазмин, глутатионредуктаза, аскорбат, токоферол [115].

Вместе с тем противооксидантная состоятельность слезы признана недостаточной, в связи с низким содержанием в ней каталазы или глутатионпероксидазы. Так, было показано, что активность СОД в слезной жидкости и ВПК несколько ниже, а ингибирование супероксид радикала может происходить при использовании аскорбиновой кислоты. Принято считать, что внутриглазные структуры имеют меньшую защиту от супероксид радикала, чем экстраокулярные ткани. При этом в роговице и склере более всего обнаруживается внеклеточная и цитозольная СОД, что связывают с их контактом с окружающей средой и вероятностью развития в

них фотоокислительных взаимодействий с участием супероксида. I.M. Balms и соавт. (2020) подтвердили сниженную активность антиоксидантного фермента СОД в слезной жидкости у пациентов с КК по сравнению с здоровыми людьми, что приводит к увеличению окислительного стресса и повышению уровня перекисного окисления липидов. Кроме того, у пациентов с КК наблюдалась значительно более высокая активность фермента GPx по сравнению с контролем, что свидетельствует о компенсаторной реакции на интенсивное перекисное окисление липидов [181].

Ферменты СОД играют решающую роль в противодействии активным формам кислорода и обеспечении защиты от окислительного стресса. Анализ развития КК показал, что повышенные уровни малонового диальдегида по сравнению с группой здоровых лиц увеличивали риск возникновения заболевания, в то время как более высокая активность фермента SOD1 и более высокие значения общего антиоксидантного статуса снижали риск развития КК [305].

Оксид азота (NO) II является еще одним важным фактором межклеточного взаимодействия, который участвует в окислительно-восстановительных процессах, обуславливая развитие дегенеративных заболеваний глаза [40, 60, 101, 195]. Установлена высокая иммунореактивность эндотелиальной и нейрональной NO-синтаз в строме роговицы при КК по сравнению с нормой. Кроме этого в роговице с КК был обнаружен нитротирозин, который является важным показателем развивающегося окислительного стресса с участием свободных радикалов. По уровню нитротирозина оценивают продукцию наиболее токсичной азотсодержащей АФК пероксинитрита (ONOO⁻). Образование последнего продукта происходит в результате реакции оксида азота с супероксидным анион-радикалом. Он обладает высокой окислительной активностью и может вызывать повреждение различных молекул в клетках, включая ДНК и белки [190]. Рассмотрена важная функция пероксинитрита в формировании

воспалительных процессов в глазах [114], индукции процессов перекисного окисления липидов с инаktivацией фермента СОД [202]. У пациентов с КК отмечено значительное повышение значений соотношения моноцитов к холестерину липопротеидов высокой плотности и нейтрофилов к лимфоцитам, являющихся признанными показателями окислительного стресса и системного воспаления [236].

Таким образом, одним из патогенетических механизмов развития кератоконуса является локальный оксидативный стресс, в т.ч. хронического характера. Такое патологическое состояние может быть следствием метаболических расстройств, контакта глазных тканей с агрессивными проявлениями окружающей среды, включая влияние кислорода воздуха, избыточного воздействия естественных и искусственных источников света с ультрафиолетовым излучением различной длины волны. Следует отметить, что оксидативный стресс, затрагивающий интраокулярные ткани, создает неблагоприятный фон для развития и прогрессирования дегенеративных и воспалительных процессов в структурах роговицы и глаза в целом.

1.7. Ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы

Ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы (УФ КЛР) – уникальная медицинская технология, сформировавшая новую отрасль в офтальмологии, именуемую, как «молекулярно-энергетическая хирургия» или «инжиниринг тканей». УФ КЛР стали успешно применять для лечения хронических дегенеративных заболеваний роговицы глаза.

Метод основан на УФ-А облучении роговицы с величиной длины волны 370 нм с фотосенсибилизатором (рибофлавин) [332]. УФ КЛР улучшает биомеханические свойства роговой оболочки за счет увеличения количества внутрифибриллярных связей, которые образуются в результате фотохимических реакций, стимулируемых УФ-активированным рибофлавином и АФК [28, 65, 71, 149, 218, 243, 244, 245, 312, 315, 334].

Клиническое применение УФ КЛР началось в 2003 году с момента официального опубликования первых результатов лечения КК. Авторы данной методики – Gregor Wollensak и его коллеги – профессора Eberhard Spoerl и Theo Seiler [332].

Используемая для УФ КЛР стандартная доза ультрафиолета составляет $5,4 \text{ Дж/см}^2$, которая образуется за счет составляющих ее параметров: мощность ультрафиолета диапазона А – 3 мВт/см^2 и время воздействия – 30 минут. Такая доза УФ излучения признана безопасной для эндотелиальных клеток роговицы и глублежащих интраокулярных структур, включая пигментный эпителий сетчатки. При выполнении УФ КЛР роговичного коллагена эндотелиального слоя может достигать ультрафиолет величиной $0,18 \text{ мВт/см}^2$, тогда как порог повреждающего действия для эндотелиоцитов составляет $0,35 \text{ мВт/см}^2$, для кератоцитов – $0,5 \text{ мВт/см}^2$ [29, 117, 313, 331]. В среднем глубина частичного поражения стромальных клеток не превышает 300 мкм, при этом наибольшую гибель кератоцитов можно наблюдать преимущественно в передней строме. При проведении процедуры кросслинкинга источник УФ-излучения обычно располагают на расстоянии 1-2 см от поверхности роговицы. Согласно принципу Колера, из-за рассеяния света в слоях роговицы только часть энергии ультрафиолета достигает глубинных слоев стромы, эндотелия и тканей глаза. Это обеспечивает достаточную эффективность процедуры, не вызывая повреждений более глубоких тканей [242, 314].

Помимо УФ облучения роговой оболочки обязательной составляющей в реализации кросслинкинга роговичного коллагена является рибофлавин (витамин B_2), который должен присутствовать в процессе воздействия ультрафиолета на роговицу [147, 167, 332]. Рибофлавин в системе кросслинкинга играет важную роль фотосенсибилизатора, индуцирующего при УФ-А облучении фотохимические взаимодействия с субстратом. Используемая для УФ КЛР длина волны 370 нм призвана фотоактивировать рибофлавин, трансформируя часть его молекул в возбужденное состояние –

синглетное и триплетное. Наряду с этим рибофлавин в присутствии основного кислорода воздуха генерирует образование АФК, в т.ч. синглетный кислород. Важно отметить, что некоторое количество рибофлавина остается неизменным и оказывает выраженное УФ-протекторное и антиоксидантное действие, способствуя процессам синтеза экстрацеллюлярного матрикса, уменьшению содержания оксидаз и снижению АФК-опосредованных нарушений [194, 313].

Описаны 2 типа фотохимических взаимодействий в тканях роговицы при рибофлавин-УФ-А-кросслинкинге – кислородный и бескислородный. В механизме I типа (бескислородного) триплетный рибофлавин может выступать в качестве самостоятельного агента сшивания, воздействуя на субстрат (фибриллы коллагена стромы). Кроме этого, триплетный рибофлавин, взаимодействуя с основным кислородом, образует супероксидный анион радикал. Для этого способа характерно низкое содержание кислорода в тканях, которое наблюдается в более глубоких слоях стромы, а также в начальной фазе УФ облучения при достаточном количестве рибофлавина. Механизм II типа (кислородного) кросслинкинга связан с образованием синглетного кислорода в результате взаимодействия триплетного рибофлавина с основным кислородом. Синглетный кислород является одним из ключевых агентов сшивания в кислородной системе кросслинкинга. Образующиеся при этом АФК также могут реагировать с субстратом. II тип взаимодействия распространен в передней строме, где больше присутствует основного кислорода. Доставка рибофлавина в роговицу путем его дополнительной диффузии усиливает механизм I типа фотохимических взаимодействий в тканях стромы [259, 264]. Исследование кинетики процесса показало, что концентрация кислорода в роговице модулируется УФ излучением и быстро снижается в начале (в течение первых секунд) УФ-А облучения [234].

Показано, что синглетный кислород реагирует с гистидином или другими аминокислотами, содержащими реакционноспособные карбонильные

группы, образуя промежуточное соединение имидазолон. Последний может взаимодействовать с гидроксипролином, треонином или тирозином, образуя меж- и внутримолекулярные поперечные связи (сшивки, «мостики») внутри и между фибриллами коллагена и окружающими его протеогликанами [168, 271].

Следует отметить, что увеличение мощности УФ воздействия или продолжительности облучения, как и повышение концентрации рибофлавина в системе кросслинкинга не приводят к желаемому росту эффективности процедуры и улучшению прочностно-механических свойств роговицы [122, 253, 314].

КК - противоречивое офтальмологическое заболевание, часто рассматриваемое как многофакторное и мультигенное, с плохим или не до конца понятым этиопатогенезом. Процедура сшивания коллагеном роговицы (КЛР) является наиболее распространенным хирургическим методом лечения КК, который одновременно замедляет истончение роговицы и останавливает прогрессирование заболевания [46, 52, 55, 59, 68, 74, 78, 79, 80, 93, 127, 129, 136, 138, 159, 160, 161, 163]. Хотя обширные исследования дают убедительные доказательства системного окислительного стресса у пациентов с КК и на животных моделях, мало что известно о маркерах окислительного стресса в слезной жидкости, таких как активность антиоксидантных ферментов или маркеры перекисного окисления липидов [9, 23, 108, 152]. Кроме того, мало что известно о динамике окислительного статуса после КЛР. Таким образом, мы стремились оценить три маркера окислительного стресса в слезной жидкости пациентов с КК до и после процедуры КЛР. Общая ферментативная активность СОД и глутатионпероксидазы (GPx), а также уровни малонового диальдегида (MDA) были оценены в слезе 20 пациентов с КК, которым была рекомендована процедура КЛР. Установлено значительное снижение активности СОД после КЛР и рост активности GPx по сравнению с исходными уровнями КК и контрольной группой ($p < 0,001$). Эта работа

предоставляет дополнительные данные о состоянии окислительного стресса в слезной жидкости пациентов с КК, учитывая динамику общих маркеров окислительного стресса как до, так и после процедуры КЛР, доказывая, что последний может иметь значение в лечении этого заболевания [181].

1.7.1. Современные клинические протоколы ультрафиолетового кросслинкинга роговицы

Стандартный протокол

Стандартный протокол УФ КЛР, именуемый также Дрезденским, был предложен и впервые клинически апробирован проф. G. Wollensak с соавт. (2003). Параметры стандартного протокола: мощность УФ облучения – 3 мВт/см² и продолжительность воздействия ультрафиолета – 30 минут. Этапу облучения неизменно предшествует деэпителизация (Epi-Off) центральной зоны роговицы и пропитывание стромы фотосенсибилизатором посредством глазных инстилляций раствора 0,1% рибофлавина в течение тридцати минут. Деэпителизация необходима, потому что интактный эпителий ограничивает проникновение рибофлавина в строму [8, 44, 142, 203]. Важным условием проведения эффективного и безопасного КЛР является состоятельность насыщения стромы фотосенсибилизатором. Поэтому до перехода к этапу УФ облучения важно соблюдать продолжительность инстилляций рибофлавина. Недостаточный уровень рибофлавина в строме приводит к снижению количества межфибриллярных сшивок и увеличению кросслинкинг-индуцированных осложнений в виде избыточного апоптоза кератоцитов [151, 189, 203]. Удаление эпителия обеспечивает также доступ кислорода воздуха к роговой оболочке в процессе выполнения процедуры КЛР.

Предметом обсуждения специалистов остается оптимальная площадь деэпителизации роговицы с тем, чтобы соблюсти баланс между созданием приемлемой концентрации рибофлавина в строме и быстрым восстановлением эпителия в послеоперационном периоде. При этом,

несмотря на развитие роговичного синдрома с болевым ощущением, связанное с удалением эпителия, рекомендуется проводить достаточно обширную дезэпителизацию диаметром до 8 мм [17]. В этом случае, помимо достаточного количества ФС в строме, будет облегчен доступ кислорода воздуха к роговице. Кроме этого, сохраненный эпителий может поглощать часть энергии УФ-А излучения, вызывая нежелательное ослабление эффекта кросслинкинга [36, 103, 333]. Несмотря на это, многие исследователи предпринимают обоснованные попытки минимизировать удаление эпителиального слоя, что особенно важно в лечении тонких роговиц. Была описана техника, которая включала эпителиальную санацию роговицы с сохранением эпителия непосредственно над верхушкой конуса по данным топографии. По мнению авторов, интактный участок эпителия, пропитанный рибофлавином, был как защитный экран от УФ-А излучения над самой тонкой зоной роговицы. В то же время парацентральная часть с удаленным эпителием подвергалась полноценному кроссликингу [20, 130, 251]. Имеются сведения о применении дозированной скарификации эпителия при выполнении УФ КЛР [56, 81, 83, 128].

Важным показателем для выполнения УФ КЛР является минимально допустимая толщина роговицы – 400 мкм (с учетом удаленного эпителия). При меньших размерах корнеальной толщины существует вероятность необратимого повреждения клеток эндотелия роговицы УФ-А излучением. Также известно, что толщина роговицы уменьшается интраоперационно во время КЛР из-за возможного ее пересыхания в течение длительного воздействия УФ-А света или обезвоживания роговицы, вызванного применением растворов рибофлавина с декстраном [325].

Отмечается, что удаленный эпителий при проведении стандартного УФ КЛР может стать причиной возможных, хотя и маловероятных, послеоперационных инфекций [58, 63, 266, 288, 291, 295].

Таким образом, попытки модифицировать стандартный протокол способствовали внедрению оригинальных способов транспорта рибофлавина в строму и созданию нового метода кросслинкинга.

Трансэпителиальный протокол

Так, была предложена трансэпителиальная (Epi-On) техника УФ КЛР, которая расширила показания к применению метода и позволила проводить процедуру у пациентов с роговицей около 400 мкм. Главной особенностью данного клинического протокола является трансэпителиальная доставка рибофлавина в строму посредством дополнительных терапевтических манипуляций. Важными преимуществами Epi-On метода стали его неинвазивный характер, снижение риска развития потенциально возможных инфекционных осложнений, связанных с деэпителизацией и отсутствие роговичного синдрома с нарушением зрительных функций до 3-4 дней. При этом отмечается существенно менее выраженная индукция процессов иммуноморфологической модуляции роговицы в виде отека или хейза.

Ионофорез роговицы с рибофлавином был предложен как один из способов трансэпителиального насыщения стромы при КЛР [21, 28, 186]. Клинически подтверждено, что доставка фотосенсибилизатора в строму может осуществляться и за счет инстилляций раствора рибофлавина с бензалкония хлоридом, выполняющего роль пенетратора, способного ослабить межклеточные связи эпителия [182, 240, 294]. Имеются данные о том, что внутрикамерную инъекцию рибофлавина успешно применяли с целью его диффузии через однослойный эндотелий в строму роговицы свиного глаза [189]. Для пропитывания интактной роговицы кролика в эксперименте был использован ультразвук в присутствии рибофлавина [252].

При некоторых явных преимуществах трансэпителиальной технологии кросслинкинга, отмеченных выше, стоит указать на его некоторые недостатки. Убедительно доказано, что Epi-On способ уступает по своей эффективности стандартному протоколу, что, очевидно, связано с меньшим

содержанием рибофлавина в строме при сшивании. Кроме того, нативный эпителиальный слой ограничивает доступ кислорода воздуха к роговице и является дополнительным препятствием на пути ультрафиолета при облучении. Метаанализ статей из базы данных Medline, ориентированных на исследование сравнения трансэпителиальной и стандартной методик КЛР, подтвердил эффективность последней, которая может быть признана эталонной. Вместе с тем многочисленные оценки трансэпителиального кросслинкинга указывают о необходимости дальнейших исследований особенностей этой технологии и обоснованности ее применения, в частности, у детей или пациентов с тонкой роговицей [2, 41, 54, 85, 86, 87, 89, 84, 90, 91, 105, 106, 107, 131, 162].

Акселерированный протокол

Известно, что сочетание стандартных параметров мощности (3 мВт/см^2) и времени (30 минут) кросслинкинга суммарно создают флюенс УФ излучения равный $5,4 \text{ Дж/см}^2$. При этом, сохраняя неизменной дозу воздействия, возможно сокращение продолжительности облучения с пропорциональным увеличением её мощности [197, 297, 339]. Такие параметры излучения легли в основу акселерированных или ускоренных протоколов кросслинкинга:

6 мВт/см^2 – 15 минут,

9 мВт/см^2 – 10 минут,

15 мВт/см^2 – 6 минут,

18 мВт/см^2 – 5 минут

и даже 30 мВт/см^2 – 3 минуты, 45 мВт/см^2 – 2 минуты или 90 мВт/см^2 – 1 минута.

Очевидно, что главным преимуществом ускоренного УФ КЛР является существенное уменьшение продолжительности процедуры, а к недостаткам, на первый взгляд, можно отнести ограниченные технические возможности аппаратов для КЛР, которые не всегда могут генерировать повышенные

мощности ультрафиолета. Однако, наиболее значимым аспектом в оценке стандартного и акселерированного клинических протоколов является их сопоставление по критериям эффективности и безопасности.

Ряд исследователей указывают на близость значений биомеханического отклика роговицы при сравнении результатов стандартного и акселерированного КЛР [112, 225], анализ которых показал идентичный характер ультраструктурных изменений коллагена свиной стромы и ее прочностных свойств [105, 273].

Акселерированный КЛР ($9 \text{ мВт/см}^2 - 10 \text{ минут}$) продемонстрировал хорошие результаты в лечении КК [336]. Были представлены данные клинического лечения пациентов с КК методом ускоренного КЛР в режиме $7 \text{ мВт/см}^2 - 15 \text{ мин}$, что при сравнении с традиционной (стандартной) техникой продемонстрировало вполне сопоставимые результаты по критериям эффективности, безопасности и предсказуемости положительного результата лечения с включением остроты зрения и данных кератометрии [51, 235]. Сходные результаты клинического применения акселерированного УФ КЛР были получены с использованием параметров $18 \text{ мВт/см}^2 - 5 \text{ мин}$ [223] и $30 \text{ мВт/см}^2 - 3 \text{ мин}$ [276, 323]. Достоверных различий в отношении МКОЗ, НКОЗ и среднего сферического эквивалента не было установлено между группами пациентов с КК, пролеченных по стандартному и ускоренному ($9 \text{ мВт/см}^2 - 10 \text{ мин}$) протоколам [176].

Однако в научной литературе представлены многочисленные, достаточно убедительные доказательства того, что применение акселерированных протоколов не обеспечивает идентичную стандартному КЛР степень повышения жесткости роговицы. Так, прочностно-механические свойства свиных роговиц после ускоренного УФ КЛР в различных сочетаниях значений «мощность – время» (в частности, от 3 до 90 мВт/см^2 продолжительностью от 1 до 30 минут) были ниже, чем в группе стандартного метода [51, 314, 316, 330]. С.С. Medeiros и соавт. (2016) характеризуют ускоренный КЛР в целом как безопасный и эффективный

метод остановки прогрессирования кератэктазий [274]. Исследованные авторами клинико-морфо-функциональные показатели, в частности, глубина демаркационной линии (ДМ), отличались в зависимости от времени экспозиции – чем меньше продолжительность УФ облучения тем поверхностнее располагалась ДМ, являющаяся важным показателем оценки клинической эффективности УФ КЛР [141].

Объясняется это тем, что фотохимические взаимодействия при акселерированном воздействии повышенной мощности УФ излучения на роговицу протекают в условиях дефицита кислорода, что, в свою очередь, вызывает снижение продукции одного из основных кросслинкеров – синглетного кислорода. Таким образом, эффективность сшивания коллагена снижается, причем, чем выше мощность воздействия УФ, тем ниже сшивающая способность данной процедуры. Так, экспериментально было показано, что истощение и постепенное восстановление растворенного кислорода под роговичным лоскутом толщиной 100 мкм при КЛР с рибофлавином – процесс, зависящий от времени. Сразу после начала УФ облучения концентрация кислорода в роговице стремительно падает практически до нуля и через 15 секунд начинает постепенно увеличиваться, достигая через 10 минут примерно 10% от исходного значения [12, 39, 299].

Таким образом, акселерированный кросслинкинг достаточно эффективно обеспечивает сшивание молекул в роговице, однако уступает стандартному протоколу по клинической эффективности.

Импульсный акселерированный протокол

Применение интермиттирующего режима в виде включения и выключения УФ света при процедуре КЛР известен как импульсный режим облучения. По данным Р. Камаев и соавт. (2012), УФ-А облучение роговицы вызывало быстрое (в течение нескольких секунд) истощение кислорода в рибофлавин-содержащей роговице на измеряемой глубине 100 мкм, а выключение УФ-света приводило к восполнению кислорода до исходного

уровня в течение 3-4 минут [234]. Это теоретически могло обеспечить оптимальные условия для повышения эффективности процедуры, однако клинические исследования не показали значимой разницы с акселерированным протоколом [270].

Таким образом, УФ кросслинкинг является многообещающим методом лечения, в частности, кератоконуса, который обладает рядом важных преимуществ в сравнении с другими способами лечения дегенеративных заболеваний роговицы. УФ-кросслинкинг роговицы воздействует на патогенетические механизмы развития заболевания, стабилизируя прогрессирующий патологический процесс, и позволяет сохранить и улучшить зрительные функции. УФ кросслинкинг – перспективная технология, которая быстро находит применение в разных областях, от медицины до молекулярной биологии. Ее простота, минимальное вмешательство и высокая эффективность делают ее привлекательной для широкого спектра исследователей. Помимо уже известных применений, ведутся активные исследования новых возможностей применения УФ кросслинкинга биологических тканей. Эта технология открывает новые горизонты в изучении сложных биологических процессов и создает основу для разработки инновационных методов лечения и диагностики [100, 165].

Тем не менее, остается целый ряд вопросов, которые требуют изучения. Необходимо проведение эпидемиологических и экспериментально-клинических исследований для получения новых данных о патогенезе кератоконуса, процедуры, разработать хирургические технологии и отечественные медицинские изделия для проведения кросслинкинга роговицы. Это будет способствовать дифференцированному подходу к выбору протокола проведения УФ кросслинкинга роговицы и созданию стройной системы лечения пациентов с кератоконусом. Решению данных вопросов и посвящена диссертационная работа.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Современные приоритетные направления в лечении КК с применением кросслинкинга определили необходимость совершенствования существующих протоколов и оборудования для УФ облучения роговицы.

В настоящей работе проводили экспериментальное изучение и оценку *ex vivo* (на свиных глазах – 1 этап) и *in vivo* (на глазах кроликов – 2 этап) раствора фотосенсибилизатора при проведении кросслинкинга с учетом толщины роговицы.

Предложены устройства для УФ-облучения и новые протоколы КЛР.

2.1. Общая характеристика материала и методов исследования

Исследование включает в себя эпидемиологический, экспериментальный и клинический анализ результатов применения различных протоколов кросслинкинга. Детальное описание данного исследования представлено в таблице 2.

Таблица 2 - Дизайн исследования

Объем исследования	Наименование
1. Эпидемиологические исследования	
Популяционные исследования «Ural Children Eye Study» (4933 респондента) «Ural Eye Medical Study» (5899 респондента) «Ural Very Old Study» (1526 респондента)	Определение пограничных состояний и верификация латентной формы кератоконуса, а также корреляции различных показателей роговицы в общей популяции
Пациенты с установленным диагнозом «кератоконус», проживающие в РБ 592 пациентов (1184 глаза)	1 подгруппа – пациенты в возрасте от 10 до 18 лет (55 пациентов) 2 подгруппа – пациенты в возрасте от 19 до 40 лет (445 пациентов) 3 подгруппа – пациенты в возрасте старше 40 лет (92 пациента)

2. Экспериментальный раздел	
24 животных (48 глаз) были распределены по 4 группам (по 6 кроликов в каждой): 1 – интактные глаза, 2 – УФО без рибофлавина, 3 – УФО с Декстралинком, 4 – только дезэпителизация из них 18 кроликов (36 глаз), разделены на 3 группы (по 6 кроликов в каждой): 1 – интактные (контроль), 2 – УФО без рибофлавина, 3 – УФО с раствором «Декстралинк», Срок наблюдений: 3, 7, 14, 30 и 90 сут.	Определение динамика показателей люминолзависимой хемилюминесценции влаги передней камеры глаза экспериментальных животных – кролика с применением различных моделей УФ воздействия Выявление прижизненных изменений в роговице экспериментальных животных после УФ-кросслинкинга по данным конфокальной микроскопии переднего отрезка глаза
30 крыс (60 глаз) линии Wistar весом 280-320 г. были разделены на 3 группы: 1 – интактные (контроль); 2 – УФО без рибофлавина; 3 – УФ-кросслиндинг роговицы с 0,1% раствором рибофлавина (Декстралинк)	Иммуногистохимическая оценка влияния УФ-кросслинкинга на процессы апоптоза и некроза в роговице. Определение содержания белка Bcl-2, каспазы-3 и каспазы-8, TGFβ1 и FGF-1 в кератоцитах
3. Клинический раздел	
Всего 376 пациентов (532 глаза)	применяемый протокол и клиничко-функциональные исследования
Стандартный кросслиндинг, 147 пациентов (218 глаз)	Стандартный «Дрезденский» протокол КЛР с дезэпителизацией роговицы
Акселерированный кросслиндинг, 105 пациентов (146 глаз)	Акселерированный протокол КЛР с дезэпителизацией роговицы
Импульсный-акселерированный кросслиндинг, 28 пациентов (34 глаза)	Импульсный-акселерированный протокол КЛР с дезэпителизацией роговицы
Трансэпителиальный кросслиндинг, 63 пациента (89 глаз)	Трансэпителиальный протокол КЛР с ионофорезом (электрофорезом)
Модифицированный кросслиндинг при тонких роговицах, 33 пациента (45 глаз)	Модифицированный протокол КЛР при тонких роговицах
55 пациентов (110 глаз) с прогрессирующим течением после процедуры УФ кросслинкинга	Повторный УФ кросслиндинг

2.2. Эпидемиологические методы исследования

Серия исследований основывается на анализе клинико-функциональных данных 592 пациентов с установленным диагнозом «кератоконус» из Республики Башкортостан, которые составили исследуемую группу. Из них 190 больных женского (32,1%) и 402 - мужского пола (67,9%) (1:2) в возрасте от 10 до 78 лет. Для более подробного клинико-эпидемиологического анализа пациенты были разделены на 3 возрастные подгруппы следующим образом: 1 подгруппа – пациенты до 18 лет (11,5%), 2 подгруппа – с 19 до 40 лет (69,6%), 3 подгруппа – больные старше 40 лет (18,9%).

Гендерная и возрастная характеристика контрольной группы представлены в таблице 3. Контрольную выборку составили 66 здоровых индивидов соответствующего пола, возраста и этнического состава, прошедших полное офтальмологическое обследование.

Таблица 3 - Поло-возрастные характеристики больных кератоконусом

Пол	Количество больных	Средний возраст, лет
Женский	17	35,5
Мужской	49	25,1

Следующие исследования были направлены на оценку значимости биометрических показателей роговицы, полученных с помощью проекционного сканирующего топографа «Orbscan» в диагностике субклинической стадии КК. В исследование были включены топографические, пахиметрические и элевационные показатели 80 пациентов (80 глаз), разделенных на три подгруппы. Первую - контрольную – составили 25 пациентов (25 глаз), не имеющие признаков КК в сроки наблюдения более одного года после проведения LASIK по поводу миопии и гиперметропии. В этой подгруппе анализ кератотопографических и пахиметрических

параметров проводился по предоперационным данным Orbscan. Вторую подгруппу (27 пациентов - 27 глаз) составили пациенты с субклинической формой КК – «forme fruste» (FFKK). Критерием включения больных в эту группу являлось наличие КК на парном и отсутствие признаков заболевания на исследуемом глазу по данным стандартных офтальмологических методов обследования. В третью исследовательскую подгруппу (28 пациентов - 28 глаз) были включены пациенты с манифестной формой кератоконуса (I-III стадии по классификации Amsler-Krumeich, 1998).

Эпидемиологическое исследование включало результаты популяционных исследований: «Ural Children Eye Study» (UCES), «Ural Eye and Medical Study» (UEMS) и «Ural Very Old Study» (UVOS). Комитет по этике Ученого совета Уфимского НИИ глазных болезней одобрил дизайн всех трех исследований и подтвердил их соответствие Хельсинкской декларации. Все взрослые участники исследования и хотя бы один родитель участников исследования UCES, дали информированное письменное согласие.

В UCES были включены дети из четырех случайно выбранных школ, расположенных в Кировском районе г. Уфы (общее количество учеников в каждой школе: 598, 1030, 2099, 1936). В исследовании участвовали ученики 1-11 классов. Из 5663 детей для участия было отобрано 4933 (87,1%) школьника, средний возраст $11,8 \pm 3,1$ лет (диапазон: 6–17 лет). Исследование UCMS проводилось в период с января 2019 г. по апрель 2022 г.

Исследование UEMS охватывало жителей г. Уфы и сельских районов Республики Башкортостан в период с 2015 по 2017 г. Критериями включения являлись проживание на исследуемых территориях и возраст старше 40 лет. Из общего числа подходящих лиц (7328), в исследовании приняли участие 5899 (80,5%) человек (средний возраст $59,0 \pm 10,7$ лет, диапазон: 40–85 лет). Исследуемая популяция по половому и возрастному составу существенно не отличалась от общей структуры населения России согласно переписи 2021 г.

Исследование UVOS выполнялось в период с 2017 г. по декабрь 2020 г. среди 1526 респондентов, из которых 1182 (81%) приняли в нем участие. Возраст пациентов был старше 85 лет, среди них 390 (25,6%) мужчин и 1136 (74,4%) женщин. Районами исследования были Кировский городской округ г. Уфа и сельский Кармаскалинский район, расположенный в 65 км от Уфы. Критериями включения были возраст 85+ лет и проживание в районах исследования.

Осмотр всех участников, в том числе и детей, проводился в Уфимском НИИ глазных болезней. Участники исследований UEMS и UVOS, а также дети, участвующие в исследовании UCES и их родители прошли стандартизированный опрос, специалисты лично задавали вопросы и заносили ответы в листы данных. Офтальмологическое обследование включало проверку НКОЗ и МКОЗ. В исследовании UCES провели рефрактометрию в условиях циклоплегии через 30 минут после однократного введения 0,8% тропикамида (Mydrimax®; Sentiss Co., Gurugram, Haryana 122001, Индия). Дополнительные исследования - тест Шобера для определения гетерофории, оценка гистерезиса и резистентности роговицы с помощью Анализатора глазных реакций (ORA, Reichert, Inc., США) и Corvis ST (Oculus Inc, Германия), тонометрия, визуализация переднего сегмента глаза с помощью Шеймфлюг-камеры (Pentacam HR, Typ70900, OCULUS, Optikgeräte GmbH Co., Wetzlar, Германия), биомикроскопия с щелевой лампой и лазерная интерферометрия (AL-Scan, Nidek Co, Ltd., Gamagory, Япония).

Критерием включения в настоящее исследование было наличие данных кератометрии для обоих глаз. Пограничные состояния (не манифестная форма кератоконуса) верифицировалась при кератометрическом показателе ≥ 48 D.

2.3. Экспериментальные методы исследования

Все эксперименты проводились в соответствии с нормативными документами, регламентирующими гуманное обращение с животными и порядок проведения лабораторных исследований (Приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики», «Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях», Страсбург, 18.03.1986 г.). Получено разрешение Локального этического комитета Уфимского НИИ глазных болезней на проведение экспериментального исследования.

Эксперименты проводили на 10 крысах-самцах линии Wistar весом 200-250 г. (ФГУП ПЛЖ Рапполово РАМН), разделенных на 3 группы по 10 животных (20 глаз) в каждой: в первой группе проводилось исследование на интактных образцах (контрольная группа). Во второй группе проводился УФ КЛР с раствором Декстралинк. В третьей группе проводилось УФ облучение.

Модель стандартного УФ кросслинкинга роговицы

Модель стандартного УФ КЛР крыс (2 группа) воспроизводили при анестезиологическом пособии препаратами «Золетил» («Valdepharm», Франция) 15 мг/кг и «Ксилазин» («Ветфарм», Беларусь) в дозе 20-30 мг/кг внутримышечно и местной анестезии глазными каплями 0,4% оксибупрокаина («Инокаин», Индия). Роговичную деэпителизацию выполнили микрохирургическим шпателем на участке диаметром 3 мм, обозначенном метчиком. Процедуру проводили под операционным микроскопом Carl Zeiss (Германия). Строму насыщали фотосенсибилизатором путем инстилляций раствора «Декстралинк» (Россия). УФ облучение роговицы проводилось с помощью устройства «УФалинк» (Россия) в течение 10 минут при мощности 3 мВт/см² и длине волны 370 нм [153].

Аналогично после деэпителизации роговицы проводили ее УФ облучение в 3 группе, только без предварительного насыщения рибофлавином и инстилляций раствора «Декстралинк». Во избежание пересыхания роговицы закапывали физраствор с частотой 2 капли в минуту. Срок наблюдений в группах составил 3 и 90 суток.

Иммуногистохимические исследования

Для иммуногистохимического анализа энуклеированные глазные яблоки были зафиксированы в 10% нейтральном формалине. Гистологические срезы толщиной 1-4 мкм были получены с помощью микротомы «RM 2145» от компании Leica Microsystems (Германия). Применяли непрямой иммунопероксидазный метод с использованием моноклональных и поликлональных антител к белкам Bcl-2 и p53, ферментам каспазе-3 и -8 (Santa Cruz Biotechnology, США). Для иммуногистохимического выявления продукции: белка Bcl-2 использовали кроличьи и козьи поликлональные антитела; белка p53 – кроличьи поликлональные антитела; каспазы-3 и -8 – мышинные моноклональные антитела. Результаты реакции визуализировали посредством использования биотинилированных вторичных анти-козьих антител «ImmunoCruz goat LSAB Staining System» (Santa Cruz Biotechnology, США) и последующего докрасивания гематоксилином Майера («БиоВитрум», Россия) на автоматизированном стейнере для иммуногистохимии Leica Microsystems BondTM (Германия). Иммуногистохимическая реакция считалась положительной при появлении коричневой окраски в цитоплазме кератоцитов. Оценку проводили путем подсчета клеток в 20-и полях зрения при увеличении $\times 400$ и $\times 650$. Морфометрический анализ проводили с помощью микроскопа Axio Imager (Carl Zeiss, Германия) и цифровой камеры ProgRes C3 (Jenoptik GmbH, Германия).

Числовые данные подвергались статистической обработке с использованием программы анализа изображений Axio Vision (Carl Zeiss,

Германия). Определяли величину среднего значения, ошибки среднего, среднего квадратического отклонения с использованием t-критерия Стьюдента (за достоверную принималась разность средних при $p \leq 0,05$).

Определение активных продуктов тиобарбитуровой кислотой

Активные продукты, которые реагируют с тиобарбитуровой кислотой, определяли с использованием набора реактивов «ТБК-АГАТ». Метод основан на образовании окрашенного комплекса с ТБК, который экстрагируется бутанолом. Оптическая плотность комплексов измерялась фотометрически на приборе СФ-56 при длинах волн 535 и 570 нм.

Определение уровня супероксиддисмутазы

Для определения уровня супероксиддисмутазы (СОД) в слезной жидкости и сыворотке крови использовались тест-наборы от e-Bioscience (Австрия) и фотометры StatFax (США) и TECAN INFINITE F-50 (Австрия).

Определение локального уровня общего антиоксидантного статуса слезы

Для оценки общего антиоксидантного статуса (ОАС) слезной жидкости и сыворотки крови пациентов была использована тест-система «Total Antioxidant Status» от Randox Laboratories Ltd. (Великобритания) с помощью фотометра SF-Ultra (Россия). Метод основан на подавлении развития окраски хромогена в образце, который пропорционально концентрации антиоксидантов.

2.4. Общая характеристика клинического материала

Обследовано 376 пациента, 532 глаза (средний возраст $28,6 \pm 6,8$ лет) с кератоконусом с различным типом эктазии и стадии болезни.

Критерии отбора к проведению УФ КЛР:

- отсутствие помутнений роговицы;

- прогрессирующее течение болезни (увеличение преломляющей силы роговицы от 0,5 и более в сроки от 6 месяцев);
- минимальная толщина роговицы в ≥ 400 мкм (кроме группы с модифицированным протоколом для тонких роговиц);
- толщина роговицы 330-400 мкм для пациентов с модифицированным протоколом для тонких роговиц;
- максимальный показатель кератометрии ≤ 65 дптр;
- плотность эндотелиальных клеток ≥ 1800 кл/мм²;
- элевация передней поверхности роговицы от 26 мкм до 65 мкм;
- элевация задней поверхности роговицы от 40 мкм до 89 мкм.

Кератоконус диагностирован в 100% случаев, распределение по стадиям рондставлено в таблице 4.

Таблица 4 – Постадийное распределение кератоконуса

Количество	Стадии заболевания				
	субклиническая	I	II	III	IV
n	27	147	218	116	76
%	4,6%	25,2%	37,3%	19,9%	13%

На основании исходных показателей и после получения письменного согласия пациентов кросслинкинг был выполнен в 532 глазах по одному из предложенных протоколов. Распределение пациентов в зависимости от выбранного протокола представлено в таблице 5.

Таблица 5 - Распределение пациентов в зависимости от выбранного протокола

Число наблюдений n (532)	Протокол УФ КЛР				Мод. КЛР при тонких роговицах
	С-КЛР	А-КЛР	ИА-КЛР	ТЭ-КЛР	
	218	146	34	89	45
%	41%	27,4%	6,4%	16,7%	8,5%

2.5. Клинические протоколы УФ кросслинкинга роговицы

Для проведения КЛР применяли аппарат «УФалинк» и «Уфалинк Квант» (Россия), использовали мощность от 3 мВт/см² до 9 мВт/см² с суммарной энергией облучения 5,4мДж/см². Перед каждой процедурой проводили калибровку уровня излучения ультрафиолета. Контрольные измерения толщины роговицы проводили с помощью портативного ультразвукового пахиметра (SP-3000, «Томеу», Япония). Во всех случаях пред- и послеоперационная медикаментозная подготовка не отличалась и включала однократную инстилляцию в конъюнктивальную полость 1% раствора пилокарпина для достижения миоза и дополнительной защиты хрусталика и сетчатки от воздействия УФ излучения и местную анестезию в виде двукратного закапывания 0,5% раствора Инокаина с интервалом 5 минут. После операции во всех случаях кроме трансэпителиальной техники наряду с промыванием раствором антибиотика накладывалась бандажная контактная линза до полной эпителизации, которая наступала в сроки от 2 до 5 дней после процедуры. После полной эпителизации дополнительно назначалась местная стероидная терапия в течение одного месяца.

Техника проведения стандартного УФ-кросслинкинга по «стандартному» протоколу с дезэпителизацией - С-КЛР

В начале операции операционное поле двукратно обрабатывали 0,5% раствором хлоргексидина, после чего его накрывали стерильной салфеткой и устанавливали блефаростат. В конъюнктивальную полость закапывали анестетик (0,5% алкаин) и антисептик (0,05% витабакт). С помощью трепана на роговице отмечали 8-ми миллиметровую зону, концентричную лимбу. Затем шпателем удаляли эпителий роговицы в границах отмеченной зоны. Далее в течение 30-и минут с интервалом 30 секунд на роговицу закапывали 0,1% раствор рибофлавина в декстрани - «Декстралинк», до насыщения роговицы фотосенсибилизатором. После этого включали разработанную в

Уфимском НИИ глазных болезней установку для проведения кросслинкинга «УФалинк» (Россия), с помощью которой в течение 30 минут проводили облучение роговицы ультрафиолетом с длиной волны 365 нм, энергией излучения $3,0 \text{ mW/cm}^2$, диаметром светового пятна 8,0 мм. Во время УФ-облучения на роговицу закапывали раствор рибофлавина «Декстралинк» с интервалом 1 капля в 5 минут. В конце операции проводили промывание конъюнктивального мешка раствором антибиотика, на роговицу накладывали мягкую бандажную контактную линзу (на 3-5 дней), векорасширитель удаляли, глаз заклеивали асептической повязкой.

Техника проведения УФ-кросслинкинга по акселерированному протоколу - А-КЛР

В конъюнктивальную полость закапали анестетик (0,5% алкаин) и антисептик (0,05% витабакт). Используя трепан, на роговице была отмечена 8-ми миллиметровая зона, концентричная лимбу. Затем шпателем был удален эпителий роговицы в границах отмеченной зоны. После этого, в течение 30 минут, с интервалом 30 секунд, на роговицу закапывали 0,1% раствор рибофлавина в декстрате – «Декстралинк», до полного насыщения роговицы фотосенсибилизатором. Для УФ-облучения использовали разработанный в Уфимском НИИ глазных болезней аппарат «УФалинк Квант» (Россия, рег. удостоверение № РЗН 2019/8172) для проведения КЛР, с помощью которого в течение 10 минут проводили облучение роговицы ультрафиолетом в непрерывном режиме с длиной волны 365 нм, энергией излучения $9,0 \text{ mW/cm}^2$, диаметром светового пятна 8,0 мм. Во время УФ - облучения на роговицу закапывали раствор рибофлавина «Декстралинк» с интервалом 1 капля в 5 минут. В конце операции также конъюнктивальный мешок промывали раствором антибиотика, на роговицу накладывали мягкую бандажную контактную линзу (на 3-5 дней), векорасширитель удаляли, глаз заклеивали асептической повязкой.

Техника проведения УФ-кросслинкинга по импульсному-акселерированному протоколу - ИА-КЛР

Подготовительный этап оперативного вмешательства был одинаковым для всех пациентов. В конъюнктивальную полость закапывали анестетик (0,5% алкаин) и антисептик (0,05% витабакт). С помощью трепана на роговице отмечали 8-ми миллиметровую зону, concentричную лимбу. Затем шпателем удаляли эпителий роговицы в границах отмеченной зоны. Далее в течение 30 минут с интервалом 30 секунд на роговицу закапывали 0,1% раствор рибофлавина в декстране «Декстралинк», до насыщения роговицы фотосенсибилизатором. Для УФ-облучения использовали аппарат «УФалинк Квант» в режиме «пульс», при котором в течение 20 минут проводили облучение роговицы ультрафиолетом в импульсном режиме (1 секунда облучения, 1 секунда пауза) с длиной волны 365 нм, энергией излучения 9,0 mW/cm², диаметром светового пятна 8,0 мм. Из-за особенностей данного режима продолжительность этапа облучения увеличивалась в 2 раза, однако суммарная энергия оставалась в пределах 5,4 мДж/см². Во время УФ - облучения на роговицу также закапывали раствор рибофлавина «Декстралинк» с интервалом 1 капля в 5 минут. В конце операции также конъюнктивальный мешок промывали раствором антибиотика, на роговицу накладывали мягкую бандажную контактную линзу (на 3-5 дней), векорасширитель удаляли, глаз заклеивали асептической повязкой.

Техника проведения трансэпителиального УФ-кросслинкинга - ТЭ-КЛР

Предложенная модифицированная методика трансэпителиального кросслинкинга роговицы, при котором насыщение роговицы фотосенсибилизатором осуществляется с помощью ионофореза, имеет преимущество над механическим методом доставки лекарственных веществ, так как увеличивает всасывание препарата под действием электрического тока малой силы. Для рибофлавина активным является положительный электрод, притягивающий отрицательно заряженную молекулу рибофлавина.

Первым этапом для насыщения роговицы фотосенсибилизатором проводили ионофорез с 0,1% раствором рибофлавина на разработанном в Уфимском НИИ глазных болезней аппарате «ИОН» (РЗН №2019/8901 от 18.09.2019). Пациент находился в положении сидя или лежа в процедурном кабинете. Электрод-ванночку емкостью 3-5 мл прикладывали на глаз при открытой глазной щели и фиксировали путем вакуума, созданного шприцом для инъекций со стоппером на трубке. Ванночка, наполненная фотосенсибилизатором, плотно прилежала на глазном яблоке, края фиксировались к бульбарной конъюнктиве, не оказывая давления на глазное яблоко. Электрод-ванночка была заполнена фотосенсибилизатором в течение всей процедуры ионофореза (Рисунок 1).

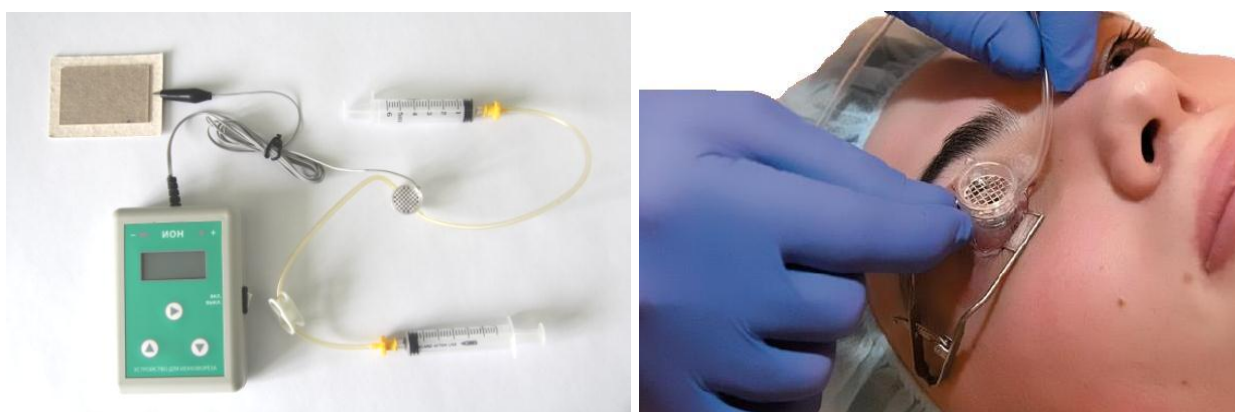


Рисунок 1 - Устройство для ионофореза роговицы «ИОН» для трансэпителиального УФ кросслинкинга роговицы.

Во время процедуры поверхность роговицы постоянно находилась в непосредственном контакте с содержимым ванночки. Параметры ионофореза: начальная сила тока 0,2 мА с плавным, в течение 2 минут, увеличением до 1,0 мА, с шагом 0,2 мА. Общее время насыщения стромы роговицы фотосенсибилизатором посредством электрофореза составляло 15 минут. По окончании процедуры насыщения ванночка снималась с поверхности глаза, конъюнктивальный мешок и поверхность глазного яблока промывались физиологическим раствором. Эффективность насыщения фотосенсибилизатором стромы роговицы и ВПК контролировали

биомикроскопически, под синим кобальтовым светофильтром, которая выражалась характерным желтым свечением стромы роговицы и водянистой влаги (Рисунок 2).

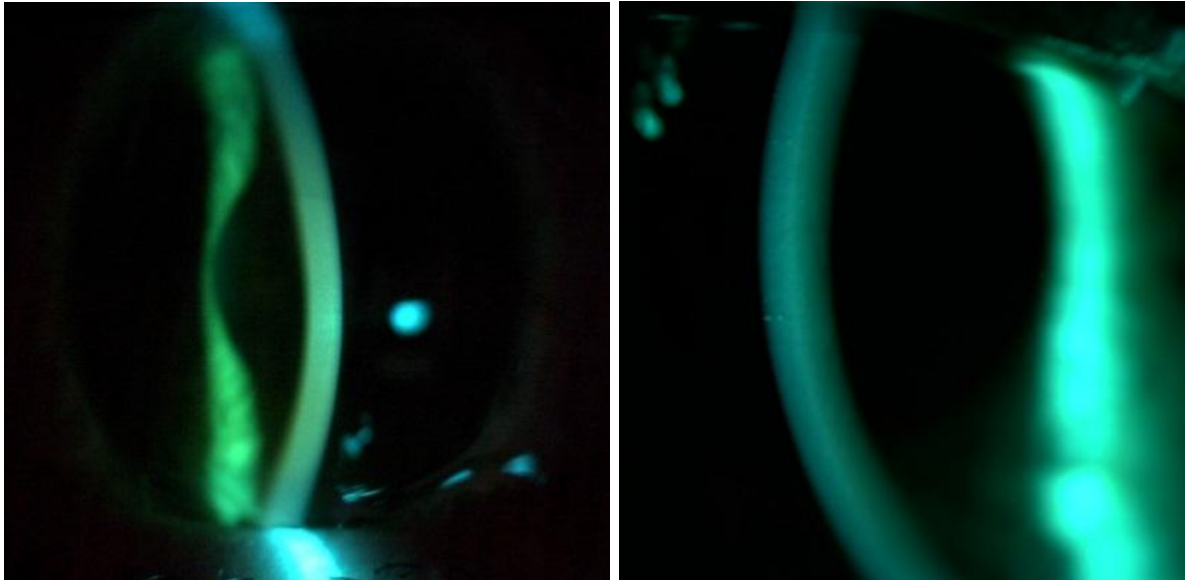


Рисунок 2 - Биомикроскопия роговицы пациента К. через 15 минут после трансэпителиального насыщения роговицы методом ионофореза.

Техника проведения модифицированного УФ-кросслинкинга при тонких роговицах

Операция выполнялась двумя предложенными нами способами:

1. Способ ультрафиолетового кросслинкинга роговицы с учетом топографической пахиметрии и кератотопографии у пациентов с тонкой роговицей (Патент РФ № 2735377 от 30.10.2020).

Под местной анестезией на веки накладывали блефаростат, выполняли деэпителизацию роговицы в пределах 8,5-9 мм зоны. Далее проводилась контактная пахиметрия. Роговица насыщалась фотосенсибилизатором - 0,1% изоосмолярным раствором рибофлавина в течение 30 минут. Одномоментно мягкая контактная линза Soflens Daily Disposable® (Bausch and Lomb, США) из хилафилкона В, толщиной 110 мкм, без ультрафиолетового фильтра погружалась в изотонический водный раствор 0,1% рибофлавина на 15 минут. Затем пропитанную контактную линзу перфорировали иглой 29 Ga,

затем ее трепанировали, тем самым получая окрашенную, перфорированную линзу диаметром 7 мм, которую накладывали на поверхность роговицы и проводили пахиметрию. После подтверждения достигнутой толщины роговицы более 400 мкм проводился УФ КЛР. Для облучения использовался акселерированный режим на аппарате «УФалинк-Квант» с длиной волны 365 нм, энергия 5,4 мДж/см², параметры облучения 9 мВт/см² - 10 минут. Непосредственно в момент облучения физиологический раствор инстиллировали поверх контактной линзы каждые 3 мин по мере ее подсыхания. Контактная линза удалялась с поверхности глаза после завершения облучения в конце операции, глаз промывали раствором антибиотика и накладывали бандажную линзу. По завершению эпителизации роговицы бандажная линза снималась на 2-3 день. В послеоперационном периоде пациентам назначались инстилляции антибиотика, местно НПВС и декспантенола, после полной эпителизации – Дексаметазон 0,1% (4 раза в день) на 1 месяц.

2. «Способ проведения ультрафиолетового кросслинкинга роговицы с применением биолинзы при тонкой роговице» (Патент РФ № 2739995 от 30.12.2020).

Под местной анестезией на веки накладывали блефаростат, выполняли деэпителизацию роговицы в пределах 8,5-9 мм зоны. Далее проводилась контактная пахиметрия. Роговица насыщалась фотосенсибилизатором - 0,1% изоосмолярным раствором рибофлавина в течение 30 минут. Для временного утолщения роговицы применялась биолинза из консервированной донорской роговицы. Подготовка биолинзы проводилась с применением фемтосекундного лазера Ziemer LDV Z8 (Швейцария), протокол «передняя послойная кератопластика». Консервированный корнеосклеральный лоскут укладывался на искусственную переднюю камеру фирмы Ziemer (Швейцария) эпителиальной стороной кверху и закреплялся 12 мм прижимным кольцом. Прижимное кольцо фиксировали винтовым кольцом и ограничителем. Путем подачи ирригационной жидкости обеспечивалось

необходимое давление в искусственной передней камере. Головку лазера накладывали на роговицу до полной аппланации под контролем оптикокогерентной томографии. При помощи фемтосекундного лазера формировывали роговичный диск диаметром 8,5 мм и толщиной до 100 мкм. Сформированный роговичный диск – биолинзу для насыщения помещали на 10 минут в водный раствор фотосенсибилизатора, содержащий 0,1% рибофлавина-моноклеотида. Для облучения использовался акселерированный режим на аппарате «УФалинк-Квант», энергия 5,4 мДж/см², мощность 9 мВт/см² - длительность облучения 10 минут. В ходе облучения на роговицу инстиллировали физиологический раствор поверх биолинзы каждые 3 мин по мере ее подсыхания. После облучения биолинза удалялась с поверхности глаза, а конъюнктивальную полость промывали раствором антибиотика и накладывали бандажную контактную линзу. По завершению эпителизации роговицы бандажная линза снималась в среднем через 2-3 дня. В послеоперационном периоде лечение включало инстилляцию антибиотика, НПВС и декспантенола, а по мере наступления эпителизации НПВС заменяли на Дексаметазон 0.1% (4 раза в день) на 1 месяц.

2.6. Клинико-функциональные методы исследования

Оценка общесоматического состояния включала консультации терапевта, оториноларинголога, стоматолога, результаты общего и биохимического анализа крови и мочи, анализа крови на реакцию Вассермана.

Пациентам выполнялось стандартное офтальмологическое обследование: определение остроты зрения без коррекции и с оптимальной коррекцией, биомикроскопия, рефрактометрия, кератометрия, кератотопография, эхобиометрия, пахиметрия, конфокальная микроскопия, оптическая когерентная томография.

Рефрактометрию, кератометрию, топографию роговицы исследовали с помощью OPD – ScanA–1000 («Nidek», Япония), проекционного сканирующего томографа ORB-scan (Bausch&Lomb, США). Исследование пахиметрии и биометрических показателей глаза проводили на оптическом когерентном томографе Visante OCT («Carl Zeiss», Германия), Triton (Topcon, Япония). Изображения морфологии роговицы были получены с помощью конфокального лазерного офтальмоскопа Heidelberg Retina Tomograph III / Rostock Corneal Module («Heidelberg Engineering GmbH», Германия). Плотность эндотелиальных клеток оценивали с использованием программного обеспечения.

*Определение локального антиоксидантного статуса у пациентов с
кератоконусом*

Для изучения локальной активности оксидативной реакции при кератоконусе была проведена оценка уровня фермента – супероксиддисмутазы, препятствующей превращению супероксидов в гидроксильные радикалы, способствуя образованию кислорода и пероксида водорода. Кроме того, была проведена оценка динамики локального уровня общего антиоксидантного статуса (ОАС) у здоровых лиц, а также у пациентов с КК после применения процедуры КЛР с различным режимом облучения.

В исследование включены 33 пациента (33 глаза) с КК I–III стадии (классификация по Amsler-Krumeich), находившихся на стационарном лечении в Уфимском НИИ глазных болезней, в т.ч. мужчин – 21 (63,6%), женщин – 12 (36,4%). В качестве лечебного мероприятия были применены 2 различных протокола УФ КЛР. Группу стандартного УФ КЛР (С-КЛР) составили 20 пациентов (20 глаз), а импульсного акселерированного (ИА-КЛР) – 13 пациентов (13 глаз).

Определение ОАС проводили с использованием тест-системы «Randox Laboratory Limited» (Великобритания) на основании изменения окрашивания радикала катиона и ABTS с детекцией при 600 нм. Уровень СОД определялся

в нг/мл с использованием тест-системы «BioScience» (Австрия) по количеству белка в пероксидазной реакции с детекцией при 450 нм. Оценка выполнялась на фотометрах SF-Ultra (Россия) и StatFax (США).

Средний возраст пациентов – $28,7 \pm 5,6$ лет. В качестве группы контроля были отобраны 12 практически здоровых лиц без глазной и общей патологии. Сроки наблюдений – до операции, 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки после процедуры.

2.7. Методы статистической обработки результатов

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ для статистической обработки данных (SPSS для Windows, версия 27.0, IBM-SPSS, США). На первом этапе мы рассчитали среднее значение главного показателя исхода, т.е. распространенности КК. С помощью анализа бинарной регрессии мы оценили связь распространенности КК с другими офтальмологическими и системными параметрами, провели однофакторный, а затем и многофакторный анализ. В последнем распространенность КК выступала как зависимая переменная, в качестве независимых переменных использовались все параметры, которые коррелировали с распространенностью КК при однофакторном анализе. Для оценки связи с системными параметрами учитывалась распространенность КК на любом глазу. Для изучения корреляций распространенности КК и параметров глаза мы случайным образом выбрали один глаз каждого участника для включения в статистический анализ. Определили отношение шансов (ОШ) и 95% доверительные интервалы (ДИ). Применялись методы параметрического анализа, в качестве отдельных характеристик распределения применяли среднее и стандартное отклонение ($M \pm \delta$). Для сравнения параметров в выборках использовался парный критерий Стьюдента (t-тест). Значения P , все из которых были двусторонними, считались статистически значимыми, если $P < 0,05$.

Регрессионный анализ может применяться с одной из двух целей (1–3):

- Описание: количественная оценка взаимосвязей между зависимой и объясняющими переменными. Используется для описания и количественной оценки взаимосвязи изучаемых параметров.

- Прогноз: предсказание значений зависимой переменной. В этом случае формируется модель, позволяющая предсказать неизвестный параметр у субъектов, чьи данные не использовались при формировании модели.

В настоящем исследовании регрессионный анализ применялся с описательной целью. Регрессионные модели использовались для оценки и количественного измерения взаимосвязи между эффективностью терапии кератоконуса и характеристиками пациентов. Регрессионные модели формировались по следующему алгоритму.

Этап 1. Выбор переменных-кандидатов

На данном этапе из базы данных отбирались все переменные, которые имели предположительную клиническую значимость при оценке заболевания глаз, т.е. оказывали статистически значимое влияние на вероятность клинического успеха.

Этап 2. Формирование одномерных регрессионных моделей

Были сформированы одномерные логистические регрессионные модели с бинарной зависимой переменной, отражающей наличие или отсутствие клинического эффекта УФ КЛР, а также с одной объясняющей переменной из того пула параметров, который был выбран на предыдущем этапе. Таким образом, были сформированы модели для каждой выбранной переменной. Для каждой модели была оценена статистическая значимость с помощью теста отношения правдоподобия (likelihood ratio test) при сравнении с моделью, построенной на тех же данных, но содержащей только свободный член (intercept). Таким образом, статистическая значимость ($p < 0,05$) модели позволяет говорить о наличии статистической значимости оцениваемого предиктора.

По результатам этапа 2 был сформирован перечень статистически значимых объясняющих переменных, которые далее использовались для формирования многомерной модели.

Этап 3. Формирование многомерной описательной регрессионной модели

Из всех статистически значимых предикторов, отобранных на Этапе 2, сформирована многомерная логистическая модель. Назовем ее Модель 1. В эту модель включены все предикторы, которые показали статистическую значимость на Этапе 2.

Далее выполнялось сокращение числа предикторов в Модели 1 с использованием т.н. пошаговой двунаправленной регрессии. Обозначим новую формируемую модель как Модель 2. При пошаговом отборе предикторов многомерная модель формируется путем поочередного добавления или удаления предикторов. Первым предиктором для Модели 2 будет предиктор из Модели 1, который имеет наименьшее значение p в рамках одномерной регрессии (при условии, что это значение не выше 0,05). Далее, в Модель 2 добавляется еще один предиктор из Модели 1. Критерий добавления – величина $p < 0,05$. Поскольку добавление в Модель 2 каждого нового предиктора может изменить статистическую значимость ранее добавленных в модель предикторов, то после включения очередного предиктора все прочие предикторы перепроверяются на соответствие критерию исключения из модели. В данной работе критерий исключения установлен как $p > 0,1$. Подобным образом выполнен перебор всех переменных из Модели 1. Добавление новых предикторов в Модель 2 останавливалось в одном из двух случаев:

- Выполнен перебор всех предикторов из Модели 1;
- На очередном этапе ни один новый предиктор не соответствует критерию включения в модель и ни один из предикторов, уже имеющихся в модели, не соответствует критерию исключения из нее.

Сформированная Модель 2 содержала в себе значимые предикторы успеха терапии. В эту модель были включены возраст манифестации болезни, возраст пациента, темпы прогрессии, сроки течения болезни. Соответствующие модели были составлены для подгрупп пациентов, получивших терапию тем или иным протоколом. Т.е. на основе регрессионных коэффициентов была определена степень влияния предикторов на успех терапии в рамках каждого протокола. Для удобства практического применения полученных оценок они были категоризированы на 3-5 уровней, и была сформирована балльная оценка для выбора наиболее подходящего протокола кросслинкинга.

ГЛАВА 3. РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ КЕРАТОКОНУСА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

3.1. Распространенность и заболеваемость кератоконусом в Республике Башкортостан

По данным некоторых авторов, распространенность КК в Российской Федерации составляет 1:250 000 населения в зависимости от территориальных особенностей субъекта РФ (Горскова Е.Н., Севостьянов Е.Н., 1995). Нами была поставлена задача, определить частоту встречаемости кератоконуса и пограничных состояний в Республике Башкортостан (РБ).

По данным Росстата, на 1 января 2018 г. численность населения РБ составляла – 4 063 293 жителей. Административный центр республики – город Уфа с численностью населения на 1 января 2018 г. 1 131 429 человек.

Первым этапом проанализированы данные годовых статистических отчетов офтальмологов городов и районов РБ, а также Уфимского НИИ глазных болезней с 2018 по 2023 гг.

Проведенный анализ показал, что в 2018 г. с диагнозом «кератоконус» на учете в Уф НИИ ГБ состояло 244 пациента. Из общего числа пациентов, состоящих на учете, доля больных, которым потребовалось и было проведено хирургическое лечение, составило 46,7% (114 пациентов), из которых 46,5% был выполнен КЛР. Следует отметить, что к 2023 г. наблюдалось уменьшение количества пациентов, находящихся по сравнению с 2018 г. с 244 до 155 (на 36,5%) (Рисунок 3). При этом доля пациентов получивших хирургическое лечение по поводу КК составила 65,1%. Доля УФ КЛР среди всех хирургических вмешательств составила 64,4%.

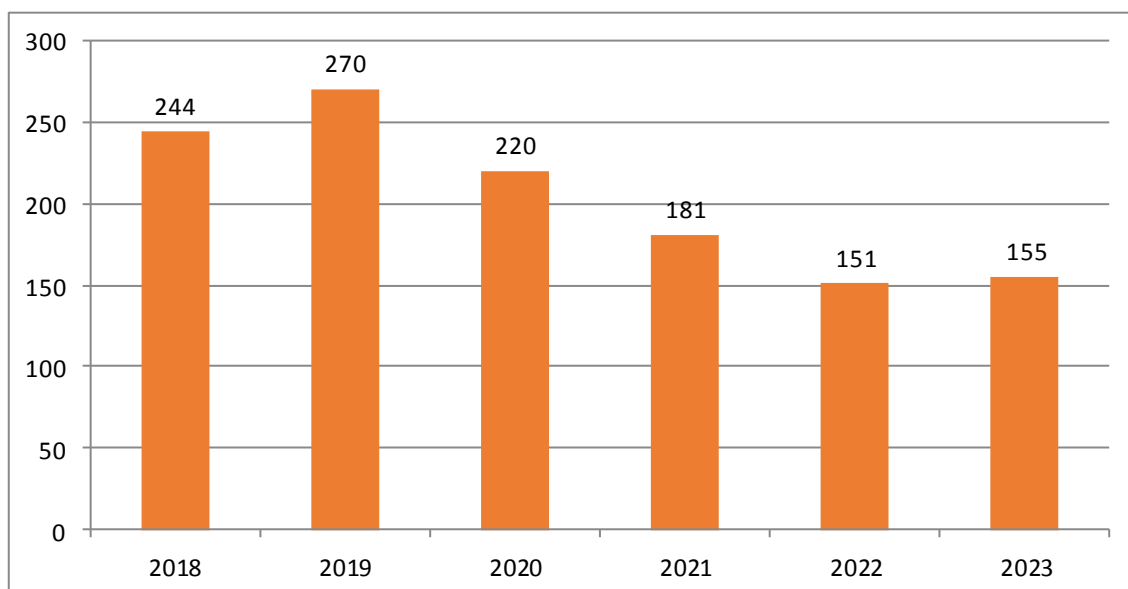


Рисунок 3 - Показатели числа пациентов с кератоконусом по данным Уф НИИ ГБ по обращаемости за 2018-2023 гг.

По данным годовых статистических отчетов офтальмологов по Республике Башкортостан количество пациентов с диагнозом «кератоконус», обратившихся за офтальмологической помощью, за последние 6 лет имело тенденцию к уменьшению, данная тенденция была схожа с показателями Уфимского НИИ глазных болезней (Рисунок 4).

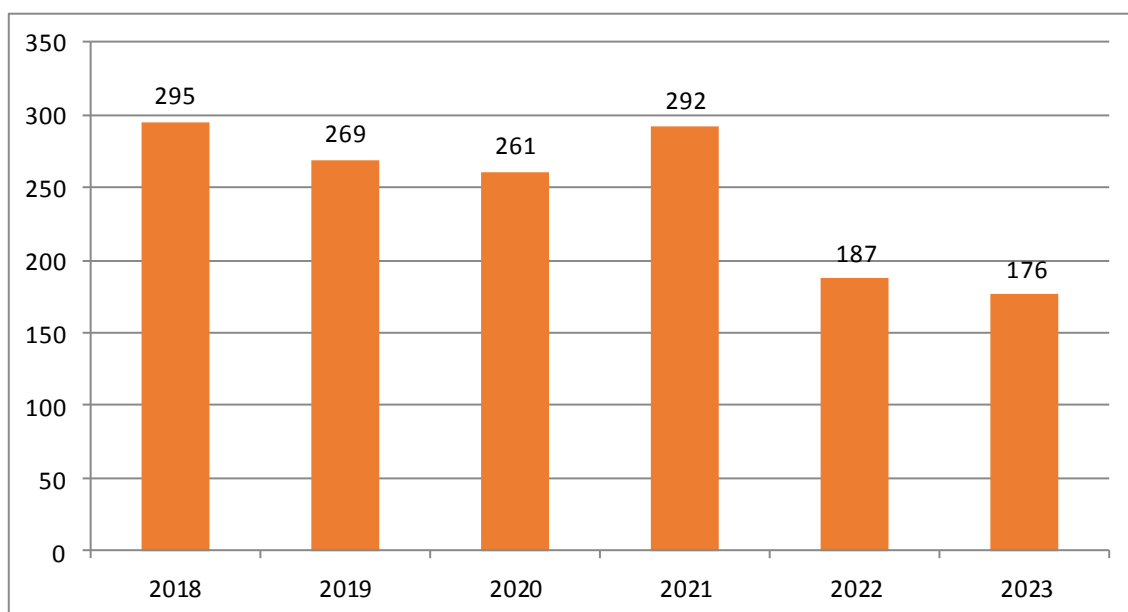


Рисунок 4 - Показатели числа пациентов с кератоконусом в Республике Башкортостан по обращаемости за 2018-2023 гг.

Таким образом, сравнительный анализ показал снижение количества пациентов с КК на 36,5%. При этом, ввиду повышения качества ранней диагностики КК, доля щадящих вмешательств, в частности, УФ КЛР выросла на 17,7%. Кроме того, данная тенденция по Республике Башкортостан связана с широким внедрением технологии УФ КЛР в различных клиниках.

Вторым этапом были исследованы данные о распространенности и заболеваемости КК в Республике Башкортостан за 6-летний период с 2018-2023 гг.

Для оценки показателей распространенности и заболеваемости была использована сформированная база данных, которая дополнялась новыми зарегистрированными случаями. Количество пациентов с 2018 по 2023 годы по данным собственной базы данных представлена на рисунке 5.

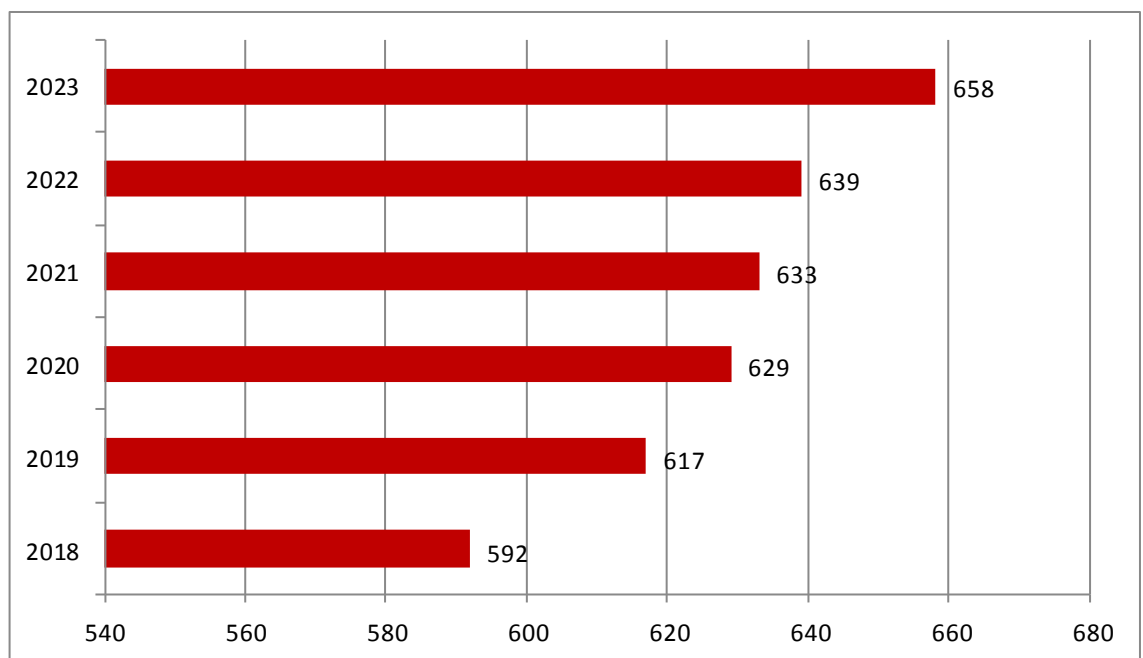


Рисунок 5 - Показатели числа пациентов с кератоконусом по данным базы учета пациентов с кератоконусом за 2018-2023 гг.

В течение 2020-2022 годов был отмечен незначительный прирост количества обращений, что было связано с ограничительными мероприятиями на фоне пандемии «Covid-19».

Расчет выполнялся на основании ретроспективного анализа по обращаемости. Распространенность определялась по формуле:

$$\text{Распространенность населения} = \frac{\text{общее кол-во случаев КК} + \text{новые случаи КК}}{\text{Численность населения}} \times 100\,000$$

При этом показатель на каждый год рассчитывался с учетом данных статистики на текущий год.

Заболеваемость определялась по формуле:

$$\text{Заболеваемость} = \frac{\text{новые случаи КК}}{\text{численность населения}} \times 100\,000$$

Нами было выявлена распространенность КК в РБ за исследуемый 6-летний период, которая составил 5,9, а заболеваемость – 1,9 на 100 000 населения в 2018 г. (Рисунок 6). Это связано с незначительным ростом новых зарегистрированных случаев КК. Следует отметить, что эти показатели не отражали абсолютные показатели, так как не исследованы в общей популяции.

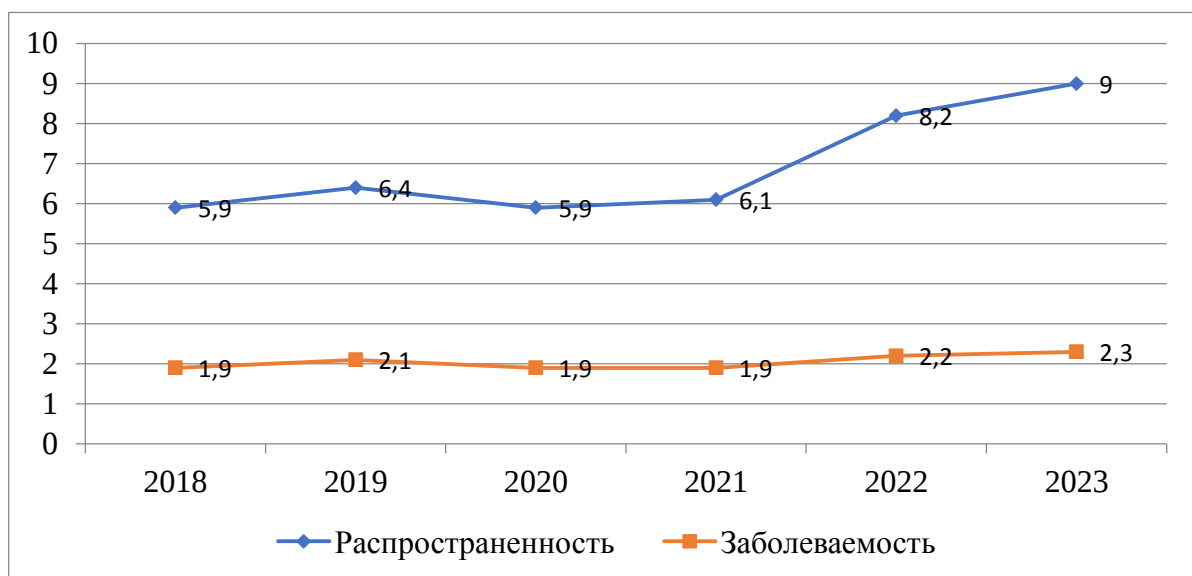


Рисунок 6 - Показатели распространенности и заболеваемости кератоконусом по обращаемости в Республике Башкортостан за 6 лет.

Рост этих показателей в период 2018-2023 гг. на 21,6% и 67,4%, соответственно, был связан увеличением количества как новых выявленных случаев, так и с повышением доступности оказания медицинской помощи с применением УФ КЛР. При этом отсутствие существенного прироста с 2020 по 2022 год, по всей видимости, был связан с ограничительными мерами по поводу пандемии «Covid-19».

Различия в распространенности среди городского и районного населения в 2018 г. в расчете на сто тысяч населения оказалась значительной, составляя от 0 до 21,2 (Рисунок 7).

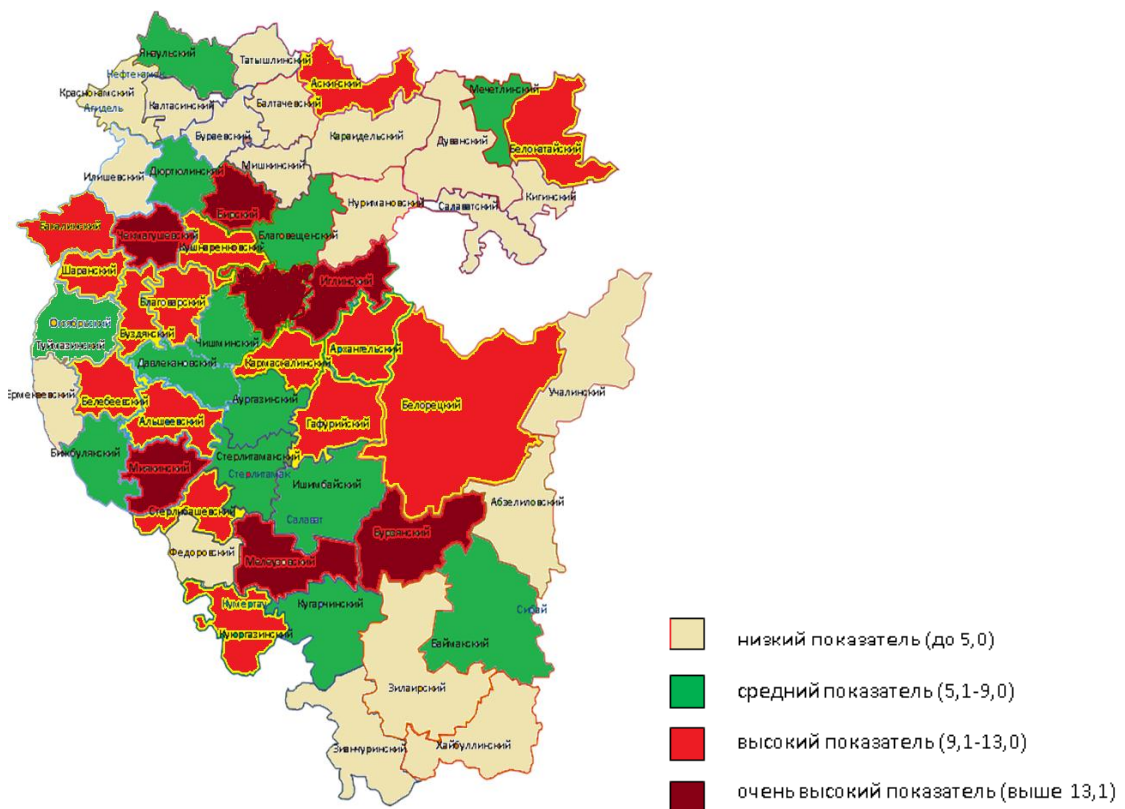


Рисунок 7 - Распространенность КК в Республике Башкортостан.

В ряде районов и областей в течение ограниченного срока наблюдения (6 лет) нами не было отмечено случая выявления КК. Чаще всего это были отдаленные районы, где офтальмологическая служба представлена только I звеном. Как видно, это преимущественно равноотдаленные от столицы районы: Татышлинский, Учалинский, Зилаирский, Калтасинский,

Балтачевский, Бураевский, Кигинский, Ермакеевский, Илишевский и Федоровский. В ряде пограничных с другими субъектами РФ районов все же были зарегистрированы случаи КК. В Уфе и близлежащих районах выявлены более высокие показатели распространенности КК, в частности: в Уфимском - 21,2, Иглинском - 13,5, Чекмагушевском - 13,8, Бирском - 19,5.

При оценке распространенности КК среди городского и сельского населения была выявлена почти 3-х кратная разница (75,5% против 24,5%). Встречаемость КК среди городского населения, может быть обусловлена некоторыми факторами. Во-первых, большая плотность преимущественно молодого населения в городе, урбанизация, наличие офтальмологической помощи 2 и 3 звена в специализированных диагностических и лечебных учреждениях (поликлиник, офтальмологических отделений, современных оптик и т.д.). Это позволяет значительно чаще выявлять и верифицировать диагноз КК в городах.

Создание автоматизированной программы ведения учета больных с КК «Программный комплекс учета пациентов OpticDB» (свидетельство о государственной регистрации №2016614167, от 2016 г.) для эффективного мониторинга и получения статистических данных по частоте заболевания в целом по Республике Башкортостан позволило оценить различные эпидемиологические и клинические параметры. Исходной точкой отправления на 2018 год были включенные 592 пациента с КК.

Нами также проведена оценка распространенности КК среди представителей различных этнических групп, проживающих в РБ с учетом их удельного веса в общей популяции (Таблица 6).

Установлено, что этническая принадлежность пациентов с КК соответствует национальному составу в регионе. Согласно полученным данным, среди кавказских народов (чеченцы), в том числе представителей Закавказья (армяне, азербайджанцы) отмечены самые высокие показатели распространенности КК. Высокие показатели встречаемости КК были обнаружены среди этнических удмуртов, украинцев и татар. В то же время,

среди представителей русского и башкирского населения, в большей степени проживающих в республике, встречаемость КК оказалась значительно ниже ($p<0,001$).

Таблица 6 – Распространенность кератоконуса среди различных национальностей в Республике Башкортостан

Этнический состав	Удельный вес этнических групп населения в РБ (в %)	Доля КК у национальностей (в %)
Русские	35,19	0,002
Башкиры	28,79	0,006
Татары	24,78	0,013
Чуваши	2,64	0,005
Украинцы	0,98	0,023
Удмурты	0,53	0,04
Армяне	0,23	0,15
Азербайджанцы	0,14	0,18
Чеченцы	0,02	0,36
Другие	6,7	0,003

Учитывая особенности течения КК, нами проведена оценка его встречаемости по ряду признаков с учетом гендерных различий: возраст манифестации болезни, возраст при первичном обращении, длительность заболевания.

Средний возраст пациентов при этом составил $31,1 \pm 0,39$ лет, средний возраст больных при первичном обращении в Уфимский НИИ глазных болезней – $25,5 \pm 0,49$ лет, различия статистически значимы ($p<0,001$). Средний возраст манифестации заболевания (по анамнестическим данным) составил $21,7 \pm 0,41$ года (Таблица 7).

Таблица 7 - Встречаемость КК по ряду признаков с учетом гендерных различий

Возраст	Пол	
	муж	жен
пациента	29,3±0,49*	33,2±1,01*
манифестации	18,8±0,40	23,7±0,63
при первом обращении	23,5±0,54	27,3±0,71

Примечание: * данные возраста между группами статистически значимы, $p < 0,001$

Различия в возрасте манифестации с учетом гендерной принадлежности оказались статистически значимыми ($p < 0,001$).

Длительность заболевания (ДЗ) определялась по формуле:

$$ДЗ = \text{Возраст пациента} - \text{возраст манифестации КК}$$

Длительность заболевания у пациентов составляла $9,4 \pm 0,3$ года, при этом у женщин она была чуть ниже - $9,5 \pm 0,40$ лет, чем у мужчин - $10,5 \pm 0,31$ ($p < 0,001$).

Проведенная оценка распространенности и выраженности КК в каждой возрастной подгруппе показала, что возраст пациентов составил в среднем в 1 подгруппе (дети и подростки) $16,6 \pm 0,14$ лет, во 2-ой - $29,6 \pm 0,29$, в 3-й - $50,9 \pm 0,82$.

Соотношение лиц мужского и женского пола в 1 подгруппе составило 3,6:1 (78,2% к 21,8%), во 2-й - 2,6:1 (72,3% к 27,7%), в 3-й - 1:1,3 (45,5% к 54,5%).

Возраст манифестации КК определяли по анамнестическим данным. В 1 подгруппе дебют КК наблюдался в подростковом периоде, в среднем в $13,3 \pm 0,30$ лет, в других подгруппах - позднее, например, во 2-ой - в $20,6 \pm 0,28$ лет, (на 7,3 года позже), в 3 подгруппе - в $34,0 \pm 0,62$ года (на 20,5 лет).

Возраст при первичном обращении пациентов в Уф НИИ ГБ превышал возраст манифестации КК в среднем на $6,1 \pm 0,26$ лет. Среди лиц женского пола - на $8,1 \pm 0,57$ лет, в то время как у лиц мужского пола период от момента снижения зрения до обращения в специализированное медицинское учреждение оказался короче - в среднем на $5,2 \pm 0,27$ годам ($p < 0,001$). Анализ по возрастным подгруппам (Таблица 8) показал, что минимальная разница

между периодами манифестации и обращения имела место в 1 возрастной подгруппе, где данный показатель составил $0,63 \pm 0,18$ года, максимальная - в 3-й – $12,9 \pm 0,84$ лет ($p < 0,001$).

Таблица 8 – Возраст пациентов с кератоконусом при дебюте заболевания и обращении в Уф НИИ глазных болезней

Показатель	Всего, n=592	Пол		Возрастная подгруппа		
		Муж n=394	Жен. n=198	1 (16,6 $\pm$ 0,14) n=55	2 (29,6 $\pm$ 0,29) n=445	3 (50,9 $\pm$ 0,8 2) n=92
Дебют заболевания	29,9 $\pm$ 0,4	21,3 $\pm$ 0,4	25,3 $\pm$ 0,7*	13,3 $\pm$ 0,3 2,3	21,1 $\pm$ 0,3 1,3	33,9 $\pm$ 0,6 1,2
Обращение в Уф НИИ ГБ	28,7 $\pm$ 0,5	26,5 $\pm$ 0,5	33,3 $\pm$ 1,0*	13,9 $\pm$ 0,2 2,3	26,2 $\pm$ 0,3 1,3	46,0 $\pm$ 0,8 1,2

Примечание: * $p < 0,001$ – различие статистически значимы по сравнению в группой мужчин;
1,2,3 - $p < 0,001$ – по сравнению с соответствующей возрастной группой

При анализе структуры КК было проведено определение удельного веса I-IV стадий КК (классификация Amsler-Krumeich, 1998), субклинического (СК), а также острого КК (ОК). Субклиническую стадию КК диагностировали по наличию заболевания на парном глазу и изменениях элевационных карт задней поверхности роговицы при отсутствии характерных кератотопографических паттернов передней поверхности роговицы. Распределение пациентов по стадиям КК, ОК, СК с учетом гендерных особенностей представлено на рисунке 8.

Субклиническая стадия болезни чаще диагностировалась у мужчин, в то время как I стадия болезни – чаще у женщин ($p < 0,001$). Далекозашедшая (IV) стадия заболевания отмечалась с одинаковой частотой у обоих полов. Однако, острый кератоконус – полностью отсутствовал у женщин.

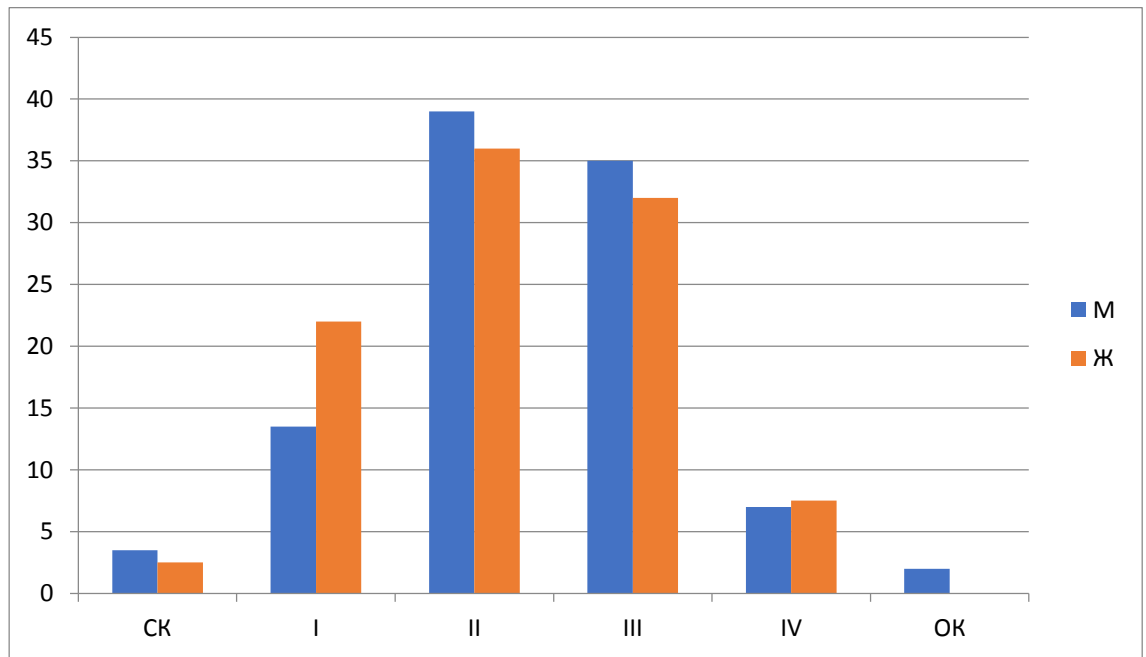


Рисунок 8 - Распределение пациентов с кератоконусом в зависимости от пола и стадии заболевания.

При распределении случаев заболевания установлено, что чаще имели место II (38,3%) и III (33,6%) стадии КК во всех возрастных подгруппах. Хотя на долю IV стадии (далекозашедшей стадии) КК приходилось лишь 8,2% случаев, следует заметить, что чаще эта стадия диагностировалась у пациентов 3 возрастной подгруппы (старше 40 лет) ($p < 0,001$), в то время как ОК – полностью отсутствовал. Острый кератоконус в структуре КК имел место в 1,2% случаев - в основном у пациентов 2 возрастной подгруппы.

В разных возрастных подгруппах с учетом гендерных особенностей распределение стадий КК несколько менялось. Так, в 1 возрастной подгруппе у лиц женского пола отсутствовали случаи острого КК, при этом IV стадия болезни была диагностирована в 3 раза чаще, чем у мужчин. У пациентов женского пола субклиническая стадия КК отсутствовала, в отличие, от мужчин, где данная стадия установлена на момент первичного обращения в 3,8% случаев (Таблица 9).

Таблица 9 – Распределение пациентов с кератоконусом по стадиям с учетом поло-возрастных характеристик (n=592), %

Стадии КК	Исследуемые подгруппы пациентов					
	1 (16,6±0,14 лет), n=55		2 (29,6±0,29 лет), n=445		3 (50,9±0,82лет), n=92	
	Муж.	Жен.	Муж.	Жен.	Муж.	Жен.
Субклиническая	3,8	0	3,6	1,7	0	1,3
I стадия	13,7	29,2	13,0	27,3	12,9	9,2
II стадия	38,7	37,5	38,8	38,6	40,3	32,9
III стадия	35,0	12,5	34,8	29,0	35,5	40,8
IV стадия	6,3	20,8	8,0	3,4	11,3	15,8
ОК	2,5	0	1,8	0	0	0
Всего	100%	100%	100%	100%	100%	100%

У женщин в 1 и 2 возрастных подгруппах преобладала II стадия болезни, а I - диагностировалась в 2 раза чаще, чем у мужчин. У пациентов женского пола во 2 подгруппе значительно возрастал удельный вес III стадии (на 16,5%), при одновременном снижении частоты встречаемости IV стадии заболевания (на 17,4%). В структуре КК в 3 возрастной подгруппе у женщин наблюдался рост удельного веса III, IV стадии болезни по сравнению со 2 подгруппой. Наблюдалось уменьшение удельного веса I и II стадий болезни, как в сравнении с 2 группой (на 18,1% и 5,8% соответственно), так и с мужчинами в 3 группе (на 3,7% и 7,4% соответственно). Острый кератоконус отсутствовал у пациентов старше 40 лет у обоих полов.

При анализе стадийной структуры заболевания в поло-возрастных подгруппах выявлено, что у женщин до 40 лет и у мужчин во всех исследуемых возрастных подгруппах преобладала II стадия КК. У женщин в возрасте старше 40 лет структура менялась, и чаще верифицировалась III стадия заболевания. Отсутствие острого КК в возрастной группе старше 40 лет, как у мужчин, так и у женщин, возможно, обусловлено рубцовыми изменениями роговицы после острого КК в молодом возрасте, которые определялись офтальмологами как IV стадия болезни. Об этом косвенно может свидетельствовать увеличение частоты IV стадии болезни на 7,0% в 3 подгруппе пациентов, по сравнению со второй.

Таким образом, установлено, что чаще КК страдают мужчины в возрасте от 19 до 40 лет. При этом преобладает II стадия болезни как у пациентов мужского, так и у женского пола.

Учет гендерных, возрастных, этнических характеристик пациентов с КК позволяет определить клинико-эпидемиологическую картину данного заболевания в конкретных регионах, а создание специализированного реестра больных с КК повышает возможности мониторинга данного заболевания, диспансеризации и оказания своевременной специализированной помощи, позволяющей предупредить прогрессирование и сохранение трудоспособности пациентов с данной патологией глаз.

3.2. Распространенность пограничных состояний с повышенным фактором риска по данным эпидемиологических исследований

Изучена распространенность пограничного состояния (неманифестная форма кератоконуса) и его ассоциации с офтальмологическими параметрами среди населения Южного Урала, охватив три поколения участников: школьники, лица среднего возраста и люди старческого возраста 85+ лет. Была выявлена распространенность пограничных состояний с повышенным фактором риска по данным популяционных исследований: Ural Children Eye Study (UCES), Ural Eye and Medical Study (UEMS) и Ural Very Old Study (UVOS).

Для оценки частоты потенциальной встречаемости пограничных состояний у населения в Республике Башкортостан был проведен ретроспективный анализ данных исследований. Критерием включения в настоящее исследование было наличие данных кератометрии для обоих глаз. Пограничные состояния верифицировались при кератометрическом показателе ≥ 48 D.

В исследование Ural Children Eye Study из 4933 детей первично обследованных для участия были отобраны 4890 детей (99,1%), в т.ч. 2385 (48,8%) – мальчики и 2505 (51,2%) – девочки.

Возраст включенных в исследование детей был значительно старше возраста выбывших ($11,8 \pm 3,1$ года против $9,5 \pm 2,5$ года; $P < 0,001$).

Величина рефракции крутого меридиана роговицы составила на правом глазу в среднем $43,58 \pm 1,50$ дптр (медиана: 43,60 дптр; диапазон: 38,00, 53,70), на левом – $43,63 \pm 1,49$ дптр (медиана: 43,60 дптр; диапазон: 37,60, 54,10). Значение кератометрии плоского меридиана роговицы составило в среднем $42,70 \pm 1,42$ дптр (медиана: 42,70 дптр, диапазон: 36,60, 52,60) для правого глаза и $42,71 \pm 1,43$ дптр (медиана: 42,70 дптр, диапазон: 36,80, 59,20) – для левого глаза. Значения кератометрии составили в среднем $43,11 \pm 1,43$ дптр (медиана: 43,10 дптр; диапазон: 37,60, 53,10) для правого глаза и $43,13 \pm 1,42$ дптр (медиана: 43,10 дптр; диапазон: 37,20, 53,10) – для левого глаза, соответственно.

Частота пограничных состояний составила 42/4890 или 0,086% (95% ДИ: 0,060, 0,112). При однофакторном анализе частота случаев среди девочек была выше, чем среди мальчиков - 30/2512 или 1,2% (95% ДИ: 0,8, 1,6) против 12/2378 или 0,5% (95% ДИ: 0,2, 0,8) - и не была связана с возрастом (бета: 0,02; $P = 0,19$). В многофакторном анализе высокая распространенность пограничных состояний коррелировала с меньшей осевой длиной глаза (ОШ: 0,15; 95% ДИ: 0,08, 0,30; $P < 0,001$).

Для выявления манифестной формы кератоэктазии и в частности, выявления КК, были отобраны респонденты с сочетанием преломляющей силы роговицы более 48 дптр и толщиной роговицы менее 500 мкм. Таким образом, при анализе кератотопограмм и клинической картины у одного из респондентов был выставлен диагноз «кератоконус», что составило 0,02% в общей популяции среди детей (Рисунок 10).

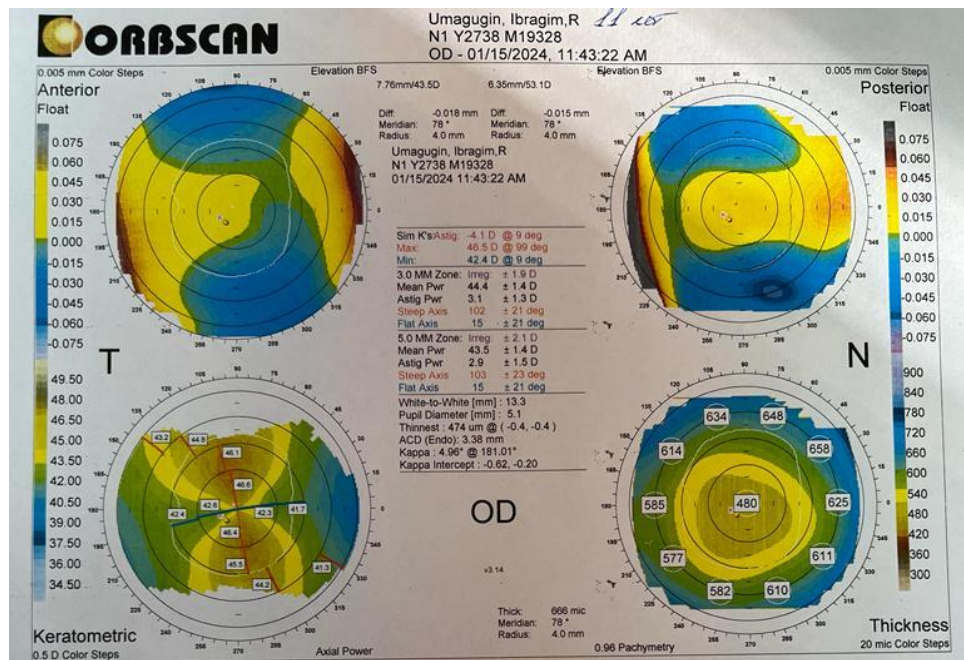


Рисунок 9 - Кератотопограмма пациента Ю., 11 лет. Характерный паттерн в виде песочных часов и незначительная элевация задней поверхности. Стадия кератоконуса 1 по классификации ABCD.

В то же время следует отметить, что наличие крутой роговицы не свидетельствует о наличии манифестной формы КК (Рисунок 10).

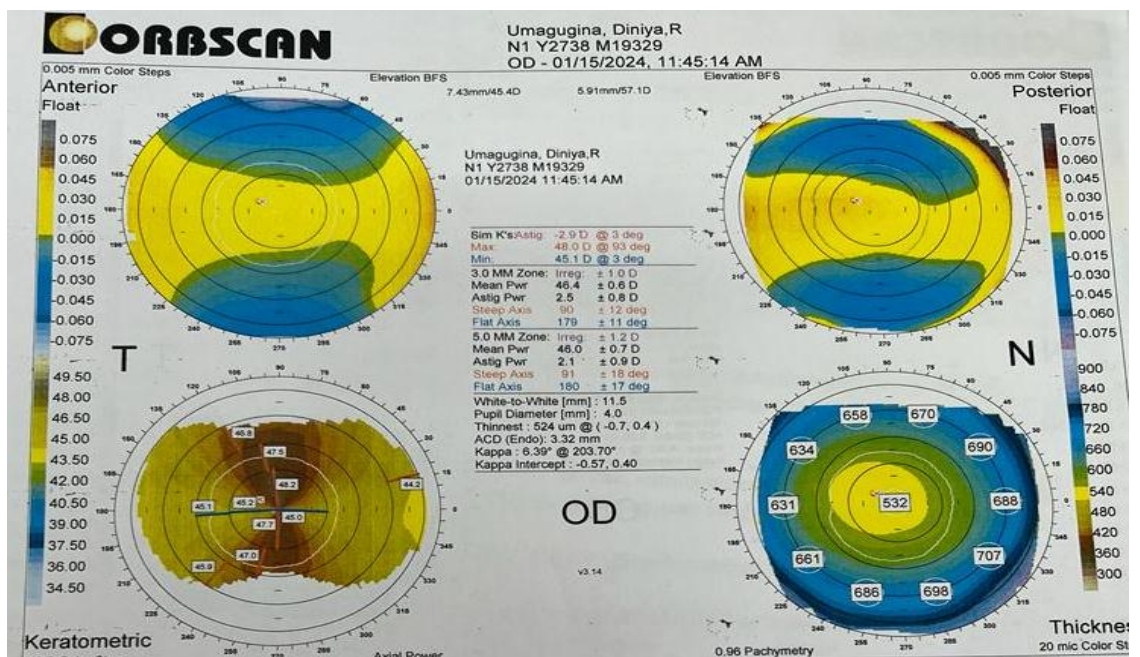


Рисунок 10 - Кератотопограмма пациента Ю., 13 лет. Характерный паттерн в виде песочных часов при прямом роговичном астигматизме.

Исследование Ural Eye and Medical Study включало 5314 (90,1%) человек (из которых 2402 (45,2%) мужчины) с данными кератометрии обоих глаз из 5899 человек, первоначально обследованных для участия. Группа лиц, включенных в исследование, была значительно моложе группы исключенных ($59,0 \pm 10,5$ года (медиана: 58,1 года) против $63,9 \pm 11,4$ года; $P < 0,001$) и имела значительно ($P < 0,001$) более высокий процент мужчин (2402/5314 (45,2%) против 178/585 (30,4%).

Значение рефракции крутого меридиана роговицы составило в среднем $44,26 \pm 1,70$ дптр (медиана: 44,30 дптр; диапазон: 32,20, 57,40) для правого глаза и $44,27 \pm 1,76$ дптр (медиана: 44,20 дптр; диапазон: 32,90–77,90 дптр) – для левого глаза. Показатель плоского меридиана роговицы составил в среднем $43,61 \pm 1,76$ дптр (медиана: 43,60 дптр; диапазон: 29,80, 73,70) для правого глаза и $43,61 \pm 1,79$ дптр (медиана: 43,60 дптр, диапазон: 25,80, 72,90) – для левого глаза. Средние показатели кератометрии составляли $43,86 \pm 1,67$ дптр (медиана: 43,90 дптр, диапазон: 31,50, 57,40) и $43,86 \pm 1,65$ дптр (медиана: 43,90 дптр, диапазон: 31,30, 52,50) соответственно.

Частота встречаемости пограничных состояний составила 112/5314 или 2,11% (95% ДИ: 1,72, 2,49). При однофакторном анализе процент заболеваемости был значительно выше среди женщин, чем среди мужчин – 2,71% (95% ДИ: 2,12, 3,30) и 1,37% (95% ДИ: 0,91, 1,84) соответственно и увеличивался с возрастом (ОШ: 1,05; 95% ДИ: 1,03, 1,07; $P < 0,001$). В многофакторном анализе высокая распространенность крутой роговицы коррелировала с меньшей осевой длиной глаза, более высоким показателем миопической и цилиндрической рефракции, меньшей толщиной и большим объемом роговицы, большей толщиной хрусталика (Таблица 10).

Таблица 10 - Связь распространенности пограничных состояний с офтальмологическими параметрами в исследовании Ural Eye and Medical Study (многофакторный анализ)

Параметр	Единица измерения	Отношение шансов	95% доверительный интервал отношения шансов	P-значение
Осевая длина	мм	0,15	0,10; 0,23	<0,001
Сферическая погрешность рефракции	дптр	0,64	0,56; 0,73	<0,001
Цилиндрическая погрешность рефракции	дптр	0,52	0,41; 0,73	<0,001
Толщина роговицы (минимальное значение)	мкм	0,987	0,980; 0,995	0,001
Объем роговицы	мм ³	1,17	1,09; 1,25	<0,001
Толщина хрусталика	мм	2,37	1,06; 5,28	0,04

В рамках исследования UEMS были выявлены респонденты с характерными для кератоктазий параметрами роговицы (крутая и тонкая роговица). Дальнейший анализ кератотопографической картины у 10 из 5314 респондентов (0,19%) показал, что кератоконус в латентной форме течения был верифицирован у 4 пациентов (0,07%) (Рисунок 11, 12).

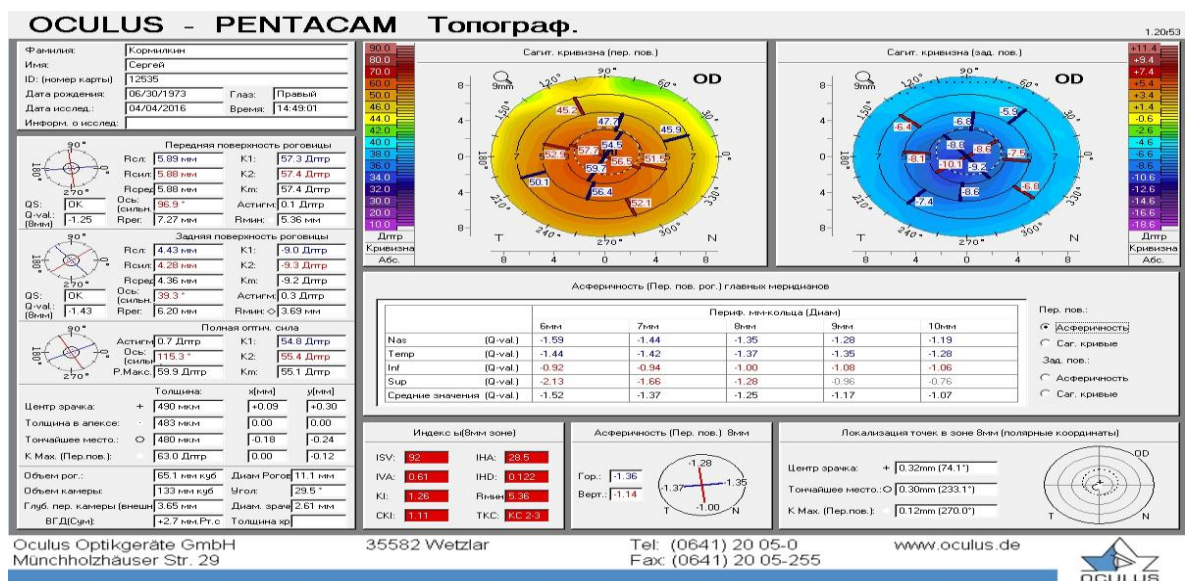


Рисунок 11 - Кератотопограмма пациента К. Характерный паттерн в виде укручения в центральной зоне. Стадия кератоконуса 1 по классификации ABCD.

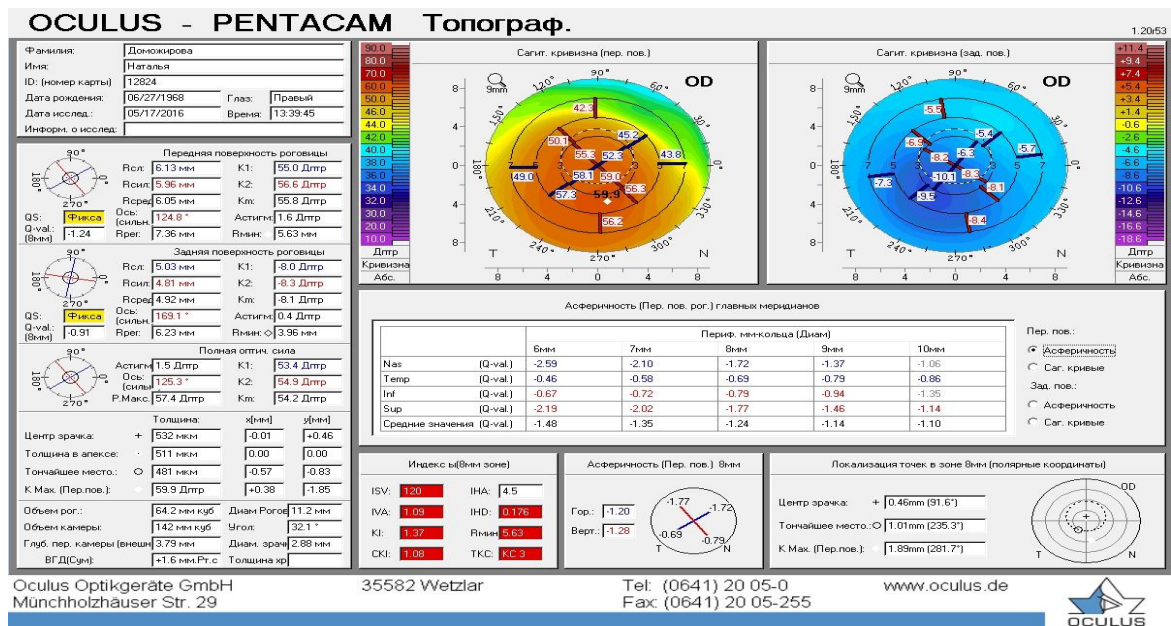


Рисунок 12 - Кератотопограмма пациента Д. Характерный паттерн в виде укручения в центральной зоне. Стадия кератоконуса 1 по классификации ABCD.

Следует отметить, что у этих респондентов диагноз КК был выставлен впервые, и течение заболевания носило латентный характер без прогрессирования.

В исследовании «Ural Very Old Study» приняли участие 651 человек из 1526 первично обследованных с данными кератометрии обоих глаз, что составило 42,7%. Из них мужчин было 189 (9,0%). Возраст отобранных для исследования лиц составил в среднем $87,8 \pm 2,5$ года (медиана: 87,0 лет). Показатели рефракции крутого меридиана роговицы составили в среднем $45,1 \pm 1,72$ дптр (медиана: 45,0 дптр; диапазон: 38,50, 52,90) для правого глаза и $45,17 \pm 1,68$ дптр (медиана: 45,10 дптр, диапазон: 39,70, 52,50 дптр) – для левого. Значение плоского меридиана роговицы составило в среднем $43,98 \pm 1,68$ (медиана: 44,00 дптр; диапазон: 35,50, 49,50) для правого глаза и $44,08 \pm 1,78$ дптр (медиана: 44,10 дптр; диапазон: 30,50, 49,80) – для левого глаза. Показатели кератометрии составляли в среднем $44,54 \pm 1,61$ дптр (медиана: 44,50 дптр; диапазон: 37,90, 49,80) и $44,60 \pm 1,63$ дптр (медиана:

44,60 дптр; диапазон: 36,40, 49,90) для правого и левого глаза, соответственно.

Распространенность пограничных состояний составила 42/1526 или 2,75% (95% ДИ: 4,56, 8,34).

В группе исследования UVOS у одного пациента наблюдалось сочетание крутой и тонкой роговицы (Рисунок 13).

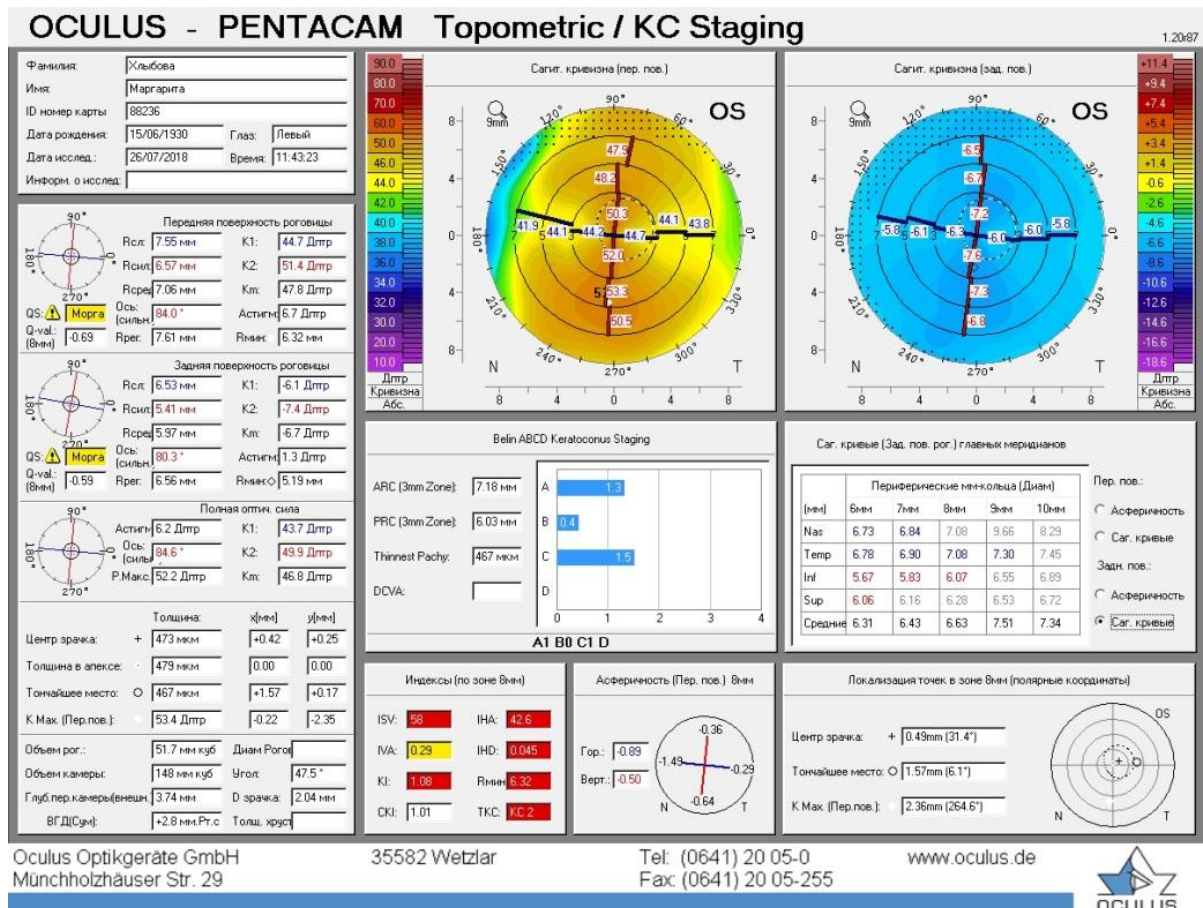


Рисунок 13 - Кератотопограмма X. Характерный паттерн в виде укручения нижней половины. Стадия кератоконуса 1 по классификации ABCD.

Анализ результатов исследований позволил подтвердить диагноз «кератоконус» у одного респондента, что определило частоту встречаемости данного заболевания - 0,15% среди прошедших исследование обоих глаз в общей популяции населения старше 85 лет, и 0,06% - среди всех обследованных в этой группе.

В заключение следует отметить, что в настоящем исследовании многоэтнических групп населения Республики Башкортостан распространенность пограничных состояний (крутой роговицы) увеличивалась с возрастом - от детской группы (0,086%) к взрослой (2,11%) и к группе пожилых людей (2,75%) при оценке показателей обоих глаз. В многофакторном анализе высокая распространенность пограничных состояний коррелировала с меньшей осевой длиной глаза у детей, а у взрослых коррелировала в основном с биометрическими параметрами глаза - с меньшей осевой длиной, более высоким показателем миопической и цилиндрической рефракции, меньшей толщиной и большим объемом роговицы, большей толщиной хрусталика.

Кроме того, в ходе анализа данных популяционных исследований была выявлена истинная частота встречаемости КК на основании анализа кератотопограмм в разных возрастных группах населения. В детской группе частота встречаемости составила 0,02% (n=4933), во взрослой группе – 0,07% (n=5899), а среди пожилых респондентов - 0,06% (n=1526), соответственно.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО КРОССЛИНКИНГА РОГОВИЦЫ НА ОКСИДАТИВНЫЕ И АПОПТОТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ТКАНЯХ И СРЕДАХ ГЛАЗА

4.1. Особенности УФ-КЛР с раствором Декстралинк на окислительные процессы в переднекамерной влаге экспериментальных животных

Известным методом, отражающим взаимодействия активных форм кислорода (АФК) с тканями глаза при УФО, является хемилюминесценция (ХЛ). Оксидативные сдвиги, в частности в интраокулярных структурах, могут быть вызваны разными факторами внешней среды, в том числе воздействием ультрафиолета, что представляет интерес с точки зрения выявления альтерирующего эффекта УФ-облучения на ткани глаза.

Для объективной оценки влияния отдельных вмешательств или их комбинации нами исследована динамика спонтанной светимости и светосуммы люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) влаги передней камеры (ВПК) глаза кроликов при различных вариантах воздействия. Исследование выполнялось после удаления роговичного эпителия, УФО (3 мВт/см^2 - 30 мин) и УФО после сатурации роговицы раствором Декстралинк.

Были проанализированы уровни холестерина в ВПК у кроликов после проведения парацентеза роговицы в течение 1 часа, 1, 4, 7 и 14 суток. Всего было исследовано 24 животных (48 глаз), которые были разделены на 4 группы, каждая из которых состояла из 6 кроликов: 1 группа – с интактными глазами, 2 группа – подвергшиеся УФ облучению без рибофлавина, 3 группа – подвергшиеся УФ облучению с применением Декстралинка, 4 группа – с изолированной дезэпителизацией без ультрафиолетового облучения и насыщения фотосенсибилизатором (ФС).

Экспериментальные модели воздействия на роговицу способствовали значимому росту спонтанной светимости и светосуммы ХЛ. В группе с УФО без рибофлавина интенсивность окислительных процессов была более выражена. Наличие рибофлавина оказывало как антиоксидантное, так и фотопротекторное воздействие, что объясняет меньшую интенсивность показателей. Дезэпителизация без дополнительных факторов воздействия сама по себе вызывает незначительную воспалительную реакцию со стороны глазных структур, что подтверждается незначительным ростом показателей светосуммы в раннем послеоперационном периоде (Рисунок 14).

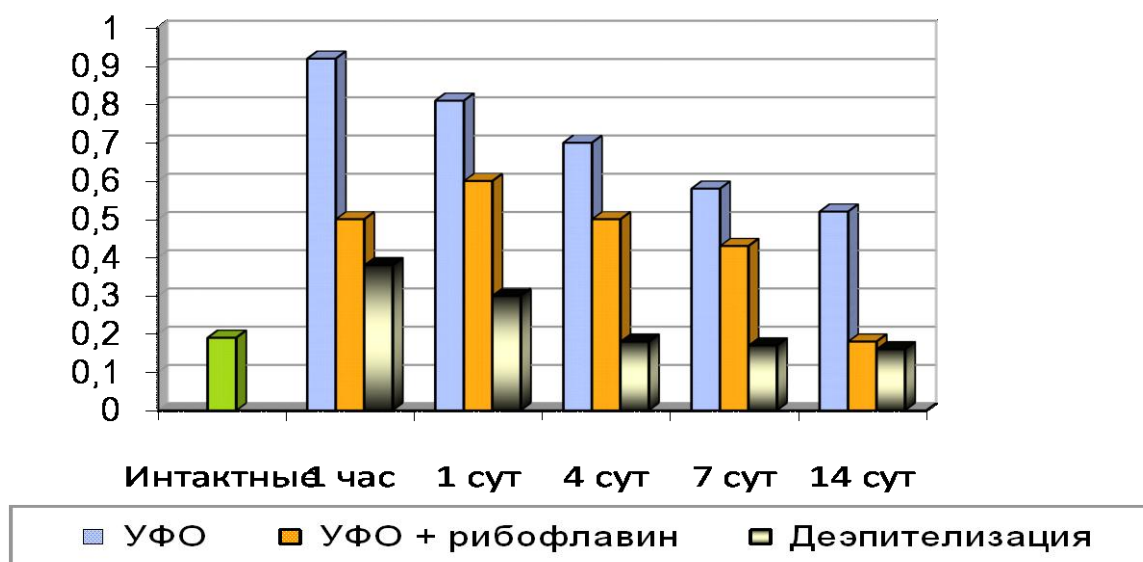


Рисунок 14 - Показатель Светосуммы ЛЗХМ ВПК глаза кролика после УФ воздействия (усл.ед., $M \pm \sigma$).

Процессы свободно-радикального окисления в ВПК при УФ воздействии на роговицу *in vivo* в исследуемых группах были однотипные в первые 24 часа после воздействия и характеризовались повышенным показателем ХЛ (Таблица 11).

При изучении анализа показателей ЛЗХЛ влаги передней камеры глаза выявились следующие изменения. Во 2-ой группе роговица животных была облучена при той же мощности ультрафиолета, что и при

УФ КЛР, но без рибофлавина. Через 1 час после процедуры наблюдалось увеличение спонтанной светимости ХЛ в 5,7 раза, по сравнению с интактными кроликами ($p<0,01$), увеличение светосуммы – в 4,8 раз ($p<0,01$). В последующем было зарегистрировано уменьшение исследуемых показателей ХЛ: через сутки после процедуры на 29% и 12% от их максимальных значений, через 4 дня – на 36% и 24%, а через 14 суток – на 63,5% и 43,5%, соответственно. Исследования показали, что усиление процессов свободно-радикального окисления, наблюдаемое через час после УФ-облучения, со временем уменьшалось. Тем не менее, даже после снижения активности, статистически значимая разница в показателях сохранялась по сравнению с глазами, которые не подвергались облучению.

Таблица 11 – Показатели люминолзависимой хемилюминесценции влаги передней камеры кроликов после УФ облучения роговицы (усл. ед., $M\pm\sigma$)

Пок- ль	Срок наблюдения	Интактные (контроль)	УФО без рибофлавина	УФО + Декстралинк	Дезинтелиза ция без УФО
		1 группа	2 группа	3 группа	4 группа
Спонтанная светимость	1 ч	0,2 $\pm$ 0,04	1,15 $\pm$ 0,13 [~]	0,62 $\pm$ 0,09*	0,42 $\pm$ 0,08*
	1 сут		0,82 $\pm$ 0,15 [~]	0,80 $\pm$ 0,1 [~]	0,31 $\pm$ 0,07
	4 сут		0,74 $\pm$ 0,08 [~]	0,75 $\pm$ 0,08 [~]	0,26 $\pm$ 0,05
	7 сут		0,68 $\pm$ 0,11*	0,55 $\pm$ 0,08*	0,21 $\pm$ 0,1
	14 сут		0,42 $\pm$ 0,12	0,28 $\pm$ 0,09	0,20 $\pm$ 0,08
Светосумма	1 ч	0,19 $\pm$ 0,03	0,92 $\pm$ 0,13 [~]	0,50 $\pm$ 0,09*	0,38 $\pm$ 0,08*
	1 сут		0,81 $\pm$ 0,12 [~]	0,6 $\pm$ 0,09 [~]	0,30 $\pm$ 0,04*
	4 сут		0,70 $\pm$ 0,10*	0,51 $\pm$ 0,15*	0,18 $\pm$ 0,08
	7 сут		0,58 $\pm$ 0,13*	0,43 $\pm$ 0,12	0,17 $\pm$ 0,08
	14 сут		0,52 $\pm$ 0,08*	0,18 $\pm$ 0,09	0,16 $\pm$ 0,06

Примечание: * $p<0,05$; [~] $p<0,01$ – достоверность различий показателя при сравнении с интактным контролем

Параметры спонтанной светимости и светосуммы ЛЗХЛ ВПК животных после стандартной процедуры УФ КЛР (группа 3) превышали контрольные значения - в 2,6 и в 3 раза, соответственно ($p<0,05$) (Рисунок 15). Однако показатели в 3-й группе оказались существенно ниже значений 2-ой группы, что, несомненно, связано с присутствием рибофлавина, который наряду с фотосенсибилизирующей активностью проявляет протекторные свойства от неблагоприятного УФ излучения. Через 24 часа

после проведения УФ КЛР уровень спонтанной светимости и светосуммы оказался выше на 4 ($p<0,01$) и 3 раза ($p<0,01$) соответственно, чем у контрольной группы. На 4-й и 7-й день после процедуры показатели немного снизились по сравнению с предыдущими значениями, но продолжали отличаться от контрольных данных. Это было связано с незначительным снижением воспалительных явлений связанных с вмешательством. К завершению эксперимента на 14 сутки параметры светосуммы были в пределах нормы, а спонтанной светимости превышали ее только на 40%.

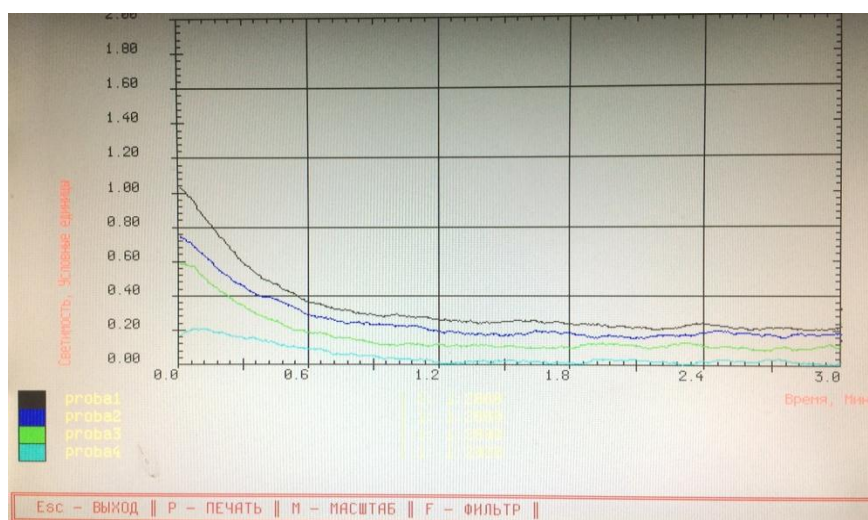


Рисунок 15 - Хемилюминограмма люминолзависимой хемилюминесценции ВПК кролика через 1 ч после УФО (1), кросслинкинга (2), дезэпителизации (3). Интактные глаза (4).

В эксперименте исследовано возможное влияние травмирующего удаления эпителия роговицы (Epi-Off) на оксидативный процесс в ВПК. Непосредственно после удаления эпителия роговицы отмечали значимый рост значений спонтанной светимости в 2,1 раза ($p<0,05$) и светосуммы – в 2 раза ($p<0,05$), по сравнению с таковыми в интактных глазах. Через сутки данные показатели снижались, а на 4-е сутки эксперимента были на уровне нормы, определяли практически полную реэпителизацию дефекта роговицы глаза. В дальнейшем на 7-14 сутки данные параметры оставались в пределах исходных значений.

Таким образом, воздействие извне привело к увеличению светимости и светосуммы хемилюминесценции влаги в передней камере глаза, особенно при УФ облучении роговицы без использования светофильтра. Это указывает на усиление процессов образования активных форм кислорода и активации свободно-радикального окисления.

Присутствие рибофлавина в этих условиях значительно снижают выраженность этих процессов.

Выявленная динамика исследованных параметров ХЛ после процедуры деэпителизации роговицы показала незначительное увеличение показателей непосредственно после вмешательства, что было связано с альтерирующим эффектом, развитием воспалительной реакции, а их возвращение к нормальным значениям на 4 сутки связано с восстановлением эпителиального слоя.

Исследование показало, что через две недели после проведения процедур, включающих воздействие ультрафиолетового излучения на роговицу, во всех группах наблюдалась постепенная нормализация хемилюминесценции. Это указывает на завершение процессов восстановления и регенерации в роговице.

4.2. Изучение морфологических изменений роговицы кролика с помощью конфокальной микроскопии после процедуры ультрафиолетового кросслинкинга

Конфокальная микроскопия, благодаря своей способности исследовать прозрачные ткани, предоставляет ценную возможность изучать динамические изменения в роговице глаза. Этот метод позволяет проводить морфометрические исследования всех ее слоев и оценивать состояние клеточных структур на разных глубинах стромы. В данном исследовании конфокальная микроскопия была применена для выявления

изменений в роговичной ткани у животных после УФ КЛР, что позволило объективно оценить динамику процессов альтерации и репарации.

Исследование проводилось на 18 кроликах (36 глаз), которые были разделены на 3 группы (по 6 кроликов в каждой): 1 – интактные (контроль), 2 – УФО без рибофлавина, 3 – УФО с раствором Декстралинк, Срок наблюдений составил: 3, 7, 14, 30 и 90 суток.

В течение двух недель после процедуры УФ КЛР наблюдались незначительные изменения в эпителиальном слое, включая полиморфизм в базальном слое у всех исследуемых групп.

В течение первого месяца после УФ КЛР наблюдалась интенсивная гибель кератоцитов, что выражалось в их ретикулярном распределении, преимущественно в передней части стромы роговицы. Гибель клеток сопровождалась развитием лакунарного отека и снижением прозрачности роговицы (Рисунок 16, 1В). В течение следующих 30-90 дней отек стромы постепенно уменьшался, что сопровождалось снижением выраженности сетчатой структуры.

После УФ облучения без фотосенсибилизатора были выявлены значительные изменения в роговице при помощи конфокальной микроскопии. Наблюдался увеличенный отек стромы, а также повышенный уровень апоптоза и уменьшение количества кератоцитов. Кроме того, нарушение прозрачности роговицы проявлялось псевдохейзом. Эти изменения отмечали в течение 90 дней, они характеризовались признаками клеточной гибели, которые визуализировались как контрастная ретикулярная структура (Рисунок 16, 1Б).

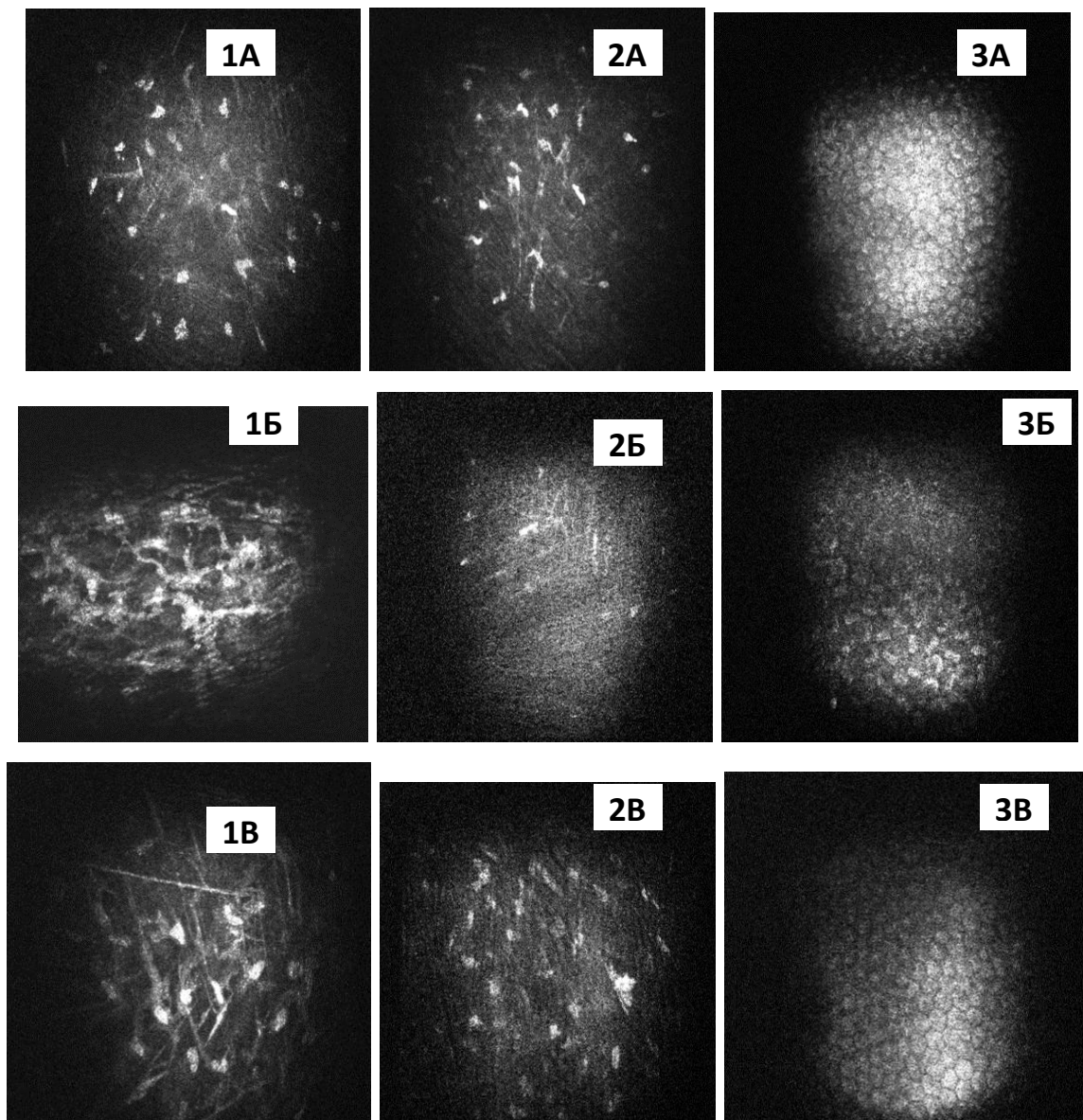


Рисунок 16 - Микроскопия слоев роговицы кролика через месяц после УФ воздействия: Б – УФО (без рибофлавина), В – УФО с Декстралинк, А – интактные. Конфокальная микроскопия, увеличение x300.

Глубина: 1 – до 100-150 мкм, 2 – до 250-300 мкм, 3 – эндотелий роговицы (~400).

Кератоциты, прошедшие через процесс апоптоза, обнаруживались во всей толще стромы роговицы (до 360 мкм) на протяжении 90 дней, однако полного восстановления их численности не наблюдалось. Визуализировали усиление фиброзной структуры и складчатость стромальных слоев на изображении, зоны сниженной плотности ткани представлены в виде

затемнений, что, возможно, свидетельствует о частичном разрушении коллагеновых волокон.

Исследование показало, что изолированное УФ-облучение роговицы приводит к повреждению эндотелиального слоя клеток. Наблюдалось значительное уменьшение их числа – на 54% ($p<0,05$), а также изменение естественной гексагональной формы эндотелиоцитов, их перераспределение и появление «оголенных» зон (Рисунок 16, 3Б). Эти результаты подчеркивают важность рибофлавина в процессе УФ КЛР для защиты эндотелиального слоя и обеспечения эффективного проникновения УФ-излучения в ткань роговицы. Дополнительные исследования могут быть необходимы для более глубокого понимания механизмов действия рибофлавина в процессе УФ КЛР и его влияния на роговичную ткань (Рисунок 16 В, Таблица 12).

Таблица 12 – Показатели морфометрии в стромальном и эндотелиальном слоях роговицы кролика после УФ воздействия, клеток/мм² ($M\pm\sigma$)

Группа / срок наблюдений		Плотность клеток роговицы			
		Строма			Эндотелий ? 400 мкм
		100-150 мкм	250-300 мкм	310-370 мкм	
Интактные (контроль)		312±21	263±29	222±27	2989±76
УФО без рибофлавина	3 сут	88,5±15*	72,4±21*	89,0±17*	1687±85*
	7 сут	82,1±13*	74,7±11*	82,5±12*	1790±63*
	14 сут	113±20*	85,5±17*	120,5±26*	1720±93*
	30 сут	122±18*	119±22*	138±31*	1564±98*
	90 сут	105±16*	112±20*	125,2±27*	1535±107*
УФО + Рибофлавин	3 сут	169,5±23*	127,0±21*	228,0±29	2502±101
	7 сут	162,0±18*	112,5±18*	221,5±22	2134±75
	14 сут	141,1±22*	120±25*	206,5±31	2788±83
	30 сут	199,5±30*	147,0±29*	190,0±25	2589±98
	90 сут	219±24	189,5±29*	213,0±32	2611±101

Примечание: * $p<0,05$ – достоверность различий показателя при сравнении с интактным контролем.

Через 2 недели после проведения УФ КЛР наблюдалось максимальное уменьшение количества кератоцитов в переднем слое роговицы на глубине до 150 мкм (на 45%, $p<0,05$) по сравнению с интактными глазами (Таблица

12). Кератоциты, подвергшиеся процессу апоптоза, визуализировались на глубине до 350 мкм. В слоях стромы наблюдались признаки складчатой и сжатой ткани (Рисунок 16, 2Б). Через месяц наблюдения появились активированные кератоциты (фибробласты) как светлые контрастирующие пятна (Рисунок 16, 2Б-2Г). В сроки до 90 суток плотность кератоцитов приходила в норму, но оставалась достаточно низкой, по сравнению с исходным количеством.

Использование фотосенсибилизаторв Декстралинк в процессе УФ КЛР исключало развитие необратимых патологических изменений по всей глубине стромы (350-400 мкм) и эндотелия роговицы (Рисунок 16 2В и 3В).

При изучении живой роговицы кролика с помощью конфокальной микроскопии было обнаружено, что УФ облучение без присутствия рибофлавина является причиной развития необратимых патоморфологических процессов: избыточный апоптоз кератоцитов в стромальной ткани, лакунарный отек и хейз роговицы, существенное уменьшение эндотелиальных клеток, трансформации их гексагональной формы. Процедура УФ КЛР сопровождалась менее выраженным апоптозом кератоцитов, единичными складками и признаками отека, затрагивающими передние 2/3 стромального слоя, не оказывая негативного влияния на эндотелиальный слой клеток. Помимо незначительной выраженности патоморфологических процессов при наличии эффекта сшивания (повышение плотности ткани, выражающееся в усилении стромального рисунка) в роговице применение раствора Декстралинк способствовало меньшей выраженности отека. Этому способствовало гиперосмотический эффект препарата за счет обезвоживающего действия 20% декстрана.

4.3. Иммуногистохимическая оценка влияния УФ-кросслинкинга на процессы апоптоза и некроза в роговой оболочке

Известно, что патогенез хронических дегенеративных заболеваний роговицы и КК, в частности, ассоциирован с инициацией механизмов клеточной гибели [188]. Процедура УФ КЛР при КК также может усиливать индукцию апоптоза [275]. Однако, несмотря на имеющиеся публикации, описывающие особенности роговицы после УФ КЛР, нет единой концепции состояния апоптотических процессов в клетках стромы. При этом, значительное количество публикаций описывают статус роговой оболочки на фоне эктатического процесса в роговице.

Мы провели исследование на 30 крысах (60 глаз) линии Wistar весом 250-300 г., чтобы оценить воздействие УФ КЛР на роговицу и понять его механизмы действия. Животные были разделены на 3 группы: 1 – интактные (контроль); 2 – УФО без рибофлавина; 3 –УФ КЛР с Декстралинк.

Особенности экспрессии белка Bcl-2 и p-53 при ультрафиолетовом облучении роговицы

Одними из важнейших белков модуляции процессов клеточной гибели являются ингибитор апоптоза Bcl-2 (B-cell lymphoma-2, белок В-клеточной лимфомы-2) и фактор генетической стабильности p-53. В кератоцитах интактных крыс наблюдали умеренную продукцию белка Bcl-2 (Рисунок 17). В ранний период после УФ воздействия (3 сутки) во всех группах отмечали увеличение числа кератоцитов с положительным иммуногистохимическим окрашиванием, по сравнению с нормой. Так, во 2-ой группе (УФО без рибофлавина) выявлено почти 3-кратное превышение значений нормы, а после выполнения УФ КЛР регистрировался еще более значимый достоверный рост исследуемого показателя по сравнению с контролем. В группе 3 количество Bcl-2-иммунопозитивных клеток статистически значимо превышало норму – в 3,7 ($p < 0,05$). Следует отметить, что в 2-ой группе при УФО была выявлена меньшая экспрессия белка Bcl-2. Через 90 суток после

УФ КЛР число положительно окрашенных кератоцитов снижалось по сравнению с ранним послеоперационным сроком (3 сут), при этом сохранялось двукратное превышение показателя с нормой.

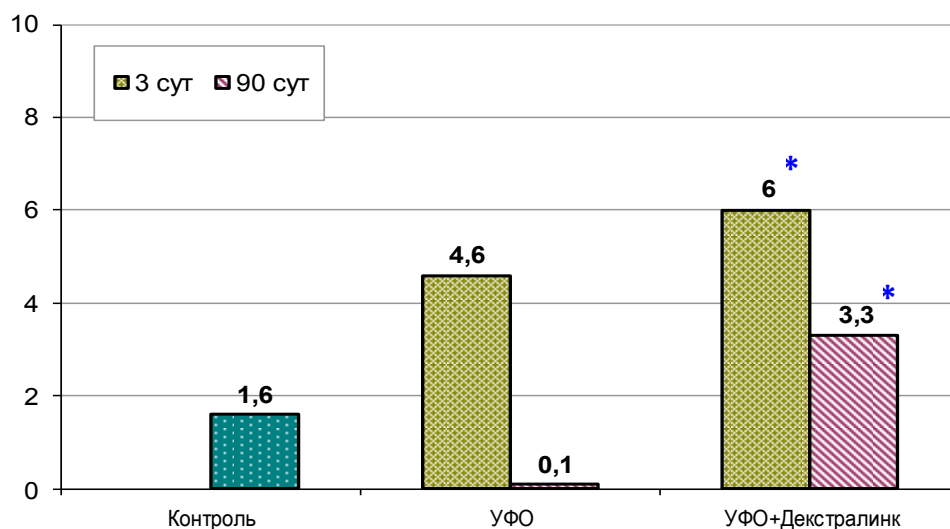


Рисунок 17 - Содержание белка Bcl-2 в кератоцитах роговицы крыс на 3 и 90 сут после УФ-облучения. * $p < 0,05$ – достоверность различий показателя при сравнении с контролем.

Оценку экспрессии белка Bcl-2 кератоцитами во 2-ой группе (после УФО) произвести не удалось в связи с развившейся к 90-м суткам тотальной морфологической инволюцией роговицы.

На рисунке 18 показано Bcl-2-иммунопозитивное окрашивание кератоцитов после УФ КЛР (Рисунок 18, Б-В). В ранний срок наблюдений (3 сутки) определяли кератоциты с интенсивной окраской, причем наибольшее их количество встречали в передних и средних слоях оптической оболочки глаза, т.е. в зоне наиболее активного воздействия ультрафиолета. На 90 сутки эксперимента количество окрашенных клеток роговицы снижалось (Рисунок 18 В).

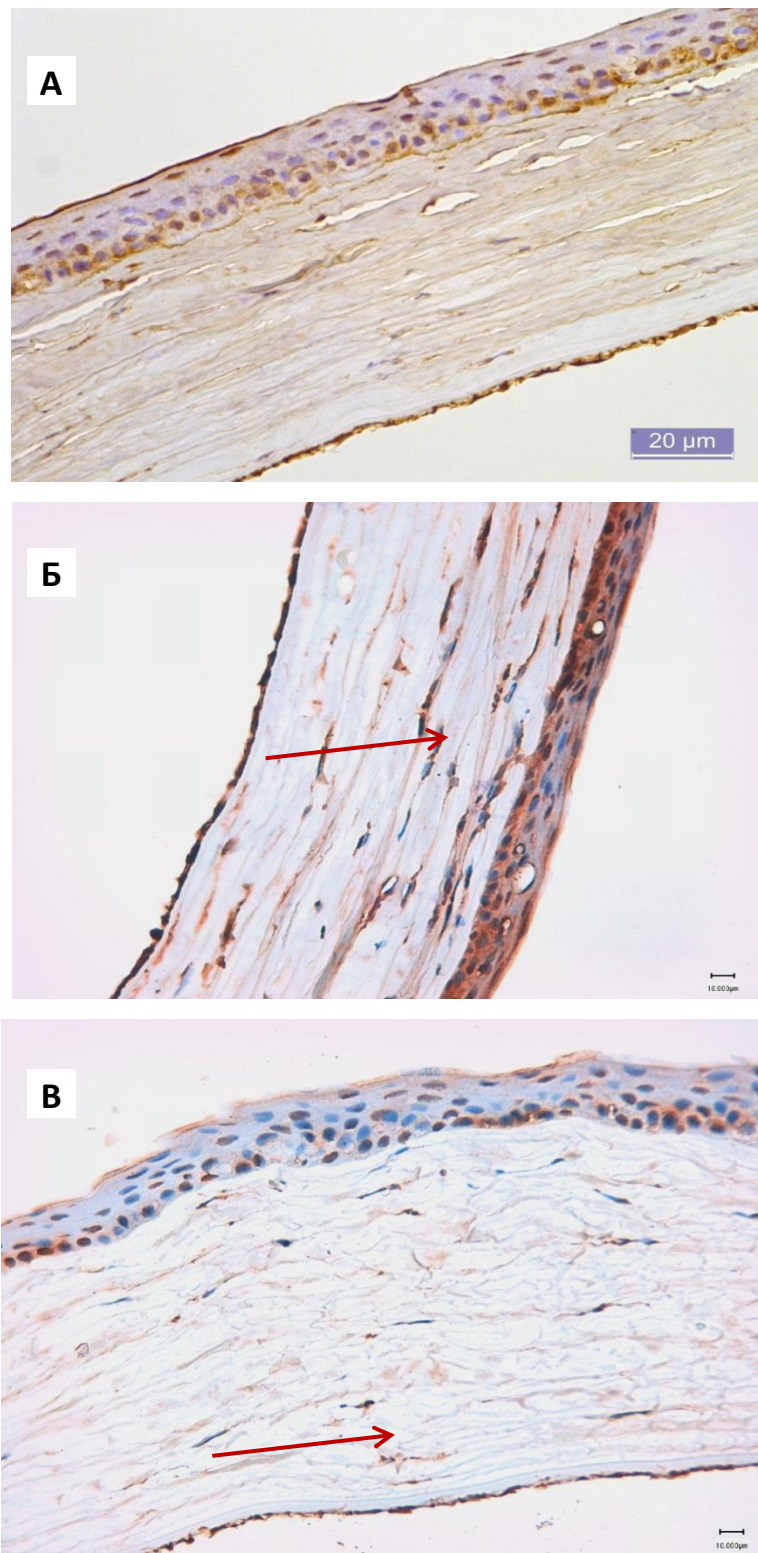


Рисунок 18 - Экспрессия белка Bcl-2 в кератоцитах роговицы крыс. Поперечный срез роговицы. Иммуногистохимическая окраска. Ув.х400.
 А – контроль; УФ кросслинкинг: Б – 3 сутки, В – 90 сутки. Стрелочка.

Обычно белок p-53, который именуют «хранителем генома», находится в неактивном состоянии, а его активация происходит в ответ на сильные

стрессовые стимулы, способные привести к повреждениям ДНК клетки [156]. Вполне закономерно, что экспрессия белка p-53 в кератоцитах интактных крыс не обнаруживается. Положительно окрашенные клетки в слоях роговицы в группе после УФ облучения в исследуемые сроки наблюдения (3 и 90 суток) не выявлялись. Таким образом, УФ воздействие на роговицу опытных животных, в том числе в присутствии рибофлавина, не вызывало какой-либо индукции синтеза белка p-53.

Таким образом, в обеих группах после ультрафиолетового облучения роговицы наблюдалось транзиторное усиление продукции кератоцитами антиапоптозного белка Bcl-2, активность которого возрастала в присутствии растворов рибофлавина. Синтез Bcl-2 кератоцитами свидетельствует о запуске механизма митохондриального пути клеточной гибели. Важно отметить, что УФ-кросслинкинг роговицы не связан с развитием p-53-опосредованного апоптоза, т.е. не затрагивает геном клетки.

Особенности экспрессии каспазы-3 и каспазы-8 при ультрафиолетовом облучении роговицы с использованием растворов рибофлавина

Иммуногистохимическое исследование продукции каспазы-3 и каспазы-8 клетками роговицы крыс после УФ воздействия показало следующее.

В кератоцитах интактной роговицы окрашивание одного из индукторов апоптоза каспазы-8 не отмечалось. Через 3 суток после УФ облучения при отсутствии рибофлавина обнаруживали иммунопозитивные клетки преимущественно в передних и средних слоях гистопрепаратов роговицы крыс. На 90-е сутки данный показатель во 2-ой группе не был выявлен в связи с деструкцией стромы роговицы, вызванной негативным воздействием УФО (Рисунок 19).

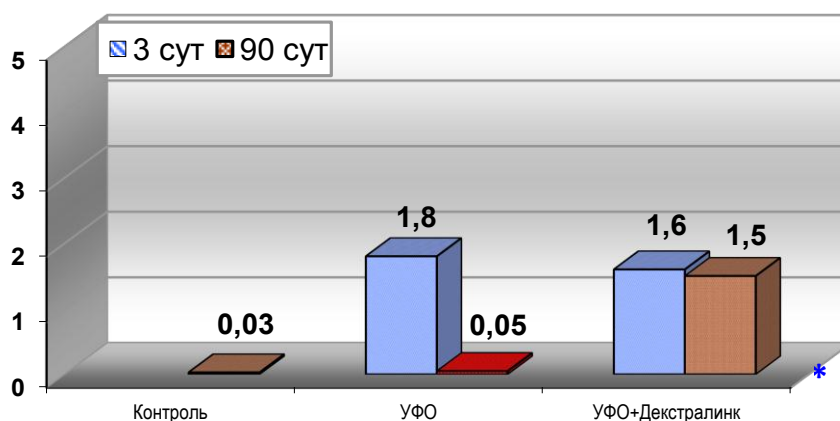


Рисунок 19 - Содержание каспазы-8 в кератоцитах крыс на 3 и 90 сутки после УФ-кросслинкинга роговицы. * $p < 0,05$ – достоверность различий показателя при сравнении с контролем.

Количество положительно окрашенных кератоцитов на 3 сут наблюдений после УФ КЛР с раствором Декстралинк (3 группа) была в 1,8 раза меньше ($p < 0,05$), в сравнении с УФ облучением (2 группа).

На 90 сутки в группе УФ КЛР наблюдали незначительное снижение количества экспрессии каспазы-8, о чем свидетельствовало наличие иммуногистохимически окрашенных кератоцитов: при УФО с Декстралинком ($p < 0,05$) по сравнению с нормой. В отмеченный период наблюдений локализация окрашенных клеток преобладала в наружных и средних слоях стромы роговицы и не показала статистически значимых различий с ранним периодом (Рисунок 20).

Продукция каспазы-8 кератоцитами свидетельствует об индукции сигнального (внешнего) пути клеточной гибели после воздействия изолированного УФ облучения или УФ КЛР с фотосенсибилизатором Декстралинк.

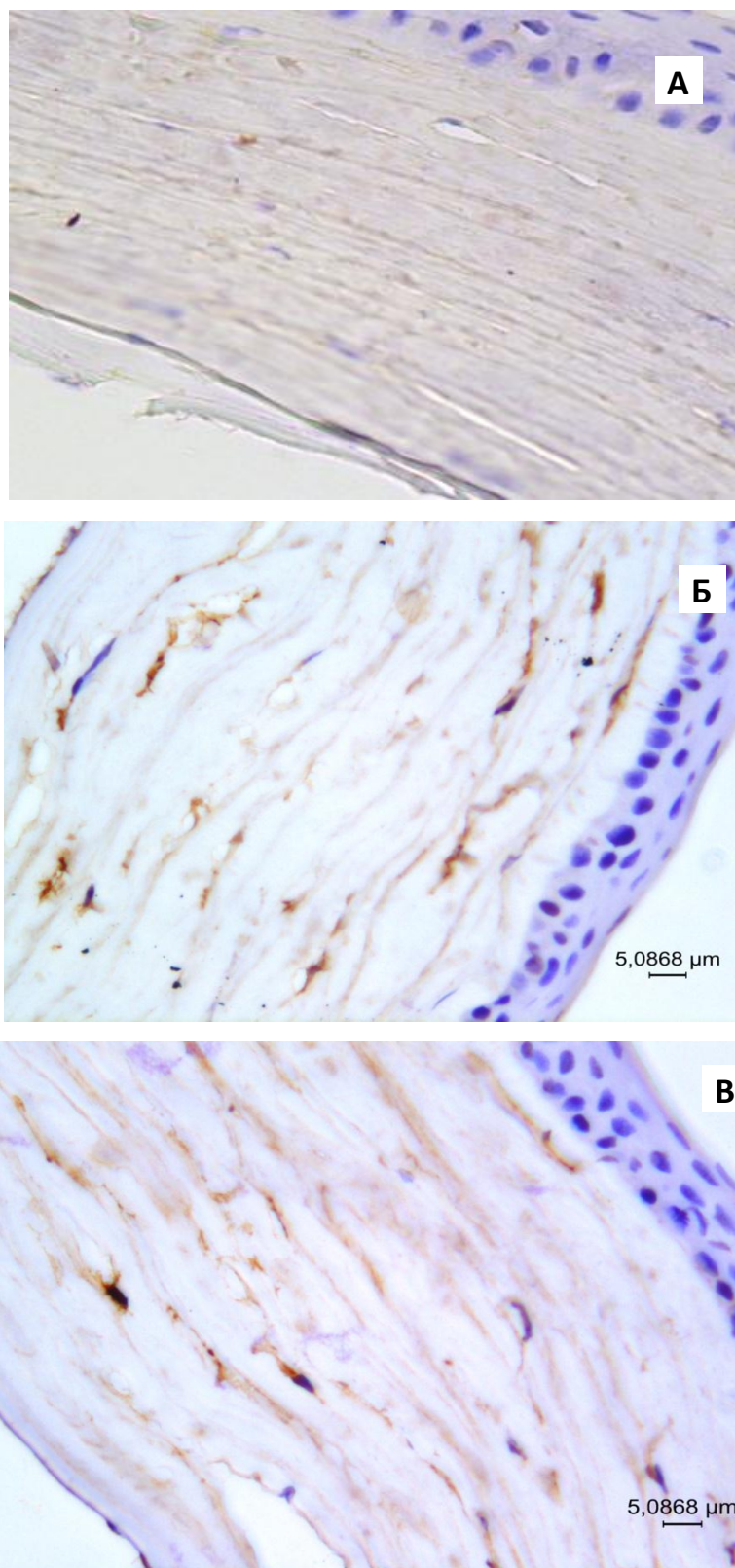


Рисунок 20 - Экспрессия каспазы-8 в кератоцитах роговицы крыс.

Поперечный срез роговицы. Иммуногистохимическая окраска.

Ув.х400 (А) и 600 Б и В).

А – контроль; УФ-кросслинкинг роговицы с Декстрилином:

Б – 3 сутки, В – 90 сутки.

Исследование содержания в кератоцитах эффектора апоптоза клеток фермента каспазы-3, которая активируется каспазой-8, выявила схожую картину. Анализ образцов в контроле показал отсутствие какой-либо экспрессии каспазы-3 в клетках роговиц интактных животных (Рисунок 21). На третьи сутки после УФ-облучения роговицы наблюдалось усиление экспрессии как в группе 2 (без рибофлавина), так и в группе 3 (с рибофлавином).

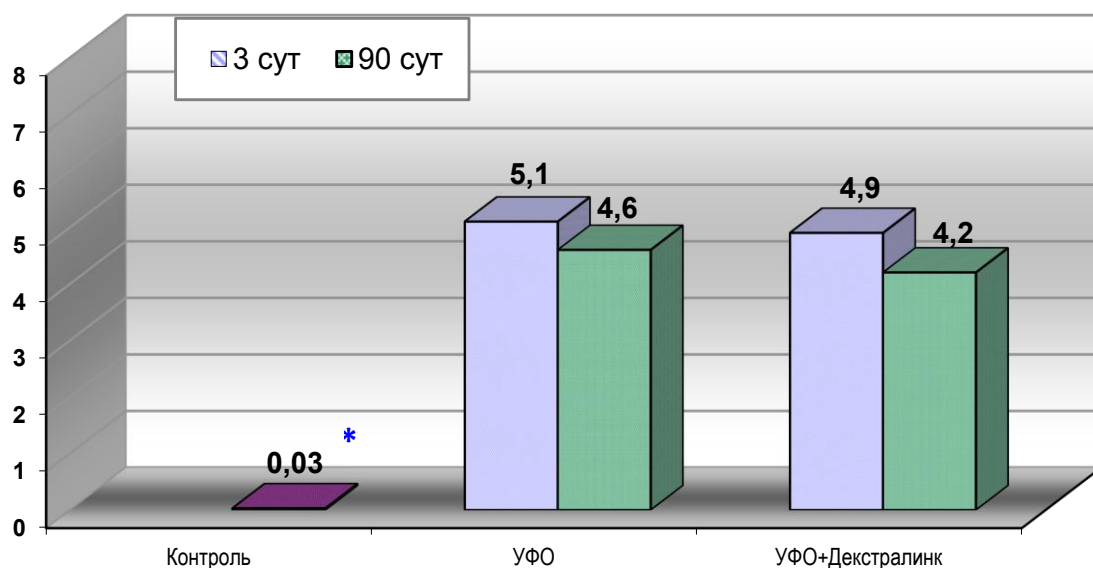


Рисунок 21 - Содержание каспазы-3 в кератоцитах крыс на 3 и 90 сутки после УФ-кросслинкинга роговицы.

Количество положительно окрашенных клеток в исследуемой зоне гистопрепаратов после УФ облучения (группа 2) составило $5,1 \pm 0,52$ ($p < 0,05$). УФ-кросслинкинг с фотосенсибилизатором в группе 3 характеризовался аналогичными изменениями $4,9 \pm 0,96$ ($p < 0,05$).

В дальнейшем на 90 сутки после воздействия по сравнению с ранним периодом наблюдений в группах после УФ-облучения происходило незначительное количественное снижение иммунопозитивных клеток к каспазе-3 (Рисунок 22). При этом между исследуемыми группами отличия также были незначительны в пользу 3-й группы.

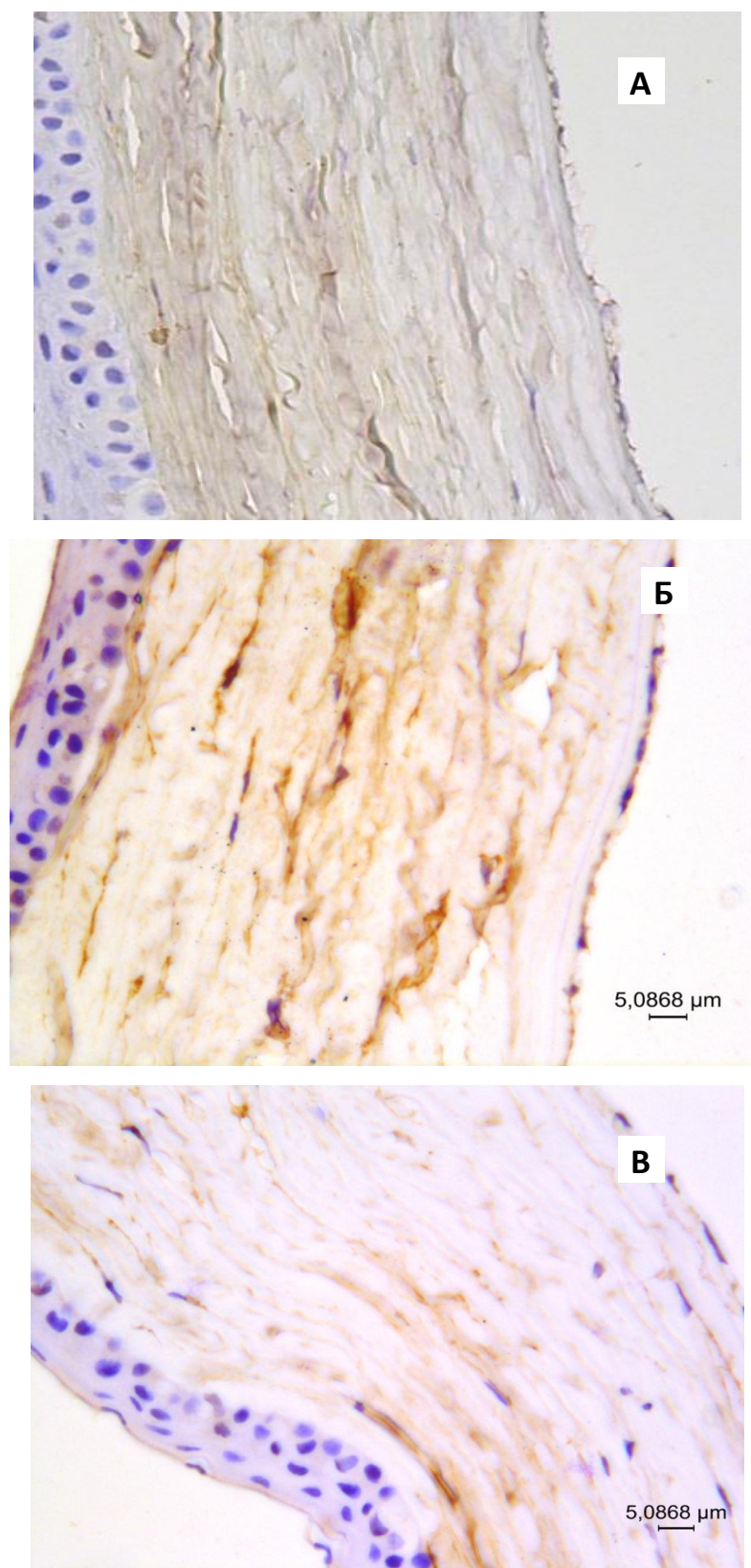


Рисунок 22 - Экспрессия каспазы-3 в кератоцитах роговицы крыс. Поперечный срез роговицы. Иммуногистохимическая окраска. Ув.х600.

А – контроль; УФ-кросслинкинг роговицы с Декстралинком: **Б** – 3 сутки, **В** – 90 сутки.

При этом, содержание одного из ключевых ферментов апоптоза по-прежнему существенно превышало данные контроля.

Следовательно, УФ облучение роговицы экспериментальных животных, как и ее УФ КЛР с фотосенсибилизатором вызывало достоверное повышение продукции эффекторной каспазы-3, сохраняющееся до 90 суток после воздействия, которое можно рассматривать как следствие индукции каспазного каскада в кератоцитах в ответ на повреждение роговицы, вызванное ее деэпителизацией и воздействием УФ излучения. Установленная активность инициаторной каспазы-8 свидетельствует о включении внешнесигнального механизма в процесс активации апоптоза кератоцитов после УФ сшивания роговицы.

Особенности экспрессии TGF- β 1, FGF-1, Ki-67 и IL-1 α при ультрафиолетовом облучении роговицы с применением растворов рибофлавина

Проведено иммуногистохимическое исследование содержания TGF- β 1 в кератоцитах, которое не выявило положительно окрашенных клеток в интактном контроле (Рисунок 23).

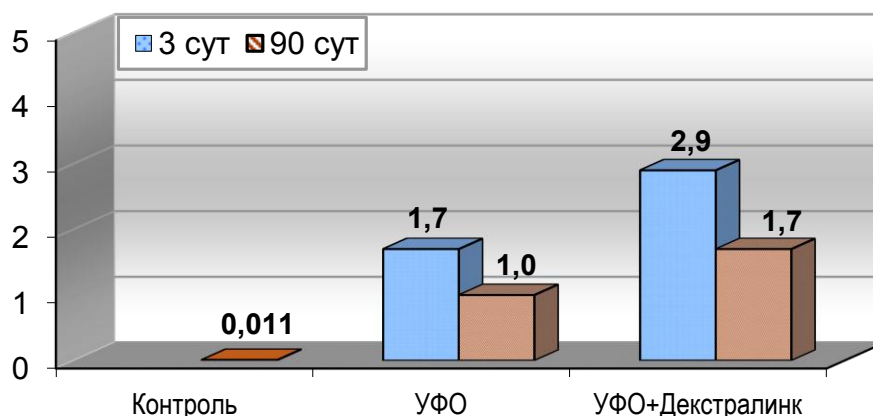


Рисунок 23 - Содержание TGF- β 1 в кератоцитах крыс на 3 и 90 сутки после УФ-кросслинкинга роговицы. * $p < 0,05$ – достоверность различий показателя при сравнении с контролем.

Результатом УФ КЛР стало усиление экспрессии TGF- β 1 в слоях стромы. Так, в исследуемой группе на 3-и сутки наблюдали значимое увеличение продукции данного фактора роста. Следует отметить, что интенсивно окрашенные кератоциты более всего обнаруживались в передней строме роговицы (Рисунок 24). В последующий срок до 90 суток процесс активации TGF- β 1 сохранялся, но носил менее выраженный характер.

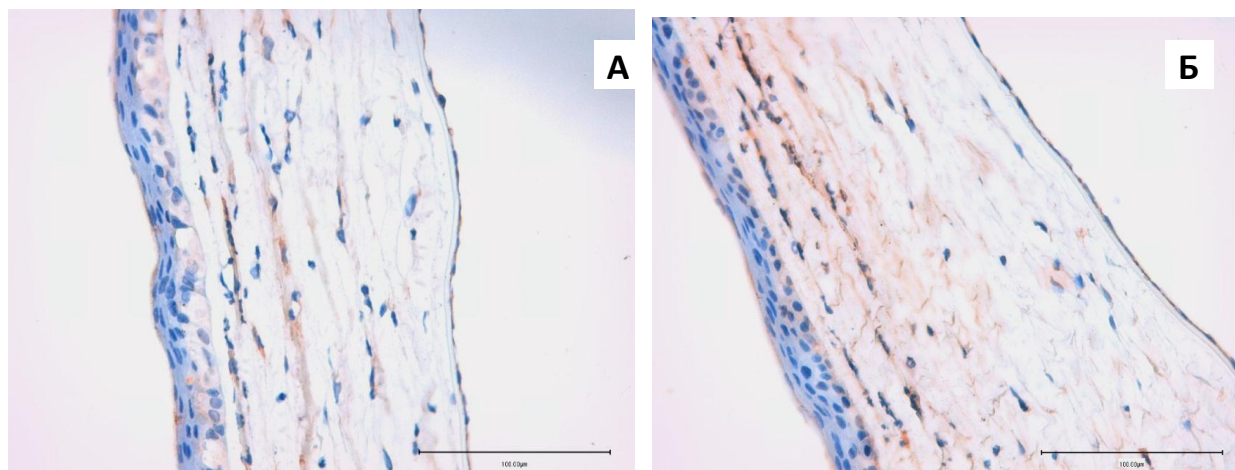


Рисунок 24 - Экспрессия TGF- β 1 в кератоцитах роговицы крыс.

Поперечный срез роговицы. Иммуногистохимическая окраска. Ув.х400.

УФ-кросслинкинг роговицы с Декстралинком: **А** – 3 сутки, **Б** – 90 сутки.

Следовательно, УФ облучение роговицы или УФ КЛР с фотосенсибилизатором на раннем сроке эксперимента (3 сутки) сопровождается ростом экспрессии TGF- β 1, что является результатом травмирующего действия деэпителизации в процессе выполнения процедуры и дальнейшего (90 сутки) закономерного снижения значений фактора роста фибробластов-1 (fibroblast growth factor, FGF-1). При этом в контроле не выявлено положительно окрашенных кератоцитов (Рисунок 25).

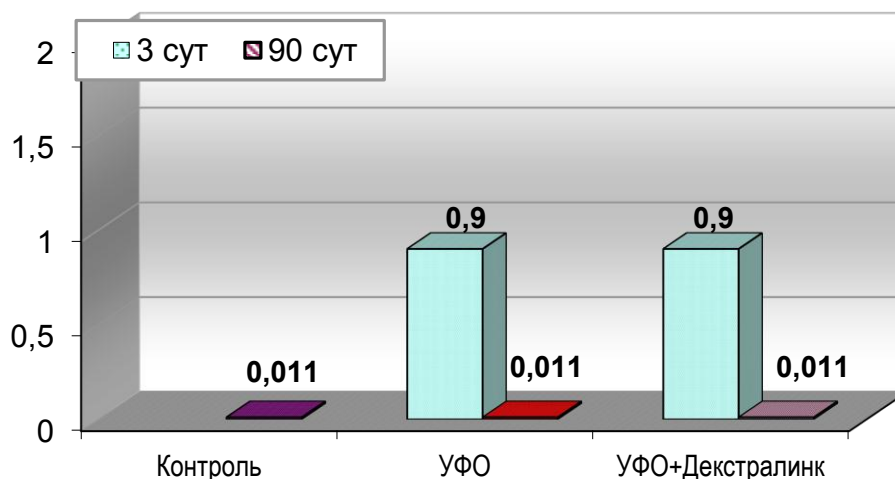


Рисунок 25 - Содержание FGF-1 в кератоцитах крыс на 3 и 90 сутки после УФ-облучения роговицы. * $p < 0,05$ – достоверность различий показателя при сравнении с контролем.

В гистологических образцах экспериментальных групп животных FGF-1-окрашенные клетки определяли на 3 сутки после УФ облучения (группа 2) и УФ КЛР с рибофлавином (группы 3) с преимущественной локализацией в передних и средних слоях роговицы (Рисунок 26).

Характерно, что экспрессия FGF-1 отмечалась только в ранний послеоперационный период (3 сутки), тогда как на 90 сутки после УФ воздействия позитивно окрашенные кератоциты не обнаруживали ни в одном из образцов после УФ КЛР. В группах 2 (УФО) подсчет кератоцитов не производили по причине морфологической деструкции роговицы.

Важным антигеном, достоверно ассоциированным с фазами клеточного цикла, также является Ki-67 [306]. В проведенных нами исследованиях экспрессия маркера клеточной пролиферации Ki-67 кератоцитами роговицы крыс в норме и во всех экспериментальных группах после УФ воздействия в течение всего периода наблюдений (до 90 суток) не обнаруживалась, что указывает на отсутствие репопуляции клеток роговицы в продолжение всего эксперимента. Это согласуется с данными I. Pecorella и соавт. (2013), которые исследовали роговицы с кератоконусом после УФ кросслинкинга [287].

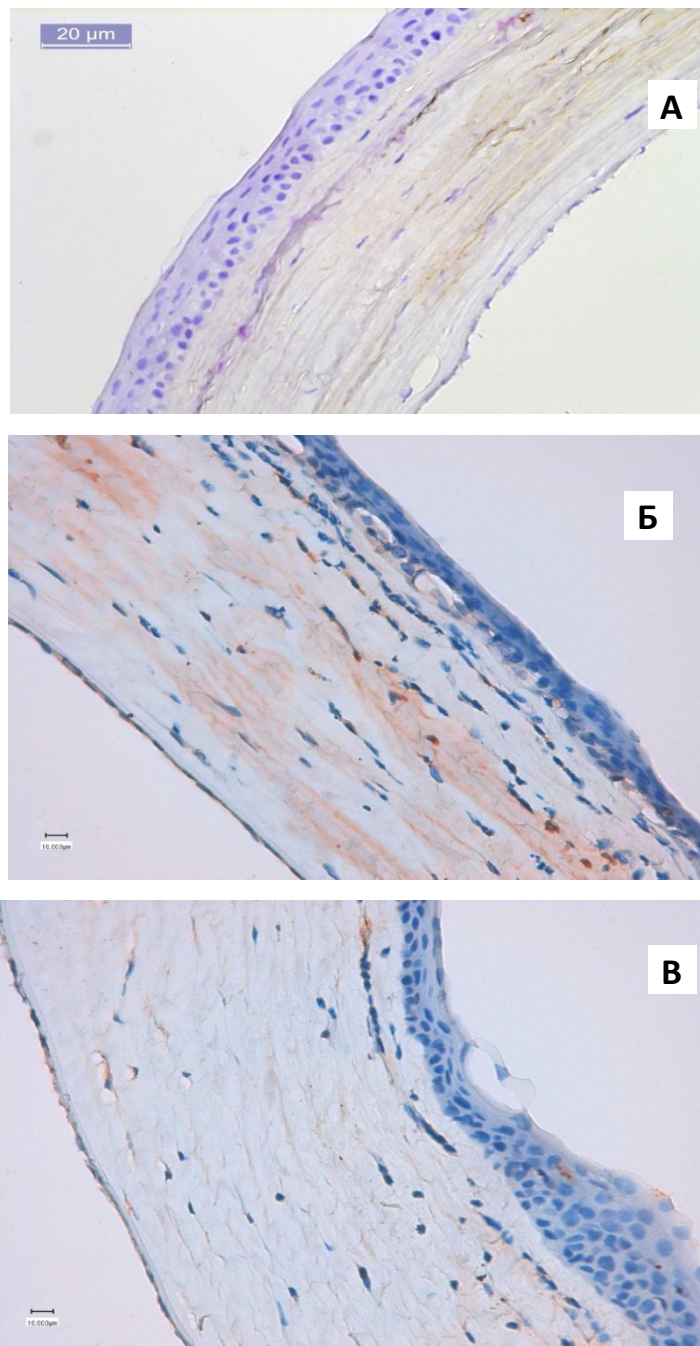


Рисунок 26 - Экспрессия FGF-1 в кератоцитах роговицы крыс.
 Поперечный срез роговицы. Иммуногистохимическая окраска. Ув.х400.

А – контроль; УФ-кросслинкинг роговицы с Декстралинком:

Б– 3 сутки, **В** – 90 сутки.

Исследование активности воспалительных процессов, инициируемых деэпителизацией и УФ облучением в эксперименте, проведено по оценке уровня экспрессии IL-1 α (интерлейкин-1 альфа) кератоцитами стромы. Иммуногистохимический анализ образцов роговицы крыс после воздействия

УФ не выявил IL-1 α -позитивных клеток в контроле и опытной группе в сроки наблюдений от 3 до 90 суток.

Следовательно, УФ облучение роговицы или ее УФ-кросслинкинг в присутствии фотосенсибилизатора способствовал выработке кератоцитами трансформирующего и фибробластного ростовых факторов в ранний срок наблюдений (3 суток) с локализацией окрашенных клеток в передних и средних слоях стромы, с последующим (90 суток) снижением (TGF- β 1) или отсутствием (FGF-1) их экспрессии. Синтез TGF- β 1 и FGF-1, очевидно, призван через метаболическое возбуждение кератоцитов повысить продукцию компонентов внеклеточного матрикса и компенсировать последствия травмирующего действия процедуры и индукции клеточной гибели. Вместе с тем в гистопрепаратах интактной и опытной групп не отмечено экспрессии кератоцитами Ki-67 и IL-1 α , что может свидетельствовать о низкой пролиферативной клеточной активности при отсутствии значимых воспалительных реакций в строме роговицы в указанный период наблюдений.

ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО КРОССЛИНКИНГА РОГОВИЦЫ НА ДИНАМИКУ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ГЛАЗА

5.1. Особенности динамики общего антиоксидантного статуса слезной жидкости пациентов с кератоконусом после различных протоколов ультрафиолетового кросслинкинга роговицы

Исследование динамики локального уровня общего антиоксидантного статуса (ОАС) в роговице проводилось с целью изучения локальной активности оксидативных реакций у пациентов с КК. В исследовании участвовали здоровые добровольцы и пациенты с КК, которым применялись различные протоколы УФ КЛР. Также изучался уровень фермента супероксиддисмутаза (СОД), который дезактивирует супероксидные радикалы, превращая их в менее токсичный пероксид водорода.

В исследование включены 33 пациента (33 глаза) с КК I-III стадии (классификация по Amsler-Krumeich), находившихся на стационарном лечении в Уфимском НИИ глазных болезней, в т.ч. мужчин – 21 (63,6%), женщин – 12 (36,4%). В качестве лечебного мероприятия были применены 2 протокола УФ КЛР. Группу стандартного УФ КЛР (С-КЛР) составили 20 пациентов (20 глаз), а акселерированного (А-КЛР) – 13 пациентов (13 глаз).

Средний возраст пациентов – $28,7 \pm 5,6$ лет. В качестве группы контроля были отобраны 12 практически здоровых лиц без глазной и общей патологии. Сроки наблюдений – до операции, 1-е, 3-и, 7-е и 30-е сутки после процедуры.

На основании проведенных исследований выявлено, что у пациентов с КК отмечается статистически значимое снижение исходного уровня ОАС на 47%, которое составляло $1,57 \pm 0,21$ ммоль/л, по сравнению со здоровыми людьми – $2,92 \pm 0,25$ ммоль/л (Таблица 13).

Таблица 13 - Общий антиоксидантный статус (ммоль/л) и уровень супероксиддисмутазы (нг/мл) в слезе пациентов с кератоконусом после стандартного и акселерированного УФ-кросслинкинга роговицы ($M \pm \sigma$)

Показатель	Здоровые лица	до КЛР	Протокол КЛР	Срок наблюдения (сут)			
				1	3	7	30
ОАС	$2,92 \pm 0,25$	$1,57 \pm 0,21^*$	С-КЛР	$0,85 \pm 0,11$	$0,79 \pm 0,11^*$	$0,91 \pm 0,13^*$	$1,19 \pm 0,18^*$
			А-КЛР	$1,28 \pm 0,12$	$0,82 \pm 0,12^*$	$1,10 \pm 0,16^*$	$1,29 \pm 0,11$
СОД	$121,1 \pm 76,3$	$89,9 \pm 13,5$	С-КЛР	$53,7 \pm 8,5$	$31,4 \pm 8,5^*$	$49,2 \pm 9,6$	$87,1 \pm 10,6$
			А-КЛР	$49,6 \pm 17,3$	$37,6 \pm 11,2^*$	$47,4 \pm 14,2$	$99,4 \pm 15,1$

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверность различий при сравнении с показателями пациентов с кератоконусом

Выполнение оперативного вмешательства вызвало значимую негативную динамику исходно низкого показателя ОАС у пациентов (Рисунок 27).

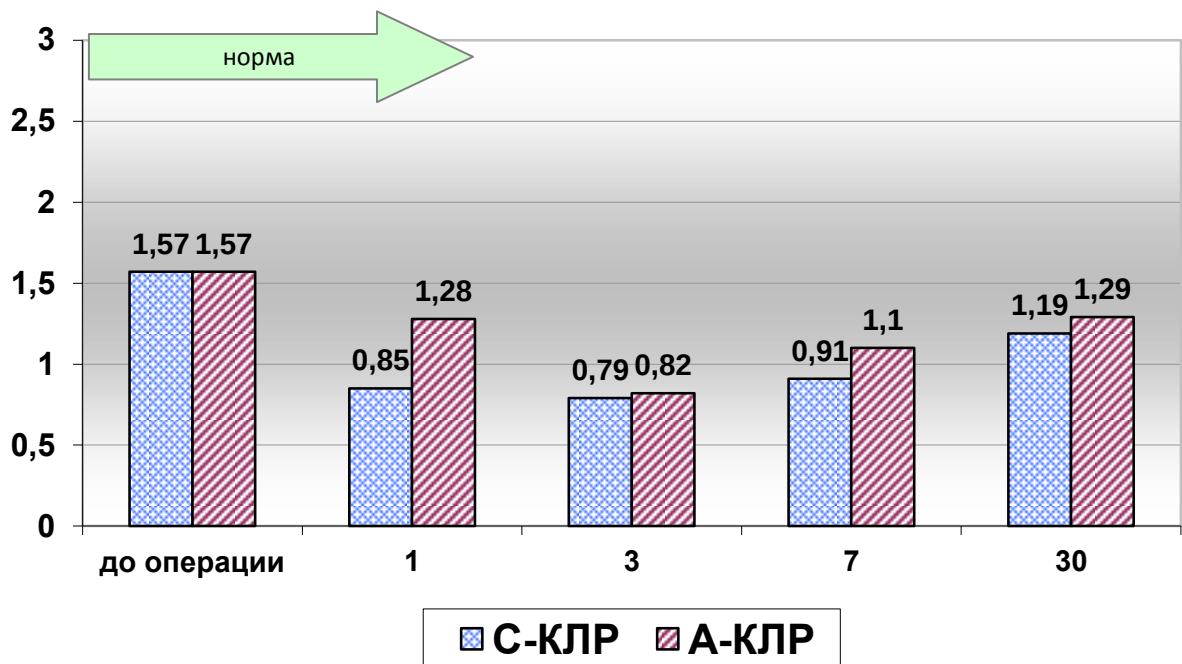


Рисунок 27 - Общий антиоксидантный статус (ОАС) слезной жидкости пациентов с кератоконусом после стандартного (С-КЛР) и акселерированного (А-КЛР) УФ кросслинкинга роговицы (ммоль/л).

В частности, применение стандартной процедуры УФ КЛР спровоцировало резкое снижение уровня ОАС в ранний срок после

процедуры до $0,79 \pm 0,11$ ммоль/л. Интересно, что отрицательная динамика наблюдалась в раннем послеоперационном периоде начиная с первого дня - $0,85 \pm 0,11$ ммоль/л., с дальнейшим минимальным значением на 3-й день - $0,79 \pm 0,11$ ммоль/л. В течение недели после процедуры уровень ОАС начал восстанавливаться и на 7-й день составил - $0,91 \pm 0,13$ ммоль/л. В течение последующих 3 недель показатель ОАС неуклонно рос.

Использование акселерированного УФ КЛР показало схожую отрицательную динамику общего антиоксидантного статуса в обеих группах. Также отмечалось статистически значимое снижение этого показателя, начиная с первого дня после А-КЛР. Несмотря на то, что динамика активности ОАС была схожая, со снижением в первые 3-е суток и постепенным повышением к концу месяца, амплитуда скачков была не столь существенная. Так, на 3-е сутки показатель ОАС после С-КЛР снизился на 50,3%, тогда как на фоне А-КЛР на 47,8% (в среднем на 49%). К 30-м суткам после УФ облучения, уровень оксидативного стресса в слезной жидкости значительно снизился, что проявилось в повышении антиоксидантной активности слезы. В сравнении ОАС через 1 месяц оказался ниже исходного дооперационного уровня после А-КЛР на 17,8%, после С-КЛР - на 24,2%, соответственно.

5.2. Влияние различных протоколов УФ-кросслинкинга роговицы на динамику уровня супероксиддисмутазы в слезной жидкости пациентов с кератоконусом

Исследование содержания СОД в слезной жидкости пациентов с КК также выявило незначительное снижение ее уровня на 25,8% - до $89,9 \pm 13,5$ нг/мл, по сравнению с контролем - $121,1 \pm 76,3$ нг/мл. В таблице 13 представлена динамика показателей уровня общего антиоксидантного статуса и супероксиддисмутазы в слезной жидкости пациентов с

кератоконусом после стандартного и акселерированного УФ кросслинкинга роговицы.

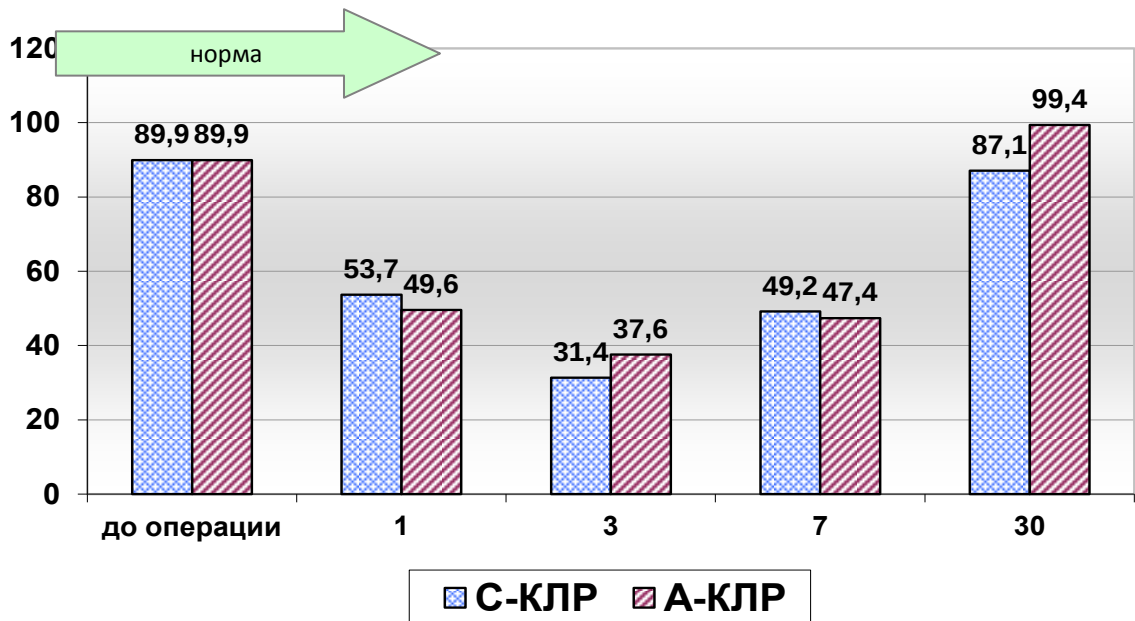


Рисунок 28 - Содержание супероксиддисмутазы (СОД) в слезной жидкости пациентов с кератоконусом после стандартного (С-КЛР) и акселерированного (А-КЛР) УФ кросслинкинга роговицы (нг/мл).

После С-КЛР и А-КЛР также отмечалось значительное снижение уровня супероксиддисмутазы в слезе в различные сроки (Рисунок 28).

Применение С-КЛР вызвало падение уровня СОД до $53,7 \pm 8,5$ нг/мл в 1-й день. Отрицательная динамика наблюдалась в течение первых дней постепенным повышением через неделю. Через 1 месяц после процедуры отмечено восстановление уровня СОД до $87,1 \pm 10,6$ нг/мл, близкого к дооперационным показателям.

Использование А-КЛР также вызвало снижение уровня СОД в слезе в ранние сроки, однако к концу срока наблюдения на 30-й день показатель уровня достиг предоперационных значений, составляя $99,4 \pm 15,1$ нг/мл. При этом статистически значимое снижение СОД отмечалось только на 3-й день в сравнении дооперационными данными.

Уровень общего антиоксидантного статуса и активности фермента СОД в слезной жидкости был ниже у пациентов с КК, что свидетельствует о нарушении локальной антиоксидантной системы. После процедуры УФ КЛР наблюдалось резкое снижение показателей ОАС и СОД с минимальными значениями на 3-й день, затем с 7-х суток началось постепенное восстановление их уровней.

Стандартный протокол УФ-кросслинкинга демонстрировал более выраженные изменения в показателях ОАС и СОД по сравнению с другими протоколами, что отражалось в более негативной динамике оксидативных показателей в слезах у пациентов с КК. Однако статистически значимой разницы между протоколами не было выявлено во все периоды наблюдения.

Эти результаты показывают, что УФ КЛР оказывает влияние на локальную антиоксидантную систему, но для более глубокого понимания механизмов и оптимизации протоколов для минимизации негативного воздействия на антиоксидантную защиту у пациентов с КК необходимы дальнейшие исследования.

Проведенное исследование показало, что у пациентов с КК изменения в местной антиоксидантной системе наблюдаются как до операции, так и в раннем послеоперационном периоде. Несмотря на то, что статистически значимых различий между этими протоколами не выявлено, тенденция в динамике антиоксидантной системы наблюдалась после стандартного протокола, ввиду более выраженного альтерирующего эффекта.

Следовательно, пациенты с кератоконусом по сравнению со здоровыми лицами имеют сниженные локальные уровни общего антиоксидантного статуса – на 46,3% ($p < 0,05$) и супероксиддисмутазы – на 26%. УФ-КЛР ослабляет местный оксидативный статус - ОАС в среднем на 49% ($p < 0,05$) и снижает уровень СОД в среднем на 61,6% ($p < 0,05$) в ранние сроки после процедуры (3 сут), по-видимому, усиление процессов выработки активных форм кислорода и активация окисления свободных радикалов в глазных тканях приводят к их восстановлению к концу первого месяца.

ГЛАВА 6. КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ УФ-КРОССЛИНКИНГА

6.1. Разработанные медицинские изделия для ультрафиолетового кросслинкинга роговицы

Следует особо отметить, что залог успешного лечения и стабилизации кератоконуса с использованием УФ кросслинкинга возможен благодаря детальному изучению механизмов индукции патологических процессов в роговице глаза, разработке и внедрению новых эффективных и наиболее безопасных средств и способов воздействия на основные факторы инволюции структур роговой оболочки.

Целенаправленные многолетние исследования ученых отделения хирургии роговицы и хрусталика, научно-инновационного отделения Уфимского НИИ глазных болезней в области создания новых продуктов и технологий для лечения кератэктазий позволили внедрить нам в офтальмологическую практику оригинальные отечественные медицинские изделия для УФ кросслинкинга роговицы:

- устройство для ультрафиолетового облучения роговицы «УФалинк»;
- протектор роговицы «Декстралинк»;
- устройство для ионофореза роговицы «ИОН»;
- устройство для ультрафиолетового облучения роговицы «УФалинк Квант».

Устройство для ультрафиолетового облучения роговицы «УФалинк»

Первый, разработанный нами, отечественный аппарат для УФ КЛР глаза «УФалинк» представляет собой источник УФ излучения при величине волны 370 нм на основе двух ультрафиолетовых светодиодов, закрепленных на эластичном держателе под углом, компенсирующим искривления и отражения сферической поверхности роговой оболочки. Функционирование

УФ диодов излучателя осуществляется через блок управления, обеспечивающий необходимую силу тока и продолжительность их работы.



Рисунок 29 - Устройство для ультрафиолетового облучения роговицы «УФалинк».

Предусмотрены 2 режима работы излучателя – постоянный и по таймеру с заданным интервалом времени. В устройстве «УФалинк» использованы светодиоды марки UVLED370-10, которые обеспечивают требуемую длину волны. Для точного поддержания выходных параметров УФ светодиодов в устройстве применены стабилизатор тока и регулируемый стабилизатор напряжения компенсационного типа с системой защиты от перегрузок и перегрева. Схема построения такого стабилизатора отличается компактностью и надежностью. Сила тока на светодиодах (10 мА) обеспечивается за счет рассчитанного сопротивления: $R = U_{\text{вых.ном}} / I_{\text{вых}}$ ($U_{\text{вых.ном}} = 1,2 \text{ В}$; $I_{\text{вых}} = 0,01 \text{ А}$; $R = 120 \text{ Ом}$). Кроме того, нами была предусмотрена возможность применения светодиодов различных производителей за счет использования переменного резистора с ресурсом изменения параметров выходного тока. Функция таймера осуществляется продолжительностью работы модуля с системой его запуска и остановки. Устройство для ультрафиолетового облучения роговицы «УФалинк» было зарегистрировано

в 2009 г. и зарегистрировано в 2024 г. (№ ФСР 2009/05489 от 6.02.2024) и применяется для стандартного (Epi-Off) УФ КЛР ($3 \text{ мВт/см}^2 - 30 \text{ мин}$).

Усовершенствование метода УФ КЛР осуществляется одновременно с разработкой и практической реализацией оригинальных конструктивных подходов в новой медицинской технике, что позволяет существенно повысить технологические возможности этой процедуры, в соответствии с критериями безопасности и эффективности.

Практическое применение устройства «УФалинк» стало для исследователей Уфимского НИИ глазных болезней отправной точкой в эволюционном развитии стандартного УФ КЛР, как в области разработки новой медицинской техники, так и в сфере создания клинических протоколов.

Первоначально модернизация устройства «УФалинк» была направлена на повышение мощности светового потока ультрафиолета, что позволило внедрить медицинскую технологию акселерированного УФ кросслинkinга роговицы. Акселерированный УФ КЛР обеспечивает существенное снижение продолжительности процедуры, создает более комфортные условия для пациента во время хирургической операции. Как известно, в последующем акселерированный УФ КЛР стал основой для создания клинических протоколов лечения, в частности, кератитов инфекционной и неинфекционной этиологии и ряда других заболеваний роговицы.

Следующим шагом в совершенствовании аппарата «УФалинк» стало создание системы гомогенизации УФ излучения с тем, чтобы исключить появление зон ультрафиолетовой «агрессии» от УФ источников открытого типа. При этом может наблюдаться неравномерное сшивание коллагена, очаговая активация апоптоза кератоцитов стромы, длительный процесс послеоперационной реабилитации. Нередко при проведении кросслинkinга роговицы существует необходимость ограничения участка УФ облучения, как правило, с целью защиты зоны лимба. Технически это достигается посредством диафрагмирования светового потока, что было нами успешно

реализовано в серии аппаратов «УФалинк» нового поколения с оригинальными техническими возможностями, позволяющими обеспечить (Патент RU № 162618 от 20.06.2016. Бюл. № 17):

- повышенную мощность гомогенного светового потока за счет введения дополнительных УФ светодиодов;
- электромеханическое позиционирование излучателя над операционным полем посредством электропривода, приводимого в действие непосредственно с сенсорного монитора управляющего блока;
- излучатель, снабженный видеокамерой, диафрагмой и оптической системой линз, обеспечивает стабилизацию мощности излучения на поверхности роговицы за счет устойчивого фокусного расстояния;
- функционирование излучателя в тестовом режиме за счет введения светодиода синего света, позволяющего выполнять предоперационную фокусировку непосредственно над роговицей глаза без использования УФ излучения;

Клинический протокол импульсного акселерированного УФ КЛР на основе разработанного аппарата «УФалинк Импульс» (Патент RU № 172763 от 21.07.2017. Бюл. № 21). Особенностью импульсного УФ КЛР является поддержание высокой мощности УФ излучения в пульсирующем режиме с равными по длительности, чередующимися засветами и паузами. При этом возможны различные сочетания продолжительности и мощности импульсного УФ воздействия. Это обеспечивает повышение безопасности УФ КЛР коллагена стромы и снижение традиционных кросслинkinг-индуцированных осложнений. Устройство «УФалинк Импульс» открыло новые технические возможности применения техники импульсного УФ кросслинkinга, что позволило:

- использовать поток УФ света мощностью от 0,1 до 18 мВт/см² за счет регулируемого источника тока повышенной мощности;

– осуществлять функционирование в безопасном импульсном режиме посредством быстродействующего операционного усилителя, поддерживающего импульсные режимы повышенной частоты.

Импульсное воздействие даже высоких доз УФ излучения минимизирует образование участков ультрафиолетовой «агрессии» на поверхности роговицы. Кроме этого, импульсный режим облучения призван перезапускать фотодинамическую реакцию II типа за счет вовлечения дополнительного кислорода, повышая, таким образом, его концентрацию в слоях роговицы (в основном в виде синглетного кислорода).

Устройство для ультрафиолетового облучения роговицы «УФалинк Квант»

Одной из наиболее передовых версий аппаратов серии «УФалинк» стало, разработанное и зарегистрированное в 2019 году (перерегистрировано в 2024 г., № РЗН 2019/8172) устройство офтальмологическое для УФ облучения роговицы «УФалинк Квант».



Рисунок 30 - устройство для ультрафиолетового облучения роговицы
«УФалинк Квант».

Инновационное устройство «УФалинк Квант» снабжено системами:

- визуализации и фото-, видео-фиксации операционного поля;
- гомогенизации светового потока;
- диафрагмирования светового пятна;

- акселерированного (ускоренного) режима облучения до 18 мВт/см²;
- автоматической настройки флюенса излучения.

Гомогенизированный световой поток устройства «УФалинк Квант» исключает вероятность образования локальных зон повышенного воздействия ультрафиолета на поверхности роговицы глаза, появление которых возможно при использовании открытых диодных источников УФ излучения. Применённая в устройстве «УФалинк Квант» оригинальная оптическая система гомогенизации ультрафиолетовых лучей позволяет корректировать искривления и отражения на сферической поверхности роговицы, создавая однородное световое поле. В блок управления устройства «УФалинк Квант» с сенсорным монитором инсталлирована программа, позволяющая поддерживать заданный флюенс УФ излучения за счет автоматического расчета различных сочетаний мощности и продолжительности УФ воздействия, создавать поток УФ света в нужном фокусном диапазоне.

Устройство для ионофореза роговицы «ИОН»

Техника трансэпителиального (Epi-On) клинического протокола УФ КЛР основана на использовании различных способов доставки фотосенсибилизатора в строму с сохранением роговичного эпителия. Одним из вариантов трансэпителиальной диффузии рибофлавина в строму является электрофорез роговицы, осуществление которого возможно с использованием разработанного нами устройства для ионофореза роговицы «ИОН» (Патент RU № 175231 от 28.11.2017. Бюл. № 34).



Рисунок 31 - устройство для ионофореза роговицы «ИОН».

Принцип работы устройства основан на физическом процессе миграции заряженных ионов под действием постоянного тока малой величины. Ионофорез роговицы с аппаратом «ИОН» осуществляется при применении раствора 0,1% рибофлавина в течение пятнадцати минут, силой тока 1,0 мА.

- предусмотрены следующие режимы работы устройства: время – от 5 до 15 мин и сила тока – от 0,5 до 1,5 мА;

- электрофоретическая ванночка имеет внутренний диаметр 8 мм, что позволяет проводить насыщение роговицы на большой площади, не затрагивая при этом зону лимба;

- электробезопасность устройства «ИОН»: для функционирования прибора не требуется сеть переменного напряжения (220 В), работа обеспечивается за счет использования элемента питания (типа Крона).

Неинвазивный характер трансэпителиального кросслинкинга обеспечивает отсутствие послеоперационного роговичного синдрома с болевым ощущением, полностью исключает вероятность возникновения инфекционных осложнений, позволяет выполнять процедуру у детей или пациентов с тонкой роговицей.

Протектор роговицы «Декстралинк»

Протектор роговицы «Декстралинк», разработанный в Уфимском НИИ глазных болезней – фотосенсибилизатор, оригинальное отечественное медицинское изделие для проведения УФ КЛР. Представляет стерильный

раствор, содержащий: 1,0 мг/мл рибофлавина-моноклеотида и 200,0 мг/мл декстрана с молекулярной массой 450-550 kDa в изотонической буферной основе. Зарегистрирован в 2010 г. и перерегистрирован в 2024 г. № ФСР 2010/09071.

Рибофлавин (витамин B₂) в составе раствора «Декстралинк» выполняет роль фотосенсибилизатора и фотопротектора. Декстран вспомогательный компонент с выраженным набором биологических эффектов, который обеспечивает (Халимов А.Р., 2018):

- пролонгирующий эффект, при этом полимер позволяет «сглаживать» пиковые концентрации действующего вещества и длительно поддерживает его стабильный терапевтический уровень;
- образование устойчивой прекоorneальной пленки, оказывающей дополнительный протекторный УФ эффект, в частности, в сравнении с водными растворами рибофлавина, что позволяет в 2 раза сократить частоту инстилляций фотосенсибилизатора в процессе процедуры;
- выраженное противоотечное действие непосредственно при выполнении процедуры и в раннем послеоперационном периоде;
- антигипоксическое действие, что особенно важно в условиях дефицита кислорода в тканях роговицы в условиях УФ облучения;
- облегченный пассивный транспорт действующего вещества, улучшает его диффузию через биологические мембраны за счет создания повышенного осмотического давления раствора;
- дезинтоксикационный эффект, характерный для всех препаратов на основе декстрана.

При этом декстран частично метаболизируется до глюкозы и легко усваивается. Было показано, что применение раствора рибофлавина/декстрана при УФ кросслинкинге роговицы у пациентов с кератоконусом позволяет получать более высокие функциональные результаты, по сравнению с раствором рибофлавина/целлюлозы (Rapano P.B. et al., 2018).

Таким образом, УФ КЛР позволяет результативно влять на патогенез КК, стабилизировать прогрессирующий патологический процесс, сохранить зрительные функции, что становится возможным благодаря внедрению медицинскую практику оригинальных клинических протоколов с использованием разработанных медицинских изделий.

В клинической практике для сравнения эффективности применяемых протоколов кросслинкинга проводили сравнительную оценку динамики анатомо-функциональных показателей (острота зрения, преломляющая сила роговицы, толщина роговицы), частоты развития различных осложнений и частоты прогрессии болезни после проводимой процедуры. Для диагностики заболевания применялась классификация Amsler-Krumeich, где выделялись 4 стадии болезни. Отдельно выделялась доклиническая или субклиническая стадия болезни без признаков явной манифестации и прогрессирования заболевания.

6.2. Результаты дооперационного обследования, показания и противопоказания к процедуре

Результаты предоперационного обследования

Обследовано 376 пациентов (752 глаза) (средний возраст $28,6 \pm 6,8$ лет) с кератоконусом с различным типом эктазии и стадии заболевания.

Критериями отбора к проведению кросслинкинга были:

- отсутствие помутнений роговицы;
- прогрессирующее течение болезни (увеличение преломляющей силы роговицы от 0,5 и более в сроки от 6 месяцев);
- минимальная толщина роговицы ≥ 400 мкм (кроме группы с модифицированным протоколом для тонких роговиц);
- толщина роговицы 330-400 мкм для пациентов с модифицированным протоколом для тонких роговиц;
- максимальный показатель кератометрии ≤ 65 дптр;

- плотность эндотелиальных клеток $\geq 1800 \text{ кл/мм}^2$;
- элевация передней поверхности роговицы от 26 мкм до 65 мкм;
- элевация задней поверхности роговицы от 40 мкм до 89 мкм.

Кератоконус диагностирован у 100% пациентов, субклиническая стадия выявлена в 27 глазах (4,6%), I стадия – в 147 (25,2%), II стадия заболевания – в 218 (37,3%), III стадия – в 116 (19,9%), IV – в 76 глазах (13%) (Таблица 14).

Таблица 14 – Распределение пациентов с кератоконусом по стадиям

Количество	Стадии КК				
	субклиническая	I	II	III	IV
752 глаза	23	158	286	219	64
%	3,3%	21%	38%	29%	8,7%

В ходе биомикроскопического исследования глаз со I-II стадией кератоконуса в 365 глазах (62,6%) отмечалась разреженность стромы в парацентральной зоне роговицы (симптом «гаснувшей звезды» или симптом «фейерверка») с большим количеством нервных волокон (Рисунок 32).

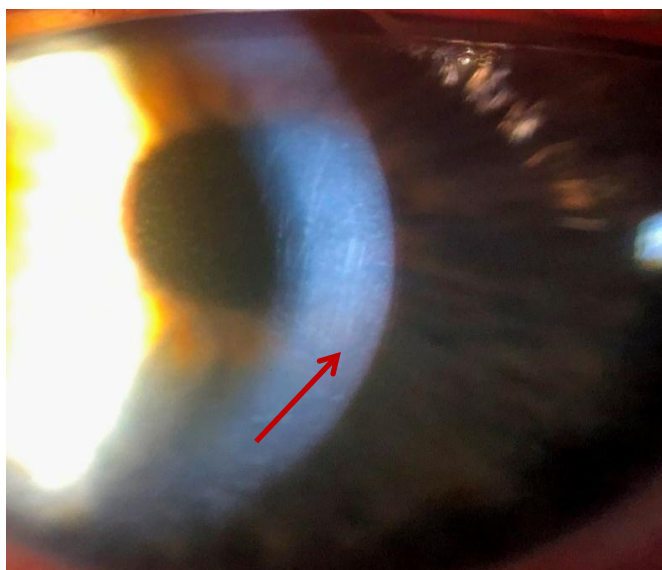


Рисунок 32 - Разреженность стромы в парацентральной зоне роговицы, симптом «фейерверка».

Субэпителиальные отложения ферритиновых частиц коричневато-оливкового цвета в виде замкнутого кольца, реже в виде изогнутой дуги, проходящей парацентрально (симптом Флейшера), отмечены в 290 обследованных глаз (49,7%) (Рисунок 33).

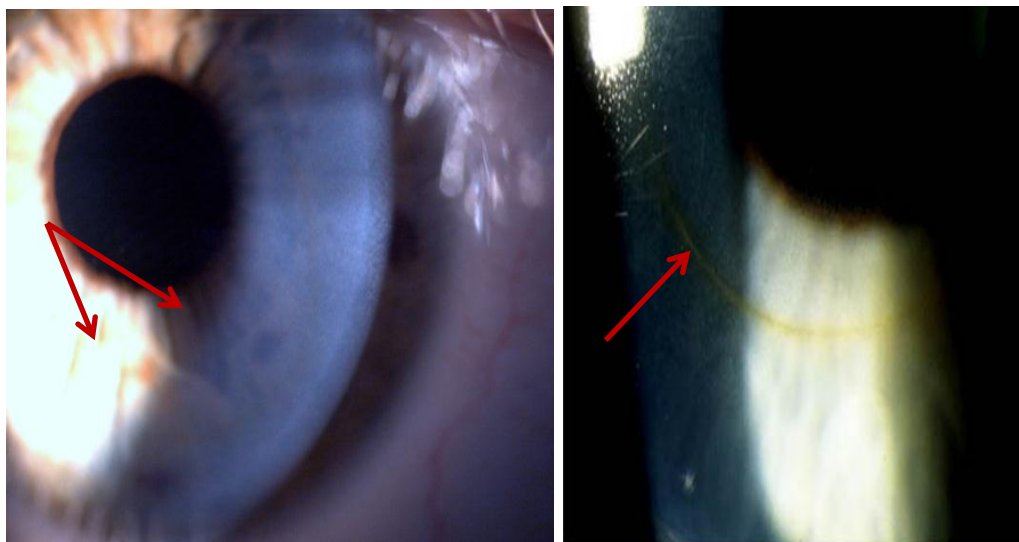


Рисунок 33 - Отложения ферритиновых частиц в парацентральной зоне роговицы, симптом «Флейшера».

При биомикроскопии глаз с III стадией КК зоны разреженности стромы роговицы выявлены в 100% случаев, симптом Флейшера – в 104 глазах (89,7%), линии Фогта в виде вертикальных полос в задних слоях стромы – в 81 глазу (74,8%) (Рисунок 34).



Рисунок 34 - Стрии Фогта в задних слоях стромы роговицы.

Основные анатомо-функциональные показатели пациентов с КК в зависимости от стадии заболевания представлены в таблице 15.

Таблица 15 - Основные анатомо-функциональные показатели у пациентов с различной стадией кератоконуса

Стадии КК	Показатели				
	НКОЗ	МКОЗ	Sph	Cyl	n
Субклиническая	0,61±0,27	0,87±0,15	-3,7±0,1	-1,7±0,09	27
I	0,22±0,12	0,7±0,1	-4,5±0,2	-3,4±0,22	147
II	0,1±0,02	0,55±0,07	-5,2±0,07	-5,6±0,16	218
III	0,06±0,02	0,2±0,05	-7,7±0,09	-7,9±0,16	116
IV	0,03±0,02	0,09±0,01	-10,4±0,05	-9,0±0,07	76

По данным кератотопографии максимальная величина преломления сильного меридиана Kmax в глазах со II и III стадиями кератоконуса, в среднем, составляла, соответственно, 58,4±5,8 дптр и 63,8±3,7 дптр.

Симметричные кератэктазии были отмечены на 181 глазах (31%), асимметричные – на 403 глазах (69%).

На кератотопограммах отмечали характерные изменения роговичной поверхности в виде фигуры «галстук - бабочка», с нижней крутой зоной в 257 глазах (44%) и по типу округлого выстояния роговицы в центральном или нижне-центральном отделе в 327 глазах (56%) (Рисунок 35).

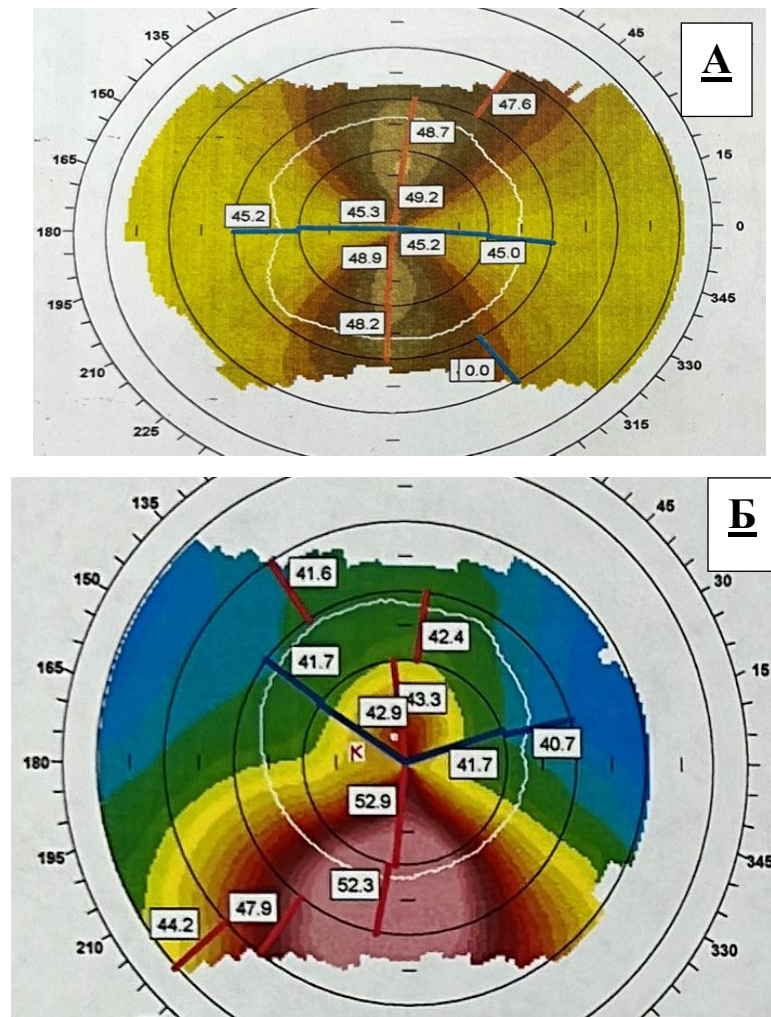


Рисунок 35 - Кератотопограмма пациентов с кератоконусом: А - в виде галстука-бабочки; Б - округлого выстояния по центру.

Согласно данным компьютерной пахиметрии, показатели центральной толщины роговицы в глазах со I, II и III стадией КК, в среднем, составляли, соответственно, 499 ± 15 мкм, 448 ± 24 мкм и 411 ± 54 мкм.

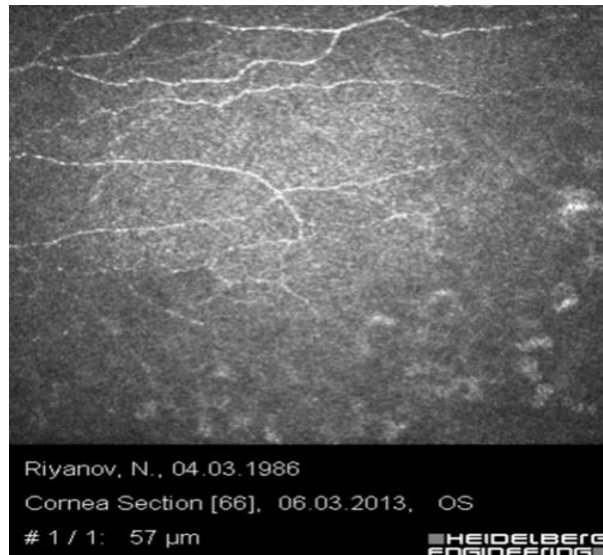


Рисунок 36 - Конфокальная картина изменений роговицы пациента.
Выраженность нервных волокон и снижение количества кератоцитов.

Результаты конфокальной микроскопии свидетельствовали о наличии псевдокератинизации эпителия, значительного усиления нервного сплетения, сниженного количества кератоцитов в строме роговицы и их хаотичном расположении с тенденцией к уменьшению от более наружных к более внутренним слоям с прямо пропорциональной зависимостью от стадии заболевания (Рисунок 36). Каких-либо существенных изменений плотности эндотелиальных клеток при всех стадиях заболевания не обнаружено.

В ходе анализа элевационных карт с использованием сканирующего топографа ORBcsan, в глазах с II стадией КК максимальное значение элевации передней поверхности составляло от 28 мкм до 48 мкм, в среднем $32 \pm 4,11$ мкм, максимальное значение элевации задней поверхности - от 39 мкм до 67 мкм, в среднем $53 \pm 14,2$ мкм, паттерн острова на элевационной карте.

В глазах с III стадией КК максимальное значение элевации передней поверхности составляла от 44 мкм до 66 мкм, в среднем $54 \pm 13,1$ мкм, максимальное значение элевации задней поверхности - от 61 мкм до 79 мкм, в среднем $72 \pm 11,3$ мкм, паттерн острова на элевационной карте.

Отмечали сниженные показатели ВГД во всех случаях, в среднем оно составляло $13,2 \pm 6,3$ мм рт. ст., ПЗО – $24,12 \pm 3,57$ мм, толщина роговицы в зоне эктазии – 467 ± 49 мкм.

На основании исходных показателей роговой оболочки (кератотопограммы и данных пахиметрии) выставлялся диагноз «кератоконус» и после получения информированного письменного согласия пациентов на хирургическое лечение выполнялся ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы. Из 584 глаз кросслинкинг был выполнен в 532 глазах по одному из предложенных протоколов. Разделение пациентов по выбранному протоколу представлено в таблице 16.

Таблица 16 - Распределение пациентов в зависимости от выбранного протокола

Число наблюдений	Протокол УФ КЛР				
	С-КЛР	А-КЛР	ИА-КЛР	ТЭ-КЛР	Мод. КЛР тонких роговиц
n (532)	218	146	34	89	45
%	41%	27,4%	6,4%	16,7%	8,5%

В 52 глазах по различным причинам кросслинкинг не был проведен, однако данные пациенты оставались под динамическим наблюдением.

Следует уточнить, что при выборе основных протоколов отбор пациентов выполнялся «слепым» путем вне зависимости от исходных показателей роговицы, за исключением группы с тонкой роговицей, где применение ранее предложенных протоколов является противопоказанием. У пациентов с толщиной роговицы менее 400 мкм выполняли предложенные нами модифицированные протоколы кросслинкинга роговицы (Рисунок 37).

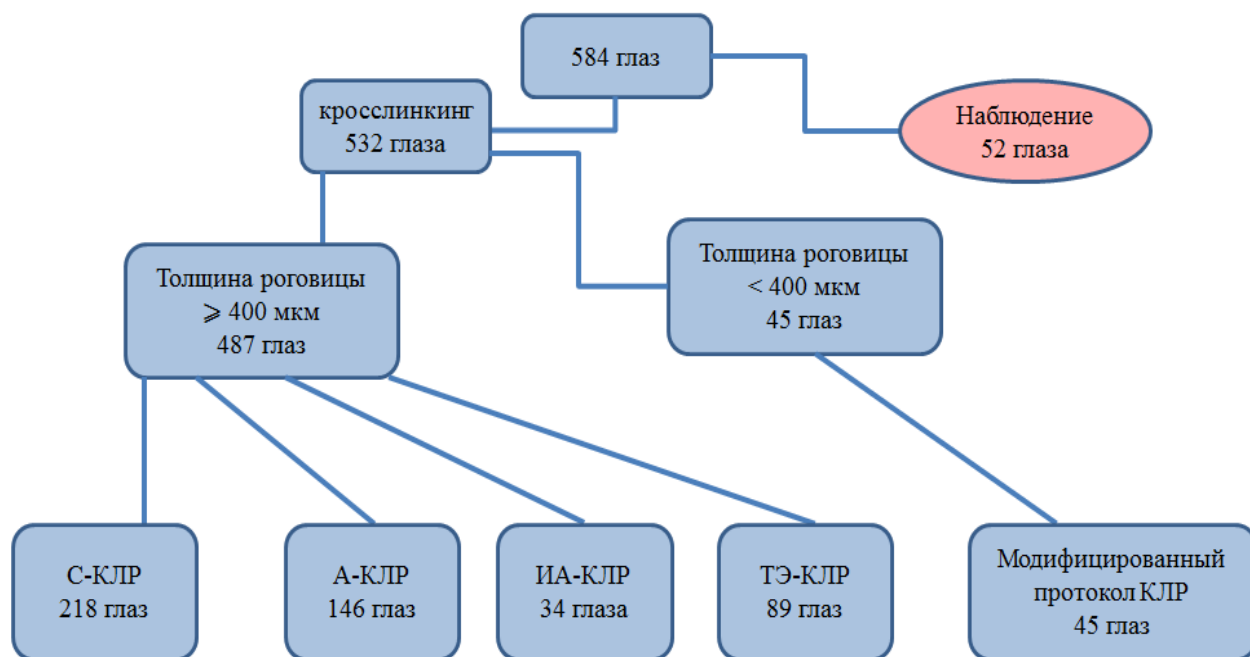


Рисунок 37 – Распределение пациентов согласно выбранному протоколу УФ-КЛР.

Оперативное вмешательство выполнялось в соответствии с Женевской конвенцией по правам человека после получения согласия и предупреждения о возможных результатах, рисках и осложнениях.

6.2.1. Результаты лечения с применением стандартного протокола УФ-кросслинкинга

В группе сравнения из 147 пациентов (218 глаз) проводили стандартную методику кросслинкинга роговицы. На следующий день после лечения до момента эпителизации, которая в среднем завершалась к 2-3 дню, наблюдались светобоязнь, слезотечение, блефароспазм, снижение зрения. При биомикроскопическом осмотре выявлялся отек роговицы, зона деэпителизации (Рисунок 38).

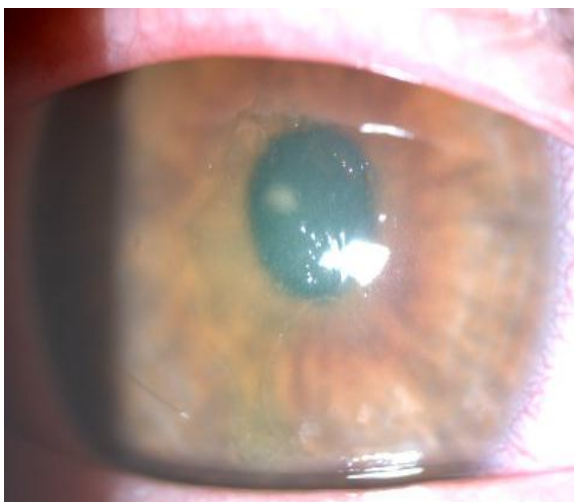


Рисунок 38 - Биомикроскопия роговицы пациента П.: участок дезэпителизации роговицы на 2 сутки после стандартного кросслинкинга роговицы.

После завершения эпителизации отмечалось возникновение псевдохейза в передних слоях стромы в 172 глазах (79%).

При проведении оптической когерентной томографии определялась демаркационная линия, при конфокальной микроскопии – лакунарный отек вокруг погибающих кератоцитов. До 3 месяцев псевдохейз сохранялся в 26% случаев (56 глаз), до 6 месяцев – в 8% случаев (17 глаз).

В данной группе наблюдения в раннем послеоперационном периоде во всех случаях отмечали выраженную боль в оперированном глазу, светобоязнь, слезотечение, блефароспазм, что было обусловлено проведением полной дезэпителизации роговицы в ходе операции. Кроме того, во всех случаях наблюдали затуманенность зрения, исчезающую лишь через 1-1,5 месяца.

В ходе биомикроскопии в первый день после операции определялась умеренная гиперемия сосудов конъюнктивы и отечность передних 2/3 стромы роговицы, а через 3 месяца после операции диагностировали наличие так называемого «хейза», представляющего собой незначительное увеличение оптической плотности стромы роговицы, вследствие отека ее передних слоев, согласно данным литературы [332, 334], лакунарного отека, на фоне воздействия ультрафиолета и рибофлавина. Также наблюдали

умеренную отечность передних 2/3 стромы роговицы, однако гиперемия сосудов конъюнктивы была менее выражена. Каких-либо дефектов эпителия в позднем послеоперационном периоде не наблюдали.

Что касается осложнений, то в 12 глазах зафиксировали замедленную эпителизацию роговиц. Полную эпителизацию роговицы в этом случае отмечали на 8-10-й день после УФ КЛР. Частота других тяжелых осложнений, нередко обсуждающихся в литературе (бактериальные кератиты, реактивация вируса простого герпеса, образование стерильных инфильтратов, образование персистирующего стромального помутнения, повреждение эндотелия ультрафиолетом) была незначительной. В 2 случаях (0,9%) отмечали развитие асептического кератита, в 5 случаях (2,3%) - персистирующей эрозии роговицы, которые в последующем способствовали развитию стойкого хейза. Более тяжелых осложнений (обострение кератита, повреждение эндотелия), описанных другими авторами не наблюдалось ни в одном случае.

В раннем послеоперационном периоде отмечали достоверное снижение показателей НКОЗ, в среднем, на $0,15 \pm 0,03$ и КОЗ, в среднем, на $0,1 \pm 0,01$, что было следствием транзиторного снижения прозрачности роговицы из-за псевдохейза. К 3-му месяцу наблюдения средние показатели НКОЗ и МКОЗ достоверно увеличились и практически совпадали с таковыми до операции. К сроку наблюдения 1-3 года увеличение НКОЗ и КОЗ, и средняя прибавка составила в среднем $0,09 \pm 0,03$ и $0,05 \pm 0,02$, соответственно ($p < 0,05$). В сроки до 3 лет отмечалось повышение НОКЗ и КОЗ до $0,20 \pm 0,1$ и $0,62 \pm 0,06$, соответственно

Показатель $K_{\max}$, постепенно снижаясь в течение всего послеоперационного периода, к 3-му году после операции достоверно уменьшился в среднем на $3,52 \pm 0,87$ дптр. Показатель K_{ave} , также постепенно уменьшаясь на протяжении всего периода наблюдения, к 3 году после операции, в сравнении с предоперационными данными, снизился в среднем на $2,12 \pm 0,76$ дптр.

Толщина роговицы в центре через 3 месяца после вмешательства уменьшилась в среднем на $21,65 \pm 6,2$ мкм ($p < 0,001$), после чего в течение дальнейшего периода наблюдения постепенно увеличивалась, оставаясь все же достоверно ниже предоперационных параметров. Согласно данным ОКТ, через 1 месяц после УФ КЛР определяли усиление оптической плотности передних 2/3 стромы роговицы и наличие демаркационной линии, являющейся границей между интактной и подверженной УФ КЛР стромой. К 6-му месяцу послеоперационного периода обнаруживали ее постепенное уменьшение, а к 1-му году наблюдения уже не отмечали увеличения оптической плотности передних слоев стромы и демаркационной линии.

Для оценки эффективности УФ КЛР проводилось динамическое наблюдение изменения основных показателей прогрессии или стабилизации процесса в течение длительного времени – до 10 лет. В среднем данная группа пациентов находилась под наблюдением $7,8 \pm 6,2$ года. У большинства пациентов отмечалась стабилизация процесса наряду с уменьшением показателей кератометрии до 2,0 дптр. Это подтверждалось при сравнительной оценке данных кератотопограммы и дифференциальной карты (Рисунок 39). У 17 пациентов данной группы в сроки от 1 до 5 лет наблюдались признаки прогрессирования заболевания, выражающиеся в увеличении преломляющей силы роговицы и снижении показателей пахиметрии.

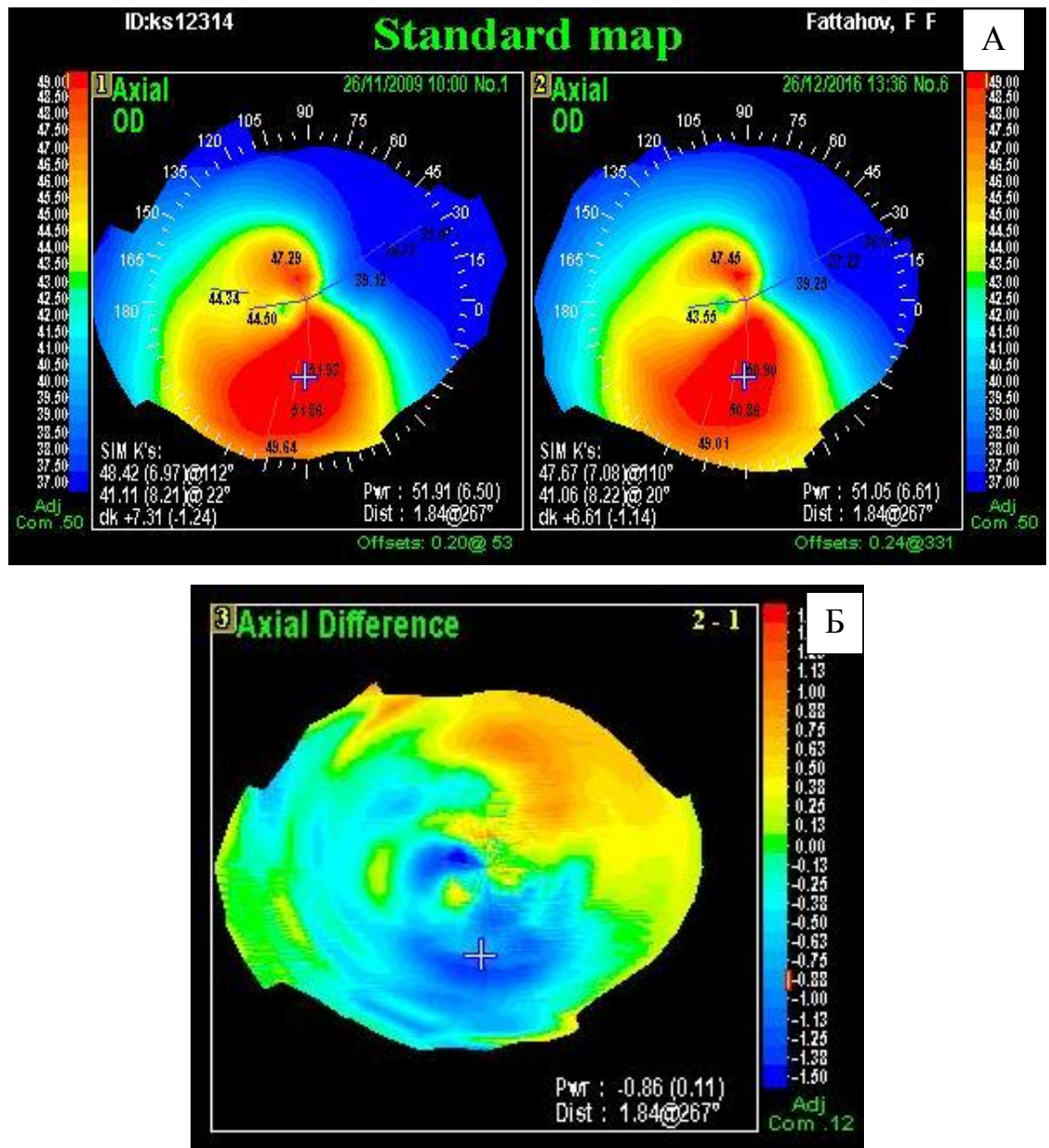


Рисунок 39 – Данные пациента через 7 лет после УФ-кросслинкинга: А – кератотопограмма; Б - дифференциальная карта роговицы.

Через 8 лет (n=152) отмечена стабилизация процесса в 144 глазу (94,7%), снижение показателя кератометрии в среднем на $2,06 \pm 1,25$ дптр - в 48 случаях (33,3%), на 1,0-1,9 дптр – в 74 (51,4%), менее 1,0Д – в 13 (9,1%) и $\leq 0,5$ дптр положительной динамики – в 9 (6,2%) (Рисунки 40, 41).

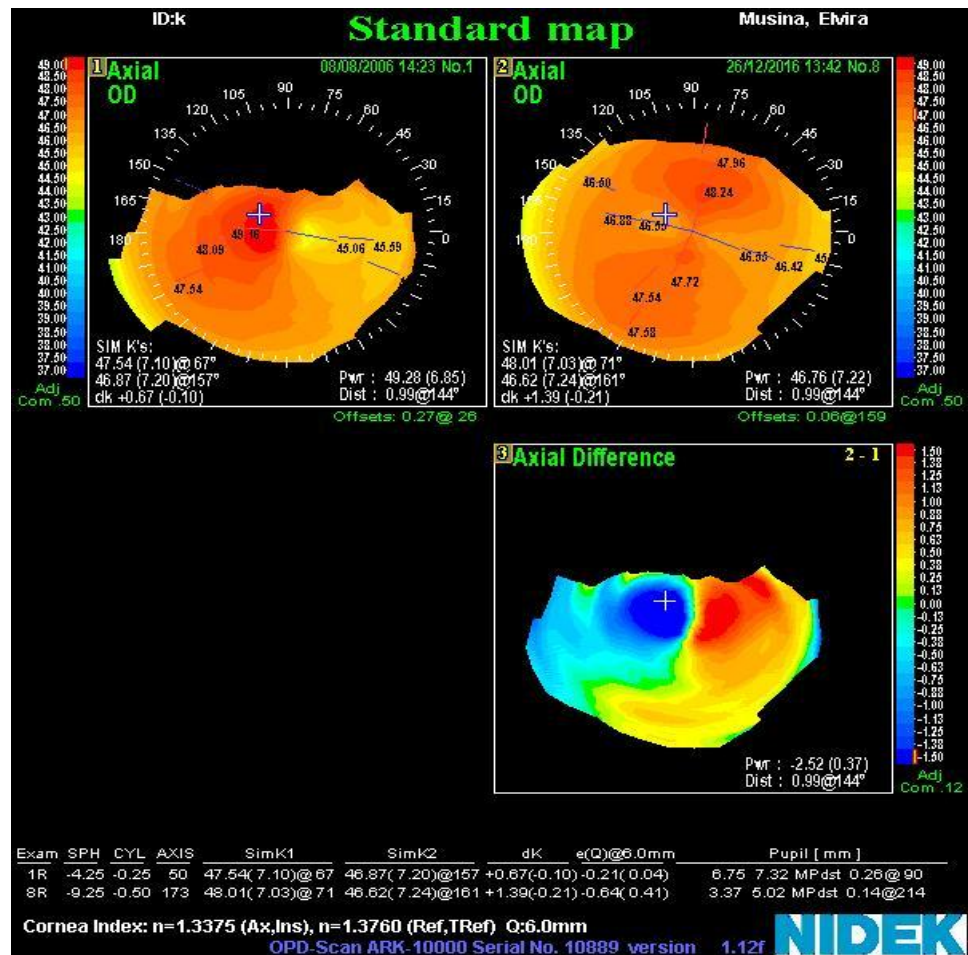


Рисунок 40 - Кератотопограмма. Динамика преломляющей силы роговицы через 7 лет после УФ-кроссликинга роговицы.

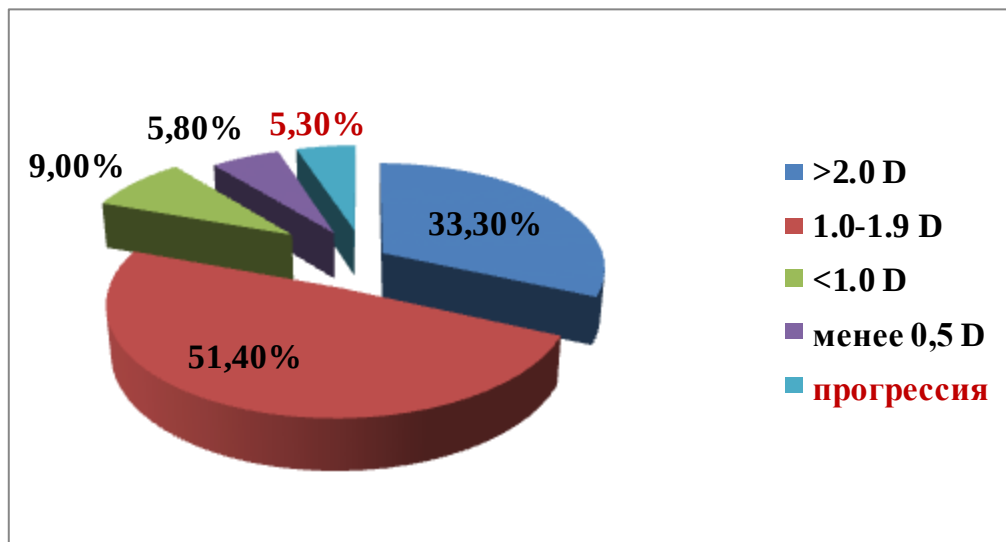


Рисунок 41 - Частота выраженности стабильного эффекта и прогрессии после стандартного протокола.

Через 10 лет после УФ КЛР ($n=34$) роговичный астигматизм уменьшился в среднем на $1,2 \pm 0,31$ дптр, толщина роговицы – до $428 \pm 38,7$ мкм.

В 1 случае (3,5%) существенной динамики средней преломляющей силы роговицы не отмечалось, толщина роговицы уменьшилась на 36 мкм в самом тонком месте. В 2 случаях (6,9%) через 6 лет зарегистрировано увеличение преломляющей силы роговицы по сравнению с послеоперационными данными в сроки 12 месяцев на 1,0 дптр, и через 8 лет – на 1,5 дптр, уменьшение толщины роговицы на 42 и 59 мкм, соответственно, что свидетельствовало о прогрессирующем характере заболевания.

6.2.2. Результаты применения трансэпителиального кросслинкинга роговицы

Для повышения безопасности, снижения частоты послеоперационных осложнений и стабилизации течения КК были предложены различные варианты протоколов кросслинкинга без удаления роговичного эпителия.

Нами предложен модифицированный трансэпителиальный метод насыщения роговицы фотосенсибилизатором посредством электрофореза (ионофореза). Роговица, являясь биологической тканью, обладает полярностью, и под действием гальванического тока может пропускать фотосенсибилизатор через барьерные оболочки (эпителий), что приводит к проникновению необходимого количества активного вещества в слои роговицы.

В исследуемой группе, состоящей из 63 пациентов (89 глаз), выполняли процедуру трансэпителиального УФ КЛР с применением ионофореза. Данная методика не требует удаления эпителиального слоя роговицы. Это обеспечивает снижение частоты послеоперационных осложнений и хорошую переносимость процедуры (Таблица 17). Субъективные ощущения пациента выражаются чувством легкого жжения во лбу, и незначительным покалыванием в затылочной области головы.

Таблица 17 – Частота субъективных показателей при транспэпителиальном кросслинкинге роговицы

Показатели	Сроки наблюдения					
	1 день	14 день	1 мес.	3 мес.	6 мес.	12 мес.
Роговичный синдром (%)	46	-	-	-	-	-
Надо засветы в ночное время (%)	77,5	-	-	-	-	
Восстановление и повышение НКОЗ (%)	-	79,8	84,2	83,1	83,1	62,9
Хейз роговицы (%)				3,3	2,2	1,1
Псевдохейз роговицы (%)	100	79,8	62,9	–	–	–

Биомикроскопия выполнялась как для оценки степени насыщения, так и состояния роговицы. Ранний послеоперационный псевдохейз в первые сутки после операции наблюдался в 100% случаев, который нивелировался в 62,9% случаев через 1 месяц после лечения (Рисунок 42).

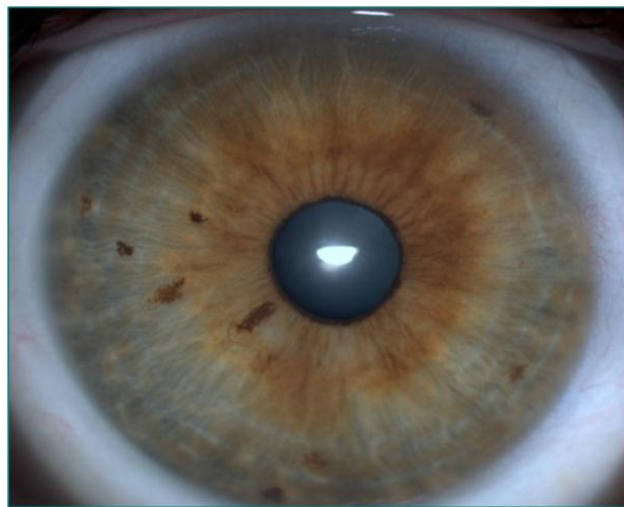


Рисунок 42 - Биомикроскопия роговицы: прозрачная роговица пациента К. через 1 сутки после транспэпителиального кросслинкинга роговичного коллагена.

Явления псевдохейза роговицы, вызванные процессами апоптоза кератоцитов и транзиторным отеком, приводили к снижению исходной остроты зрения. Консервативное местное лечение стероидами, заменителями

слезы и лубрикантами способствовали снижению данного эффекта. Несмотря на это, у 3 пациентов отмечали развитие стойкого хейза в сроки от 6 до 12 месяцев, что требовало дополнительное назначение стероидов. Только у 1 пациента (1,1%) в сроки 12 месяцев хейз сохранялся, незначительно снижая НКОЗ и КОЗ.

Кросслинкинг роговицы с сохранением эпителия является минимально инвазивной процедурой и лишен травмирующего эффекта деэпителизации, однако развитие псевдохейза и крайне редко стойкого хейза роговицы все же наблюдается. Это связано с репаративным фибропластическим процессом в ответ на операционную травму (Рисунок 43).

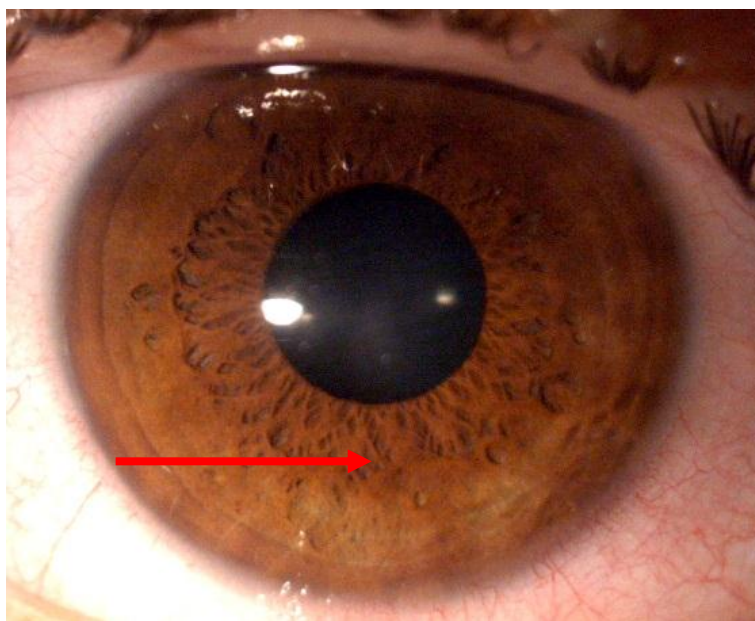


Рисунок 43 - Биомикроскопия роговицы через 1 год после кросслинкинга роговицы: хейз стромы роговицы.

В таблице 18 представлены результаты сравнительной оценки отдельных показателей у пациентов с КК после трансэпителиального кросслинкинга роговицы.

Таблица 18 - Динамика оптометрических показателей лечения пациентов с кератоконусом методом трансэпителиального кросслинкинга роговицы

Параметр	среднее значение ($M \pm m$)							
	исследуемая группа							
	До	срок после операции (месяцы)						
	операции	1	3	6	12	24.	48	76
НКОЗ	0,25±0,03	0,24±0,03	0,24±0,02	0,27±0,04	0,26±0,03	0,29±0,02	0,3±0,06	0,27±0,09
КОЗ	0,48± 0,03	0,46±0,02	0,51±0,03	0,52±0,02	0,54±0,03	0,6±0,02*	0,45±0,07	0,546±0,08
Преломляющая сила роговицы, дптр	47,56±0,93	49,8±0,2	48,2±0,95	46,67±0,8	46,97±0,9*	45,78±0,6*	47,12±0,7	47,31±0,7 *
Толщина, мкм	469,5±8,14	482,6±9,38	459,8±9,8	459,1±9,6	469,7±8,3	451,4±8,4	459,6±9,8	448,2±13,1

Примечание: * – различия статистически достоверны по сравнению с дооперационными значениями, $p < 0,05$

У пациентов в сроки до 6 месяцев после процедуры отмечали незначительное увеличение показателей кератометрии роговицы, что вероятно, было связано с отеком и утолщением эпителиального слоя, а также транзиторного отека самой стромы. Данные кератометрии в динамика показывали разброс в широких пределах - от 42 до 54 дптр.

В послеоперационном периоде (до 6 месяцев) отрицательная динамика большинства показателей, в том числе функциональных, связана с транзиторными патоморфологическими изменениями в роговице. Наблюдалось снижение остроты зрения в течение первого месяца, а также увеличение преломляющей силы роговицы вплоть до 4-6 месяцев,

Улучшение показателей отмечалось через полгода после процедуры в виде постепенного снижения преломляющей силы роговицы, улучшения НКОЗ и МКОЗ, при этом показатели толщины роговицы в динамике не имели статистически значимого различия. Максимальное снижение преломляющей силы роговицы наступало к концу второго года после процедуры: в 53 глазах из 89 (59,5%), отмечено снижение K_{ave} – в среднем на $0,44 \pm 0,34$ дптр (Рисунок 44).

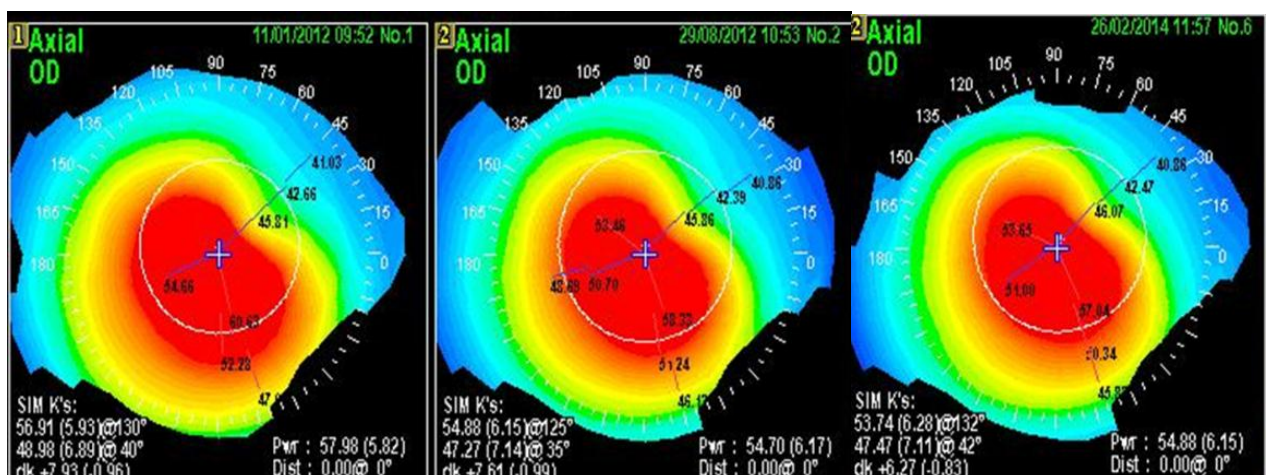


Рисунок 44 - Кератопограмма пациента после ТЭ-КЛР. Динамика в течение 2 лет.

Через 2 года – в 40,5% случаев отмечалось постепенное повышение преломляющей силы на 1,0-2,5 Д ($p \leq 0,05$), что свидетельствовало о постепенном прогрессировании заболевания. В течение всего периода наблюдений определяли незначительную положительную динамику значения роговичного астигматизма - в среднем на $0,47 \pm 0,11$ Д ($p > 0,07$), что оказалось статистически незначимым.

Динамическая положительная, а в последующем отрицательная флюктуация показателя пахиметрии от 20 до 40 мкм у пациентов после УФ КЛР, который стабилизировался к концу первого года наблюдения. В ранние сроки наблюдалось увеличение толщины роговицы с последующим незначительным снижением, что было связано в первую очередь с эффектом «компактизации» роговицы на фоне «эффекта сшивания» ее коллагеновых волокон и макромолекул. Однако в случаях дальнейшего прогрессирования процесса у части пациентов отмечалось уменьшение толщины роговицы, коррелирующее с увеличением показателей кератометрии.

После применения метода трансэпителиального УФ КЛР полученные данным кератометрии свидетельствовали о стабилизации течения КК более, чем в половине случаев (59,5%), с уменьшением на K_{max} на $-1,78 \pm 1,35$ дптр. В 40,5% случаев отмечались признаки медленного прогрессирования в виде увеличения показателей кератометрии и уменьшения толщины роговицы.

Дальнейшее наблюдение в сроки до 8 лет показали стабильное течение процесса только в 45 глазах (50,6%) со снижением показателя преломляющей силы роговицы в среднем на $1,22 \pm 0,26$ дптр. В остальных 49,4% случаях отмечался постепенный регресс достигнутого эффекта (Рисунок 45).

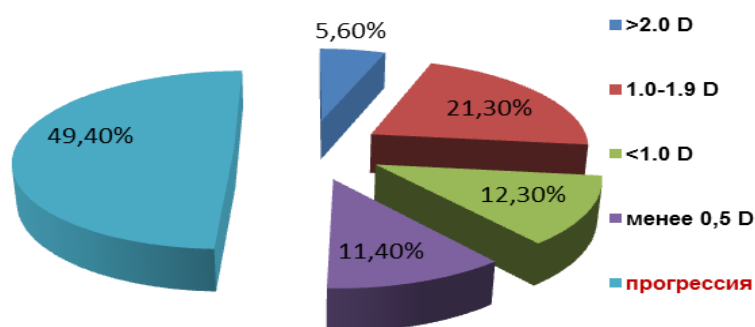


Рисунок 45 - Частота прогрессии и степень снижения преломляющей силы роговицы после трансэпителиального протокола.

Результаты лечения условно оценивали по коэффициентам эффективности и безопасности, основанной на показателях остроты зрения.

Эффективность – отношение послеоперационной некорригированной остроты зрения к дооперационной максимально корригированной остроте зрения (%).

Безопасность – отношение максимально корригированной остроты зрения после операции к этому показателю до операции, т.е. безопасная операция – это когда до и после хирургии максимальная острота зрения 1,0. При уменьшении данного коэффициента увеличивается риск развития послеоперационных осложнений.

Таблица 19 - Коэффициенты эффективности и безопасности методик кросслинкинга роговицы

Оценка лечения	Сроки наблюдения					
	1 месяц	6 месяцев	12 месяцев	24 месяца	5 лет	8 лет
Коэффициент эффективности (%)	60,0	61,1	59,5	57,1	50,2	50,1
Коэффициент безопасности	1,0	1,3	1,2	1,0	1,1	1,32

В течение 6 месяцев эффективность процедуры оставалась высокой, однако через 2 года после лечения коэффициент эффективности начал снижаться. Более высокий процент коэффициента безопасности объясняется выполнением щадящего насыщения роговицы рибофлавином без удаления эпителия, отсутствием выраженного псевдохейза роговицы и низкой частоты развития стойкого хейза.

При динамическом наблюдении после ТЭ-КЛР коэффициент безопасности определялся больше единицы, а в отдаленном послеоперационном периоде повышался и оставался стабильным, в связи, с чем можно утверждать, что трансэпителиальный кросслиндинг роговицы является безопасным протоколом, при удовлетворительной эффективности. На безопасность трансэпителиального метода кросслинкинга роговицы указывали отсутствие травматизации эпителия роговицы при насыщении её фотосенсибилизаторами, послеоперационного роговичного синдрома, хейза роговицы и отсутствие инфекционных осложнений.

6.2.3. Результаты использования акселерированного и импульсного-акселерированного кросслинкинга

Исследование выполнено у 133 пациентов (180 глаз), мужчин - 81, женщин – 52, средний возраст пациентов составил $29,7 \pm 4,3$ лет (диапазон 19-39 лет). Основным критерием отбора были значения пахиметрии роговицы в тончайшей точке с эпителием более 400 мкм, при этом диапазон толщины роговицы колебался от 412 до 501 мкм. Пациенты были распределены на 2 группы в зависимости от выбранного протокола процедуры:

I группа 105 пациентов (146 глаз) - кросслиндинг роговицы с применением акселерированного протокола при мощности 9 мВт/см^2 – 10 минут с деэпителизацией,

II группа 28 пациентов (34 глаза) – импульсно-акселерированный протокол при мощности 9 мВт/см^2 – 20 минут с дезэпителизацией (1 секунда облучение и 1 секунда пауза).

Обследования выполнялись в сроки: до, через 1, 3, 6, 12 месяцев, 2, 4, 6 и 8 лет после процедуры. Операция выполнялась в стерильных условиях в операционной после письменного согласия пациентов с соблюдением этических норм согласно Женевской конвенции о защите прав и достоинства человека в связи с применением достижений биологии и медицины.

Ни в одном случае не отмечалось интраоперационных осложнений. Эпителизация роговицы завершилась в среднем на $3,5 \pm 1,1$ день после процедуры в обеих группах.

У всех пациентов обеих групп после УФ КЛР в раннем послеоперационном периоде отмечалось ухудшение НКОЗ и КОЗ, а также увеличение значений пахиметрии в среднем до 449 ± 67 мкм и 462 ± 67 мкм, соответственно. Это, как правило, связано с незначительным транзиторным отеком стромы. Клинически это выражалось в виде псевдохейза в эпителиальном слое и верхних слоях роговичной стромы.

Через 1 месяц наблюдалось незначительное улучшение НКОЗ и КОЗ с $0,09 \pm 0,02$ до $0,11 \pm 0,05$ и $0,38 \pm 0,18$ до $0,4 \pm 0,1$, соответственно у пациентов I группы ($P_0=0,09$). Схожая динамика НКОЗ наблюдалась и у II группы пациентов: НКОЗ увеличилась с $0,08 \pm 0,04$ до $0,12 \pm 0,02$ и КОЗ - с $0,43 \pm 0,09$ до $0,44 \pm 0,12$ ($P_0=0,07$). Сравнительная оценка динамики остроты зрения между группами не показала статистически значимой разницы.

Основным побочным эффектом, наблюдаемым через 1 месяц после УФ КЛР, был стромальный псевдохейз, который отмечался в 122 глазах (83,6%) в группе А-КЛР и 24 глазах (70,6%) – в группе ИА-КЛР. Биомикроскопический осмотр глаз через 3 месяца после процедуры показал наличие легкого хейза роговицы в 2 случаях в I группе и в 1 - во II группе.

Через 1 месяц после кросслинкинга не было существенных различий между группами А-КЛР и ИА-КЛР по данным динамики НКОЗ, МКОЗ, роговичного астигматизма и максимальной преломляющей силы роговицы - $K_{\max}$ (Таблица 20).

Таблица 20 - Значения показателей клинических характеристик через 12 месяцев после процедур кросслинкинга

Параметры	a-CXL	i-CXL
НКОЗ	$0,16 \pm 0,11$	$0,13 \pm 0,09$
МКОЗ	$0,49 \pm 0,13$	$0,51 \pm 0,16$
Астигматизм (D)	$0,41 \pm 1,63$	$0,42 \pm 1,2$
Разница между до и послеоперационной $K_{\max}$ (D)	$-1,72 \pm 2,68$	$-1,55 \pm 2,41$

Примечание: * показатель между группами статистически значим $P_0 < 0,05$

Через двенадцать месяцев наблюдали статистически значимое улучшение показателей НКОЗ в обеих группах – $0,16 \pm 0,11$ и $0,13 \pm 0,09$ ($p < 0,001$) соответственно. Кроме того, отмечено статистически значимое улучшение МКОЗ у пациентов обеих групп по сравнению с дооперационными данными, составляющее $0,49 \pm 0,13$ и $0,51 \pm 0,16$, соответственно ($P < 0,001$).

Выявлена стойкая положительная динамика показателей кератометрии в течение первых 2 лет после А-КЛР (Рисунок 46). В подавляющем большинстве случаев после акселерированного КЛР отмечалась стабильная динамика с уменьшением преломляющей силы $K_{\max}$ и K_{ave} на $2,78 \pm 0,23$ дптр и на $1,82 \pm 0,21$ дптр, соответственно. После ИА-КЛР отмечалась схожая динамика с уменьшением преломляющей силы $K_{\max}$ и K_{ave} на $3,06 \pm 0,56$ дптр и на $1,56 \pm 0,7$ дптр, соответственно.

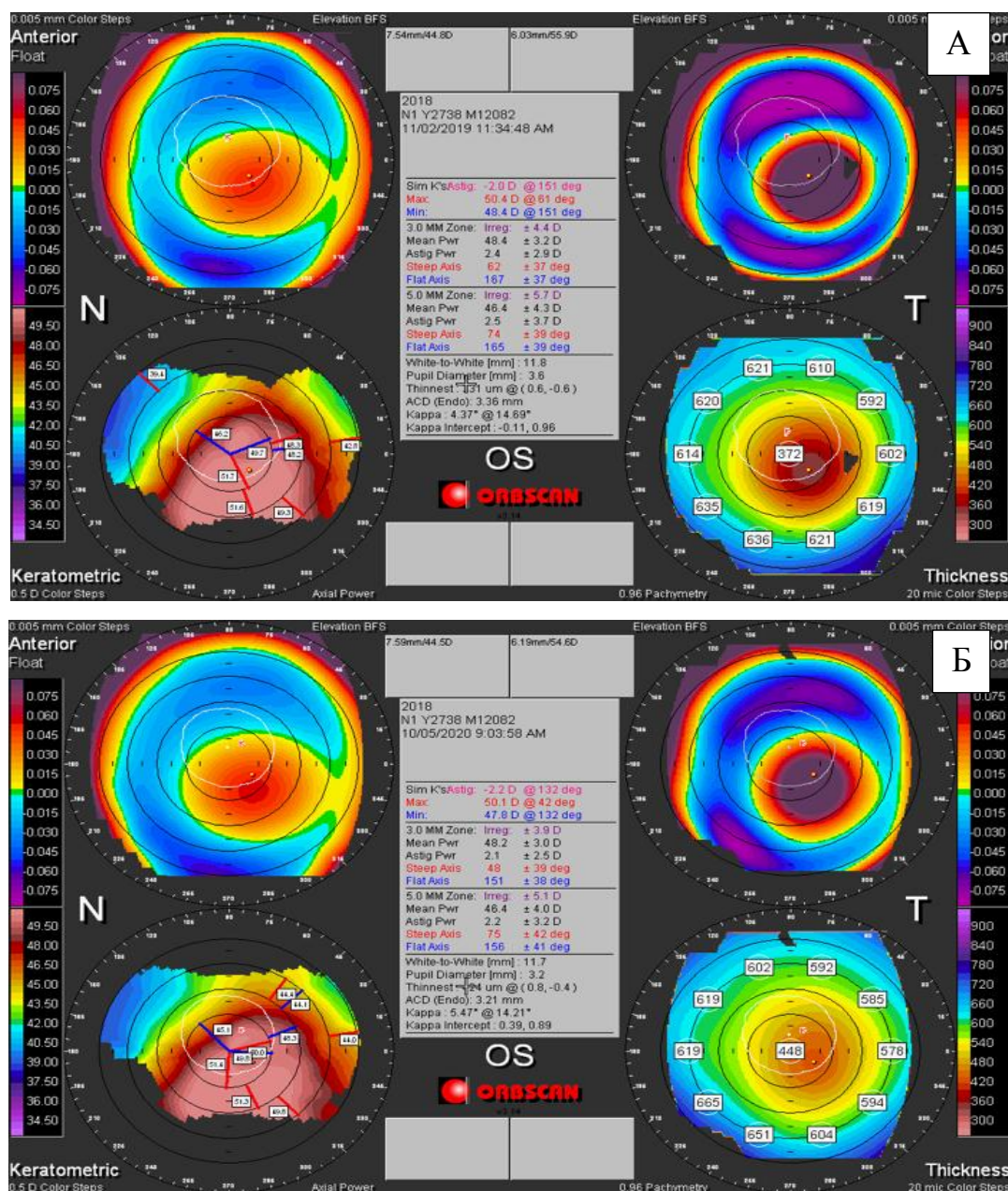


Рисунок 46 – Кератотопограмма пациента: А – до лечения; Б - через 2 года после А-КЛР.

Статистически значимых различий в динамике параметров роговичного астигматизма между группами А-КЛР и ИА-КЛР ($p > 0,05$) не наблюдалось. $K_{\max}$ через 12 мес. уменьшалась на $-1,72 \pm 1,68$ D и на $-1,55 \pm 1,41$ D в обеих группах, соответственно.

В 17 случаях (11,6%) после А-КЛР в сроки через 2 года наблюдались признаки прогрессирования процесса, что выражалось увеличением показателя преломляющей силы роговицы, однако.

В сроки до 8 лет в подавляющем большинстве случаев – в 122 из 146 глаз (83,6%) пациентов, находящихся под наблюдением, отмечена стабилизация процесса - снижение показателя кератометрии в среднем на $1,78 \pm 0,92$ дптр. Признаки дальнейшего прогрессирования КК и увеличение значения преломляющей силы от 0,5 до 1,5 дптр. наблюдались в 24 глазах (16,4%) после акселерированного кроссликинга в среднем через $3,7 \pm 0,92$ лет (Рисунок 47).

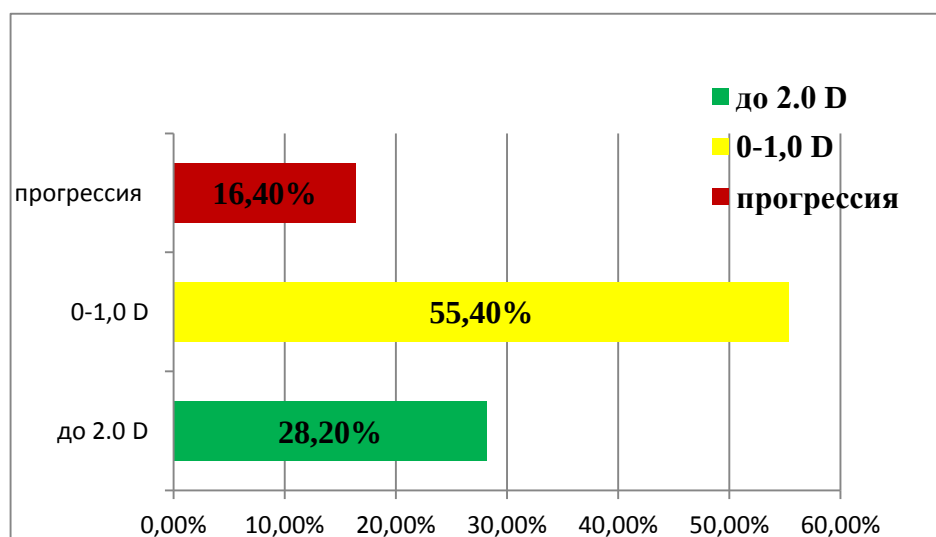


Рисунок 47 - Частота выраженности стабильного эффекта и прогрессии после А-КЛР протокола.

На клиническом примере показано наличие КК у пациента при первичном обследовании, стабилизацию процесса через 1 год после А-КЛР и тенденцию к прогрессированию заболевания через 2 года наблюдения (Рисунок 48). На представленных кератотопограммах отмечаны стабильные показатели K_{max} и K_{ave} , незначительное уменьшение (на 12 мкм) толщины роговицы из-за эффекта «компактизации» стромы.

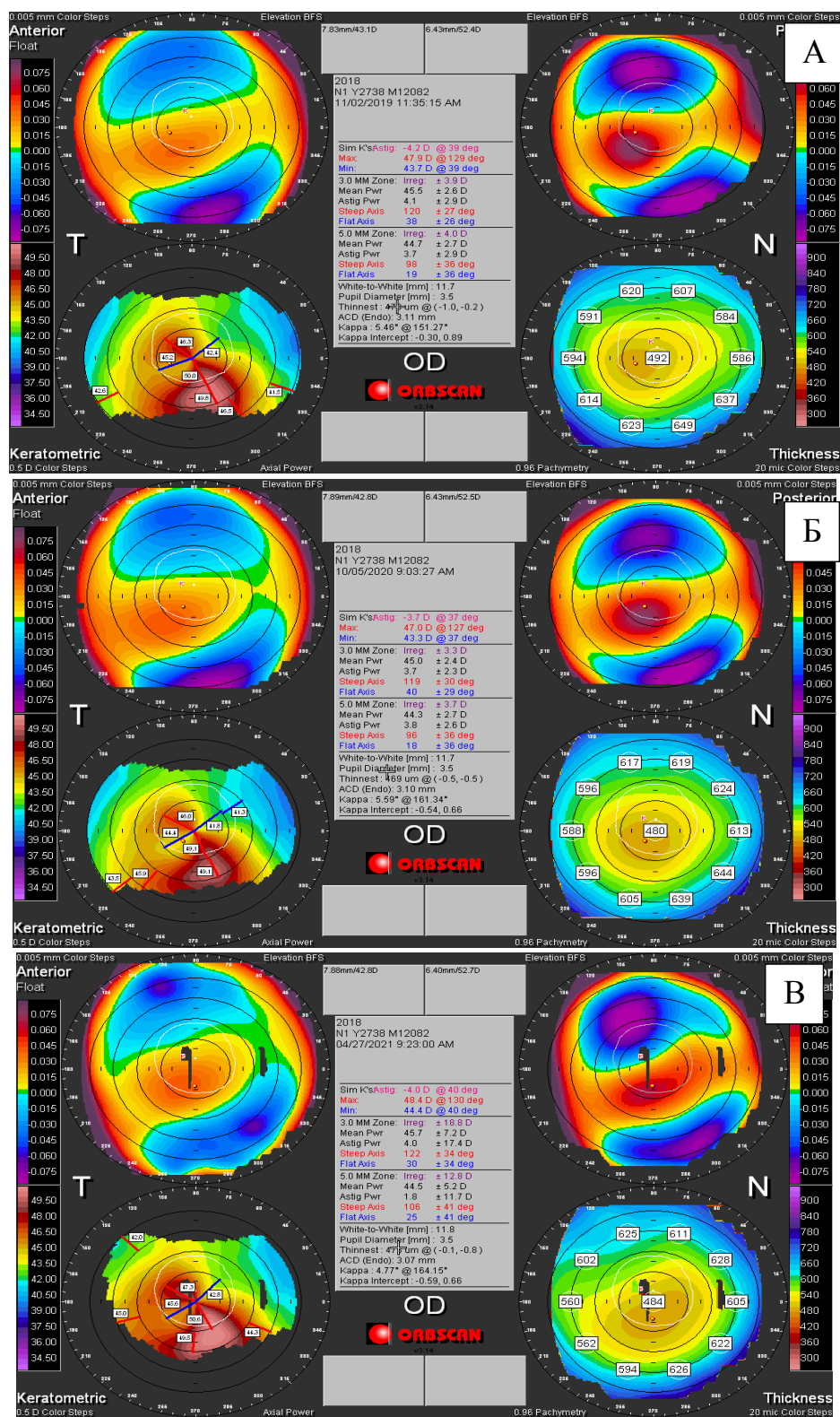


Рисунок 48 - Кератотопограмма пациента: А - до лечения; Б - через 1 год после УФ КЛР (течение стабильное); В - через 2 года (увеличение преломляющей силы).

На рисунке 49 представлены кератотопограммы пациента с КК 2 типа на момент первого осмотра в динамике после ИА-КЛР.

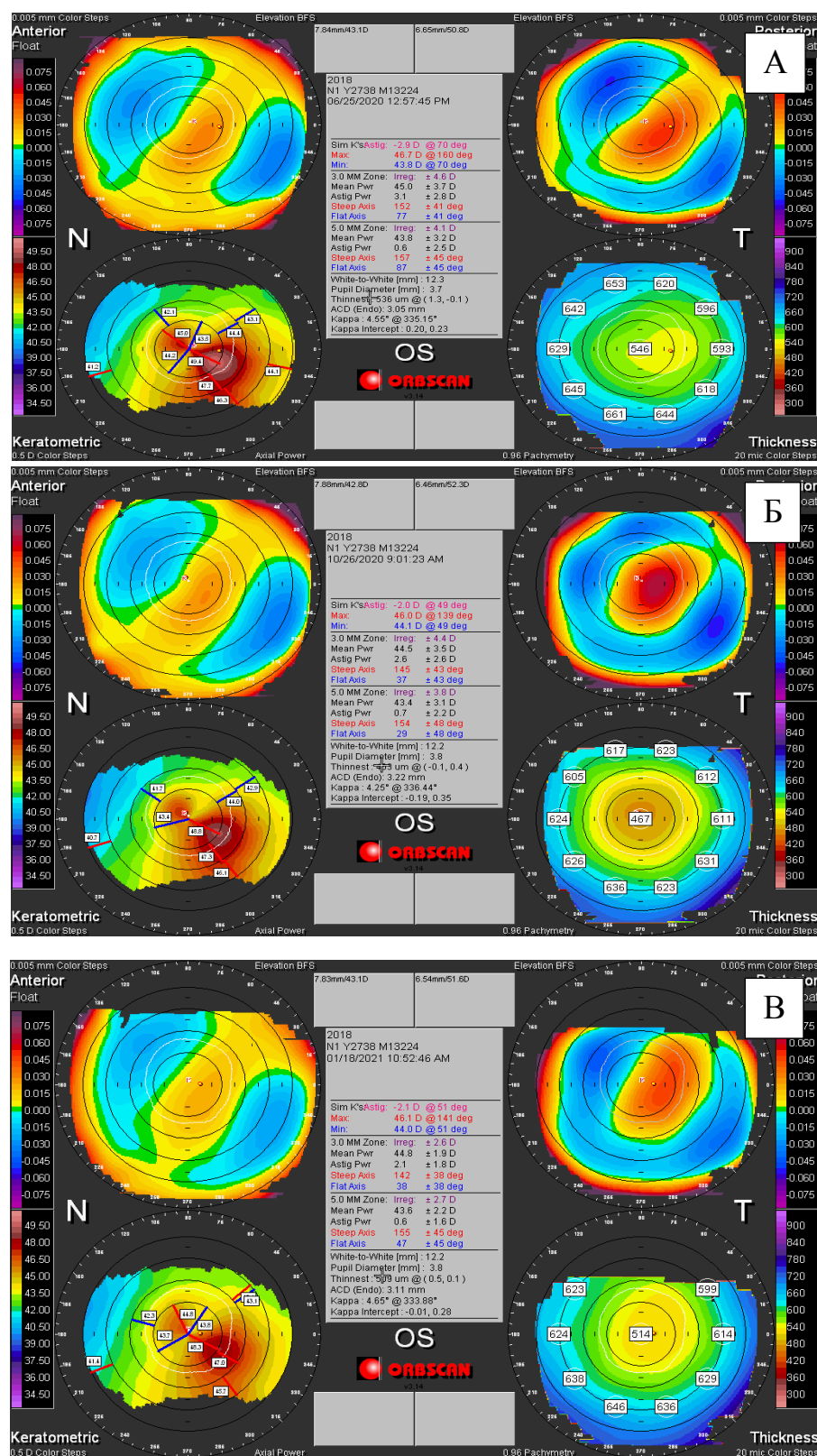


Рисунок 49 – Кератотопограммы пациента: А - элевация передней и задней поверхности роговицы; Б - через 1 год после ИА-КЛР (уменьшение элевации); В - через 2 года после ИА-КЛР (регресс элевации).

Через год после ИА-КЛР кератотопограмма свидетельствовала о стабильном течении заболевания и даже незначительном регрессе. Стабильность полученного эффекта и регресс показателей кератометрии наблюдался в течение 2 лет.

По нашим данным это наиболее критичный период для оценки эффективности или отсутствия эффекта процедуры УФ КЛР.

Однако, в 6 случаях (17,6%), начиная со 2-го года наблюдения, отмечалась тенденция к прогрессированию КК.

У пациентов в группе с ИА-КЛР отмечалась схожая с акселерированным кросслинкингом тенденция: через 2 года 28 глазах из 34 (82,3%) наблюдали стабилизацию процесса со снижением показателя кератометрии Kave в среднем на $-1,56 \pm 0,7$ дптр и увеличением преломляющей силы – от 0,5 до 1,5 дптр. в 6 глазах (17,7%) (Рисунок 50).

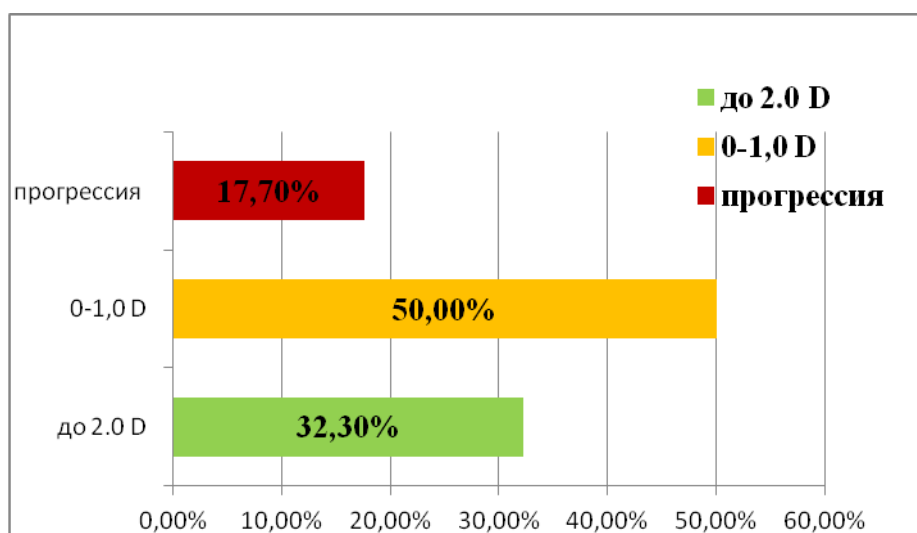


Рисунок 50 - Частота выраженности стабильного эффекта и прогрессии после ИА-КЛР.

В среднем через $3,9 \pm 1,1$ лет данная тенденция сохранялась в 6 случаях, когда наблюдали признаки прогрессирования КК в виде увеличения преломляющей силы и уменьшения толщины роговицы.

Клиническая эффективность этих двух протоколов, основанная на динамике отдельных показателей роговицы, оказалась сопоставимой. Кросслинкинг, выполненный с применением этих протоколов, является эффективным, по сравнению с трансэпителиальным протоколом, но менее эффективен по сравнению со стандартным УФ КЛР.

Сравнительный анализ результатов А-КЛР и ИА-КЛР показал, что дальнейшее прогрессирование наблюдалось в обоих случаях в среднем через $3,8 \pm 0,8$ лет, а их клиническая эффективность, в первую очередь, стабилизация процесса и уменьшение преломляющей силы роговицы с средним на $1,78 \pm 0,92$ дптр и повышение остроты зрения, была сопоставима (Рисунок 51).

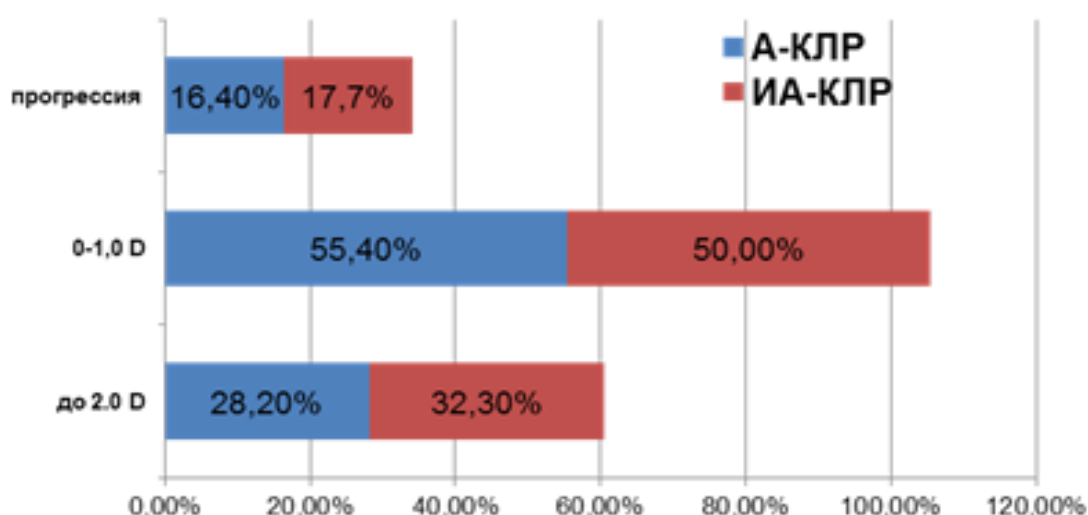


Рисунок 51 - Частота выраженности стабильного эффекта и прогрессии после А-КЛР и ИА-КЛР.

Современные исследования в области лечения КК демонстрируют эффективность акселерированного и импульсно-акселерированного кросслинкинга. Эти методики обеспечивают безопасную и эффективную стабилизацию заболевания, сокращая при этом продолжительность процедуры по сравнению с традиционным кросслинкингом.

Ключевым преимуществом данных протоколов является оптимизированная интраоперационная доступность синглетного кислорода в тканях роговицы. Это позволяет улучшить анатомо-функциональные результаты операции по сравнению с эпителиальной техникой, повысить эффективность и безопасность процедуры.

Важно отметить, что все существующие методики кросслинкинга обеспечивают достаточную глубину сшивания роговицы, достигая ее наиболее пораженных слоев. При этом, глубина сшивания в пределах 200-250 мкм охватывает преимущественно переднюю строму, что делает оправданным использование любого из современных протоколов кросслинкинга.

По нашему мнению, существенных клинических различий между этими протоколами не выявлено, оба этих протокола могут быть хорошим выбором для большинства пациентов, о чем свидетельствует стабилизация процесса более чем в 80% случаев, сохраняющаяся достаточно длительный срок.

6.2.4. Результаты лечения пациентов с тонкой роговицей модифицированным протоколом кросслинкинга

Исследование выполнено на ограниченной когорте из 33 пациентов (45 глаз), мужчин - 21, женщин – 12, средний возраст пациентов составил $23 \pm 3,8$ лет, возрастной диапазон 14-37 лет. Основным критерием отбора были значения пахиметрии роговицы в тончайшей точке с эпителием менее 400 мкм. Диапазон толщины роговицы составил 340-400 мкм. Соответственно применяемой методике пациенты были распределены на 2 группы:

I группа (27 глаз) - УФ КЛР с использованием мягкой контактной линзы – МК-КЛР (Soflens Daily Disposable® (Bausch and Lomb, США),

II группа (18 глаз) – с применением биолинзы из консервированного донорского материала («материал для восстановления роговицы» РУ от 23.12.2015 №ФСР 2012/14148).

Всем пациентам проводилось стандартное офтальмологическое обследование, включающее: визометрию, автокераторефрактометрию, тонометрию, кератотопографию на аппарате PentacamHR (Германия) и ORB-scan (США), пахиметрию и ОСТ переднего отрезка на приборе Visante (Германия). Обследования выполнялись в сроки: до, через 1, 3, 6 и 12 месяцев после процедуры. Операция выполнялась в стерильных условиях в операционной после письменного согласия пациентов с соблюдением этических норм согласно Женевской конвенции о защите прав и достоинства человека в связи с применением достижений биологии и медицины. Период наблюдения составил 12 месяцев.

I группа. Операция выполнялась по предложенной нами методике «Способ ультрафиолетового кросслинкинга роговицы с учетом топографической пахиметрии и кератотопографии у пациентов с тонкой роговицей» (Патент РФ № 2735377 от 30.10.2020). В послеоперационном периоде пациентам назначались инстилляции антибиотика и декспантенола, после эпителизации - дексаметазон 0.1% на 1 месяц.

II группа: Оперативное вмешательство проводилось также по предложенной методике «Способ проведения ультрафиолетового кросслинкинга роговицы с применением биолинзы при тонкой роговице» (Патент РФ № 2739995 от 30.12.2020) с одной разницей, что вместо мягкой контактной линзы применялась биолинза из консервированной донорской роговицы. Послеоперационное лечение проводилось по стандартной методике: инстилляции антибиотика и декспантенола, после эпителизации - дексаметазон 0.1% - 4 раза на 1 месяц.

Ни в одном случае не отмечалось интраоперационных осложнений. При выполнении процедуры средняя толщина роговицы после деэпителизации составила - 343 ± 88 мкм в I группе, а после наложения мягкой контактной линзы - 455 ± 19 мкм, и соответственно, 351 ± 102 мкм во II группе, а после

наложения биолинзы - 479 ± 97 мкм. Эпителизация роговицы завершилась на 3-4-й день после процедуры в обеих группах.

В раннем послеоперационном периоде – 1 неделя отмечалось ухудшение некорригированной (НКОЗ) и корригированной (КОЗ) остроты зрения в обеих группах, а также увеличение значений пахиметрии в среднем до 449 ± 67 мкм и 462 ± 67 мкм, соответственно. Это, как правило, связано с незначительным транзиторным отеком стромы на фоне апоптоза кератоцитов и свежей эпителизации роговицы. Клинически это выражалось в виде псевдохейза в эпителиальном слое и верхних слоях роговичной стромы.

Через 1 месяц наблюдалось незначительное улучшение НКОЗ – с $0,05 \pm 0,02$ до $0,07 \pm 0,05$ и КОЗ – с $0,1 \pm 0,08$ до $0,2 \pm 0,1$, соответственно у пациентов I группы ($P_0 < 0,05$). Схожая динамика наблюдалась у II группы пациентов: НКОЗ – с $0,06 \pm 0,04$ до $0,09 \pm 0,02$ и КОЗ – с $0,13 \pm 0,07$ до $0,22 \pm 0,12$ ($P_0 < 0,05$). Сравнительная оценка динамики остроты зрения между группами не показала статистически значимой разницы.

Показатели преломляющей силы передней поверхности роговицы свидетельствовали о негативной динамике в виде увеличения $K_{\max}$: с $58,5 \pm 6,0$ дптр до $59,3 \pm 6,4$ дптр – в I группе и с $57,3 \pm 5,3$ до $59,1 \pm 8,2$ дптр – во II группе, при отсутствии статистической разницы между ними ($P_0 > 0,1$).

Динамика показателей задней поверхности роговицы не показалась существенной в обеих группах. Такие изменения связаны с эпителизацией роговицы и транзиторным увеличением кривизны передней поверхности роговицы (Рисунок 53). По данным ОСТ и пахиметрии толщина роговицы незначительно снизилась по сравнению с данными раннего послеоперационного периода, однако осталась выше дооперационного показателя в среднем на 19 ± 12 мкм – в I группе и 16 ± 12 мкм – во II группе.

Демаркационная линия была верифицирована в 18 случаях (66,6%) на глубине 159 ± 88 мкм в I группе, тогда как во II группе в 13 случаях (72%) на глубине 211 ± 88 мкм, что оказалось статистически значимым ($P_0 = 0,03$).

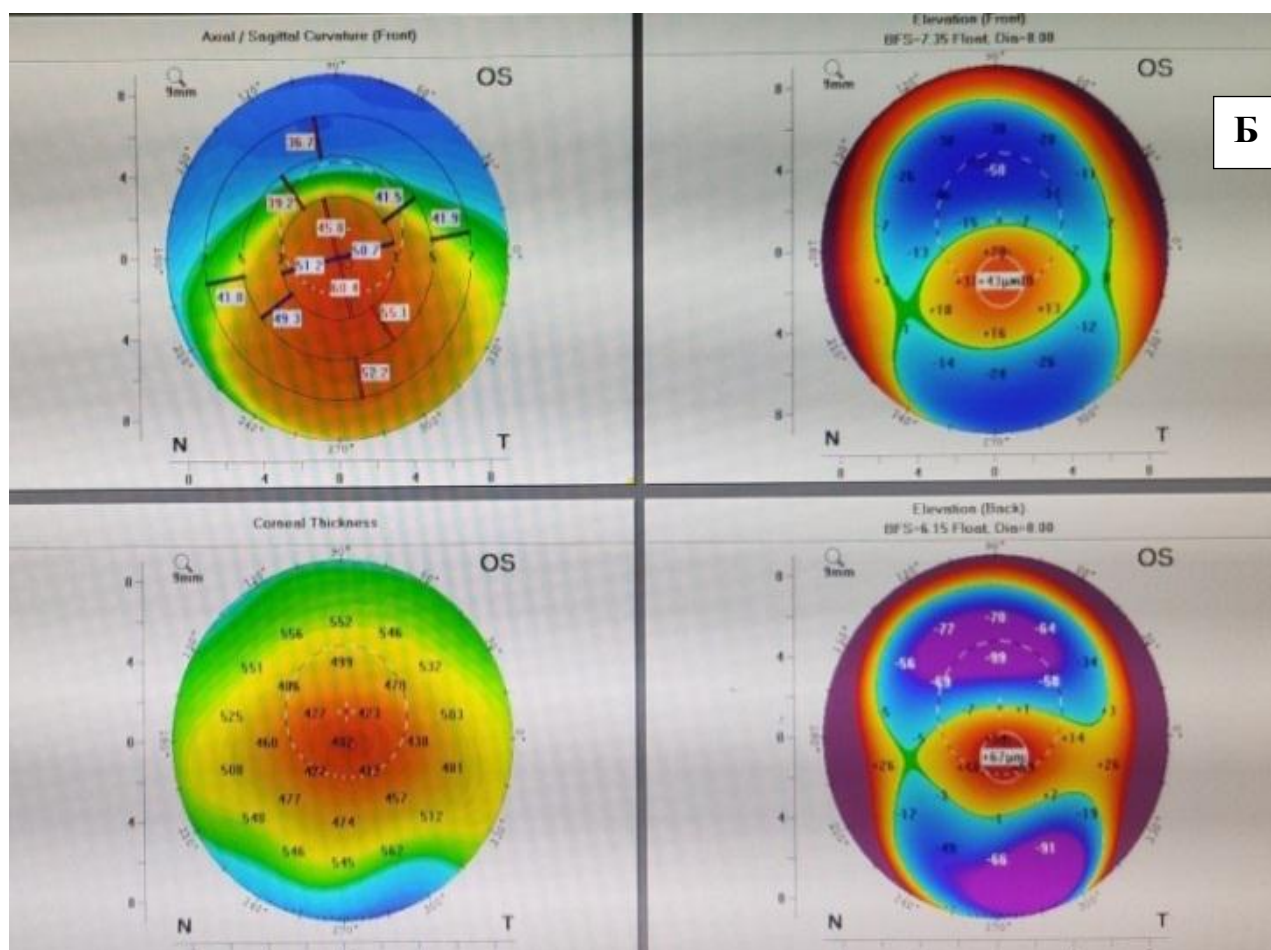
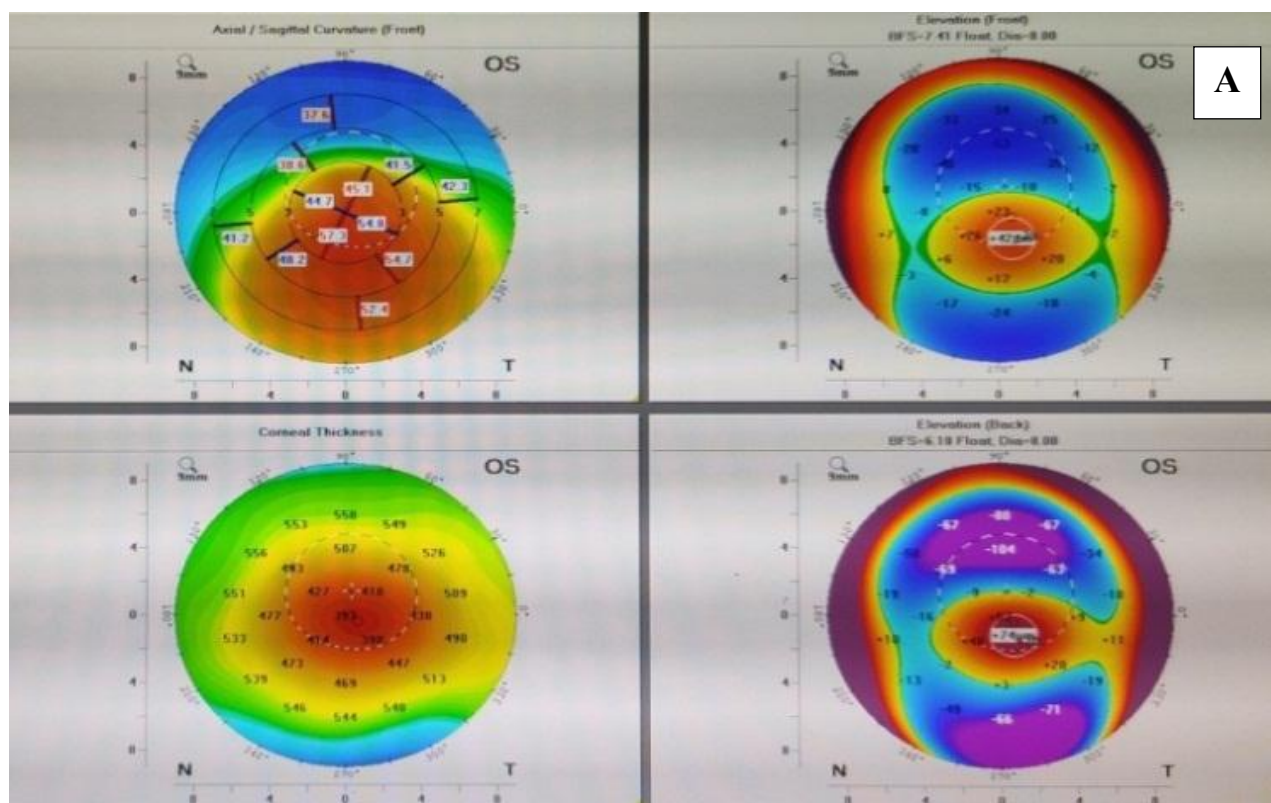


Рисунок 53 – Кератотопограмма: А – до УФ КЛР; Б - через 1 месяц после УФ КЛР.

В раннем послеоперационном периоде отмечалось незначительное увеличение толщины роговицы, преимущественно за счет эпителиального слоя наряду с демаркационной линией. ДЛ верифицировалась не у всех пациентов, однако на фоне применения биолинзы она оказалась чуть глубже (Рисунок 54).

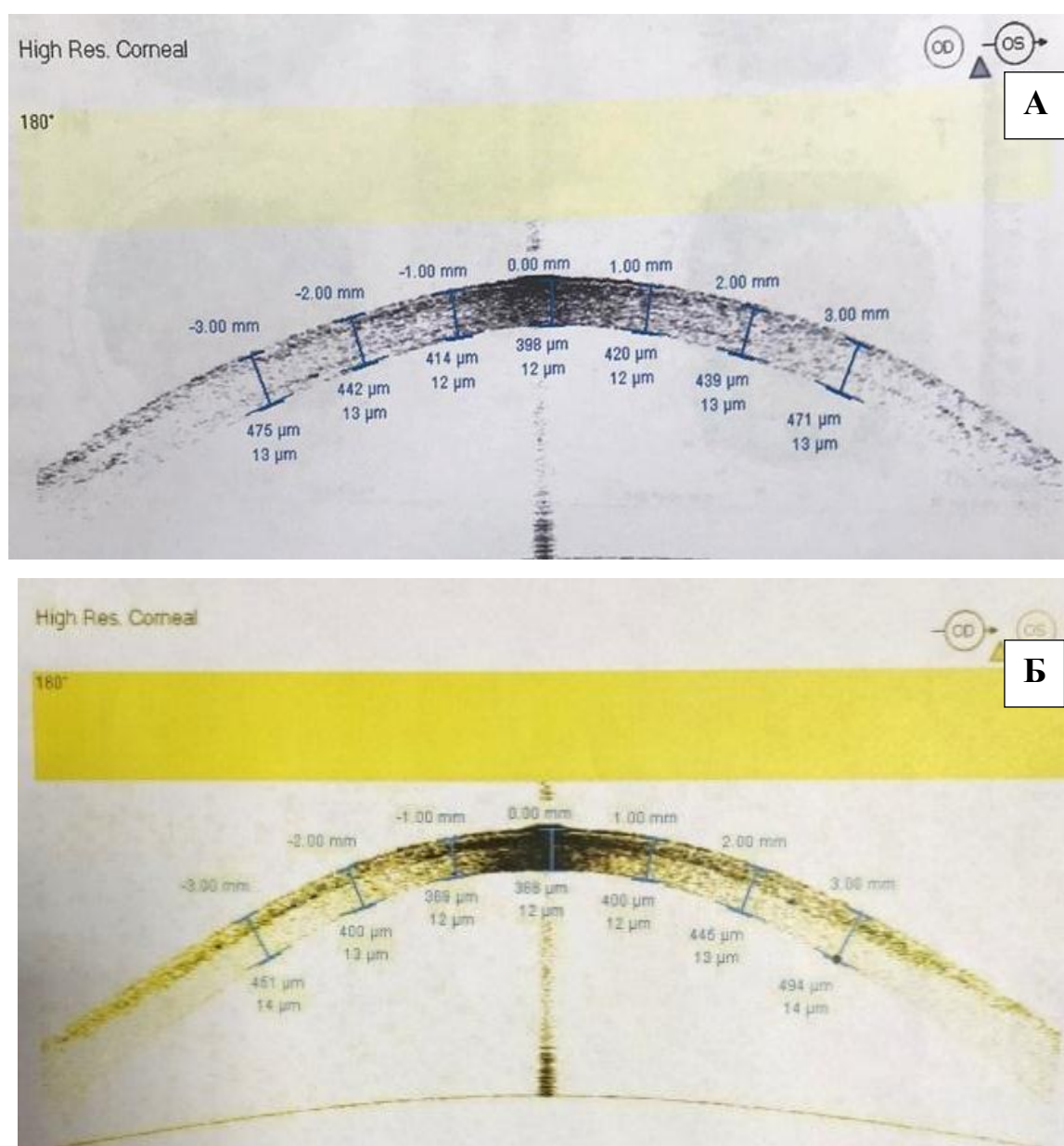


Рисунок 54 – Демаркационная линия по данным ОСТ высокого разрешения: А после УФ КЛР с биолинзой; Б - с МКЛ.

Через 3 месяца отмечалась положительная динамика в 36 случаях (80%). НКОЗ и КОЗ оставались стабильными на уровне $0,08 \pm 0,11$ и $0,2 \pm 0,15$ в I группе и $0,08 \pm 0,12$ и $0,21 \pm 0,17$ – во II группе, соответственно. Динамика показателей роговицы (кератометрия и пахиметрия) имела тенденцию к снижению. Преломляющая сила роговицы по данным Kmax, K1 и K2 немного снизились по сравнению с дооперационными значениями, но данные оказались статистически незначимыми.

Толщина роговицы уменьшилась во всех случаях: с 387 ± 78 до 370 ± 65 мкм – в I группе и с 396 ± 102 до 365 ± 95 мкм – во II группе.

Демаркационная линия выявлялась только в 19 случаях (42%) на глубине 145 ± 90 мкм в I группе и в 4 случаях (66%) на глубине 196 ± 90 мкм – во II группе ($P_0=0,03$).

В сроки до 12 месяцев в I исследуемой группе осложнений не наблюдалось. Отмечалась стабилизация НКОЗ, которая составила $0,07 \pm 0,65$, и незначительное улучшение КОЗ – до $0,3 \pm 0,23$. Данные кератометрии показали снижение показателя преломляющей силы роговицы Kmax до $57,9 \pm 5,3$ Д.

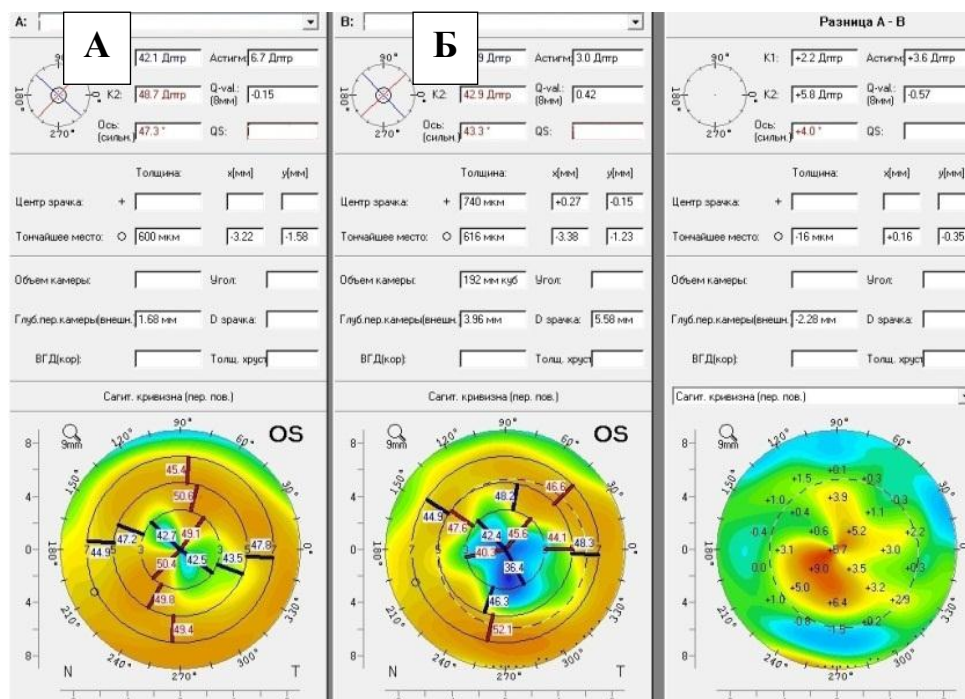


Рисунок 55 - Кератотопограмма - дифференциальная карта передней поверхности роговицы: А – до УФ КЛР; Б - через 6 месяцев после УФ КЛР с биолинзой.

При сравнительной оценке сагитальная кривизна роговицы статистически значимо уменьшилась, что было связано с уплощением передней поверхности, несмотря на общую компактизацию роговичной стромы (Рисунок 55). Толщина роговицы уменьшилась незначительно и составила 360 ± 59 мкм.

Во II исследуемой группе НКОЗ и КОЗ также показали положительную динамику, составляя $0,08 \pm 0,15$ и $0,33 \pm 0,19$, соответственно. По данным кератометрии показатели максимальной преломляющей силы Kmax снизились до $56,5 \pm 6,7$ Д. Данные пахиметрии также снизились, но незначительно – до 352 ± 107 мкм.

У пациентов I группы также отмечалась незначительная динамика в сроки от 6 месяцев в виде снижения преломляющей силы передней поверхности роговицы (Рисунок 56).

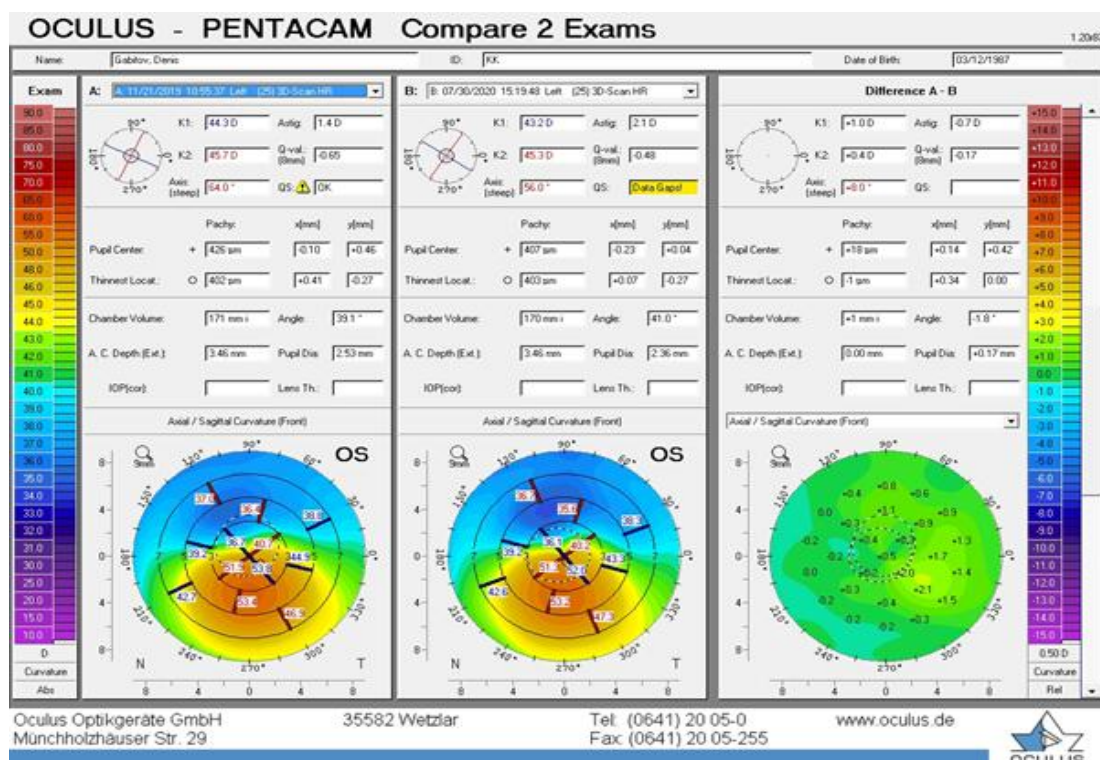


Рисунок 56 - Дифференциальная карта после УФ КЛР с применением МКЛ через 8 месяцев – незначительное уплощение.

У 2 пациентов (7,4%) в I группе и 1 (5,5%) - во II исследуемой группе отмечалось развитие хейза в послеоперационном периоде до 6 месяцев после процедуры, временно снижающее остроту зрения, что потребовало более длительной местной терапии стероидами (Рисунок 57 А и Б).



Рисунок 57 - Псевдохейз (А) и хейз (Б) роговицы после УФ-кросслинкинга.

На фоне локальной терапии в обеих группах все нежелательные явления были нивелированы.

Проведение УФ КЛР при остаточной толщине роговицы ниже 400 мкм, несомненно, сопряжено с высоким риском развития осложнений. Такие осложнения могут быть связаны, в первую очередь, с поражением эндотелиального слоя роговицы, что может вызвать вторичную кератопатию. Однако, влияние УФ-облучения на всю толщу роговицы также может вызвать неуправляемый фибропластический процесс с последующим формированием хейза и низкой остротой зрения. Развитие псевдохейза в раннем послеоперационном периоде нельзя рассматривать как осложнение процедуры, так как это результат патологической реакции тканей на

агрессивное воздействие внешней среды. Данная реакция является транзиторной, связана с выраженным апоптозом кератоцитов, нарушением прозрачности ткани и нивелируется компенсаторными механизмами организма в подавляющем большинстве случаев. Патологическая реакция роговой оболочки глаза на оксидативные процессы, протекающие при УФ-облучении и выражающиеся в чрезмерном апоптозе кератоцитов, могут привести к пролиферативным процессам в строме роговицы с развитием стойкого хейза. Репопуляция кератоцитов наступала к 4-6 месяцу после процедуры с восстановлением прозрачности роговицы.

Применение средств, временно увеличивающих толщину роговицы, несомненно, является хорошим подспорьем для лечения пациентов с критической толщиной роговицы. Сравнительная оценка результатов УФ КЛР с применением контактной линзы и биолинзы не показала существенных различий в эффективности применяемых подходов в ранние сроки, однако наличие более глубокой демаркационной линии при использовании биолинзы из консервированной роговицы может явиться показателем более эффективного кросслинкинга, ввиду вовлечения в процесс большего объема ткани. По нашему мнению, в сроки до 1 года будет сложно проследить клинические различия между этими протоколами. Однако, если принять во внимание, что кросслинкингу подвергается больший объем ткани роговицы, о чем свидетельствует глубина ДЛ, то эффект процедуры может сохраниться на более длительный срок.

Таким образом, при тонкой роговице (350-400 мкм) акселерированный кросслиндинг с применением дополнительных средств (контактной линзы или биолинзы) является относительно безопасным методом лечения. Эффективность метода выражается в снижении показателей кератометрии до 1,0 дптр без каких-либо признаков повреждения эндотелия роговицы.

6.2.5. Повторный УФ-кросслинкинг роговицы при прогрессировании кератоконуса

Клиническая эффективность различных протоколов кросслинкинга оценивается не только по выраженности динамики кератометрических и пахиметрических показателей, но и стабильности этих параметров. Эффект УФ КЛР основан на возникновении дополнительных связей между микрофибриллами и волокнами коллагена и макромолекул ткани роговицы. Однако надо учитывать, что с течением времени часть сформированных связей может нарушаться за счет метаболических изменений и процессов обновления тканевых структур. Это может лечь в основу недостаточной эффективности КЛР и дальнейшего прогрессирования заболевания. Учитывая естественные биологические процессы, протекающие в организме, метод не гарантирует пожизненный эффект. Как было выявлено в результате нашего исследования, эффективность протоколов УФ КЛР снижается от 94,7% при стандартном, до 50,2% - при трансэпителиальном. Следует отметить, что у части пациентов отмечается регресс полученных результатов в сроки от 2 до 8 лет, что потребовало выполнения процедуры кросслинкинга повторно. Актуальным представляется вопрос безопасности и эффективности повторного применения УФ КЛР в клинической практике при неэффективности первичной процедуры.

Проведен анализ результатов лечения 55 пациентов (110 глаз), которым с 2010-2020 гг. был выполнен УФ КЛР и у 12 пациентов (20 глаз) из которых верифицированы признаки дальнейшего прогрессирования КК. На основании объективных клинических и инструментальных исследований была оценена эффективность лечения и течение процесса (Таблица 21).

Таблица 21 - Частота прогрессирования кератоконуса после различных протоколов первичного УФ-кросслинкинга

Показатель	протокол			общее кол-во
	С-КЛР	ТЭ-КЛР	А-КЛР	
n - количество глаз	51	29	30	110
частота прогрессии	2	12	6	20
%	3,9%	41%	20%	
срок (лет)	7,1±1,92*	2,1±0,92*	3,8±0,8*	3,1±1,2

Примечание: показатель междугруппами статистически значим *($p<0,05$)

Из числа исследованных глаз прогрессирование КК отмечалось в среднем в 18,2% случаев - у 20 относительно молодых пациентов, в возрасте от 18 до 31 года (в среднем $22,9\pm0,8$ лет). Признаки прогрессии наблюдались в сроки от 1 до 7 лет, в среднем $3,1\pm1,2$ лет, преимущественно после трансэпителиального протокола УФ КЛР.

В 19 глазах был выполнен повторный УФ КЛР с дезэпителизацией. Критерием включения пациентов при проведении первичной процедуры УФ КЛР служили: исходная толщина роговицы не менее 400 мкм, максимальная преломляющая сила $58,0\pm0,45$ дптр, увеличение преломляющей силы роговицы в сильном меридиане на 1,0 Д в течение 1 года. Критериями исключения из исследования были центральные или парацентральные рубцы роговицы, толщина роговицы менее 400 мкм, воспалительные процессы, предыдущие рефракционные или другие операции на роговице, беременность.

После выполнения первой процедуры НКОЗ составляла $0,29\pm0,15$, КОЗ $0,57\pm0,12$. Величина средней преломляющей силы роговицы у этой когорты пациентов незначительно увеличилась, а толщина роговицы уменьшилась ($p_0<0,05$), что могло быть следствием как компактизации стромы роговицы, так и прогрессирования процесса. В таблице 22 представлены средние показатели клинко-инструментальных исследований глаз пациентов с прогрессивным течением кератоконуса, отобранных для повторного УФ КЛР.

Таблица 22 - Динамика основных клинических показателей после первой процедуры КЛР

Срок наблюдения	Показатели					
	НКОЗ	КОЗ	К _{ave} (дптр)	К _{max} (дптр)	ТР (мкм)	ПЭК
до	0,24 ± 0,05	0,5±0,2	53,42 ± 0,29	58,0 ± 0,45	465±82	2978 ± 113
после первого КЛР	0,29 ± 0,15	0,57 ± 0,12	54,63 ± 0,67	60,4 ± 2,34	418±93	2765 ± 97
P ₀	? 0,07	? 0,05	? 0,07	<0,05	? 0,05	? 0,1

У выделенной когорты пациентов отмечалось прогрессирование заболевания, выражающееся увеличением средней преломляющей силы роговицы на $1,21 \pm 0,18$ дптр, максимальной преломляющей силы на 2,4 дптр. По данным оптикокогерентной томографии толщина роговицы снизилась в среднем на 47 ± 19 мкм за счет компактизации стромы и дальнейшего прогрессирования КК. Динамика остроты зрения и плотность эндотелиальных клеток роговицы не показали достоверно значимых различий. В связи с чем, у данной группы пациентов течение болезни интерпретировалось как прогрессирующее, и было решено выполнить повторный кросслинкинг.

Повторный УФ КЛР выполнялся по предложенной методике («Способ лечения эктатических заболеваний роговицы», патент РФ RU № 2510258 от 27.03.2014) с использованием аппарата «УФалинк» (рег. удост. № ФСР2009/05489) с дезэпителизацией роговицы. В послеоперационном периоде назначали местную антибактериальную и противовоспалительную терапию, после завершения эпителизации - кортикостероиды. Срок наблюдения после повторной процедуры составил 3 года.

В течение первых 3 месяцев после повторного кросслинкинга НКОЗ и КОЗ незначительно снизились – до $0,15 \pm 0,06$ и $0,45 \pm 0,58$, соответственно, в основном из-за развития выраженного псевдохейза, вызванного отеком роговицы и апоптозом кератоцитов. Толщина роговицы после полной

эпителизации увеличилась до 439 ± 112 мкм. Преломляющая сила роговицы в среднем составила $55,87 \pm 2,15$ дптр ($p_0 > 0,1$).

Через 6 месяцев роговица восстановила свою прозрачность в 15 случаях (79%), пациенты могли пользоваться контактными линзами, острота зрения достигала дооперационного уровня, средняя преломляющая сила роговицы Каве снижалась с исходных $54,63 \pm 0,67$ до $52,86 \pm 1,2$ дптр, максимальная Ктах снизилась с $60,4 \pm 2,34$ до $58,91 \pm 8,75$ дптр.

Демаркационная линия верифицировалась четко и залегала на различной глубине от 240 до 320 мкм, постепенно исчезала в сроки с 2 по 6 месяцы (Рисунок 58 а и б).

После повторного КЛР улучшение клинических показателей отмечено в 17 случаях (89,5%), а в 2 случаях (10,5%) они оставались стабильными, на уровне дооперационных.





Рисунок 58 - Демаркационная линия после повторного УФ КЛК: А - глубокая (1 месяц); Б - поверхностная слабовыраженная (6 месяцев).

В последующие сроки наблюдения (1-3 года) после повторной процедуры оптометрические показатели были стабильны и представлены в таблице 23.

Таблица 23 - Основные клинические показатели до и после повторного УФ КЛР

Срок	Показатели					
	НКОЗ	КОЗ	Kave (дптр)	Kmax (дптр)	ТР (мкм)	ПЭК
до	0,29±0,1 5	0,57±0,12	54,63±0,67	60,4±2,3 4	418±93	2765±97
1 год	0,22±0,1	0,6±0,12	49,3±0,44*	56,9±6,7 6*	427±74	2698±10 1
3 года	0,39±0,1 2*	0,65±0,81	50,86±1,2*	55,8±2,3 4*	418±93	2701±71

Примечание: * - достоверность различий $P_0 \leq 0,05$

На клиническом примере видно, как прогрессировало заболевание в течение года после ТЭ-КЛР и его регресс через год после повторного УФ КЛР (Рисунок 59).

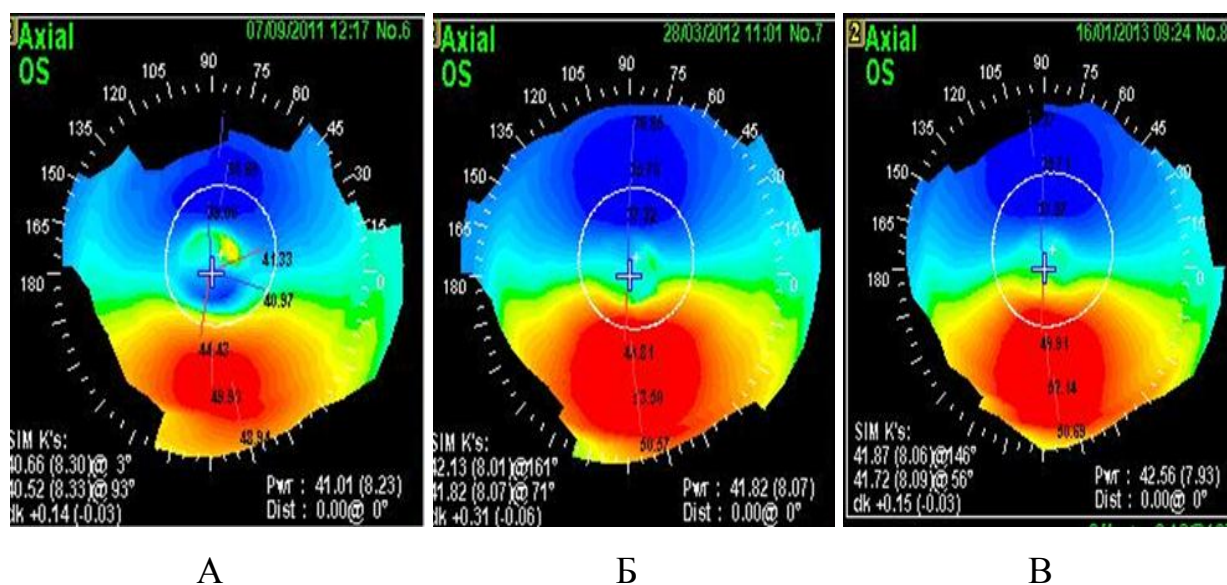


Рисунок 59 - Кератотопограмма глаза пациента: А – до лечения; Б – после первичного ТЭ-КЛР; В – после повторного кросслинкинга.

Отмечена стабилизация процесса во всех 19 глазах, статистически значимое снижение показателя средней кератометрии в среднем на $3,77 \pm 1,19$ дптр, максимальной преломляющей силы – на $4,6 \pm 2,23$ дптр, а также повышение НКОЗ на 1 строчку. В динамике изменения толщины роговицы, ПЭК и скорректированной остроты зрения не показали статистически значимой разницы. Ни в одном случае после повторной процедуры УФ КЛР при кератоконусе не отмечено интра- и послеоперационных осложнений.

Таким образом, прогрессирующее течение кератоконуса с различной частотой может наблюдаться после применения любого протокола УФ КЛР. При сравнительной оценке ранее проведенных клинических исследований стабильное течение отмечалось при выполнении стандартного протокола (~95%), эффективность при акселерированном также высокая (~83%), а при трансэпителиальном наименьшая (~51%). При этом выполнение повторного УФ КЛР в сроки от 2 до 5 лет не сопровождается какими-либо осложнениями.

Кросслинкинг роговицы играет важную роль в предупреждении прогрессирования кератоконуса. Краткосрочные результаты показывают уменьшение преломляющей силы и незначительную динамику остроты зрения

и толщины роговицы. В настоящее время все чаще применяются модифицированные протоколы кросслинkinга, в числе которых трансэпителиальный УФ КЛР, показывающий эффективность в ранние сроки наблюдения. Однако сравнительная оценка протоколов свидетельствует о большей эффективности применения длительного облучения и дезэпителизации по сравнению с трансэпителиальным.

В отдельных исследованиях сообщается о прогрессировании КК через 4-5 лет после КРК, что свидетельствует о толерантных формах заболевания [208]. В большинстве случаев прогрессирование отмечается у пациентов при исходно больших значениях преломляющей силы роговицы, более 58 дптр в сроки до 2-3 лет (Turhan S.A., 2020). Также отмечена меньшая эффективность кросслинkinга при прогрессирующем КК у подростков и при эксцентричном расположении апекса конуса (Kuechler S.J., O'Brart D.P., 2015).

Динамическое исследование толщины роговицы показало изменения в течение первых 3 лет у большинства пациентов. Уменьшение толщины роговицы связано с компактизацией и не носит клинически значимый характер при оценке эффективности процедуры. Также, ни в одном случае в сроки до 10 лет после однократной и 3-х лет после повторной процедуры УФ КЛР мы не отмечали неблагоприятного воздействия и развитие осложнений, что может свидетельствовать о безопасности процедуры, даже после повторного его проведения.

Следовательно, повторный кросслинkinг в лечении кератоконуса показал высокую эффективность и безопасность процедуры в 100% случаев, развитие незначительного хейза – в 10,5% случаев и снижение средней преломляющей силы роговицы – на $3,77 \pm 1,19$ дптр, который в конечном итоге, способствовал стабилизации процесса. Учитывая высокую эффективность стандартного протокола, он является предпочтительным при повторном проведении УФ КЛР.

ГЛАВА 7. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ РОГОВИЦЫ ПОСЛЕ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО КРОССЛИНКИНГА

7.1. Демаркационная линия стромы и ее роль для оценки эффективности процедуры

Эффективность процедуры УФ КЛР может косвенно оцениваться на основании послеоперационных изменений топографии роговицы, морфологических изменений переднего отрезка глаза по данным ОКТ и конфокальной микроскопии. Важным в оценке объема и глубины изменений в ткани роговицы в результате проведения УФ КЛР может служить выявление в ней так называемой демаркационной линии (ДЛ), которая представляет собой линию раздела между слоем стромы, подвергнутым кросслинкингу, и интактным слоем. Демаркационная линия, как правило, появляется, начиная со 2-й недели после УФ КЛР и сохраняется в течение трех месяцев на различной глубине стромы в зависимости от применяемого протокола кросслинкинга. Эффективность УФ КЛР может косвенно оцениваться по уплощению центральной зоны роговицы, однако в ряде случаев отмечается прогрессивный характер эктатического процесса в периферической зоне роговицы. В результате выполнения УФ КЛР мы отмечали различия в глубине залегания ДЛ в центральном и периферических секторах роговицы (в 3 мм назальнее и темпоральнее центра). При применении стандартного протокола УФ КЛР, в отличие от акселерированного и трансэпителиального, выявлено более глубокое залегание демаркационной линии, что может объяснить различную клиническую эффективность в результате применения этих протоколов.

Для сравнительного анализа эффективности протоколов кросслинкинга выполнялась оценка топографической локализации демаркационной линии в

роговице после стандартного, акселерированного и трансэпителиального УФ КЛР.

Под наблюдением находился 81 пациент (95 глаз) с КК 1–3-й стадии по классификации Amsler-Kruimerich. У всех пациентов отмечалось прогрессирующее течение заболевания, выражающееся в увеличении максимальной преломляющей силы роговицы $>1,0$ дптр и цилиндрического компонента рефракции $>1,0$ дптр или повышением сферического компонента рефракции $>0,5$ дптр в течение 1 года. Возраст пациентов варьировал от 18 до 42 лет (в среднем $25 \pm 4,3$ года), толщина роговицы составляла в среднем 457 ± 25 мкм, максимальная преломляющая сила роговицы K_{max} — $50,1 \pm 2,6$ дптр.

Пациенты были подразделены на 3 группы в зависимости от применяемого протокола: в 1 группе (37 пациентов – 42 глаза) был выполнен УФ КЛР по стандартному «Дрезденскому» протоколу с 0,1%-ным водным раствором рибофлавина (деэпителизация 8 мм, время насыщения 30 минут, облучение 30 минут при мощности 3 мВт/см²), во 2-й группе (23 пациента – 31 глаза) – по акселерированному протоколу с 0,1% водным раствором рибофлавина (деэпителизация 8 мм, время насыщения 30 минут, облучение 10 минут при мощности 9 мВт/см²) и в 3-ей группе (21 пациент – 22 глаза) – по трансэпителиальному протоколу с ионофорезом 0,1%-ным водным раствором рибофлавина (время насыщения 15 минут, сила тока 1 мА, облучение 30 минут при мощности 3 мВт/см²).

В послеоперационном периоде в первых двух группах накладывали временную мягкую бандажную контактную линзу на трое суток, проводили антибактериальную терапию в течение 10 дней, а после полной эпителизации — локальную терапию кортикостероидами. Для оценки локализации демаркационной линии пациентам выполняли ОКТ переднего отрезка глаза в центральной зоне, в 3–6-мм зоне темпорально, 3–6-мм зоне назально, в

верхнем и нижнем секторах с использованием аппарата DRI OCT Triton (Торсон, Япония). Исследования проводили до кросслинкинга роговицы, через 2 недели, 1 и 3 месяца.

Во всех случаях операция прошла без осложнений. Полная эпителизация роговицы наступила на 3–5-й день после процедуры.

В послеоперационном периоде ни в одном случае не наблюдалось осложнений инфекционного характера или помутнений роговицы. Через 2 недели биомикроскопически определялся легкий псевдохейз, при этом по данным ОКТ в 18 случаях (19%) слой роговицы, подвергшийся кросслинкингу, отграничивался от интактного слоя еле заметной прерывистой демаркационной линией, преимущественно на периферии роговицы (Рисунок 60).

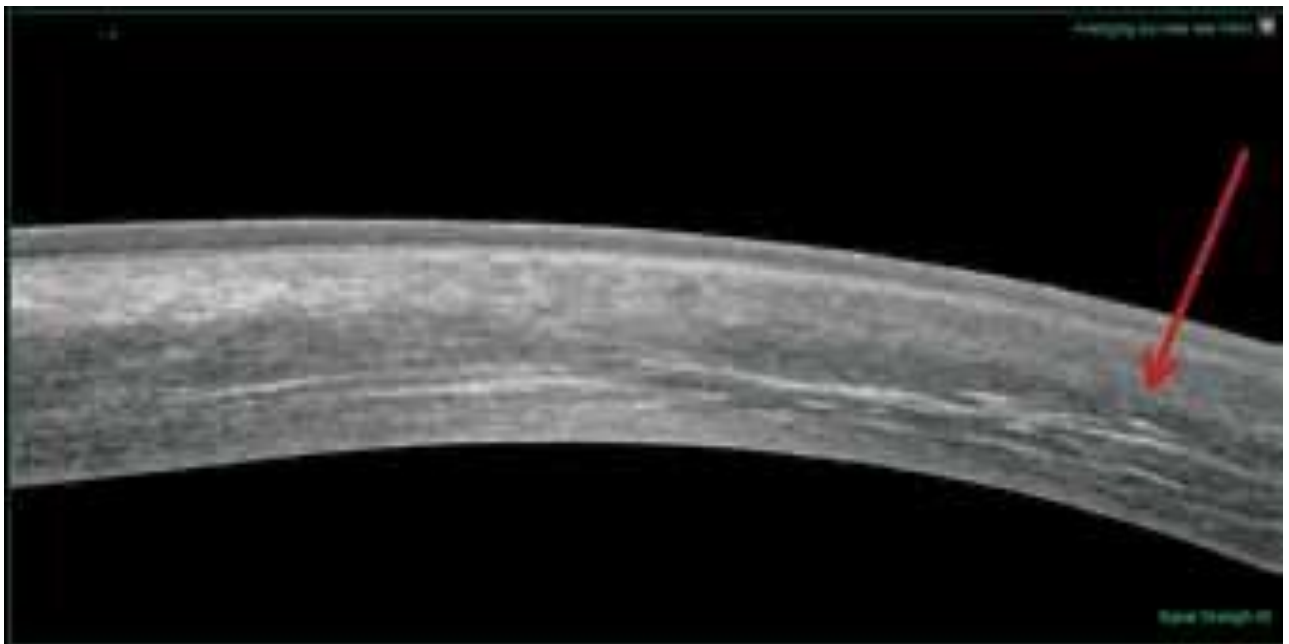


Рисунок 60 - Неравномерная прерывистая демаркационная линия через 2 недели после кросслинкинга роговицы (указана стрелкой).

1-я группа - после стандартного кросслинкинга

Через 1 месяц в 1-й группе ДЛ была выявлена в 31 глазу (74%), она располагалась на различной глубине в центральной и периферической зоне

роговицы. При биомикроскопии ДЛ отграничивала передний и средний слои стромы от заднего. Глубина залегания стромальной демаркационной линии по данным ОКТ в центре составляла в среднем $305,73 \pm 41,08$ мкм (диапазон 282–345 мкм), назально — $215,16 \pm 35,5$ мкм (диапазон 160–289 мкм) и темпорально — $205,23 \pm 32,81$ мкм (диапазон 190–276 мкм). Во всех случаях выявлено достоверно значимое различие в глубине локализации ДЛ в центральной зоне роговицы и зоне 6 мм от центра ($p < 0,001$). Это подтверждалось данными обзорных томограмм роговицы, на которых ДЛ в центральной зоне залегала глубже (Рисунок 61), а по направлению к периферии — более поверхностно (Рисунок 62).

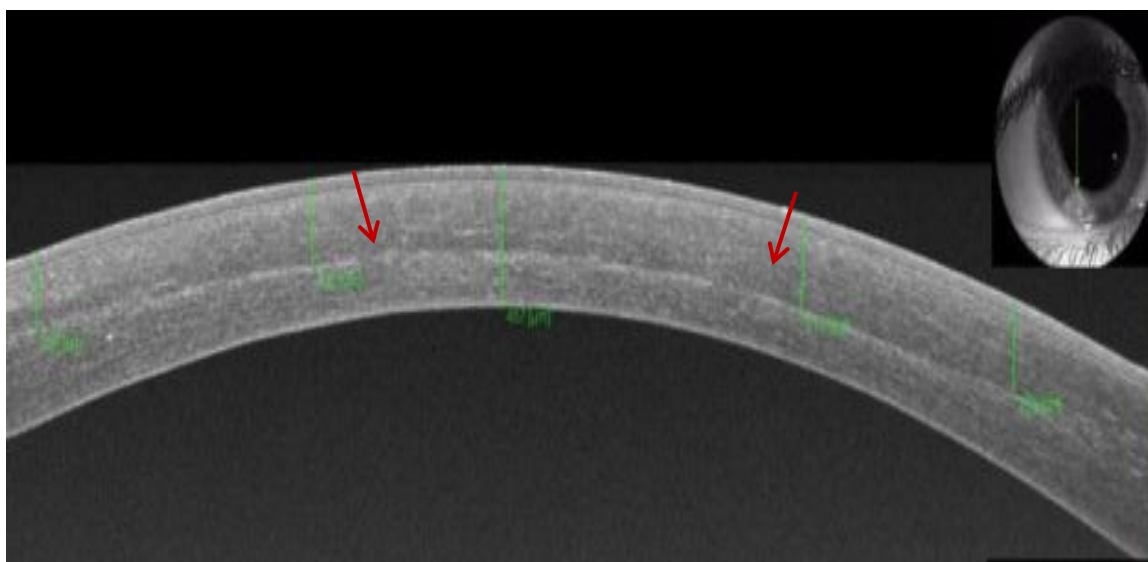


Рисунок 61 - Обзорная оптическая когерентная томограмма роговицы в горизонтальном меридиане (стрелкой указана демаркационная линия).

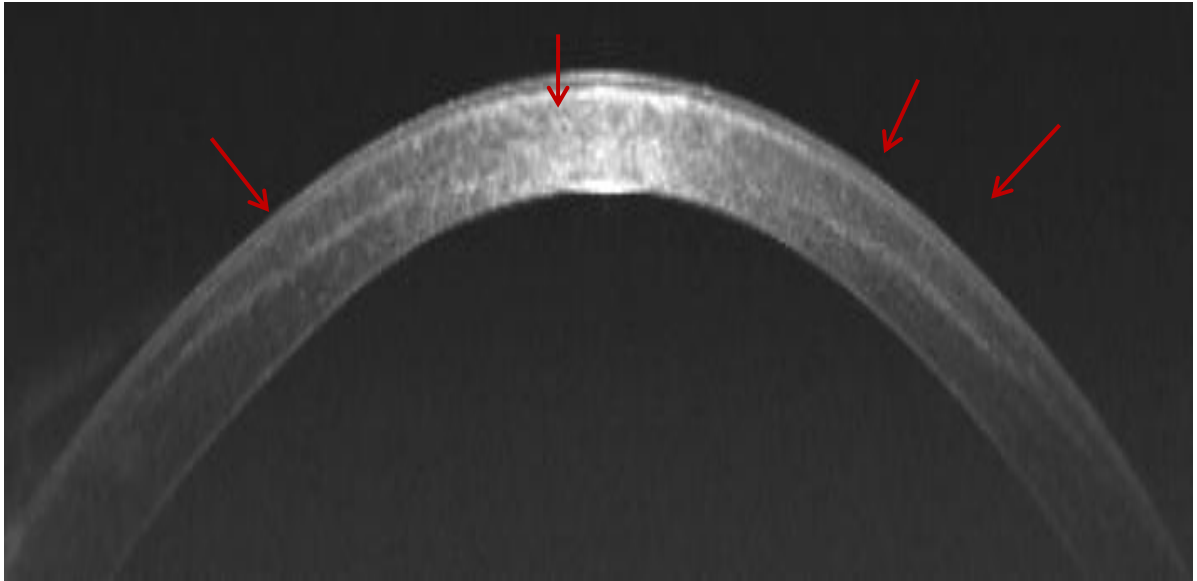


Рисунок 62 - Обзорная оптическая когерентная томограмма роговицы в горизонтальном меридиане (стрелкой указана демаркационная линия).

При сравнительной оценке показателей глубины локализации демаркационной линии между назальным, темпоральным, верхним и нижним секторами нами не выявлено статистически значимых различий. В отдельных случаях определялось более глубокое расположение ДЛ в верхнем секторе — в среднем на уровне $232,11 \pm 24,5$ мкм. Однако статистических значимых различий между показателями глубины ДЛ верхнего сектора и остальными периферическими участками не отмечалось ($p > 0,07$). Не было выявлено статистически значимых различий в глубине залегания стромальной демаркационной линии между верхним и нижним сектором роговицы ($p > 0,05$).

Через 3 месяца ДЛ верифицировалась только в 13 глазах (31%) и залегала на глубине $215,52 \pm 67,98$ мкм (диапазон 192–267 мкм) в центральной области роговицы (Рисунок 63).



Рисунок 63 - Поверхностное расположение демаркационной линии (указана стрелкой) в темпоральном и ниже-темпоральном секторе.

Через 3 месяца после УФ КЛР при биомикроскопии переднего отрезка глаза псевдохейз не определялся, а ДЛ выявлялась единично. Если рассматривать топографически от центра к периферии, то глубина расположения ДЛ: в центре составила в среднем $215,52 \pm 67,98$ мкм, назально — $201,15 \pm 27,5$ и темпорально — $190,13 \pm 43,58$ мкм. Сохранялось достоверно значимое различие в глубине локализации ДЛ в центральной зоне роговицы и 6-мм периферической зоне ($p < 0,01$). В периферических секторах ДЛ была выявлена только в 5 случаях (12%). Статистически значимых различий в глубине залегания демаркационной линии между отдельными периферическими секторами не отмечалось ($p > 0,07$), как и между показателями верхней и нижней зон роговицы ($p > 0,05$).

Через 6 месяцев после УФ КЛР демаркационная линия верифицировалась единично и объективно оценить ее топографию не удавалось. После выполнения стандартного кросслинкинга роговицы ДЛ, как показано в данной работе, в большинстве случаев (74%) выявлялась через 1

месяц. Время появления и исчезновения ДЛ вариабельно и зависит, вероятно, от выраженности морфологических изменений в роговице, однако в сроки после 4 месяцев ее верифицировать представляется проблематичным.

2-я группа - после аксселерированного кросслинкинга

Через 1 месяц в 1-й группе ДЛ была выявлена в 22 глазах (71%), она также располагалась на различной глубине по направлению от центра к периферии. Биомикроскопически ДЛ выявлялась не отчетливо, сопровождаясь в ранние сроки незначительным псевдохейзом. В центральной зоне ДЛ располагалась на глубине в среднем $214,73 \pm 42,18$ мкм (диапазон 184–245 мкм), назально — $163,26 \pm 34,5$ мкм (диапазон 134–177 мкм) и темпорально — $172,15 \pm 43,81$ мкм (диапазон 154–196 мкм). Как правило, различия в глубине залегания ДЛ в центре и на периферии показывали статистически достоверную разницу ($p < 0,01$), тогда как в отдельных секторах на периферии эта разница не оказалась значимой ($p < 0,1$). На данных ОКТ также выявлялась демаркационная линия преимущественно в средних слоях стромы роговицы (Рисунок 64).



Рисунок 64 - Обзорная оптическая когерентная томограмма роговицы в горизонтальном меридиане (стрелкой указана демаркационная линия).

Через 3 месяца ДЛ линия верифицировалась только в 8 глазах (26%) и залегала на глубине $168,13 \pm 36,5$ мкм в центральной области роговицы (Рисунок 65).



Рисунок 65 - Поверхностное расположение демаркационной линии (стрелкой указана демаркационная линия).

Через 3 месяца после кросслинкинга и позже при биомикроскопии переднего отрезка глаза псевдохейз не определялся.

3-я группа - после трансэпителиального кросслинкинга

Через 1 месяц в 1-й группе ДЛ была выявлена в 10 глазах (47%), располагающаяся в более поверхностных слоях — в среднем на глубине $158,33 \pm 38,12$ мкм в центре (диапазон 127–201 мкм), назально — $129,15 \pm 28,52$ мкм и темпорально — $134,21 \pm 23,88$ мкм (Рисунок 66).



Рисунок 66 - Обзорная оптическая когерентная томограмма роговицы после ТЭ – КЛР в горизонтальном меридиане (стрелкой указана демаркационная линия).

В сроки через 3 месяца после процедуры ТЭ КЛР демаркационная линия уже не верифицировалась.

Сравнительная оценка показателей глубины локализации демаркационной линии с использованием различных протоколов показала существенную разницу. Применение более длительного облучения с низкой мощностью (на примере стандартного протокола) способствовало более глубоку проникновению УФ в строму роговицы, с чем были связаны характерные морфологические изменения роговицы с формированием демаркационной линии на большей глубине.

После выполнения стандартного УФ КЛР демаркационная линия, по нашим данным, в большинстве случаев выявлялась через 1 месяц в 74% случаев против 71% - при акселерированном и 46% - при трансэпителиальном протоколе. Верификация демаркационной линии в

различные сроки в зависимости от применяемого протокола была различной и представлена в таблице 24.

Таблица 24 - Глубина залегания стромальной/роговичной/демаркационной? линии в различные сроки

Протокол КЛР	Сроки наблюдения			
	1 месяц	3 месяца	6 месяцев	Число глаз
С-КЛР	74%	31%	2,4%	42
А-КЛР	71%	26%	-	31
ТЕ-КЛР	47%	-	-	22

Как показано, демаркационная линия определяется не всегда после УФ КЛР, однако во всех случаях в центральных зонах она находится глубже. В данном исследовании показано, что демаркационная линия в 3-6 мм парацентральной зоне роговицы располагается на 19-33% более поверхностно, чем в центре в зависимости от выбранного протокола. Отмечены также различия в глубине залегания ДЛ от центра к периферии после выполнения УФ КЛР в зависимости от протокола: различия более выражены от стандартного к акселерированному и трансэпителиальному, соответственно (Рисунок 67).

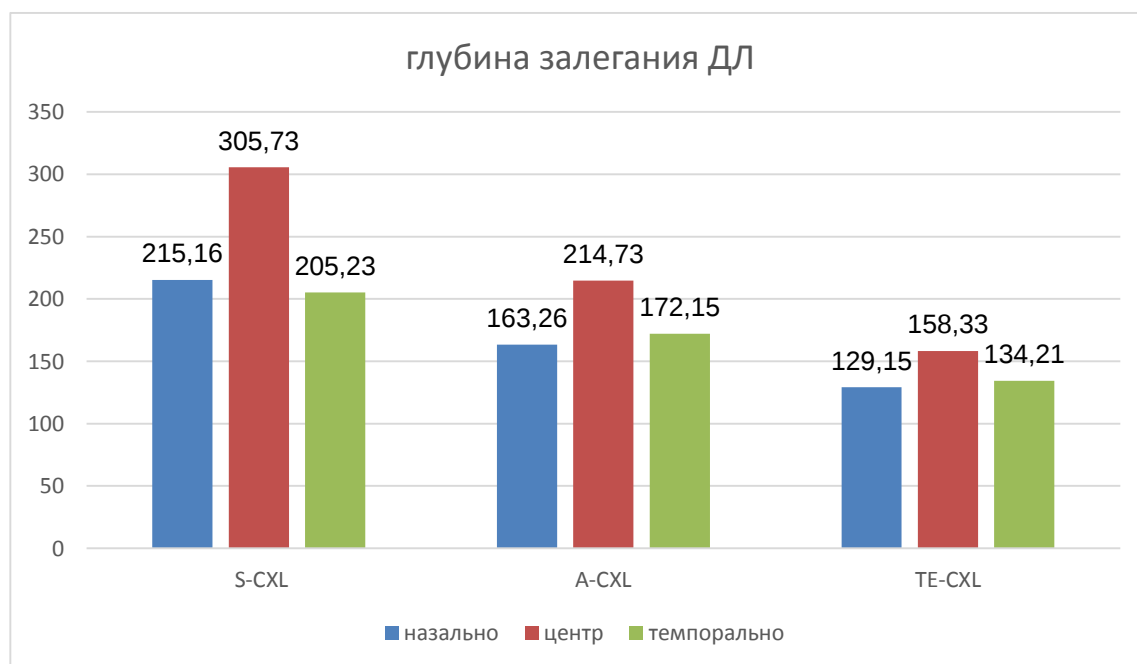


Рисунок 67 - Топографическая локализация демаркационной линии после различных протоколов кросслинкинга.

Выполнение процедуры по стандартному протоколу показало более высокую клиническую эффективность, что подтверждало наличие демаркационной линии в большинстве случаев. Постепенно, в течение 3–4 месяцев после С-КЛР демаркационная линия истончается и исчезает по мере восстановления популяции кератоцитов и ткани роговицы. Нами выявлено статистически значимое различие в частоте выявления ДЛ в различные сроки после УФ КЛР. Так, демаркационная линия определяется в среднем значительно чаще, а именно в 74% случаев, через 1 месяц после стандартного УФ КЛР, через 3 месяца — в 31% случаев, при акселерированном — соответственно в 71% и 26%, а при трансэпителиальном — в 46% случаев через 1 месяц, а через 3 месяца вовсе не верифицировалась. Это следует учитывать для оценки выраженности фотохимического процесса в ткани роговицы при динамическом наблюдении пациентов с эктатическими заболеваниями.

Неравномерное залегание демаркационной линии в отдельных секторах роговицы может объясняться различными причинами. Одна из них

заключается в анатомических особенностях роговицы: в центре она тоньше, чем на периферии. Это обуславливает более глубокое проникновение УФ-излучения в центральной зоне роговицы, что вызывает апоптоз клеток в глубжележащих слоях. Другой причиной выявленного различия в глубине залегания демаркационной линии может служить отсутствие гомогенности луча УФ-излучателя. Согласно заявленным данным, отдаленность источника излучения от поверхности роговицы при проведении УФ КЛР составляет 2,5–3,0 см. На такой дистанции достигается оптимальная плотность энергии излучения в $5,4 \text{ Дж/см}^2$. При удалении от центра на каждые 3 мм приходится потеря 15% мощности излучения, что приводит к меньшей эффективности процедуры на периферии роговицы.

Следовательно, наличие стромальной демаркационной линии после УФ КЛР может косвенно расцениваться как показатель эффективности процедуры. Различная глубина залегания демаркационной линии в строме в центре и на периферии объясняется анатомическими особенностями топографии роговицы и физическими характеристиками применяемого для лечения облучателя. Для повышения эффективности УФ КЛР необходимо учитывать эти особенности в разработке новых протоколов и при совершенствовании технического обеспечения.

Демаркационная линия роговицы является одним из показателей глубины фотохимического процесса сшивания коллагена ткани роговицы. Оптимальные сроки выявления демаркационной линии после УФ КЛР составляют 1 месяц (диапазон от 2 недель до 3 месяцев). Дальнейшее совершенствование технологии УФ КЛР должно быть направлено на обеспечение равномерной интенсивности облучения в центральной и периферических зонах роговицы для достижения полноценного процесса сшивания коллагеновых волокон роговицы и с учетом ее анатомических особенностей.

Следовательно, демаркационная линия - характерное морфологическое изменение в роговице после Уф-кросслинкинга и служит косвенным показателем эффективности выполненной процедуры.

7.2. Конфокальная микроскопия роговицы после различных протоколов ультрафиолетового кросслинкинга роговицы

Прижизненная конфокальная биомикроскопия представляет собой метод исследования тканей в состоянии физиологической жизнедеятельности. Оценка морфологического состояния роговицы позволяет интерпретировать тяжесть патологического процесса в ткани, а также эффективности выполненного лечения и определения дальнейшей тактики ведения больного. При КК конфокальная лазерная сканирующая микроскопия (HRT III, HeidelbergEngineering, Германия) позволяет детально исследовать структурные изменения всех слоев роговицы.

Известно, что эпителий при КК поражается значительно реже, а эпителиопатия и субэпителиальные изменения наблюдаются в 5,7% случаев и развиваются у пациентов в поздней стадии заболевания. В боуменовой мембране появляются помутнения серого цвета, разбросанные в виде мозаики в зоне конуса на большем или меньшем протяжении. Строма роговицы вовлечена в патологический процесс куда более интенсивно, что может быть информативным для оценки патологических процессов также на фоне лечебных мероприятий. Выраженность изменений может варьировать от изменения рефлексивных свойств ткани в передних слоях стромы на начальных стадиях, до уменьшения плотности кератоцитов в развитой стадии в задней строме и их дезориентация. В средних и задних слоях могут встречаться также микрострии. В развитой и далеко зашедшей стадиях заболевания на фоне выраженных дегенеративных изменений (уменьшение количества кератоцитов, нарушение целостности коллагеновых волокон)

происходит гомогенизация стромы и формирование в последующем бесклеточной рубцовой ткани. Изменения в десцеметовой мембране и эндотелии характерны для далекозашедшей стадии заболевания и при развитии острого КК, которые проявляются в виде трещин, разрывов, а также утолщений. В ряде случаев изменения эндотелия роговицы при заднем КК могут встречаться даже на самых ранних стадиях болезни в виде усиления эндотелиального рефлекса, полиморфизма эндотелиальных клеток. Эти изменения, как правило, возникают одновременно с «разрежением» стромы.

Наиболее характерным морфологическим изменением после УФ КЛР являются: развитие отека стромы, потеря поверхностных нервных волокон, флюктуация плотности клеточной структуры за счет усиленного апоптоза и репопуляции кератоцитов и при патологическом воздействии изолированное повреждение эндотелия.

Для оценки безопасности и эффективности различных протоколов кросслинкинга нами было проведено исследование морфологических изменений роговицы.

Под наблюдением находились 118 пациентов (143 глаза) с кератоктазиями: I-III стадии КК по классификации Amsler (1961), пеллюцидной дегенерацией роговицы, вторичными ятрогенными кератоктазиями. Пациентам I группы — 58 человек (70 глаз) — выполняли УФ КЛР по Дрезденскому протоколу, II группы — 22 человека (31 глаз) — по акселерированному протоколу (9 мВт/мс^2 – 10 минут) и III группы — 38 человек (42 глаза) — трансэпителиальный (ионофорез с 0,1% рибофлавином с силой тока до 1,0 мА в течение 10 минут и облучение 3 мВт/см^2 – 30 минут).

Всем обследуемым пациентам, помимо стандартного офтальмологического обследования, проводилась конфокальная микроскопия роговицы на аппарате HRT-III (Heidelberg Engeneering, Германия) с подсчетом эндотелиальных клеток.

Во всех группах интраоперационных осложнений не наблюдалось.

Дооперационно по данным конфокальной микроскопии у всех пациентов выявлялись характерные изменения роговицы в виде неравномерного рефлекса эпителиального слоя, усиления картины нервных волокон, снижение количества гипорефлективных кератоцитов на глубине до 250 мкм с плотностью составила в среднем 273 ± 19 на мм^2 . Плотность эндотелиальных клеток составила в среднем 2753 ± 69 клеток/ мм^2 .

После полной эпителизации в сроки 1, 6 и 12 месяцев после УФ КЛР проводилась конфокальная микроскопия со сравнительной описательной оценкой изменений нервного сплетения, плотности кератоцитов и изменений эндотелиального слоя.

В раннем послеоперационном периоде после деэпителизации конфокальная микроскопия показала эпителиопатию, выражающуюся повышенным количеством слущенных эпителиальных клеток. Кроме того, на изображениях эпителиальные клетки ядра казались ярче окружающей цитоплазмы. Более того, базальные эпителиальные клетки были полиморфными, и различались как по размеру, так и по яркости. Конфокальная микроскопия показала разное количество гиперотражений в мембране Боумена, что указывает на активную регенерацию кератоцитов. Прозрачность мембраны Боумена восстановилась через 1 месяц. Сроки появления изменений в передних слоях стромы в виде сот отмечались, начиная с 1 недели, и выражались наличием лакунарного отека, но ядра кератоцитов не визуализировались (Рисунок 68).

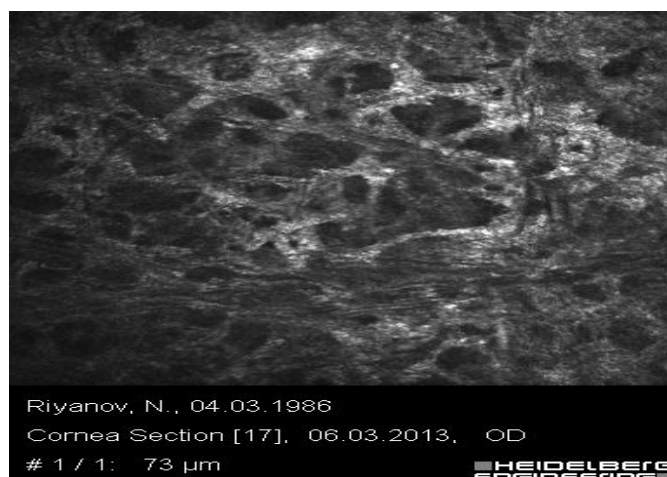


Рисунок 68 – Конфокальная микроскопия передней стромы роговицы (глубина 73 мкм). Лакунарный отек, ядра кератоцитов не визуализируются.

В ряде случаев наблюдались преходящие осложнения в виде помутнения роговицы (поверхностное стромальное) в послеоперационном периоде, которое исчезало в сроки от 1 недели до 2 месяцев в зависимости от применяемого протокола.

В I группе на 7 день после стандартного УФ КЛР в передней строме роговицы выявлялась гибель кератоцитов, визуально характеризующаяся появлением множественной сетчатой структуры в виде «пчелиных сот» на глубине до 250 мкм, глубже плотность кератоцитов составляла в среднем 202 ± 11 на мм^2 (Рисунок 69).



Рисунок 69 – Конфокальная микроскопия средней стромы роговицы. Лакунарный отек, снижение плотности кератоцитов.

Через 1 месяц суббазальное нервное сплетение практически не визуализировалось. Выявлялся значительный лакунарный отек стромы в виде пчелиных сот. Плотность кератоцитов составила 212 ± 18 кл/мм² в передней и средней строме на глубине до 300 мкм. В передней строме отмечали значительные изменения, которые включали полную облитерацию кератоцитов, повышенную отражательную способность тканей, лакунарный отек в виде «пчелиных сот» (Рисунок 68). Восстановление плотности кератоцитов и нервных волокон отмечалось через 6 месяцев. Эти изменения были менее выражены в средней и в задней части стромы (Рисунок 70), а на эндотелии изменений и вовсе не отмечалось (Рисунок 71).



Рисунок 70 - Конфокальная микроскопия задней стромы роговицы. Отек и снижение плотности кератоцитов не существенны (глубина (>350 мкм).

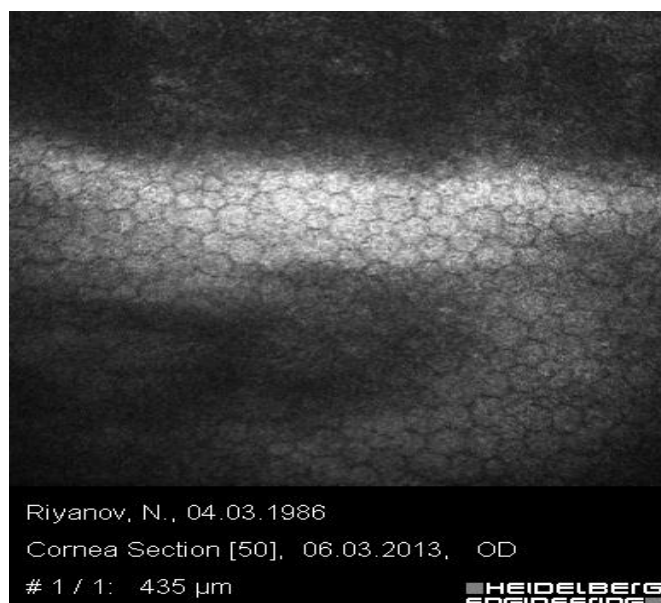


Рисунок 71 - Конфокальная микроскопия эндотелиального слоя роговицы.
Патологических изменений нет (глубина >435 мкм).

Через 12 месяцев прозрачность роговицы восстанавливалась за исключением 2 случаев (3%) развития стойкого хейза, характеризовавшихся легкой пролиферативной реакцией в субэпителиальном слое и в передних слоях роговицы. Плотность кератоцитов на глубине 100-250 мкм составила в среднем 265 ± 25 кл/мм². В глубжележащих слоях и эндотелии существенных изменений не наблюдалось.

Во II группе через 1 неделю после ускоренного УФ КЛР с дезэпителизацией в передней строме роговицы выявлена гибель кератоцитов, характеризующаяся менее выраженным лакунарным отеком на глубине 100-250 мкм, при этом плотность кератоцитов составляла в среднем 243 ± 14 кл/мм².

Через 1 месяц суббазальное нервное сплетение визуализировалось плохо, определялись единичные нервные волокна. Лакунарный отек стромы в виде «пчелиных сот» был также менее выражен по сравнению со стандартным протоколом УФ КЛР. Плотность кератоцитов составляла в среднем 232 ± 22 на

мм² на глубине до 250 мкм. В передней строме выявлены незначительные изменения, кератоциты визуализировались в небольшом количестве.

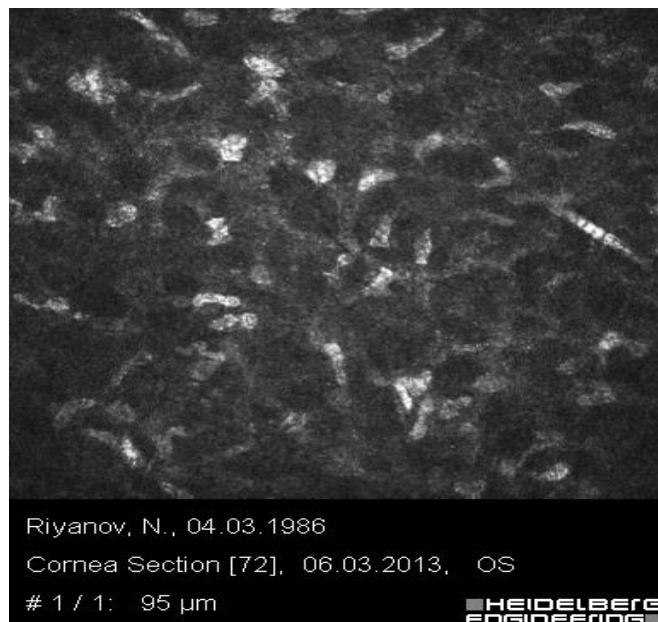


Рисунок 72 - Конфокальная микроскопия передней стромы роговицы, срок 1 месяц (глубина ~100 мкм). Кератоциты в незначительном количестве.

Репарация роговицы и полная репопуляция кератоцитов наблюдалась в сроки до 6 месяцев. На данном сроке морфологическое состояние роговицы соответствовало дооперационным показателям (Рисунок 73).



Рисунок 73 - Конфокальная микроскопия задней стромы роговицы. Отек отсутствует, кератоциты определяются (глубина (>350 мкм)).

В сроки до 12 месяцев полное восстановление роговицы завершалось. Пролиферативных изменений в глазах после ускоренного УФ КЛР не наблюдалось. Плотность кератоцитов составила в среднем 271 ± 15 кл/мм². Глубокие слои роговицы и эндотелий оставались без изменений.

Во III группе после трансэпителиального УФ КЛР выраженного апоптоза кератоцитов не наблюдалось, отек стромальной ткани на глубине до 200 мкм был незначительным, при этом плотность кератоцитов составляла в среднем 270 ± 24 кл/мм².

Через 1 месяц видимых повреждений суббазального нервного сплетения и пораженных нервных волокон не определялось. Отек стромы был минимальный по сравнению со стандартным и акселерированным протоколами УФ КЛР. Плотность кератоцитов составляла в среднем 263 ± 22 кл/мм². Изменений в средних и глубоких слоях роговицы не наблюдалось.

В сроки до 12 месяцев состояние роговицы соответствовало дооперационному. Пролиферативных изменений, равно как и осложнений, после трансэпителиального протокола не наблюдалось. Плотность

кератоцитов составила в среднем 279 ± 16 кл/мм². Глубокие слои роговицы и эндотелий оставались неизменными (Рисунок 74).

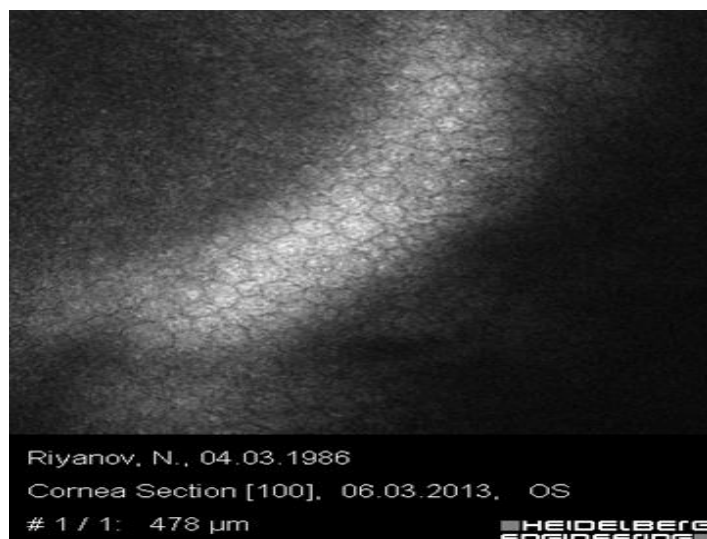


Рисунок 74 - Конфокальная микроскопия эндотелиального слоя роговицы.

Патологические изменения отсутствуют (глубина 478 мкм).

Сравнительная оценка плотности кератоцитов представлена в таблице 25.

Таблица 25 - Плотность кератоцитов на глубине 100-250 мкм по данным конфокальной микроскопии после различных протоколов УФ-КЛР (кл/мм²)

Протокол	Сроки наблюдения					Число глаз, n=142
	до	7 дней	1 мес	6 мес	12 мес	
С-КЛР	283±21	202±11 *	212±18 *	254±17	265±25	n=70
А-КЛР	266±20	243±14 *	232±22 *	266±21	271±15	n=30
ТЭ-КЛР	271±13	270±24	263±22	272±11	279±16	n=42

Примечание: * - достоверность различий $p < 0,05$

На основании проведенного исследования было выявлено, что при применении протоколов с деэпителизацией (стандартный и аксселерированный УФ КЛР) в течение 1 месяца в передней и средней строме (на глубине до 250 мкм) отмечались более значимые морфологические изменения в роговице со снижением плотности кератоцитов на 28,6% после С-КЛР, на 12,8% - после А-КЛР и на 3% - после ТЭ-КЛР (Таблица 25), а также

клинически значимый лакунарный отек. Патологические изменения более выражены после стандартного УФ КЛР. Вероятно, это связано с более агрессивным воздействием УФ-облучения и более существенными оксидативными процессами в роговице, которые могут в отдельных случаях вызвать пролиферативную реакцию.

Было установлено, что УФ КЛР не вызывает необратимых патологических процессов (не повреждает глубокие слои и эндотелиальный слой) в ткани роговицы, приводит к усиленному апоптозу кератоцитов, транзиторному лакунарному отеку в виде «пчелиных сот». Следует отметить, что выраженность морфологических изменений прямо коррелирует с наличием этапа деэпителизации и длительностью облучения. Процессы репарации в виде репопуляции кератоцитов, резорбции отека и восстановление прозрачности роговичной ткани начинается с 1-го месяца и практически завершается к 6 месяцу после процедуры.

Исследование гистоморфологической картины роговицы после УФ КЛР показало, что воздействие происходит исключительно на передние и средние слои стромы роговицы, не затрагивая задние ее слои и эндотелий, при этом ТЭ-КЛР в отличие от стандартного КЛР воздействует в передних слоях (на глубине 140-160 мкм).

Кросслинкинг роговицы оказывает воздействие на ткань роговицы, влияя на её морфологию, повышая коэффициент отражения внеклеточного матрикса, уменьшения и последовательного восстановления популяции кератоцитов.

7.3. Плотность макулярного пигмента как критерий оценки безопасности протоколов кросслинкинга

Известно, что оптическая плотность макулярного пигмента оказывает влияние на следующие аспекты: зрительный дискомфорт, нивелирование

фотостресса, адаптация к бликам от яркого света. Объективное измерение оптической плотности макулярного пигмента (ОПМП) является оправданным методом исследования при патологии центрального отдела сетчатки, вызванного первичными или вторичными патологическими процессами. Единичные сообщения о распределении макулярного пигмента и его влиянии на функциональные показатели при макулярной патологии отражают дистрофические процессы, вызванные основным заболеванием: макулодистрофией, диабетическим макулярным отеком (ДМО). Аналогичный подход оценки патологических изменений макулярной области можно применить при ятрогенном воздействии.

Таким образом, определение плотности макулярного пигмента и его взаимосвязи с функциональными и морфологическими показателями центральной области сетчатки после УФ КЛР может служить дополнительным диагностическим критерием оценки характера индуцированного патологического процесса.

Фото-регистрация глазного дна с измерением ОПМП осуществлялась методом рефлектометрии с использованием немидриатической фундус-камеры VISUCAM 500® (CarlZeissMeditecAG). Используя показатели фундус-камеры (Volume, Area, Max, Mean) в режиме MPOD производилось определение ОПМП.

Интерпретируя результаты исследований ОПМП, анализировались графические картограммы в виде профилей пространственного распределения макулярного пигмента, а также в качестве измеренных значений (средней оптической плотности, максимальной оптической плотности, объема и области) (Рисунок 75).

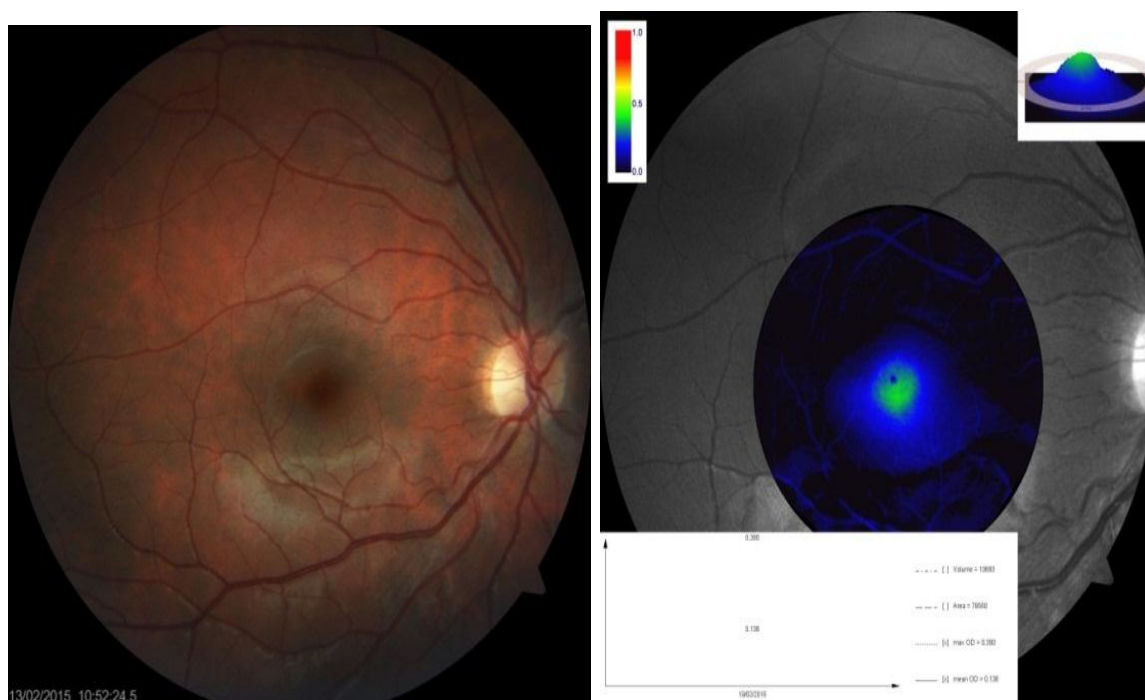


Рисунок 75 - Фотография глазного дна и картограмма ОПМП.

Для исследования оценки безопасности протоколов сформированы группы пациентов с КК, которым в последующем выполняли наиболее эффективный «Дрезденский» (стандартный) протокол УФ КЛР с наибольшей пенетрационной способностью и высокой дозой излучения. Во II исследуемой группе проводилась процедура трансэпителиального кросслинкинга, как наиболее щадящий протокол с низкой пенетрационной способностью. Сравнительная оценка этих двух протоколов может выявить роль УФ-излучения в индукции патологических процессов в макулярной зоне на фоне окислительных процессов в сетчатке.

Были отобраны 39 пациентов (42 глаза) с КК I-III стадии по классификации Amsler, которые были подразделены на 2 группы в зависимости от применяемого протокола УФ КЛР: в I группу вошли пациенты после стандартного кросслинкинга (27 глаз), II группу — 13 глаз — после трансэпителиального (ионофорез с 0,1% рибофлавином с силой тока до 1,0 мА в течение 10 минут и облучение 3 мВт/см^2 — 30 минут). В качестве контроля

были отобраны лица без офтальмологической патологии той же возрастной группы. Средний возраст пациентов составил $24,4 \pm 7,6$ лет.

В результате анализа полученных данных нами не были выявлены статистически значимые нарушения структуры сетчатки и распределения ОПМП у пациентов с КК (I группа) по сравнению со II группой контроля у здоровых лиц без глазной и системной патологии (Таблица 26). Вероятно, это связано с особенностями оптической системы глаза пациентов с КК и незначительными погрешностями оптических свойств роговицы.

Таблица 26 - Средние показатели ОПМП у пациентов

	Максимальное значение оптической плотности (du)	Среднее значение оптической плотности OD (du)	Площадь распределения макулярного пигмента (pixel)	Объем макулярного пигмента (du x pixel)
I группа	$0,281 \pm 0,03$	$0,156 \pm 0,07$	$51570 \pm 13145,22$	$7487 \pm 1145,16$
II группа	$0,393 \pm 0,02$	$0,145 \pm 0,01$	$63651 \pm 15234,23$	$8702 \pm 3043,23$
контроль	$0,456 \pm 0,04$	$0,189 \pm 0,03$	$72678 \pm 11245,33$	$9312 \pm 4145,14$

Примечание: * - достоверные различия по сравнению с контрольной группой ($p > 0,1$). du = density units; OD = optical density

Снижение показателей ОПМП в макулярной зоне по результатам исследования происходит, вероятно, по причине рассеивания света и нарушении прозрачности оптических сред, что требует дальнейшего изучения (Рисунок 76).

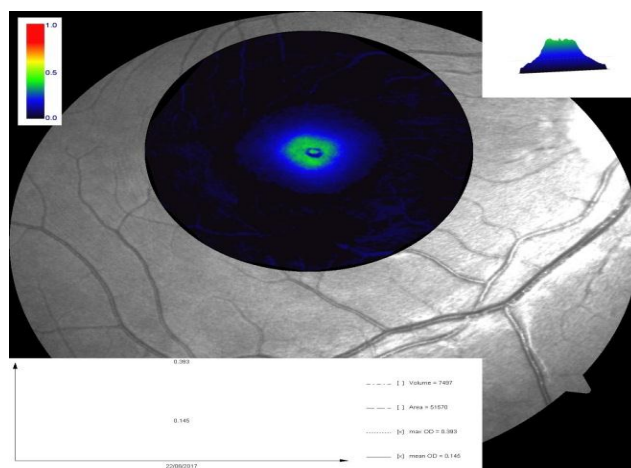


Рисунок 76 – картограмма ОПМП у пациента с КК.

Снижение показателей оптической плотности макулярного пигмента после процедуры кросслинкинга происходит, вероятно, вследствие экранирования излучения от измененной роговицы, а также по причине рассеивания в процессе формирования послеоперационного стромального отека, что требует дальнейшего изучения (Рисунок 77).

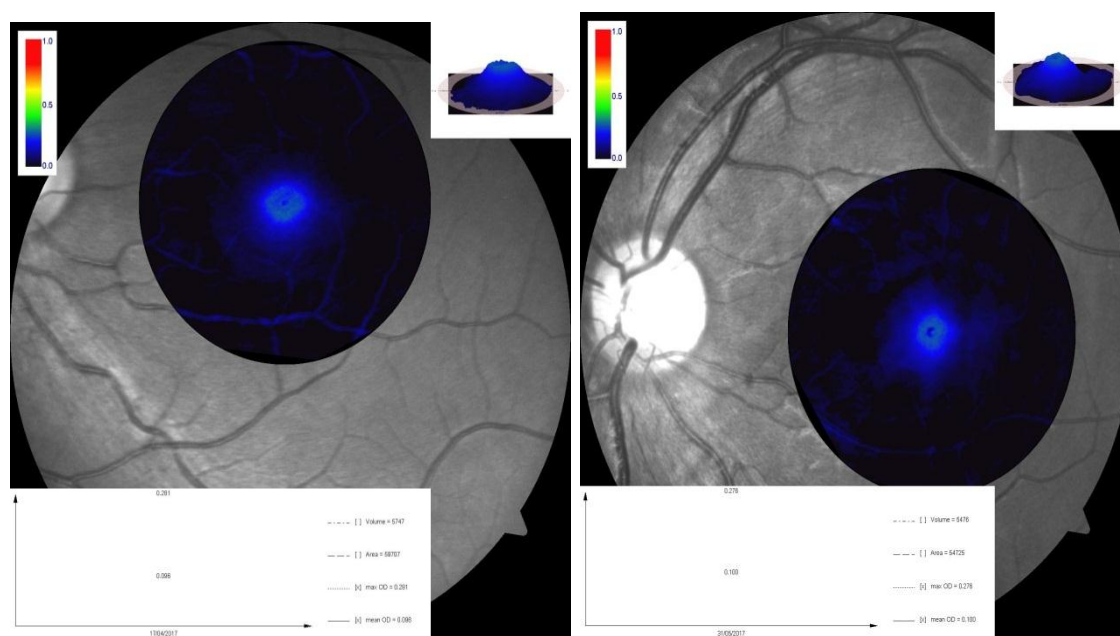


Рисунок 77 – Картограмма ОПМП у пациента с КК до и после УФ КЛР.

Если при патологии макулярной зоны, диабетическом макулярном отеке выявлено резкое снижение показателей ОПМП, определяющееся, по-видимому, его рассеиванием, то у пациентов с КК данное явление изначально исключено. Вероятно, результат носит субъективный характер ввиду индивидуальных особенностей оптической системы глаза, так как объективно видимых патологических изменений в макулярной области не определяется (Рисунок 78).

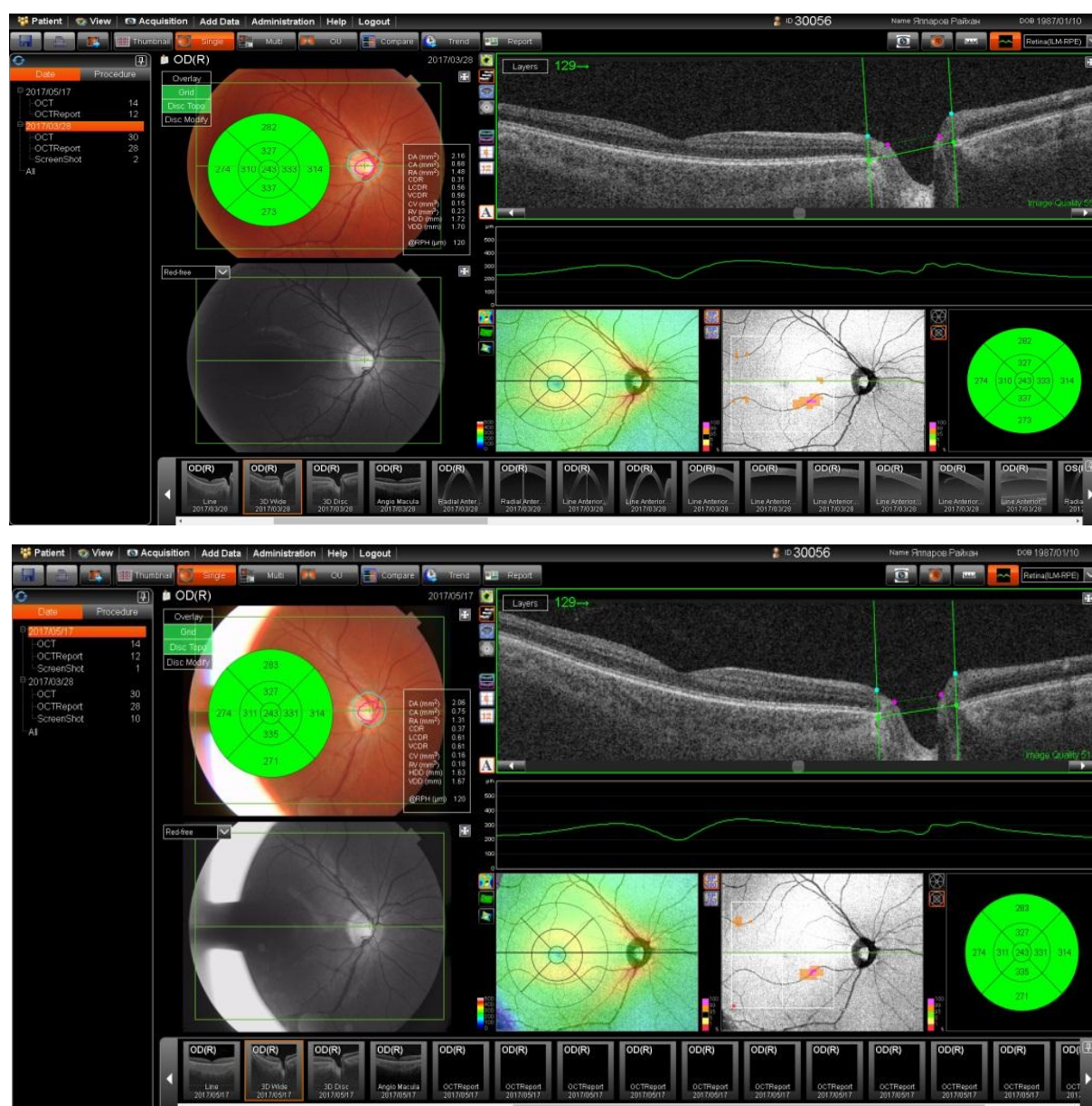


Рисунок 78 – ОСТ и изображение глазного дна пациента с КК до и после УФ КЛР.

В связи с этим данная методика не является показательной, и динамика плотности макулярного пигмента не может служить критерием для оценки безопасности процедуры на данном этапе развития технологии.

Таким образом, для оценки безопасности, равно как и эффективности УФ КЛР во внимание могут приниматься изменения в самой роговице. Наиболее информативными в этой связи методиками являются оптикокогерентная томография и конфокальная микроскопия роговицы, отражающие характерные морфологические изменения в ее строении.

Сравнительная оценка полученных результатов показала, что оптимальным периодом для верификации демаркационной линии является срок 4-6 недель, при этом применение протоколов УФ КЛР с деэпителизацией способствуют ее более глубокому расположению. Глубина расположения демаркационной линии прямо коррелирует со временем излучения при одинаковом показателе энергии $5,4 \text{ Дж/см}^2$. Конфокальная микроскопия является информативным методом оценки морфологических изменений в роговице, которые выражаются лакунарным отеком в виде сот и резким снижением популяции кератоцитов с строении роговицы в раннем послеоперационном периоде и появлением активированных кератоцитов в сроки от 4 до 6 месяцев. Однако количественная оценка изменений является достаточно трудоемкой и не всегда применима в рутинной клинической практике. Определение плотности макулярного пигмента не является объективным методом исследования для оценки эффективности или безопасности процедуры кросслинкинга и не может расцениваться как дополнительный метод исследования у данной категории пациентов.

ГЛАВА 8. ЛЕЧЕБНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ АЛГОРИТМ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С КЕРАТОКОНУСОМ И РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ РИСКА РАЗВИТИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Разработка оптимального клинического подхода с использованием автоматизированной программы диагностики ранней, доклинической стадии кератоконуса позволит обеспечить раннюю диагностику, своевременное оказание помощи пациентам с данной офтальмопатологией, снизить частоту ятрогенных осложнений операций. Выбор оптимального протокола кросслинкинга в зависимости от исходного состояния глаза пациента может оказаться ключевым в получении максимальной эффективности и снижении рисков осложнений. Кератотопография и пахиметрия являются одними из наиболее информативных методов выявления КК. Современные проекционные сканирующие кератотопографы способны анализировать различные кератотопографические, элевационные и пахиметрические параметры. Однако трудности в интерпретации этих данных затрудняют дифференциацию субклинического КК от нормальных вариантов.

Для повышения точности диагностики необходимо определить наиболее важные биометрические параметры роговицы. В сочетании с клинико-анамнестическими и функциональными данными это позволит сформировать группы повышенного риска развития КК.

8.1. Оценка показателей проекционного сканирующего томографа Orbscan в диагностике субклинического кератоконуса

Для важности оценки комплекса элевационных, кератометрических и пахиметрических показателей был проведен сравнительный анализ различных показателей в трех группах обследуемых. Первую - контрольную (25 пациентов - 25 глаз) – составили здоровые респонденты, вторую подгруппу (27 пациентов - 27 глаз) - пациенты с субклинической формой КК, третью (28

пациентов - 28 глаз) - пациенты с манифестной формой заболевания (II-III стадии по классификации Amsler-Krumeich, 1998).

Изучены данные элевации передней и задней поверхности роговицы в центре (ЭППРЦ и ЭЗПРЦ) и наиболее тонкой точке (ЭППР ТТ, ЭЗПР ТТ) относительно BFS, разница между ними, максимальная элевация передней и задней поверхности роговицы (МЭППР, МЭЗПР).

Сравнительному анализу подлежали также кератометрические данные, включающие суммарную оптическую силу передней (ППР) и задней поверхности роговицы (ЗПР), максимальные и средние показатели кератометрии, индекс иррегулярности в 3-х и 5-и мм зоне, показатели суммарного роговичного астигматизма.

Среди пахиметрических параметров роговицы были проанализированы следующие: толщина роговицы в центре (ТРЦ), в наиболее тонкой точке (ТРТТ), на периферии (ТРП), индекс пахиметрической прогрессии (ИПП), а также децентрация наиболее тонкой точки роговицы относительно геометрического центра (ДНТТ).

Кроме того, проанализированы и определены наиболее часто встречающиеся элевационные, пахиметрические паттерны во всех исследуемых группах пациентов.

Большинство из этих показателей отображаются на дисплее при обследовании в режиме Quad Map. Данные о максимальной элевации передней и задней поверхности роговицы получены из меню инструментов. Значение децентрации наиболее тонкой точки роговицы вычислено по формуле: $\sqrt{x^2+y^2}$, где x – расстояние наиболее тонкой точки от геометрического центра роговицы по горизонтали, y – по вертикали [7]. Элевацию роговицы в наиболее тонкой точке определяли путем наведения курсора на наиболее тонкую точку роговицы на пахиметрической карте, при этом на элевационных картах передней и задней поверхностей появлялись значения данных показателей в соответствующей точке.

Индекс пахиметрической прогрессии (ИПП) определялся по формуле:

$\text{ИПП} = 100 - T1/T2 \cdot 100$, где T1-толщина роговицы в центре, T2-толщина роговицы на периферии в нижнем секторе в 5 мм зоне.

Кератометрические карты

В таблице 27 отображены результаты анализа кератометрических данных у пациентов группы контроля (1-я группа), субклинической (2-я группа) и с манифестной формой кератоконуса (3-я группа).

Таблица 27 - Значения кератометрических параметров роговицы в исследуемых группах пациентов, (Mean±SD)

Показатели	Исследуемые группы		
	1 группа (N)	2 группа (FFKK)	3 группа
Суммарная преломляющая сила передней поверхности роговиц, D	41,81±0,95	41,81±1,28	42,85±1,44° #
Суммарная преломляющая сила задней поверхности роговицы, D	51,07±1,77	51,16±1,7	53,1±1,88° #
Максимальная преломляющая сила передней поверхности роговицы, D	43,44±1,32	43,61±1,61	48,63±4,36° #
Средняя преломляющая сила роговицы в 3 мм зоне, D	42,87±1,09	42,96±1,37	45,68±2,41° #
Средняя преломляющая сила роговицы в 5 мм зоне, D	42,51±1,03	42,52±1,3	43,85±1,8° #
Средний показатель астигматизма, D	-1,13±0,73	-1,18±0,9	-3,88±2,58° #
Иррегулярность роговицы в 3 мм зоне	1,04±0,29	1,6±0,77*	4,95±1,88° #
Иррегулярность роговицы в 5 мм зоне	1,53±0,52	1,84±0,61	5,01±1,88° #

Примечание: * - различия показателей между 1 (контрольной) и 2 (FFKC) группами статистически значимы ($p < 0,05$); ° - различия показателей между 1 (контрольной) и 3 (КК) статистически значимы ($p < 0,01$); # - различия показателей между 2 (FFKC) и 3 (КК) статистически значимы ($p < 0,01$).

При сравнении данных между контролем и 3-й группой выявлена статистически значимая разница всех кератометрических показателей ($p < 0,01$). При этом, суммарная оптическая сила передней поверхности роговицы была

выше на 2,4% ($p<0,01$), показатель максимальной преломляющей силы - выше на 11,9% в группе с манифестной формой КК ($p<0,01$).

Все значения кератометрических данных в 3-ей исследовательской группе превышали соответствующие показатели во 2-ой, причем различия имели статистическую значимость ($p<0,01$).

Средние значения кератометрических показателей 1-й и 2-й исследовательских групп были сопоставимы, однако значение иррегулярности в 3 мм зоне оказалось выше у пациентов с субклиническим КК (группа 2) в сравнении с контролем ($p<0,05$).

Пахиметрические карты

Значения пахиметрических параметров в контроле превышали соответствующие показатели во 2-й и в 3-й группах, за исключением ДНТТ и индекса пахиметрической прогрессии (Рисунок 79). Последний составил в 1-й группе $16,2\pm3,85$, во 2-й - $17,8\pm6,16$, в 3-ей - $24,3\pm9,74$, причем сравниваемые показатели были статистически значимы ($p<0,05$).

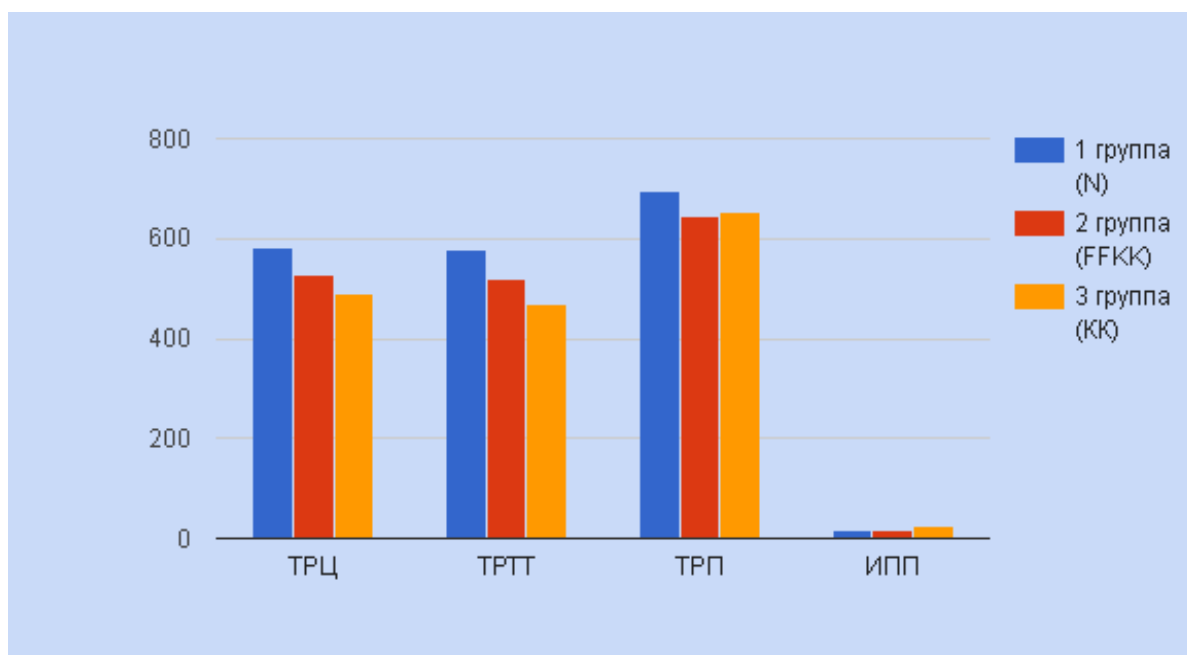


Рисунок 79 - Пахиметрические показатели в исследуемых группах, мкм.

ИПП также имел наиболее низкие значения в контрольной группе ($0,59 \pm 0,26$), несколько выше у пациентов с субклинической формой КК ($0,99 \pm 1,1$), но различия не были статистически достоверны ($p > 0,05$).

Элевационные карты

Данные, полученные при анализе элевационных карт, представлены в таблице 28.

Таблица 28 - Значения показателей элевационных карт в исследуемых группах пациентов, (Mean $\pm$ SD)

Исследуемые показатели	Исследуемые группы		
	1 группа	2 группа	3 группа
ЭПРЦ	$0,009 \pm 0,003$	$0,012 \pm 0,007$	$0,027 \pm 0,014^{\circ} \#$
ЭЗРЦ	$0,018 \pm 0,008$	$0,023 \pm 0,01$	$0,055 \pm 0,019^{\circ} \#$
ЭЗРЦ-ЭПРЦ	$0,009 \pm 0,008$	$0,013 \pm 0,007$	$0,027 \pm 0,003^{\circ} \#$
МЭППР	$0,015 \pm 0,001$	$0,018 \pm 0,01^*$	$0,045 \pm 0,03^{\circ} \#$
МЭЗПР	$0,025 \pm 0,007$	$0,034 \pm 0,015^*$	$0,113 \pm 0,053^{\circ} \#$
ЭППР ТТ	$0,012 \pm 0,01$	$0,015 \pm 0,009^*$	$0,041 \pm 0,022^{\circ} \#$
ЭЗПР ТТ	$0,022 \pm 0,007$	$0,033 \pm 0,015^*$	$0,10 \pm 0,039^{\circ} \#$

Примечание: * - различия показателей между 1 (контрольной) и 2 (ФФКС) группами статистически значимы ($p < 0,01$); $^{\circ}$ - различия показателей между 1 (контрольной) и 3 (КК) статистически значимы ($p < 0,01$); # - различия показателей между 2 (ФФКС) и 3 (КК) статистически значимы ($p < 0,001$)

При сравнении данных контроля и группы пациентов с манифестной формой, а также 2-й и 3-й групп выявлены статистически значимые различия всех показателей элевации как передней, так и задней поверхности ($p < 0,01$). Однако для оцениваемых параметров элевации передней поверхности роговицы контрольной и 2-й групп значимых различий не было выявлено, за исключением параметра МЭППР. Последний, наряду с со всеми показателями элевации задней поверхности (ЭЗРЦ, ЭЗПР ТТ, МЭЗПР), оказался выше у пациентов с субклинической с татидей болезни в сравнении с контрольной группой здоровых лиц ($p < 0,01$).

Выявлена прямая корреляционная связь между показателями кератометрии, в частности, суммарной кератометрией ППР с таковой ЗПР

($R>0,89$), максимальной оптической силой роговицы ($R>0,9$, $p<0,05$) со средней кератометрией в 3 мм ($R=0,92$, $p_0<0,05$) и 5 мм зоне ($R > 0,94$, $p_0<0,05$) во всех группах.

В контрольной группе суммарная преломляющая сила ППР и максимальная прямо коррелировали с показателями ЭППРЦ, МЭППР ($R>0,52$, $p<0,05$). Во 2-й группе максимальная кератометрия коррелировала с данными МЭППР, ЭППР ТТ ($R>0,44$, $p<0,05$), а средняя преломляющая сила роговицы в 3 мм зоне – с ЭППРЦ, МЭППР, ЭППРТТ ($R>0,4$, $p<0,05$). В 3-ей группе максимальная и средняя кератометрия в 3 мм зоне коррелировали со всеми элевационными показателями ППР ($R>0,41$, $p<0,05$).

Паттерны элевации и пахиметрии

Наиболее частым видом паттерна ЭППР во всех группах явился «неполный хребет»: в 1-й - 36%, во 2-й - 44, 4%, в 3-ей - 39,3% случаев. В контроле чаще паттерн ЭЗПР был представлен ровным хребтом (44%), у пациентов 2-й и 3-й групп - неполным хребтом (в 44,4% и в 39,3% случаев, соответственно). Распределение различных видов пахиметрических паттернов в исследуемых группах представлено в таблице 29.

Таблица 29 - Виды пахиметрических паттернов в исследуемых группах

Паттерны	Контроль (n=25) 1-я группа	FF КК (n=27) 2-я группа	КК (n=28) 3-я группа
Круг	23 (92%)	5 (18,5 %)	3 (10,7)
Овал	1 (4 %)	1 (3,7 %)	1(3,57%)
децентрированный круг	1(4 %)	19 (70,3 %)	17 (60,71 %)
децентрированный овал	0	2 (7,4 %)	7 (25 %)

Как видно из таблицы, наиболее частый вид пахиметрического паттерна в 1-й группе – «круг», во 2-й и в 3-й – «децентрированный круг». Паттерн «децентрированный овал» полностью отсутствовал в контрольной группе, в то время как у пациентов с манифестной формой КК имел место в четверти

случаев. Паттерн «децентрированный круг» в 17 раз чаще встречался у 2-й группы в сравнении с 1-й.

Следовательно, при дифференциальной диагностике субклинического кератоконуса важно обратить внимание на характерные особенности топографии роговицы. Особенность паттерна элевации задней поверхности – «неполный хребет», особенность пахиметрической карты – «децентрированный круг». Эти признаки могут свидетельствовать о наличии субклинического кератоконуса.

По нашим данным, наиболее значимыми кератометрическими показателями в дифференциальной диагностике субклинической стадии кератоконуса являются иррегулярность поверхности роговицы в 3 мм зоне, толщина роговицы в центре, в наиболее тонкой точке и на периферии, а также ряд элевационных показателей - максимальная элевация передней и задней поверхности роговицы, элевация передней и задней поверхности в наиболее тонкой точке. Комплексный анализ данных показателей повышает эффективность диагностики субклинических форм кератоконуса и может свести к минимуму риск развития ятрогенных кератэктазий после кераторефракционных операций.

8.2. Разработка балловой шкалы значимости комплекса показателей в диагностике кератоконуса

Для определения важности отдельных анамнестических, клинико-функциональных параметров были проанализированы литературные источники, данные собственных исследований. Все показатели были распределены по диагностической значимости на два типа.

Нами разработана балловая шкала оценки в зависимости от отклонения от нормативных показателей. Среди показателей учитывался комплекс

анамнестических, биомикроскопических, кератобиометрических параметров.

В таблице 30 представлены рассматриваемые анамнестические данные.

Таблица 30 – Шкала значимости анамнестических данных

Показатели	Баллы	Критерии
Пол	0	Мужской
	1	Женский
Возраст	0	Младше 11 лет
	1	Старше 11 лет
Наследственная отягощенность	0	Нет близких родственников с КК
	2	1 и более родственник(ов) с КК
Атопические заболевания (бронхиальная астма, аллергический ринит и/или конъюнктивит, атопический дерматит)	0	Отсутствуют
	1	Имеются
Сопутствующий синдром Дауна	0	Отсутствует
	1	Имеется
Подверженность повышенной солнечной инсоляции	0	Да
	1	Нет
Ношение контактных линз	0	Да
	1	Нет
Этническая принадлежность	0	Иное
	1	Удмурт(-ка), украинец, татарин
	2	Представитель(-ница) северо-, южнокавказских национальностей

В комплекс биомикроскопических показателей для оценки состояния роговицы входят: визуализация нервных волокон роговицы, кольцо Флейшера, стрии Фогта, стромальные рубцы и помутнения.

Для объективной оценки формы роговицы используются методы кератометрии, кератотопографии, пахиметрии и элевации корнеальной поверхности. Важность каждого из этих методов в диагностике КК и синдрома сухого глаза была определена путем сравнительного анализа данных у пациентов с данными заболеваниями (Таблица 31).

Таблица 31 - Шкала значимости комплекса кератотопографических, пахиметрических и элевационных показателей

Показатели	Значимость	Критерии
Сферический компонент рефракции	0	<1,0
	1	1,0±3,0
	2	3,0±5,0
	3	5,0±8,0
	4	>8,0
Средняя кератометрия (Kmean)	0	<43,0
	1	43,25-46,0
	2	46,25-52,75
	3	>53,0
Максимальная кератометрия (Kmax)	0	<44,0
	1	44,25-47,0
	2	47,25-53,75
	3	>54,0
Разница средней кератометрии (Kmean1-Kmean2)	0	<1,0
	1	1,25-3,0
	2	3,25-5,0
	3	>5,25
Суммарный астигматизм в 3 мм зоне (simAst 3 mm)	0	<0,75
	1	1,0-2,0
	2	2,25-3,5
	3	3,75-5,0
	4	>5,25
Суммарный астигматизм в 5 мм зоне (simAst 5 mm)	0	<1,0
	1	1,25-3,0
	2	3,25-5,0
	3	5,25-8,0
	4	>8,25
Пахиметрия в центре (P centr)	0	>510
	1	480-509
	2	410-479
	3	380-409
	4	<379
Пахиметрия в наиболее тонкой точке	0	>500

(Pmin)	1	460-499
	2	390-459
	3	350-389
	4	<349
Pcentr-Pmin	0	<10
	1	>11
Разница в пахиметрии между глазами (Pcentr1-Pcentr2)	0	<10
	1	11-20
	2	21-30
	3	>31
Элевация передней поверхности роговицы в центре (ЭППР)	0	<0,0099
	1	0,01-0,12
	2	>0,13
Элевация задней поверхности роговицы в центре (ЭЗПР)	0	<0,018
	1	0,019-0,023
	2	0,023-0,05
	3	>0,051
Максимальная элевация передней поверхности роговицы (МЭППР)	0	<0,015
	1	0,016-0,018
	2	0,019-0,04
	3	>0,041
Максимальная элевация задней поверхности роговицы (МЭПЗР)	0	<0,025
	1	0,026-0,031
	2	0,032-0,11
	3	>0,1
Элевация передней поверхности роговицы в наиболее тонкой точке (ЭППР ТТ)	0	<0,013
	1	0,014-0,015
	2	0,016-0,042
	3	>0,043
Элевация задней поверхности роговицы в наиболее тонкой точке (ЭЗПР ТТ)	0	0<0,022
	1	0,023-0,03
	2	0,031-0,1
	3	>0,11
Корнеальный гистерезис	0	>12
	1	8-12
	2	<8
Фактор резистентности роговицы	0	>11
	1	7-11
	2	<7

Разработанная шкала легла в основу программы «Автоматическая система диагностики кератоконуса» (свидетельство о государственной регистрации № 201661115, от 21.12.2015 г.). Система работает по следующему принципу:

1. *Сбор данных*: После заполнения карты пациента, программа собирает информацию, включая:

- Фамилию, имя, отчество
- Дату рождения
- Показатели анамнестических данных
- Данные молекулярно-генетического исследования
- Биометрические показатели роговицы

2. *Оценка данных*: Каждый показатель классифицируется по группам важности, а значения показателей – по критериям, каждому из которых присваивается оценка значимости.

3. *Диагностика*: Система суммирует баллы по критериям и определяет:

- Наличие заболевания: Сравнивая суммарную значимость критериев с пороговым значением.
- Вероятность заболевания: Определяя отношение суммарной значимости к пороговому значению.
- Стадию заболевания: Анализируя значения показателей первой группы важности.

4. *Результаты*: Программа выдает:

- Диагноз пациента (наличие/отсутствие КК, вероятность заболевания)
- Стадию заболевания (при наличии кератоконуса)
- Различные статистические отчеты

Функциональные возможности программы:

Хранение и получение информации: Система обеспечивает хранение и доступ к данным о пациентах, включая результаты обследований.

Определение стадии кератоконуса: Позволяет определить стадию заболевания на основе полученных данных.

Определение вероятности заболевания: Вычисляет вероятность наличия кератоконуса у пациента.

Анализ течения заболевания: Обеспечивает возможность отслеживания изменений в динамике заболевания.

Интерфейс программы:

Вкладка "Диагностика": Предоставляет информацию о пациентах.

Левая часть окна: Список пациентов и их данные.

Правая часть окна: Результаты обследования.

Навигационная панель: Позволяет корректировать список пациентов.

Функция «Экспорт в Word»: Формирует документ о текущем обследовании пациента.

Кнопка «Диагностировать»: Обрабатывает данные и выдает сообщение о наличии или вероятности заболевания.

В целом, программа «Автоматизированная система диагностики кератоконуса» представляет собой мощный инструмент, который облегчает процесс диагностики и мониторинга КК, повышает точность диагностики и позволяет анализировать течение заболевания в динамике (Рисунок 80, 81).

Код пациента	ФИО пациента	Пол	Дата рождения	Код района
4	Бакирова Файруза Рашитовна	ж	07.03.2000	2
25	Бикбулатов Рузель Ирикович	м	27.03.1992	7
18	Валлахметов Ильдус Венерович	м	30.03.1995	1
10	Иванов И.И.	м	04.05.1974	2
6	Ильясов Артур	м		2
7	Ильясов Альбина	ж		1
17	Ильясова Альбина Филатовна	ж	23.08.1996	3
12	Квашнина Нина Васильевна	ж		54
21	Лапенкова Людмила Михайловна	ж	26.04.1962	16
22	Ларина Мария Вячеславовна	ж	24.02.1997	16
24	Латыпов Денис Гарифович	м	18.01.1973	16
23	Латыпова Гульназ Гарифовна	ж	17.06.1975	5
15	Мусалаямов Аскар Шамильевич	м	03.11.1987	3
14	Мухаметзянова Ангела Васьковна	ж	13.06.1967	8
19	Рыбаков Илья Сергеевич	м	13.06.1991	2
8	Сабиров Вилер	м		2
1	Сабирова Флора Рашитовна	ж	04.03.2000	2
20	Симанова Анна Владимировна			5
11	Степанова Лина Сергеевна	ж	02.05.1998	1
13	Татьян Арташес Татевосович	м	01.12.1974	1
9	Ханзина Аделя	ж		1
16	Халифов Владислав Данилович	м		5

Показатели	Обследование ДО	Обследование текущее
Семейный анамнез	отсутствует (21.11.2016)	
Аллергические заболевания	отсутствуют (21.11.2016)	
Нервные волокна	визуализируются единично (21.11.2016)	
Кольцо Флейшнера	отсутствует (21.11.2016)	отсутствует визуализируются едини значительное количество
Стрии Фогта	визуализируются (21.11.2016)	
Рубцы роговицы	отсутствуют (21.11.2016)	
Роговичный астигматизм (по кератометрии)	3,25 (21.11.2016)	
Регулярность роговичного астигматизма	нерегулярный (21.11.2016)	
Сферический компонент рефракции	5,1 (21.11.2016)	
Средняя кератометрия (Kmean)	45 (21.11.2016)	
Максимальная кератометрия (Kmax)	47 (21.11.2016)	
Разница средней кератометрии	4,75 (21.11.2016)	
Суммарный астигматизм в 3 мм зоне (simAst 3 mm)	34,7 (21.11.2016)	

Рисунок 80 - Основное окно программы.

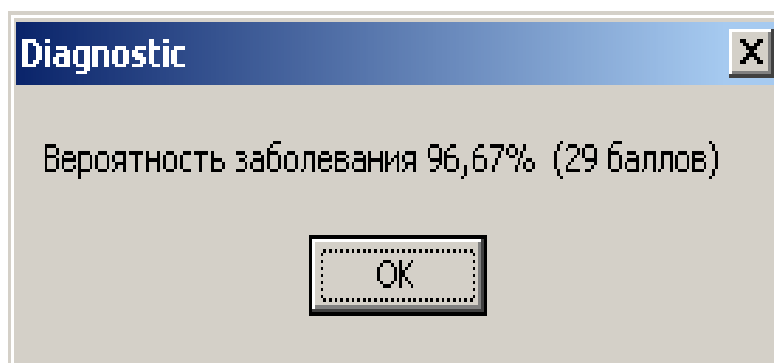


Рисунок 81 - Диалоговое окно программы, всплывающее после нажатия клавиши «Диагностика».

После обработки введенных данных, анализ выявил 100% вероятность диагноза «кератоконус». Подробная информация доступна во всплывающем диалоговом окне.

8.3. Создание алгоритма ведения пациентов с различной степенью риска развития кератоконуса

Разработанная автоматизированная программа не только оценивает риск развития кератэктазий, но и предлагает персонализированный алгоритм ведения пациентов, учитывая оцененный риск.

Программа классифицирует пациентов на четыре стадии по степени риска развития КК. Классификация основана на оценке ключевых показателей, таких как наличие кольца Флейшера, стрий Фогта, рубцов роговицы, различных степеней роговичного астигматизма, средних показателей кератометрии и пахиметрии в самой тонкой точке (классификация Amsler–Krumeich, 1998).

В зависимости от стадии риска программа предлагает индивидуальные рекомендации, включающие: частоту динамического наблюдения, возможность проведения профилактического лечения с применением УФ-

КЛР. Вероятность развития КК, определенная программой, ранжируется в 3 группы (Таблица 32).

Таблица 32 – Распределение пациентов в зависимости от риска развития кератоконуса

Группа	Значения риска развития КК, %	Вероятность развития КК
1 группа	0-55	Низкая
2 группа	56-85	высокая
3 группа	86-99	Субклинический КК

Для обследуемых 1-ой группы с низким уровнем риска развития КК рекомендовано наблюдение через 1 год после первичного обращения, с оценкой показателей роговицы: пахиметрии, элевации и кератометрии. При стабильности данных параметров и отсутствии иных противопоказаний УФ-КЛР не показан.

Для пациентов 2-ой группы с высоким уровнем вероятности КК показано динамическое наблюдение в сроки 6, 12 месяцев. Решение о проведении УФ КЛР принимается индивидуально в зависимости от динамики показателей. В данной группе пациентов выполнение УФ КЛР возможно с профилактической целью. Из известных протоколов наиболее оптимальным является применение одного из двух возможных клинических подходов:

- при степени риска до 55% - наблюдение
- при степени риска более 56-85 % - трансэпителиальный УФ КЛР без дезэпителизации в ускоренном режиме.

При уровне вероятности более 85% (3-я группа) - диагностировали субклинический КК, пациентам рекомендовали динамическое наблюдение в сроки 3, 6, 12 месяцев или выполнение профилактического трансэпителиального УФ КЛР без дезэпителизации в стандартном режиме. Пациентам с отрицательной динамикой кератобиометрических показателей с переходом в субклиническую стадию или манифестную форму КК

рекомендуется проведение одного из модифицированных протоколов УФ-кросслинкинга (Рисунок 82).

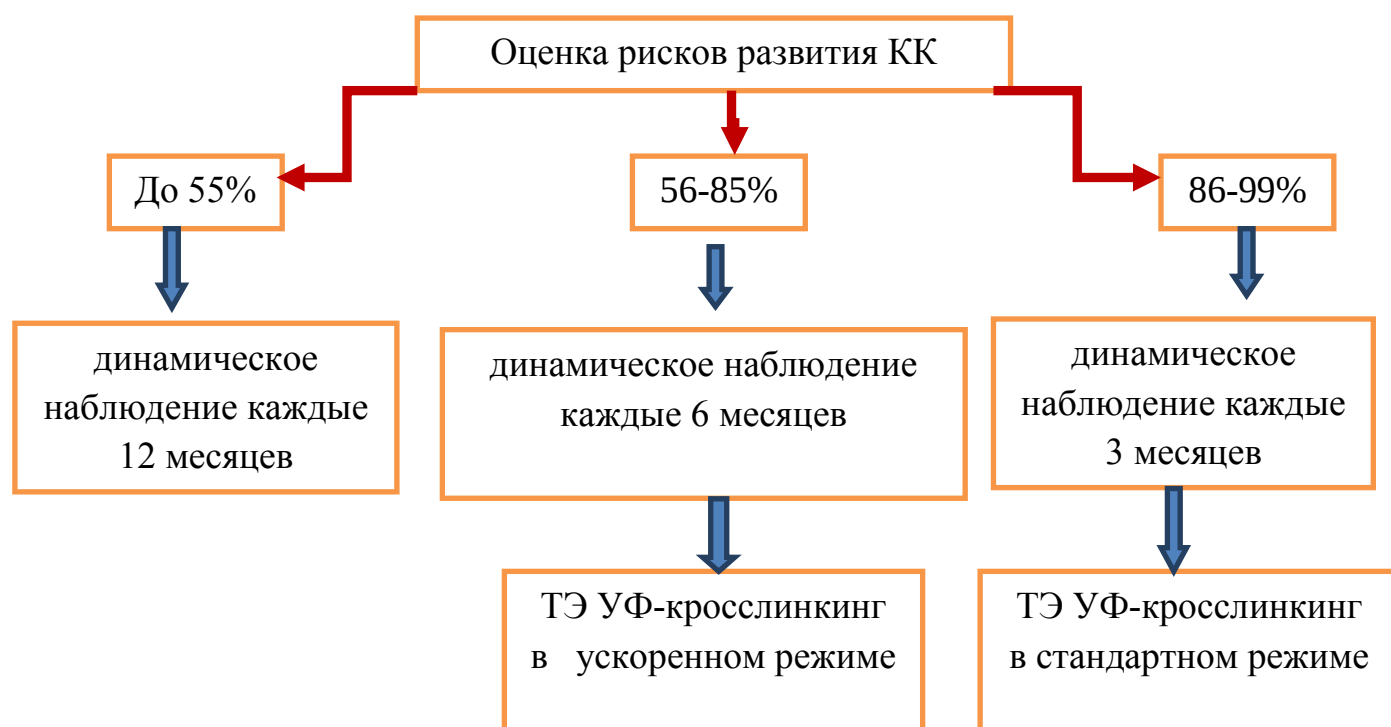


Рисунок 82 – Алгоритм хирургического подхода на основе оценки рисков развития КК.

Таким образом, разработанная шкала критериев и основанная на ней программа диагностики не только позволяет распределять пациентов на группы риска развития КК, но и определить тактику ведения пациентов, а также верифицировать диагноз кератоконус с распределением по стадиям. Возможность оценки кератобиометрических показателей в динамике позволяет объективно судить о характере течения заболевания. Автоматизация процесса обработки информации позволяет сэкономить время врача и исключить субъективные причины ошибок при верификации диагноза.

8.4. Алгоритм выбора оптимального протокола ультрафиолетового кросслинкинга роговицы у пациентов с различной стадией и проявлениями кератоконуса

Прогрессирующее течение КК является показанием для проведения УФ-кросслинкинга, однако отдельные аспекты: течение болезни, возрастные особенности, начало манифестации отличают каждого пациента, что может лечь в основу выбора того или иного клинического протокола.

На основании проведенных исследований были выявлены наиболее значимые параметры, влияющие на течение КК, которые потенциально могут лечь в основу разработки алгоритма выбора наиболее эффективного и безопасного протокола УФ КЛР.

Хотя УФ КЛР успешно применяется с частотой неудач примерно 7,6% и частотой осложнений 2,9%, предпринимаются усилия по увеличению его эффективности с различной целью: для сокращения времени лечения (снижение затрат) и улучшения комфорта пациента (снижение болевых ощущений в послеоперационном периоде). Использование модифицированных протоколов лечения имеют различные подходы: увеличение УФ-облучения для сокращения времени облучения, трансэпителиальное применение рибофлавина для уменьшения роговичного синдрома и риска инфекционного поражения роговицы, использование ионофореза для ускорения диффузии рибофлавина и сокращения времени насыщения, использование импульсного режима для увеличения доступности кислорода. Клиническая практика показала, что трансэпителиальная техника менее эффективна, а дезэпителизация более эффективно обеспечивает доступ кислорода, но увеличивает время процедуры. Экспериментальные исследования показали значительное снижение эффективности при использовании высокой мощности облучения. Причина, по которой эти протоколы лечения отличались по эффективности желаемого – это

механизмы, лежащие в основе УФ КЛР, и взаимодействие различных факторов, таких как УФ-энергия, время облучения, способность к диффузии рибофлавина и доступность кислорода.

Для теоретического описания процесса кросслинкинга ранее учитывали следующие параметры: концентрацию рибофлавина (диффузия/разложение), интенсивность УФ излучения и доступность кислорода. Уравнения были составлены в соответствии со схемой биохимической реакции. Соответственно, концентрация рибофлавина в роговице определяется количеством поглощения.

По нашим данным, импульсное УФ-облучение не усиливает биомеханического эффекта КЛР. Кроме того, все ускоренные и импульсные протоколы уступали стандартному УФ КЛР. Это свидетельствует о том, что ограничивающим фактором в кроссликинге роговицы является время, а не мощность УФ облучения и способ насыщения. Фактор времени сильно зависит от скорости диффузии кислорода и других химических реакций.

Известно, что через 10 минут 10-кратное снижение потока УФ-излучения теоретически приводит к биомеханическому усилению роговицы на 96,8% (при ее толщине 500 мкм), а через 30 минут такое же снижение потока УФ-излучения приводит к 89,5% повышению плотности роговицы. Поэтому дальнейшие исследования помогут определить, в какой степени облучение может уменьшаться при том же клиническом успехе. Уменьшение потока УФ-излучения также позволило бы выполнять КЛР в роговицах тоньше, чем определено в настоящее время в пределах 400 мкм, потому что порог эндотелиальной токсичности не будет превышен. Согласно Закону Ламберта-Бера для лечения мощностью 0,3 мВт/30 мин толщина роговицы может составлять всего 88 мкм, при 0,9 мВт/30 мин – примерно 278 мкм. Однако, минимально необходимая толщина для безопасного КЛР при низкой мощности излучения больше не может определяться УФ-энергией, которая поглощается эндотелием, а потенциально - возможной глубиной

проникновения синглетного кислорода, что, в свою очередь, может потребовать более высокую концентрацию рибофлавина. Более длительное облучение должно выполняться на апексе эктазии в самом крутом положении роговицы, а более короткое облучение – на ее периферии для получения максимального эффекта уплощения, но при условии, что применяется длительное облучение вместо высокой интенсивности. Использование протоколов с ионофорезом в сочетании с длительным облучением при трансэпителиальном КЛР по эффективности воздействия на строму роговицы сравним со стандартным КЛР. Однако неудаленный эпителий частично поглощает УФ-излучение и часть фотосенсибилизатора подобно строме, но с той разницей, что УФ не вызывает уплотнения эпителия. Также, важен временной фактор: более длительное облучение позволит большему количеству кислорода проникнуть в строму и увеличить количество перекрестных связей коллагена.

Предложенные теоретические модели, подкрепленные экспериментальными исследованиями, предсказывают, что КЛР может даже быть выполнен в роговицах тоньше, чем ограничение в 400 мкм в настоящее время, без необходимости использования специальных фотосенсибилизаторов: гипоосмолярного рибофлавина или других ограничителей.

Эффективность УФ КЛР можно предсказать по комбинации доступности кислорода и кинетического эффекта - способности к уплотнению и усилению жесткости роговичной ткани. Несмотря на то, что глубина эффекта кросслинкинга в основном определяется доступностью кислорода, скорость образования поперечных связей зависит от биохимических реакций, доступности кислорода и, в незначительной степени, от интенсивности УФ излучения. Повышение эффективности кросслинкинга потребует длительного УФ-облучения при снижении излучения или повышения парциального давления кислорода в окружающей среде. Импульсный режим облучения не

показывает значимого повышения эффективности УФ КЛР, по сравнению с непрерывным режимом при такой же длительности облучения. Различные теоретические модели УФ КЛР будут способствовать разработке в будущем новых протоколов.

Таким образом, протоколы можно разделить на длительные (3 мВт/см^2) - 30 минут, средние (9 мВт/см^2) - 10 минут и короткие (18 мВт/см^2) - 10 минут, с дезэпителизацией и трансэпителиальный, с рибофлавином и протективными фотосенсибилизаторами, с непрерывным и импульсным режимом облучения.

В настоящей работе применяли несколько эффективных протоколов УФ КЛР: стандартный (3 мВт/см^2 -30 минут), акселерированный (9 мВт/см^2 - 10 минут), трансэпителиальный (насыщение ионофорезом), при тонких роговицах (с применением МКЛ).

Основываясь на клиническом опыте, нами был разработан алгоритм выбора клинического протокола УФ КЛР в зависимости от ряда клинических критериев: возраста пациента, сроков течения КК, темпов прогрессирования.

При ранней манифестации и выявлении КК в ювенильном возрасте до 14-15 лет целесообразным представляется более щадящий подход с выполнением трансэпителиального протокола с длительным облучением 3 мВт/см^2 -30 минут. В срок наблюдения до трех лет при наличии прогрессии возможно проведение повторного УФ КЛР с длительным непрерывным облучением и дезэпителизацией. При более поздней манифестации болезни (старше 20 лет) оптимальными являются и стандартный, и акселерированный протокол со средней длительностью облучения и дезэпителизацией, при этом при более тонких роговицах, близких к предельным значениям в 400 мкм – применение дополнительных мероприятий. У пациентов возрастной группы старше 30 лет предпочтительным может быть акселерированный протокол с дезэпителизацией в непрерывном режиме.

Степень прогрессирования КК также имеет значение. Так, при наличии увеличения преломляющей силы роговицы от 1,0 дптр в течение года мы

можем говорить о быстром прогрессировании. Если величина кератометрии увеличивается от 0,5 до 1,0 дптр в течение года – это медленно прогрессирующее течение. При стабильности показателей кератометрии или изменении до 0,5 дптр в течение года мы говорим о клинически малозначимой прогрессии.

Длительность течения КК также имеет важное значение, так как прогрессирование заболевания наиболее интенсивно проходит в первые 4 года, а через 10 лет оно значительно замедляется. Для оценки роли отдельных факторов, влияющих на течение КК и эффективность процедуры УФ КЛР, были сформированы одномерные логистические регрессионные модели с бинарной зависимой переменной, отражающей наличие или отсутствие клинического эффекта кросслинкинга, а также с одной объясняющей переменной из того пула параметров, который был выбран на предыдущем этапе. Таким образом, были сформированы модели для каждой выбранной переменной. Для каждой модели была оценена статистическая значимость. По результатам этого анализа был сформирован перечень статистически значимых объясняющих переменных, которые далее использовались для формирования многомерной модели. Сформированная модель содержала в себе значимые предикторы успеха терапии. В эту модель были включены возраст манифестации заболевания, возраст пациента, темпы прогрессирования, сроки течения болезни. Соответствующие модели были составлены для подгрупп пациентов, получивших лечение с использованием того или иного протокола УФ КЛР.

На основе регрессионных коэффициентов была определена степень влияния предикторов на успех терапии в рамках каждого протокола. Для удобства практического применения полученных оценок и выбора наиболее подходящего протокола УФ КЛР была сформирована балльная оценка (Таблица 33).

В зависимости от наличия и сочетания наиболее значимых критериев можно дать оценку течению патологического процесса болезни и рекомендовать оптимальный протокол УФ КЛР для максимальной клинической эффективности при минимальной инвазивности. Суммарное количество баллов является условным ориентиром в выборе протокола:

3 - 5 баллов – трансэпителиальный протокол

6 - 8 баллов – акселерированный протокол с дезэпителизацией.

9 -11 баллов – стандартный протокол с дезэпителизацией.

Таблица 33 - Шкала значимости отдельных признаков и влияния на течение кератоконуса

Показатели	Баллы	Критерии
возраст пациента	4	14-20
	3	21-29 лет
	2	30-35 лет
	1	> 35 лет
темпы прогрессии в течение года	3	быстрая прогрессия - > 1,0Д
	2	медленная прогрессия – 0,5-1,0Д
	1	малозначимая прогрессия - < 0,5Д
сроки течения болезни	4	1-2 года
	3	2 - 4 года
	2	4-8 лет
	1	до 10 лет

Однако, следует учитывать, при толщине роговицы 351-400 мкм – необходимо использовать гипоосмотический фотосенсибилизатор или временное утолщение роговицы с применением МКЛ или биолинзы.

При ранее проведенном кросслинкинге с сохранением эпителия и наличием признаков прогрессирования заболевания следует применять протокол с дезэпителизацией, а если возраст пациента на момент повторного УФ КЛР менее 25 лет, то следует применять длительный стандартный протокол облучения (Рисунок 83).



Рисунок 83 - Алгоритм выбора тактики и протокола кросслинкинга.

На основании предложенного алгоритма следует, что при наличии молодого возраста, быстрой прогрессии и развитой стадии КК необходимо применять стандартный протокол УФ КЛР. Наличие тонкой роговицы является показанием к применению модифицированного протокола по предложенной методике. У пациентов молодой возрастной группы до 20 лет вероятность прогрессирования высока, в связи с чем, стандартный протокол УФ КЛР будет приоритетным. При этом, у пациентов более старшей возрастной группы, при наличии признаков прогрессии от 0,5 дптр до 1,0 дптр в год достаточно эффективным будет акселерированный протокол. В случае быстрой прогрессии $> 1,0$ дптр у возрастных групп 21-29 лет и 30-35 лет целесообразным будет выбор стандартного протокола. У пациентов старшей возрастной группы 36-40 лет, как правило, из-за возрастных метаболических изменений в организме в большинстве случаев наблюдается abortивное или стационарное течение заболевания. Однако, в случае наличия признаков прогрессирования до 0,5 дптр возможно проведение трансэпителиального УФ КЛР, в пределах 0,5-1,0 дптр – выбор склоняется в сторону акселерированного протокола.

Дифференцированный выбор протокола УФ КЛР должен быть основан на многих факторах и всегда индивидуален, но при соблюдении принципиальных условий выбора отдельных вариантов и комбинаций клинических показателей можно добиться наиболее эффективного клинического эффекта.

Таким образом, созданная система лечения пациентов с КК методом УФ КЛР на основании оценки результатов эпидемиологических и экспериментально-клинических исследований, дифференцированного подхода к выбору протокола процедуры, разработке хирургических технологий и медицинских изделий позволяет повысить эффективность лечения, обеспечивая стабилизацию и профилактику прогрессирования данного заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кератоконус – это наиболее распространенная форма первичных кератэктазий, характеризующаяся прогрессирующим течением. Заболевание преимущественно поражает молодых людей в трудоспособном возрасте, приводя к значительному снижению остроты зрения и ухудшению качества жизни.

Ранняя диагностика КК имеет решающее значение для сохранения хорошего зрения. Однако, учитывая генетическую гетерогенность, вариабельность частоты заболевания в разных популяциях и отсутствие исследований, посвященных эпидемиологическим показателям КК в конкретных регионах, ранняя диагностика заболевания затруднена. Сложность верификации ранних, субклинических стадий подчеркивает необходимость глубокого изучения клинических и эпидемиологических характеристик КК.

Единственным патогенетически ориентированным методом лечения КК на сегодня признан ультрафиолетовый кросслинкинг. Существуют различные протоколы УФ КЛР, однако, разноплановое течение КК требует совершенствования клинических подходов. Актуальным представляется изучение влияния УФ КЛР на ультраструктуру роговицы, оценку индуцированных им патофизиологических процессов. Внедрение в широкую практику технологии УФ КЛР может повысить качество лечебного процесса за счет стабилизации прогрессивного течения КК на ранних стадиях заболевания. Это требует разработки и внедрения отечественных технологий УФ КЛР, включающих производство медицинских изделий и совершенствование протоколов процедуры.

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования стало создание системы лечения кератоконуса методом ультрафиолетового кросслинкинга роговицы путем оценки результатов эпидемиологических и клинико-иммунологических исследований, разработка хирургических

технологий и медицинских изделий, а также дифференцированный подход при выборе клинического протокола.

С целью оценки распространенности и заболеваемости КК в Республике Башкортостан был проведен ретроспективный анализ данных годовых статистических отчетов офтальмологов РБ и Уфимского НИИ глазных болезней с 2018 по 2023 гг. Выявлен рост как распространенности КК с 5,9 до 9,0, так и заболеваемости – с 1,9 до 2,3 на 100000 населения РБ за исследуемый период. Различие в распространенности среди городского и районного населения в 2018 г. в расчете на 100 тысяч населения оказалось значительным, составляя от 0 до 21,2. При оценке распространенности КК среди городского и сельского населения была выявлена почти 3-х кратная разница (75,5% против 24,5%). Количество пациентов с диагнозом «кератоконус», обратившихся за офтальмологической помощью за последние 6 лет, имело тенденцию к уменьшению. Установлено, что КК чаще страдают мужчины в возрасте от девятнадцати до сорока лет, II стадия болезни является преобладающей как у пациентов мужского, так и у женского пола.

Исследование показало, что рост заболеваемости КК в Республике Башкортостан связан с более точной диагностикой офтальмопатологии на современном этапе. По данным литературы, распространенность КК варьирует значительно: от трехсот на сто тысяч населения в России до двух тысяч трехсот на сто тысяч населения в Центральной Индии. Различия в диагностических критериях могут быть основной причиной значительной вариабельности показателей заболеваемости. Часто случаи рефракционной миопии, при более «крутой» роговицы интерпретируются как кератоконус, т.е. высокая распространенность патологии может быть связана с гипердиагностикой.

Проведенный анализ показал, что доля пациентов, которым потребовалось хирургическое лечение, составило 46,7%. При этом доля УФ КЛР среди всех хирургических вмешательств по поводу КК составила 64,4%.

Сравнительный анализ данных по обращаемости с 2018 по 2023 годы показал снижение количества пациентов с диагнозом «кератоконус» на 36,5%. При этом ввиду повышения качества ранней диагностики КК доля щадящих вмешательств, в частности, УФ КЛР выросла на 17,7%. Данная тенденция по Республике Башкортостан связана с широким внедрением технологии УФ КЛР в различных клиниках.

Была разработана автоматизированная система ведения учета пациентов с КК «Программный комплекс учета пациентов OpticDB» (свидетельство о государственной регистрации №2016614167, от 2016 г.), в которую внесены данные 592 человек, страдающих этим заболеванием. Система позволяет эффективно отслеживать состояние пациентов и собирать статистику по заболеваемости КК в данном регионе, получить ценные данные о распространенности заболевания и улучшить качество оказания медицинской помощи пациентам с КК в Башкортостане.

На основании результатов проведенных Уфимским НИИ глазных болезней трех популяционных исследований – «Ural Children Eye Study» (UCES), «Ural Eye and Medical Study» (UEMS) и «Ural Very Old Study» (UVOS), включающих 10855 человек разного возраста, проживающих в одном и том же географическом регионе, была изучена частота пограничных состояний. Анализ данных кератотопографии, кератопахиметрии респондентов показал, что частота пограничных состояний увеличивалась с возрастом и составляла 0,086% - в детской группе, 2,11% - у пациентов 40-80 лет и 6,45% - среди респондентов 85+. Величина рефракции крутой роговицы и показатель рефракции плоской роговицы составляли в среднем соответственно $43,58 \pm 1,50$ дптр и $42,70 \pm 1,42$ дптр – у детей и подростков, $44,26 \pm 1,70$ дптр и $43,61 \pm 1,76$ дптр - у взрослых, $45,1 \pm 1,72$ D и $43,98 \pm 1,68$ – у лиц старческого возраста. Как показал проведенный многофакторный анализ, более высокая распространенность пограничных состояний коррелировала с меньшей осевой длиной глаза у детей, а у взрослых коррелировала в основном

с биометрическими параметрами глаза - с меньшей осевой длиной, более высоким показателем миопической и цилиндрической рефракции, меньшей толщиной и большим объемом роговицы, большей толщиной хрусталика. Дальнейший анализ кератотопографических карт по данным популяционных исследований выявил увеличение частоты встречаемости КК в разных возрастных группах населения: детской группе - 0,02% (n=4933), во взрослой группе - 0,07% (n=5899), а среди пожилых респондентов - 0,06% (n=1526), соответственно.

Результаты настоящей работы сравнимы с данными других авторов. Так, D.A. Godefrooij и соавт. (2016) изучили базу данных обязательного медицинского страхования - 4,4 миллиона пациентов в возрасте 10–40 лет, проживающих в Нидерландах. По их оценкам распространенность КК составила 0,27% (95% ДИ: 0,26, 0,27), что в 5–10 раз выше опубликованных ранее показателей, однако ниже, чем данные, полученные в нашем исследовании. Причиной расхождений может стать тот факт, что базы данных медицинского страхования, вероятно, недооценивают реальную распространенность заболевания. В поперечном исследовании 1251 человека в возрасте 20 лет в г. Перт (Западная Австралия), Чан с соавт. (2021) в исследовании Raine применили визуализацию по принципу Шеймпфлюга и определили КК на основании анализа эктазии по Белин/Амброзио в 2,6 или более. В данной возрастной группе авторы выявили распространенность КК в 1,2% (95% ДИ: 0,7, 1,9). Это значение сравнимо с результатами исследования UEMS, если принять во внимание возрастные различия между изучаемыми популяциями. Как и в нашем исследовании, исследование Raine показало корреляцию более высокой распространенности КК и биометрических параметров глаза, таких как сферическая и цилиндрическая рефракция, и толщина роговицы в самой тонкой точке. Как и в нашем исследовании, распространенность КК не была связана с полом, расой и индексом массы тела, но в исследовании Raine выявлена взаимосвязь между

распространенностью КК и регулярным курением. При повторном анализе этой же когорты 8 лет спустя, Чан (Chan) и соавторы выявили распространенность КК на уровне 3,4% (26/755), что также согласуется с результатами, полученными в популяционных исследованиях UEMS и UVOS. Как и в нашем исследовании, Chan и др. сообщали о связи между более высокой распространенностью КК и меньшей осевой длиной, роговичным астигматизмом и более выраженной близорукостью. В длительном анализе риска в исследовании Raine отмечено, что длительное воздействие ультрафиолета, измеряемое по площади автофлуоресценции конъюнктивы, может вызывать эффект кросслинкинга, и, таким образом, способствует снижению риска развития КК. Популяционное исследование Central India Eye and Medical Study с участием лиц 30+ лет выявили схожую с нашими исследованиями UEMS и UVOS распространенность КК (2,3% +/- 0,2%).

Экспериментальные исследования были направлены на выявление кросслинкинг-индуцированных эффектов в структурах глаза, которые позволили раскрыть базовые механизмы развития патологического процесса и патогенетического воздействия процедуры. В ходе экспериментальных исследований изучены процессы свободно-радикального окисления, апоптоза, состояние локальной антиоксидантной системы глаз, а также характерные морфологические изменения в роговице на фоне УФ КЛР. Окислительные процессы в глазных структурах могут быть вызваны разными факторами внешней среды, в том числе воздействием ультрафиолета, что представляет интерес с точки зрения выявления альтерирующего эффекта УФ облучения.

Для оценки влияния отдельных этапов вмешательств нами исследована динамика спонтанной светимости и светосуммы люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) ВПК глаза кроликов при различных вариантах воздействия.

Установлено, что через час после УФ облучения без фотосенсибилизатора наблюдалось увеличение спонтанной светимости ХЛ в

5,7 раза, в сравнении с интактными кроликами ($p<0,01$), а светосумма увеличилась в 4,8 раз ($p<0,01$). Показатели спонтанной светимости и светосуммы ЛЗХЛ ВПК животных после стандартного УФ КЛР превышали контрольные значения в 2,6 и 3 раза, соответственно ($p<0,05$). Разница показателей после УФ КЛР и обычного УФ облучения оказалась существенно ниже, что, несомненно, связано с присутствием рибофлавина, который наряду с фотосенсибилизирующей активностью проявляет протекторные свойства от неблагоприятного воздействия ультрафиолета. Процедура изолированного удаления эпителия роговицы также вызвала значимый рост значений спонтанной светимости в 2,1 раза ($p<0,05$) и светосуммы – в 2 раза ($p<0,05$), по сравнению с интактными глазами, что связано в травмирующим эффектом. Затем отмечали снижение уровня ХЛ к 14 суткам. Избыточная активация процессов СРО, зарегистрированная через 1 час после УФ облучения уменьшилась. При этом статистически значимая разница в этих показателях с интактными глазами сохранялась. Следует отметить, что сама процедура УФ КЛР по степени индукции окислительных процессов и выраженности травмирующего эффекта сопоставима с процедурой деэпителизации роговицы, но значительно безопаснее изолированного УФ облучения при отсутствии фотосенсибилизатора.

Прижизненные изменения в роговице экспериментальных животных после изолированного УФ облучения и УФ КЛР с фотопротектором Декстралинк оценивались на основании конфокальной микроскопии переднего отрезка глаза. Выявлены выраженные патоморфологические изменения в роговице преимущественно после УФ облучения без фотосенсибилизатора: отмечали более выраженный стромальный отек, апоптоз и снижение плотности кератоцитов на 74%, нарушение прозрачности роговицы. В срок до 90 суток наблюдали сохраняющиеся признаки клеточной гибели, которые визуализировали в виде контрастной ретикулярной структуры. Изолированное УФ облучение роговицы

вызывало повреждение эндотелиального слоя клеток со снижением их количества на 54%. После УФ КЛР с Декстралинком в роговичной ткани наблюдались изменения, характерные для процесса перекрестного сшивания. Особенностью морфологических картины после УФ КЛР было снижение количества кератоцитов на 45% ($p < 0,05$) в передней строме на глубине до 150 мкм по сравнению с интактными глазами и отсутствие признаков повреждения и снижения плотности эндотелиоцитов.

Влияние УФ КЛР на процессы апоптоза в роговице и механизмы его воздействия оценивались по наличию белков модуляции клеточной гибели - ингибитора апоптоза Bcl-2 и фактора генетической стабильности p-53 в экспериментальных исследованиях на 30 крысах. Оценку экспрессии белка Bcl-2 кератоцитами после УФ облучения без фотосенсибилизатора произвести не удалось в связи с развившейся к 90-м суткам тотальной морфологической инволюцией роговицы. После УФ облучения роговицы с применением фотосенсибилизатора наблюдалось транзиторное усиление продукции кератоцитами антиапоптозного белка Bcl-2, активность которого возрастала в присутствии растворов рибофлавина, что свидетельствовало о запуске механизма митохондриального пути клеточной гибели. Важно отметить, что УФ КЛР не был связан с развитием p-53-опосредованного апоптоза, т.е. был индуцирован апоптотический путь гибели клетки, исключая некроз.

Иммуногистохимическое исследование продукции каспазы-3 и каспазы-8 клетками роговицы крыс после УФ воздействия выявило наличие иммунопозитивных клеток преимущественно в передних и средних слоях гистопрепаратов на 3-е сутки. Причем количество положительно окрашенных кератоцитов после УФ КЛР с Декстралинком было в 1,8 раза меньше ($p < 0,05$), в сравнении с изолированным УФ облучением, при котором на 90-е сутки отмечали деструкцию стромы роговицы, вызванной негативным воздействием ультрафиолета.

Достоверное повышение продукции эффекторной каспазы-3, сохраняющееся до 90 суток после УФ КЛР можно рассматривать как следствие индукции каспазного каскада в кератоцитах в ответ на повреждение роговицы, вызванное ее дезэпителизацией и воздействием УФ излучения. Установленная активность инициаторной каспазы-8 свидетельствует о включении внешнесигнального механизма в процесс активации апоптоза кератоцитов после УФ сшивания роговицы.

УФ КЛР в присутствии фотосенсибилизатора способствовал выработке кератоцитами трансформирующего (TGF- β 1) и фибробластного (FGF-1) ростовых факторов в ранний срок наблюдений (3 суток) с локализацией окрашенных клеток в передних и средних слоях стромы, с последующим (90 суток) снижением экспрессии TGF- β 1 и ее отсутствием FGF-1, что согласуется с результатами исследований других авторов [101, 315]. Синтез данных факторов роста, очевидно, призван через метаболическое возбуждение кератоцитов повысить продукцию компонентов внеклеточного матрикса и компенсировать последствия травмирующего действия процедуры и индукции клеточной гибели. Вместе с тем в гистопрепаратах интактной и опытной групп не отмечено экспрессии кератоцитами Ki-67 и IL-1 α , что может свидетельствовать о низкой пролиферативной клеточной активности при отсутствии значимых воспалительных реакций в строме роговицы.

Для изучения локальной активности оксидативной реакции при кератоконусе мы оценили динамику локального уровня общего антиоксидантного статуса (ОАС) слезы, уровень супероксиддисмутазы у здоровых лиц, а также у пациентов с КК после применения различных протоколов УФ КЛР. На основании проведенных исследований выявлено, что у пациентов с КК отмечается значимое снижение исходного уровня ОАС на 46,3%, по сравнению со здоровыми людьми. Полученные результаты согласуются с данными других авторов о нарушении регуляции

маркеров окислительного стресса и антиоксидантов, приводящего к дисбалансу окислительно-восстановительного гомеостаза на локальном и системном уровне у пациентов с КК [96, 148, 155, 281].

Динамика активности ОАС после стандартного и акселерированного протоколов УФ КЛР была схожая, с максимальным снижением в первые 3-е суток на 50,3% и 47,8% соответственно, и постепенным повышением к концу месяца. Применение УФ КЛР вызвало максимальное снижение уровня супероксиддисмутазы на 65,1% на 3-и сутки после С-КЛР и на 58,2% - после А-КЛР. Положительная динамика восстановления уровня СОД наблюдалась через 2 недели после процедуры, к концу первого месяца он составлял 96,9% от исходного уровня после С-КЛР и 110,6% - после А-КЛР. Таким образом, УФ КЛР сопровождается ослаблением локального уровня общего оксидативного статуса СОД в ранние сроки после процедуры (3 сут). Увеличение выработки активных форм кислорода и усиление свободнорадикального окисления в тканях глаза могут привести к их восстановлению к концу первого месяца.

В ходе экспериментально-клинических исследований совместно с научно-производственным отделом Уфимского НИИ глазных болезней были созданы и внедрены в клиническую практику оригинальные отечественные медицинские изделия для УФ кросслинкинга роговицы:

- устройство для перекрестного сшивания коллагена роговицы УФалинк (пат. №108963 от 17.02.2011 г, бюл. №28).
- УФалинк-Квант
- аппарат для ионофореза «Ион» (патент РФ)
- фотосенсибилизатор «Декстралинк».

Клинический раздел был выполнен на 532 глазах с применением различных протоколов УФ КЛР: стандартный (218 глаз), акселерированный в непрерывном режиме (146 глаз), импульсный-акселерированный (34 глаза), трансэпителиальный (89 глаз) и

предложенные модифицированные протоколы при тонких роговицах (45 глаз).

Стандартный протокол выполнялся в режиме непрерывного облучения при мощности 3мВт/см^2 – 30 минут, после предварительного насыщения роговицы в течение 30 минут фотосенсибилизатором «Декстралинк». В раннем послеоперационном периоде отмечалось незначительное снижение остроты зрения с повышением ее с 6-го месяца за счет уплощения роговицы. Снижение преломляющей силы роговицы наблюдали в течение 3 лет в среднем на $2,52 \pm 0,76$ дптр. Более тяжелых осложнений (обострение кератита, повреждение эндотелия), описанных другими авторами, не наблюдалось ни в одном случае. При сроке наблюдения 8 лет ($n=152$) отмечали стабилизацию прогрессирования КК в 144 глазу (94,7%). В 2 случаях из общей когорты ($n=218$) отмечали развитие асептического кератита (0,9%), в 5 случаях -персистирующую эрозию роговицы (2,3%), которые в последующем способствовали развитию стойкого хейза.

В группе из 63 пациентов (89 глаз) выполняли трансэпителиальный УФ КЛР путем насыщения ее фотосенсибилизатором методом ионофореза с применением разработанного нами аппарата «ИОН» и последующим облучением при мощности 3мВт/см^2 – 30 минут. Максимальное снижение преломляющей силы роговицы наступало к концу второго года после процедуры, когда в 59,5% глазах показатель преломляющей силы роговицы в среднем уменьшился на $1,78 \pm 0,34$ дптр. При сроке наблюдения до 8 лет выявлено стабильное течение процесса только в 45 глазах (50,6%) со снижением преломляющей силы роговицы в среднем на $1,21 \pm 0,26$ дптр. Частота развития стойкого хейза после процедуры в связи с незначительным фибропластическим процессом в передней строме составила 1,1% (1 глаз). Результаты диссертационного исследование подтверждают оценку ТЭ-КЛР других авторов, указывая на необходимость

дальнейших исследований и совершенствования этой технологии [2, 41, 54, 84, 85, 91, 107, 131, 162].

Клинические исследования акселерированного УФ КЛР были выполнены у 133 пациентов (180 глаз), разделенных на 2 группы - 105 пациентов (146 глаз) с применением акселерированного протокола при мощности 9 мВт/см^2 – 10 минут с деэпителизацией, а 2 группа - 28 пациентов (34 глаза) – импульсный-акселерированный при мощности 9 мВт/см^2 – 20 минут с деэпителизацией (1 секунда облучение и 1 секунда пауза). В сроки от 6 до 8 лет в подавляющем большинстве случаев отмечена стабилизация процесса - в 122 глазу (83,6%), снижение показателя кератометрии в среднем на $1,57 \pm 1,05$ дптр. Признаки дальнейшего прогрессирования КК наблюдались в 24 глазах (16,4%) после акселерированного УФ КЛР в течение $3,7 \pm 0,92$ лет. У пациентов после импульсного-акселерированного кросслинкинга ($n=34$) отмечалась схожая тенденция. В среднем через $3,9 \pm 1,1$ лет отмечена стабилизация процесса в 28 глазах (82,3%) со снижением показателя кератометрии в среднем на $1,81 \pm 2,5$ дптр, увеличением преломляющей силы от 0,5 до 1,5 дптр – в 6 глазах (17,7%). При сравнительном анализе полученных результатов А-КЛР и ИА-КЛР установлено, что дальнейшее прогрессирование заболевания отмечали примерно в одни сроки – в среднем через $3,8 \pm 0,8$ лет, их клиническая эффективность (уменьшение преломляющей силы роговицы и повышение остроты зрения) была сопоставима. Полученные нами результаты согласуются с данными других авторов [133, 174, 241].

В ходе исследований на ограниченной когорте из 33 пациентов (45 глаз) с развитой стадией КК и тонкой роговицей (менее 400 мкм) были применены предложенные модифицированные протоколы УФ КЛР с использованием специально приготовленной мягкой контактной линзы и биолинзы из консервированного донорского материала.

Через месяц после УФ КЛР отмечалось незначительное улучшение НКОЗ и КОЗ в обеих группах без статистически значимой разницы между ними. Показатели преломляющей силы передней поверхности роговицы показывали негативную динамику в виде увеличения как с МКЛ, и с биолинзой, при отсутствии статистической разницы между ними ($P_0 > 0,1$). Положительная динамика отмечалась в сроки от 6 месяцев до 2 лет в виде уплощения роговицы на 0,6 дптр после МКЛ и 0,8 дптр – после биолинзы. Среди нежелательных явлений можно отметить только развитие хейза в 7,4% случаев после МКЛ и в 5,5% случаев – после биолинзы, без признаков повреждения эндотелиального слоя. Таким образом, наличие тонкой роговицы (350-400 мкм) не является абсолютным противопоказанием к выполнению УФ КЛР с применением дополнительных средств (контактной линзы или биолинзы), является относительно безопасным методом лечения. Эффективность метода выражается в снижении показателей кератометрии до 1,0 дптр без каких-либо признаков повреждения эндотелия роговицы.

На основании длительных наблюдений было выявлено, что у части пациентов отмечается регресс полученных результатов в сроки от 2 до 8 лет с признаками прогрессирования КК после первой процедуры УФ КЛР. Это потребовало выполнения повторного кросслинкинга роговицы в 19 глазах с прогрессирующим течением КК по предложенной методике (Патент РФ № 2510258 от 27.03.2014) с использованием аппарата «УФалинк». Выполнение повторного КЛР показало улучшение клинических показателей в 17 случаях (89,5%), а в 2 случаях (10,5%) показатели оставались стабильными. Таким образом, повторный УФ КЛР показал высокую эффективность и безопасность процедуры в 100% случаев, развитие незначительного хейза - в 10,5% случаев и снижение среднего показателя кератометрии в среднем на 3,77 дптр, максимальной преломляющей силы - на 4,6 дптр, обеспечивая стабилизацию процесса.

Морфологические изменения в роговице максимально проявлялись через 1 месяц после УФ КЛР. Они характеризовались наличием демаркационной линии в 74% случаев после стандартного, в 71% - после акселерированного и в 47% случаев – после трансэпителиального протоколов в сред них и перед них слоях роговицы. При этом в центральной зоне она располагалась глубже, чем на периферии. Выраженность демаркационной линии и глубина ее залегания снижались от стандартного к акселерированному и трансэпителиальному протоколам, соответственно. Выраженность эффективности УФ КЛР прямо коррелировала со снижением плотности кератоцитов в строме роговицы и наличием лакунарного отека. Уменьшение плотности кератоцитов было выражено после стандартного протокола со снижением на 25%, после акселерированного – на 12,8%, и незначительно – на 3% после трансэпителиального протокола УФ КЛР. Кросслинкинг роговицы оказывал воздействие только на строму, влияя на её морфологию, повышая коэффициент отражения внеклеточного матрикса, уменьшения в сроки до 1 месяца и последовательного восстановления популяции кератоцитов к концу первого года. Ни один из применяемых протоколов не показал статистически значимое отрицательное влияние на макулярную зону и не вызывал снижение плотности пигментного эпителия сетчатки. Выраженность всех морфологических изменений соответствовала клинической эффективности выбранных протоколов, при этом в подавляющем большинстве не вызывая необратимых патоморфологических изменений ткани роговой оболочки глаза и внутриглазных структур. Полученные в ходе исследования результаты согласуются с данными других авторов [146, 173].

Для оценки клинической значимости комплекса элевационных, кератометрических и пахиметрических показателей было проведено сравнительное исследование различных параметров у здоровых добровольцев, пациентов с субклинической формой КК и пациентов с манифестной формой КК (II-III стадии по классификации Amsler-Krumeich). Наиболее значимыми

кератометрическими показателями в дифференциальной диагностике субклинической стадии КК оказались иррегулярность поверхности роговицы в 3 мм зоне, толщина роговицы в центре, в наиболее тонкой точке и на периферии, а также ряд элевационных показателей - максимальная элевация передней и задней поверхности роговицы, элевация передней и задней поверхности в наиболее тонкой точке. Комплексный анализ данных показателей повышает эффективность диагностики субклинических форм КК и может свести к минимуму риск развития ятрогенных кератоктазий после кераторефракционных операций.

В ходе исследования была разработана балльная шкала для оценки отдельных показателей, которая учитывает комплекс данных: анамнез, биомикроскопия, кератобиометрия. Разработанная шкала легла в основу программы: «Автоматическая система диагностики кератоконуса» (свидетельство о государственной регистрации № 201661115, от 21.12.2015 г.). Разработанная автоматизированная программа позволяет не только оценивать риски развития кератоктазии, но и составлять индивидуальные алгоритмы ведения пациентов в зависимости от степени риска.

Программа предоставляет рекомендации по динамическому наблюдению: определяет частоту и методы наблюдения в зависимости от риска прогрессирования, предлагает различные варианты профилактического лечения с использованием УФ-КЛР для пациентов с повышенным риском.

Разработанная шкала критериев и основанная на ней программа диагностики позволяет выполнять следующие задачи: распределять пациентов по группам риска, определяя вероятность развития КК; определить тактику ведения пациента и предоставить индивидуальные рекомендации по наблюдению и лечению: верифицировать КК и определить его стадию.

Благодаря этому, программа способствует своевременной диагностике и оптимальному лечению кератоктазии. Возможность оценки кератобиометрических показателей в динамике позволяет объективно судить о

характере течения заболевания. На основании проведенных исследований были выявлены наиболее значимые параметры, влияющие на течение болезни, которые легли в основу разработки алгоритма выбора наиболее эффективного и безопасного протокола УФ-кросслинкинга.

Основываясь на клиническом опыте, нами был разработан алгоритм выбора клинического протокола УФ КЛР в зависимости от ряда критериев: возраст пациента, сроки течения болезни, темпы прогрессирования. На основе регрессионных коэффициентов была определена степень влияния предикторов на успех терапии в рамках каждого протокола. Для удобства практического применения полученных оценок была сформирована балльная оценка для выбора наиболее подходящего протокола УФ КЛР. В зависимости от наличия и сочетания наиболее значимых критериев можно дать оценку течению патологического процесса болезни и рекомендовать оптимальный протокол кросслинкинга роговицы для максимальной клинической эффективности. Суммарное количество баллов является условным ориентиром в выборе протокола: 3-5 баллов – трансэпителиальный протокол, 6-8 баллов – акселерированный протокол, 9-11 баллов – стандартный протокол.

Однако, следует учитывать, что при толщине роговицы 351-400 мкм – необходимо использовать гипоосмотичный фотосенсибилизатор или временное утолщение роговицы с применением МКЛ или биолинзы. Таким образом, выбор протокола УФ КЛР должен быть основан на многих факторах и всегда индивидуален. При соблюдении принципиальных условий выбора отдельных вариантов комбинации клинических показателей можно добиться эффективного и безопасного клинического эффекта УФ КЛР. На основании проведенных клинических исследований рекомендован дифференцированный подход при выборе протокола УФ КЛР с учетом возрастных особенностей, манифестации и стажа заболевания. Это связано с различиями клинического и патоморфологического эффекта УФ-

кросслинкинга в зависимости от режима облучения, что было показано в исследовании.

Проведенное исследование показало, что стандартный протокол остается наиболее эффективным в лечении пациентов с КК, согласуясь с результатами других авторов [51, 314, 316, 330]. Применение данного протокола обеспечивает наиболее выраженный и длительный рефракционный эффект, а также наиболее высокую вероятность стабилизации течения заболевания. Однако, окислительные процессы, происходящие в ходе рибофлавин-ультрафиолетового облучения роговицы и лежащие в основе формирования ковалентных связей между коллагеновыми волокнами, вызывают усиление апоптоза кератоцитов и формирование лакунарного отека в строме роговицы после процедуры, что подтверждает данные других авторов [151, 189, 203]. Этот вторичный эффект УФ облучения способствует более длительной реабилитации после применения стандартного протокола и повышает риск нежелательных явлений. Снижение длительности облучения, несомненно, нивелирует этот негативный эффект. Было показано, что акселерированный протокол показывает достаточную клиническую эффективность, незначительно уступающую стандартному, но в отдаленном периоде частота рецидивов оказалась больше. Даже смена режима облучения, когда можно выполнять его непрерывно или с паузами, не показала значимую разницу в клиническом эффекте. Предполагалось, что паузы между импульсами облучения могут обеспечить больший доступ для кислорода, увеличение времени для восстановительных процессов. Однако сравнительная оценка этих 2 режимов акселерированного УФ КЛР (непрерывного и импульсного) показала сопоставимость в отношении регресса кератометрических показателей и стабильности течения процесса в отдаленном периоде. Оба этих протокола менее эффективны по сравнению

со стандартным, но имеют более выраженное влияние на роговицу по сравнению с трансэпителиальным протоколом.

Несмотря на выявленную тенденцию снижения эффективности протоколов при уменьшении длительности облучения и сохранении эпителия, все изученные нами протоколы УФ КЛР можно использовать в клинической практике. Это связано со снижением негативного эффекта оксидативного стресса УФ облучения при уменьшении длительности облучения с повышением мощности и быстрой реабилитации при сохранении эпителия. С увеличением возраста пациента рефракционный эффект от УФ КЛР уменьшается. Кроме того, в юном возрасте, при ранней манифестации КК требуется стабилизировать заболевание на более значительный срок. С возрастом, ввиду особенностей инволюционных процессов в организме, наступает естественный метаболический кросслинкинг тканей. С этим может быть связана стабилизация КК в подавляющем большинстве случаев к концу 3-й и 4-й декады жизни. У молодых пациентов прогрессирование заболевания происходит быстрее. На основании проведенных наблюдений следует сделать вывод, что чем раньше происходит манифестация КК, тем быстрее и длительнее он будет прогрессировать, вызывая значительные рефракционные нарушения и переход в далекозашедшие стадии. В этой связи достижение более выраженного и длительного эффекта УФ КЛР является приоритетным у юных и молодых пациентов даже при выявлении ранних стадий КК. Таким требованиям отвечает стандартный протокол УФ кросслинкинга. В более позднем возрасте клинического эффекта акселерированного протокола достаточно, а низкий оксидативный стресс оставляет больше компенсаторных возможностей роговицы для быстрой реабилитации. Оба акселерированных протокола могут применяться у пациентов среднего возраста от 25 до 35 лет, с учетом меньшей скорости прогрессирования КК. Это создает баланс между выраженной клинической эффективностью

и отдаленным эффектом для стабилизации болезни. Применение трансэпителиального протокола УФ КЛР показало наименьшую эффективность в клиническом отношении, однако при его использовании практически не бывает осложнений. Кроме того, менее выраженный оксидативный стресс создает благоприятные условия для повторного применения УФ КЛР при отсутствии эффективности первичной процедуры. Данный подход с выбором более щадящего протокола может быть оптимальным в педиатрической практике, при субклиническом проявлении КК, а также у более возрастных пациентов. Применение УФ КЛР также возможно у пациентов с критически низкими значениями толщины роговицы, что ранее считалось абсолютным противопоказанием к выполнению процедуры. Известно, что терапевтическая доза ультрафиолета при выполнении УФ КЛР значительно меньше пороговой для необратимого воздействия на эндотелий роговицы (Spoerl, 2006). Большинство экспериментальных работ показывали негативный эффект УФ излучения на эндотелий роговицы при отсутствии рибофлавина или чрезмерно низкой толщине роговицы. В связи с этим нами предложены методики УФ КЛР с применением специальных способов транзитного увеличения толщины роговицы (МКЛ с учетом топографической картины роговицы или специальной биолинзы определенной толщины), по которым были получены патенты РФ.

Итак, возникает очевидная закономерность, которая лежит в основе выбора протокола УФ кросслинкинга роговицы при лечении кератоконуса. Несмотря на различную клиническую эффективность, все современные протоколы кросслинкинга имеют «право на жизнь» при условии индивидуализированного подхода к выбору наиболее оптимального протокола.

Таким образом, созданная система лечения пациентов с кератоконусом методом ультрафиолетового кросслинкинга роговицы на основании оценки

результатов эпидемиологических и экспериментально-клинических исследований, дифференцированного подхода к выбору протокола процедуры, разработке хирургических технологий и медицинских изделий позволяет повысить эффективность лечения, обеспечивая стабилизацию и профилактику прогрессирования данного заболевания. Выбор протокола кросслинкинга должен быть основан на многих факторах и всегда индивидуален, но при соблюдении принципиальных условий отдельных вариантов комбинаций клинических показателей можно добиться эффективного и безопасного клинического эффекта.

ВЫВОДЫ

1. Создана система лечения пациентов с кератоконусом методом ультрафиолетового кросслинкинга роговицы, позволяющая достичь стабилизации процесса и обеспечить профилактику прогрессирования заболевания в 50,8-94,7% случаев с уменьшением преломляющей силы роговицы на 0,5-2,4 дптр в результате ее уплощения, усовершенствованные медицинские изделия и клинические протоколы являются эффективными и безопасными.

Впервые на основании проведенных популяционных исследований с 2018 по 2023 гг. выявлен рост распространенности кератоконуса в Республике Башкортостан по данным обращаемости с 5,9 до 9,0, и заболеваемости – с 1,9 до 2,3 на 100000 населения. Установлено, что заболевание носит преимущественно спорадический характер, при этом в общей популяции КК у мужчин выявляется в 2 раза чаще (соотношение лиц мужского и женского пола у детей и подростков составило 3,6:1 или 78,2% к 21,8%;, у лиц среднего возраста – 2,6:1 или 72,3% к 27,7%, у лиц в возрасте 85+ лет – 1:1,3 или 45,5% к 54,5%), у городских жителей – почти в 3 раза чаще, чем у сельских (соответственно 75,5% и 24,5%). Манифестация заболевания у мужчин наступала раньше в среднем на $4,0 \pm 0,3$ года, чем у женщин, при этом за медицинской помощью они также обращались на $2,9 \pm 0,3$ года раньше ($p < 0,02$). Распространенность пограничных состояний увеличивалась с возрастом, составляя: в группе детей и подростков – 0,086%, у лиц 40-80 лет – 2,11%, а среди респондентов 85+ лет – 2,75%. На основании анализа кератотопограмм в разных возрастных группах населения установлена частота встречаемости КК: у детей и подростков - 0,02% ($n=4933$), у лиц 40-80 лет – 0,07% ($n=5899$), а среди респондентов в возрасте 85 и больше - 0,06% ($n=1526$), соответственно.

3. Установлено, что у пациентов с кератоконусом отмечается снижение общего антиоксидантного статуса и уровня супероксиддисмутазы слезной

жидкости на 47% и 25,8% ($p<0,05$), соответственно. После УФ-кросслинкинга роговицы отмечается статистически значимое снижение исходных уровней данных показателей в среднем на 49% ($p<0,05$) и 61,6% ($p<0,05$), соответственно с последующей тенденцией к восстановлению показателей, начиная с 7-х суток наблюдения. УФ кросслиндинг роговицы сопровождается активацией процессов свободно-радикального окисления, что подтверждается ростом значений светосуммы люминолзависимой хемилюминесценции в 2,6 раза во влаге передней камеры глаз экспериментальных животных. УФ кросслиндинг не вызывает некротических изменений в ткани роговицы.

4. Разработана отечественная система применения УФ кросслинкинга, основанная на использовании предложенных инновационных устройств (аппараты «УФалинк», «УФалинк Квант», «ИОН»), средств (фотопротектор «Декстралинк») и клинических протоколов (стандартный, трансэпителиальный, акселерированный, импульсно-акселерированный), обеспечивающая клинико-функциональную реабилитацию пациентов с кератоконусом.

5. На основании клинических исследований установлено, что эффективность УФ-кросслинкинга выше при максимально допустимых параметрах длительности облучения и удалении эпителиального слоя роговицы. Это способствует стабилизации течения заболевания в сроки до 7 лет с уплощением роговицы: при стандартном протоколе – в 94,7% случаев, при акселерированном – в 83,1% случаев и при трансэпителиальном – в 50,8% случаев со снижением средней преломляющей силы роговицы Kave на $2,12\pm0,76$ дптр, $1,82\pm0,21$ дптр и $1,22\pm0,26$ дптр, соответственно. Через 10 лет после УФ КЛР ($n=34$) роговичный астигматизм уменьшился в среднем на $1,2\pm0,31$ дптр, толщина роговицы – до $428\pm38,7$ мкм. Прогрессирование кератоконуса после выполнения первой процедуры УФ кросслинкинга отмечено у 18,2% пациентов в среднем через $4,8\pm3,1$ лет. Повторный кросслиндинг, выполненный через 2 года после первого, обеспечивает

стабилизацию процесса в течение следующих 5 лет с уменьшением преломляющей силы роговицы в среднем на $3,77 \pm$ дптр.

6. Оценка морфологических изменений роговицы на фоне применения различных протоколов УФ-кросслинкинга показала, что демаркационная линия верифицируется в среднем через 1 месяц при стандартном протоколе в 74% случаев и локализуется на глубине $305,73 \pm 41,08$ мкм, при акселерированном – в 71% случаев на глубине $214,73 \pm 42,18$ мкм, при трансэпителиальном – в 47% случаев на глубине $158,33 \pm 38,12$ мкм, что объясняет различие клинической эффективности. Морфологические изменения после УФ-кросслинкинга роговицы характеризуются лакунарным отеком стромы, снижением плотности кератоцитов в передних и средних слоях (на глубине до 250 мкм) (от 3 до 28,6%, $p < 0,05$) в первые 30 дней с последующим восстановлением. Плотность ретинального пигментного эпителия в послеоперационном периоде существенно не изменялась при разных протоколах, что свидетельствует об их безопасности в отношении сетчатки.

7. Разработанная «Автоматизированная система диагностики кератоконуса» позволила создать алгоритм ведения пациентов с различной степенью риска развития и прогрессирования заболевания, выбора оптимального лечебного протокола с применением УФ-кросслинкинга.

8. Разработан алгоритм лечения пациентов с риском развития кератоконуса, при котором выбор оптимального протокола УФ кросслинкинга базируется на бальной оценке клинических критериев: до 3 баллов – трансэпителиальный акселерированный протокол, 4–5 баллов – трансэпителиальный стандартный протокол, 6–9 баллов – акселерированный протокол с дезэпителизацией, 10–15 баллов – стандартный протокол с дезэпителизацией.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Разработанные устройства и фотосенсибилизаторы рекомендуются для проведения процедуры ультрафиолетового кросслинкинга роговицы при кератэктазиях в офтальмологической практике из-за их эффективности, которая сравнима с мировыми технологиями. Для безопасного и эффективного проведения ультрафиолетового сшивания роговицы необходимо хорошее насыщение стромы рибофлавином, что обычно достигается за счет дезэпителизации на достаточной площади (не менее 8-9 мм).

При проведении ультрафиолетового сшивания роговицы при тонких роговицах (менее 400 мкм) необходимо применять специальные средства для временного утолщения роговицы на время облучения (мягкие контактные линзы и биолинзы из донорской роговицы).

Значимым аспектом эффективности процедуры ультрафиолетового кросслинкинга роговицы является отсутствие эпителиального слоя и время облучения при сохранности энергии облучения. Для получения более выраженного и стойкого эффекта необходим выбор в пользу стандартного протокола, что может быть необходимо у молодых пациентов с ранней манифестацией и быстрой прогрессией болезни. У пациентов более старшего возраста (старше 25 лет) с более поздней манифестацией длительным течением болезни приемлимым является акселерированный протокол. Трансэпителиальный протокол, являясь наиболее безопасным при относительно удовлетворительной клинической эффективности применим в педиатрической практике и у лиц с низким риском прогрессии (старше 35 лет), а также с профилактической целью при наличии риска манифестации у пациентов с характерными элевационными каратами.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АФК – ROS – (reactiveoxygenspecies) активные формы кислорода
- АФА – RNS – (reactivenitrogenspecies) активные формы азота
- ВПК – влага передней камеры
- ГПМЦ – гидроксипропилметилцеллюлоза
- ЖИ ХЛ – железоиндуцированная хемилюминесценция
- КК – кератоконус
- ЛЗ ХЛ – люминолзависимая хемилюминесценция
- МДА – малоновый диальдегид
- ММП – матриксная металлопротеиназа
- ММП-МТ – матриксная металлопротеиназа мембранного типа
- ОАС – TAS – (total antioxidant status) общий антиоксидантный статус
- ОКТ – оптикокогерентная томография
- ПОЛ – перекисное окисление липидов
- Р-Р – роговица-рибофлавин
- Р-Р-П – роговица-рибофлавин-прекорнеальная пленка
- СЖ – слезная жидкость
- СК – сыворотка крови
- СОД – супероксиддисмутаза
- вк-СОД – внеклеточная супероксиддисмутаза
- ц-СОД – цитозольная супероксиддисмутаза
- СРО – свободно-радикальное окисление
- ТИМП – тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы
- ТБК – тиобарбитуровая кислота
- ТБК-рп – ТБК-реагирующие продукты
- УФ – ультрафиолетовый
- УФО – ультрафиолетовое облучение
- ФС – фотосенсибилизатор
- ХЛ – хемилюминесценция

ЭЦМ – экстрацеллюлярный матрикс

КЛР - CXL – (UV corneal collagen crosslinking) ультрафиолетовый кросслиндинг роговицы

А-КЛР (А-CXL)–акселерированный ультрафиолетовый кросслиндинг роговицы

С-КЛР (S-CXL) – стандартный ультрафиолетовый кросслиндинг роговицы с деэпителизацией

ТЭ-КЛР (TE-CXL)– трансэпителиальный ультрафиолетовый кросслиндинг роговицы без деэпителизации

Epi-On – (epithelium On) сохранение эпителия роговицы

Epi-Off – (epithelium Off) деэпителизация роговицы

IFN – (interferon) интерферон

IL-1 – (interleukin-1) интерлейкин-1

H₂O₂ – перекись водорода

NO – (nitric oxide) оксид азота

TGF – (transforming growth factor) трансформирующий фактор роста

TNF – (tumor necrosis factor) фактор некроза опухоли

дптр – диоптрий

ДЗ – длительность заболевания

ИПП - индекс пахиметрической прогрессии

ИЛ - интерлейкин

КК - кератоконус

КЛ – контактные линзы

КЛР – кросслиндинг роговицы

мкм - микрометр

ММР-1, ММР-13 - матриксные металлопротеиназы 1 и 13

МЭППР - максимальная элевация передней поверхности роговицы

МЭЗПР - максимальная элевация задней поверхности роговицы

ОК - острый кератоконус

ОКТ – оптическая когерентная томография

ПЦР - полимеразная цепная реакция

ППР - передняя поверхность роговицы

РБ - Республика Башкортостан

СКК - субклинический кератоконус

ТИМП-1 - тканевой ингибитор метолопротеиназ-1

ЭППРТ - элевация передней поверхности роговицы в наиболее тонкой точке

ЭППРЦ - элевация передней поверхности роговицы в центре

ЭЗПРТ - элевация задней поверхности роговицы в наиболее тонкой точке

ЭЗПРЦ - элевация задней поверхности роговицы в центре

BFS – сокращение англоязычного термина best fit sphere

HRM - сокращение англоязычного термина High Resolution Melt Reagents -
метод анализа кривых плавления высокого разрешения

K mean – средняя кератометрия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулалиева, Ф. И. Эпидемиология кератоконуса в разных странах / Ф. И. Абдулалиева // Вестник офтальмологии. – 2018. – Т. 134. – № 1. – С. 104-106.
2. Абельский, Д. Е. Кератоконус у детей / Д. Е. Абельский, Г. В. Вашкевич, И. Г. Заборовский, Л. А. Столярова // Медицинские новости. – 2021. – № 12 (327). – С. 58–61.
3. Абугова, Т. Д. Клиническая классификация первичного кератоконуса / Т. Д. Абугова // Современная оптометрия. – 2010. – № 5. – С. 17–20.
4. Аверич, В. В. Влияние контактной коррекции на состояние аккомодации при кератоконусе / В. В. Аверич, Т. Д. Абугова, А. Э. Асламазова // The Eye Глаз. – 2023. – Т. 25. – № 2. – С. 91–98.
5. Аветисов, С. Э. Изменение структуры роговицы после применения кросслинкинга роговичного коллагена при кератоконусе / С. Э. Аветисов, И. А. Бубнова, З. В. Сурнина [и др.] // Медицинский совет. – 2022. – Т. 16. – № 6. – С. 226–233.
6. Аветисов, С. Э. Кератоконус: основные направления исследований / С. Э. Аветисов, В. В. Аверич, Л. С. Патеюк // Вестник офтальмологии. – 2023. – Т. 139. – № 3–2. – С. 11–20.
7. Аветисов, С. Э. Кератоконус: этиологические факторы и сопутствующие проявления / С. Э. Аветисов, И. А. Новиков, Л. С. Патеюк // Вестник офтальмологии. – 2014. – № 4. – С. 110–116.
8. Анисимов С. И. Дегидротермический кросслинкинг материала "корнеопласт": возможности управления физическими, структурными и биологическими свойствами. Экспериментальное исследование / С. И. Анисимов, И. А. Попов, Ю. Е. Горшкова [и др.] // The Eye Глаз. – 2023. – Т. 25. – № 3. – С. 215–223.
9. Анисимов, С. И. Исследования способности к интеграции с роговицей реципиента ксеноматериала для кератопластики "Корнеопласт" в эксперименте на животных / С. И. Анисимов, Н. С. Анисимова, И. А. Попов [и др.] // The Eye Глаз. – 2023. – Т. 25. – № 1. – С. 49–55.

10. Анисимов, С. И. Эра кросслинкинга: былое и грядущее / С. И. Анисимов, С. Ю. Анисимова, А. С. Мистрюков // Катарактальная и рефракционная хирургия. – 2016. – Т. 16. – № 4. – С. 4–10.
11. Анисимова, Н. С. Ультрафиолетовый кросслиндинг в лечении кератоконуса при существенном уменьшении толщины роговицы / Н. С. Анисимова, С. И. Анисимов, Н. Ф. Шилова [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2020. – Т. 136. – № 2. – С. 99–106.
12. Астахов, С. Ю. Оценка эффективности ускоренного коллагенового кросслинкинга в лечении эндотелиальной декомпенсации роговицы / С. Ю. Астахов, С. А. Новиков, С. С. Папанян, И. А. Рикс // Офтальмология. – 2020. – Т. 17. – № 4. – С. 699–704.
13. Астоян, Л. Ц. Современные подходы к лечению тяжелой воспалительной патологии роговицы / Л. Ц. Астоян, С. Б. Измайлова, Д. Ю. Майчук, М. Р. Таевере // Вестник Национального медико–хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2023. – Т. 18. – № S1. – С. 50–52.
14. Балашевич, Л. И. Клиническая корнеотопография и аберрометрия: монография / Л. И. Балашевич, А. Б. Качанов. – М., 2009. – 167 с.
15. Бикбов, М. М. Акселерированный кросслиндинг при тонких роговицах у пациентов с прогрессирующим кератоконусом. предварительные результаты / М. М. Бикбов, Ю. А. Русакова, Э. Л. Усубов, Э. М. Рахимова // Точка зрения. Восток – Запад. – 2020. – № 2. – С. 9–13.
16. Бикбов, М. М. Влияние ультрафиолетового кросслинкинга на уровень цитокинов в слезной жидкости у пациентов с кератэктазиями / М. М. Бикбов, Н. Е. Шевчук, А. Р. Халимов // Цитокины и воспаление. – 2015. – Т. 14. – № 2. – С. 54–57.
17. Бикбов, М. М. Динамика уровня рибофлавина во влаге передней камеры глаза экспериментальных животных при стандартном насыщении стромы растворами для УФ кросслинкинга роговицы / М. М. Бикбов, Н. Е. Шевчук, А. Р.

Халимов, Г. М. Бикбова // Вестник офтальмологии. – 2016. – Т. 132. – № 6. – С. 29–35.

18. Бикбов, М. М. Интраокулярная коррекция аметропии при кератоконусе / М. М. Бикбов, О. И. Оренбуркина, Э. Л. Усубов, И. Ф. Нуриев // Вестник офтальмологии. – 2020. – Т. 136. – № 5. – С. 123–128.

19. Бикбов, М. М. Конфокальная микроскопия при кератоконусе после одномоментной имплантации колец myoring и кросслинкинга роговицы / М. М. Бикбов, В. К. Суркова, Г. М. Казакбаева // Точка зрения. Восток – Запад. – 2021. – № 1. – С. 21–25.

20. Бикбов, М. М. Кросслинкинг тонких роговиц: современное видение проблемы. Обзор литературы / М. М. Бикбов, Ю. А. Русакова, Э. Л. Усубов, Э. М. Рахимова // Acta Biomedica Scientifica. – 2020. – Т. 5. – № 5. – С. 73–80.

21. Бикбов, М. М. Метод перекрестного связывания коллагена роговицы при кератоконусе. Обзор литературы / М. М. Бикбов, В. К. Суркова // Офтальмология. – 2014. – Т. 11. – № 3. – С. 13–18.

22. Бикбов, М. М. Молекулярно–клеточные механизмы ультрафиолетового кросслинкинга роговицы / М. М. Бикбов, А. Р. Халимов // Точка зрения. Восток – Запад. – 2021. – № 4. – С. 48–54.

23. Бикбов, М. М. Особенности ультраструктурных изменений роговичного коллагена экспериментальных животных после УФ кросслинкинга роговицы / М. М. Бикбов, А. Р. Халимов, Н. Е. Шевчук [и др.] // Современные технологии в офтальмологии. – 2022. – № 5 (45). – С. 171–177.

24. Бикбов, М. М. Оценка толщины роговицы *ex vivo* и *in vivo* при инстилляциях растворов фотосенсибилизатора в разных модификациях УФ кросслинкинга роговицы / М. М. Бикбов, А. Р. Халимов, В. К. Суркова, Г. М. Казакбаева // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2021. – Т. 25. – № 2. – С. 96–105.

25. Бикбов, М. М. Результаты лечения кератоконуса методом имплантации интрастромальных роговичных колец MyoRing в сочетании с кросслинкингом

- роговичного коллагена / М. М. Бикбов, Г. М. Бикбова // Офтальмохирургия. – 2012. – Т. 4. – № 4. – С. 6–9.
26. Бикбов, М. М. Роговица и ее изменение при сахарном диабете. Обзор литературы / М. М. Бикбов, В. К. Суркова // Сахарный диабет. – 2016. – Т. 19. – № 6. – С. 479–485.
27. Бикбов, М. М. Экспериментальное обоснование кросслинкинга склеры / М. М. Бикбов, М. Н. Астрелин // Точка зрения. Восток – Запад. – 2021. – № 1. – С. 56–61.
28. Бикбов, М. М. Эктазии роговицы (патогенез, патоморфология, клиника, диагностика, лечение) / М. М. Бикбов, Г. М. Бикбова. – М., 2011. – 168 с.
29. Богуш, И. В. Использование фемтосекундного лазера Visumax для проведения кросслинкинга роговичного коллагена / И. В. Богуш, К. Ю. Краснер, Р. Ш. Садрутдинов [и др.] // Офтальмохирургия. – 2020. – № 1. – С. 14–17.
30. Борисова, С. А. Апоптоз: патогенетические и биорегуляторные механизмы гибели клетки в норме и при глазной патологии / С. А. Борисова, Е. М. Коломойцева // Вестник офтальмологии. – 2003. – Т. 119. – № 2. – С. 50–54.
31. Бубнова, И. А. Влияние кросслинкинга роговичного коллагена на структуру роговицы при кератоконусе / И. А. Бубнова, З. В. Сурнина, В. В. Аверич, К. Г. Саркисова // Вестник офтальмологии. – 2020. – Т. 136. – № 5–2. – С. 268–276.
32. Бубнова, И. А. Изменение состояния прероговичной слезной пленки и глазной поверхности после кросслинкинга роговичного коллагена при кератоконусе / И. А. Бубнова, К. Г. Саркисова // Вестник офтальмологии. – 2022. – Т. 138. – № 3. – С. 118–123.
33. Бубнова, И. А. Отдаленные результаты оценки эффективности стандартного протокола проведения кросслинкинга роговицы при кератоконусе / И. А. Бубнова, В. В. Аверич, К. Г. Саркисова // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 318–319.
34. Бубнова, И. А. Эпителиальные осложнения при различных протоколах кросслинкинга роговичного коллагена / И. А. Бубнова, К. Г. Саркисова // Офтальмология. – 2021. – Т. 18. – № S3. – С. 740–745.

35. Бурджа, Н. Т. Новейшие сведения о клиническом лечении кератоконуса / Н. Т. Бурджа // Точка зрения. Восток – Запад. – 2020. – № 4. – С. 90–91.
36. Бутаба, Р. Изменения роговицы после фульгурации и кросслинкинга в эксперименте / Р. Бутаба, С. В. Труфанов, И. А. Рикс [и др.] // Офтальмологические ведомости. – 2023. – Т. 16. – № 4. – С. 67–77.
37. Васильева, И. В. Анализ отдаленных результатов комбинированного лечения пеллюцидной дегенерации роговицы / И. В. Васильева, В. В. Егоров, С. В. Костенев, А. В. Васильев // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 63–64.
38. Вишнякова, Е. Н. Фемтолазерная интрастромальная имплантация роговичных сегментов с использованием цифрового разметочного устройства в хирургическом лечении кератоконуса: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.07 / Вишнякова Екатерина Николаевна. – М., 2021. – 24 с.
39. Воронин, Г. В. Состояние прекорнеальной слезной пленки после кросслинкинга роговичного коллагена при кератоконусе (предварительное сообщение) / Г. В. Воронин, И. А. Бубнова, В. В. Аверич, К. Г. Саркисова // Вестник офтальмологии. – 2021. – Т. 137. – № 5–2. – С. 224–230.
40. Газдалиева, Л. М. Роль оксида азота и свободнорадикального окисления в патогенезе посттравматической субатрофии глазного яблока: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.08 / Газдалиева Луиза Мавлетовна. – Уфа, 2007. – 24 с.
41. Гетадарян, В. Р. Оценка эффективности ультрафиолетового кросслинкинга в лечении прогрессирующего кератоконуса у детей / В. Р. Гетадарян // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2023. – Т. 2. – С. 362–364.
42. Гиля, А. П. Двухволновое оптическое сканирование в оценке эксимерлазерного кросслинкинга роговицы / А. П. Гиля, И. М. Корниловский // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 89–90.
43. Голяков, А. А. Ультрафиолетовый кросслинкинг коллагена роговицы в сочетании с персонализированной трансэпителиальной фоторефракционной кератэктомией на эксимерном лазере микроскан визум: двухлетнее наблюдение /

- А. А. Голяков, Р. Р. Файзрахманов, М. М. Шишкин, С. Н. Сараева // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2023. – Т. 18. – № S1. – С. 42–46.
44. Голяков, А. Л. Ультрафиолетовый кросслинкинг коллагена роговицы в сочетании с персонализированной трансэпителиальной фоторефракционной кератэктомией на эксимерном лазере "МИКРОСКАН ВИЗУМ" / А. Л. Голяков, Р. Р. Файзрахманов, М. М. Шишкин // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2023. – Т. 1. – С. 132–135.
45. Горскова, Е. Н. Эпидемиология кератоконуса на Урале / Е. Н. Горскова, Е. Н. Севостьянов // Вестник офтальмологии. – 1998. – Т. 114. – № 4. – С. 38–40.
46. Демьянченко, С. К. Использование интраоперационной ост переднего отрезка глаза в ходе акселерированного кросслинкинга на тонкой роговице с применением защитного донорского лоскута / С. К. Демьянченко, Ю. Ю. Голубева, Е. Н. Вишнякова // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 67–68.
47. Дронов, М. М. Диагностика первичного кератоконуса / М. М. Дронов // Офтальмохирургия и терапия. – 2004. – № 3. – С. 2–7.
48. Ермолук, Ф. О. Диагностика и лечение ятрогенного кератоконуса / Ф. О. Ермолук // Справочник врача общей практики. – 2023. – № 6. – С. 40–45.
49. Ермолук, Ф. О. Клинические проявления и диагностика кератоконуса. лечение ятрогенного кератоконуса / Ф. О. Ермолук // Справочник врача общей практики. – 2020. – № 7. – С. 37–42.
50. Жаркой, Д. А. Крылонебная блокада в алгоритме послеоперационного обезболивания кросслинкинга роговицы / Д. А. Жаркой, С. С. Беляев, О. П. Мищенко, В. А. Кабин // Отражение. – 2023. – № 1 (15). – С. 38–42.
51. Иванова, А. В. Стандартный кросслинкинг роговичного коллагена в сравнении с одномоментной топографически ориентированной фоторефракционной кератэктомией в сочетании с ускоренным кросслинкингом роговичного коллагена

- в лечении кератоконуса I–II стадии / А. В. Иванова, А. С. Складова, К. Б. Летникова [и др.] // Точка зрения. Восток – Запад. – 2020. – № 2. – С. 36–39.
52. Измайлова, С. Б. Десятилетний опыт применения оригинального алгоритма хирургического лечения пациентов с начальными стадиями кератоконуса / С. Б. Измайлова, Б. Э. Малюгин, С. Н. Сахнов [и др.] // Офтальмохирургия. – 2021. – № 3. – С. 28–39.
53. Измайлова, С. Б. Медико–технологическая система хирургического лечения прогрессирующих кератэктазий различного генеза : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.07 / Измайлова Светлана Борисовна. – М., 2014. – 49 с.
54. Измайлова, С. Б. Хирургическое лечение начальных стадий прогрессирующего кератоконуса у детей / С. Б. Измайлова, Е. Ю. Маркова, А. З. Цыганов, Л. Л. Арутюнян // Офтальмохирургия. – 2022. – № 2. – С. 78–83.
55. Иомдина, Е. Н. Влияние ультрафиолетового кросслинкинга коллагена на биомеханические показатели криоконсервированных трансплантатов для кератопластики / Е. Н. Иомдина, Е. В. Ченцова, С. В. Флора // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2023. – Т. 2. – С. 506–510.
56. Иомдина, Е. Н. Оценка пропускания тканями глаза ультрафиолетового излучения, генерируемого устройством для локального кросслинкинга "Кросскор" / Е. Н. Иомдина, В. А. Голикова, А. В. Кирюхин // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2020. – Т. 2. – С. 452–454.
57. Иомдина, Е. Н. Современная оценка эффективности и безопасности склеропластики при прогрессирующей миопии / Е. Н. Иомдина, Е. П. Тарутта, Г. А. Маркосян, Ю. И. Гаврилова // Российский офтальмологический журнал. – 2021. – Т. 14, № 1. – С. 96–103.
58. Казакбаева, Г. М. Тактика лечения и исходы осложнений имплантации интрастромальных колец Myoring и кросслинкинга роговицы при кератоконусе / Г. М. Казакбаева, В. К. Суркова // Точка зрения. Восток – Запад. – 2021. – № 4. – С. 12–16.

59. Калинин, Ю. Ю. Клинико–функциональные результаты этапного комбинированного хирургического лечения пеллюцидной дегенерации роговицы / Ю. Ю. Калинин, Д. В. Невров, С. Ю. Калиникова, И. С. Ткаченко // Офтальмология. – 2021. – Т. 18. – № 1. – С. 54–60.
60. Камилов, Ф. Х. Оксид азота в физиологии и патологии глаза / Ф. Х. Камилов, В. У. Галимова, Л. М. Газдалиева // Пермский медицинский журнал. – 2005. – Т. 22. – № 2. – С. 130–137.
61. Каспарова, Е. А. Ранняя диагностика, лазерное и хирургическое лечение кератоконуса : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.08 / Каспарова Елизавета Аркадьевна. – М., 2003. – 48 с.
62. Каспарова, Е. А. Современные представления об этиологии и патогенезе кератоконуса / Е. А. Каспарова // Вестник офтальмологии. – 2002. – № 3. – С. 50–53.
63. Киселева, О. С. Особенности анестезии у пациентов при проведении кросслинкинга с болящей булезной кератопатией / О. С. Киселева, А. Д. Дубок, Е. В. Попова // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 4–5.
64. Копаенко, А. И. Кросслинкинг роговичного коллагена – современные тенденции в практическом применении / А. И. Копаенко, О. Г. Расин // Таврический медико–биологический вестник. – 2020. – Т. 23. – № 3. – С. 98–107.
65. Корниловский, И. М. Рибофлавин в профилактике фиброплазии в лазерной рефракционной хирургии роговицы / И. М. Корниловский, А. П. Гиля, Р. Р. Хататаев // Современные технологии в офтальмологии. – 2022. – № 5 (45). – С. 190–195.
66. Корниловский, И. М. Критерии безопасности и эффективности кросслинкинга роговицы в лазерной рефракционной хирургии роговицы / И. М. Корниловский, А. П. Гиля, Р. Р. Хататаев // Вестник Национального медико–хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2022. – Т. 17. – № S4. – С. 63–66.

67. Корниловский, И. М. Кросслинкинг роговицы излучением эксимерного лазера на аргон-фторе / И. М. Корниловский // Точка зрения. Восток – Запад. – 2021. – № 1. – С. 35–38.
68. Корниловский, И. М. Новые технологии эксимерной лазерной хирургии роговицы / И. М. Корниловский // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 70–71.
69. Корниловский, И. М. Новый взгляд на фотопротекцию и кросслинкинг в эксимерлазерной коррекции зрения / И. М. Корниловский // Современные технологии в офтальмологии. – 2021. – № 5 (40). – С. 132–136.
70. Корниловский, И. М. От стандартного к ускоренному и сверхбыстрому топографически ориентированному профилактическому кросслинкингу в рефракционной хирургии роговицы / И. М. Корниловский // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2023. – Т. 18. – № S1. – С. 53–58.
71. Корниловский, И. М. Фотоабляция с рибофлавином как альтернатива применению митомцина-с в эксимерной лазерной хирургии роговицы / И. М. Корниловский // Точка зрения. Восток – Запад. – 2021. – № 2. – С. 24–27.
72. Корниловский, И. М. Эксимерлазерный топографически ориентированный кросслинкинг роговицы / И. М. Корниловский, А. П. Гиля, Р. Р. Хататаев // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 2. – С. 128.
73. Коршунова, А. Ю. Патогенетические особенности клеточной гибели при альтерации миокарда различного генеза : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.03 / Коршунова Анна Юрьевна. – М., 2016. – 23 с.
74. Кузнецов, Т. Я. Смещение зоны диаметра имплантации интрастромального роговичного сегмента с рефракционной целью / Т. Я. Кузнецов, А. Н. Паштаев, Т. А. Халилова, Д. Н. Сушенцова // Клинические случаи в офтальмологии. – 2023. – № 2. – С. 17–18.

75. Куликов, А. Н. Молекулярно–генетические аспекты патогенеза кератоконуса / А. Н. Куликов, С. В. Чурашов, Т. А. Камилова, В. А. Рейтузов // Офтальмологические ведомости. – 2017. – Т. 10. – № 2. – С. 62–71.
76. Куницкий, К. В. Лечение кератоконуса, преимущества имплантации роговичных сегментов / К. В. Куницкий, В. Л. Бубнов, Э. Ю. Санторо // Здравоохранение Югры: опыт и инновации. – 2023. – № 1 (34). – С. 33–39.
77. Кутузова, Ю. В. Случаи отсутствия лечебного эффекта кросслинкинга при лечении кератоконуса / Ю. В. Кутузова, Е. Л. Сорокин, О. В. Коленко, И. В. Дутчин // Современные технологии в офтальмологии. – 2023. – № 2 (48). – С. 158–162.
78. Магеррамов, П. М. О. Эффективность трёхэтапного лечения кератоконуса с коррекцией сопутствующей аметропии / П. М. О. Магеррамов // Казанский медицинский журнал. – 2022. – Т. 103. – № 1. – С. 153–159.
79. Магеррамов, П. М. Сравнительная оценка результатов комбинированного применения различных методов лечения: кросслинкинга роговицы, имплантации интрастромальных роговичных колец–сегментов и трансэпителиальной топографической фторерефрактивной кератэктомии при лечении кератоконуса / П. М. Магеррамов, Э. Л. Усубов // Точка зрения. Восток – Запад. – 2022. – № 2. – С. 46–53.
80. Магеррамов, П. Четырёхэтапное лечение кератоконуса, сочетающегося с рефракционными аметропиями высокой степени / П. Магеррамов // Офтальмохирургия. – 2022. – № 1. – С. 6–12.
81. Малюгин, Б. Э. Отдаленные результаты использования различных технологий УФ–кросслинкинга у пациентов с прогрессирующим кератоконусом / Б. Э. Малюгин, С. Б. Измайлова, Д. Е. Мерзлов [и др.] // Офтальмохирургия. – 2014. – № 4. – С. 42–49.
82. Малюгин, Б. Э. Оценка изменения биомеханических свойств роговицы при кератэктазиях / Б. Э. Малюгин, Е. Г. Солодкова, С. В. Балалин [и др.] // Современные технологии в офтальмологии. – 2021. – № 5 (40). – С. 179–187.

83. Малюгин, Б. Э. Экспериментальное изучение ферментативной устойчивости донорской роговицы, обработанной по методике УФ–кросслинкинга / Б. Э. Малюгин, С. А. Борзенок, З. И. Мороз [и др.] // Офтальмохирургия. – 2014. – № 1. – С. 20–23.
84. Мамакаева, И. Р. Применение локального УФА–кросслинкинга при язве роговицы у ребенка. Клинический случай / И. Р. Мамакаева, А. В. Плескова, Е. Н. Иомдина, Л. А. Катаргина // Российский офтальмологический журнал. – 2022. – Т. 15. – № 3. – С. 123–127.
85. Маркова, Е. Ю. Кератоконус у детей / Е. Ю. Маркова, Г. В. Авакянц // Российская детская офтальмология. – 2021. – № 2. – С. 56–60.
86. Маркова, Е. Ю. Кератоконус у детей. Современные возможности лечения / Е. Ю. Маркова, Г. В. Авакянц, Е. В. Кечин // Офтальмология. – 2021. – Т. 18. – № 4. – С. 840–844.
87. Маркова, Е. Ю. Кросслинкинг роговичного коллагена у ребенка с кератоконусом / Е. Ю. Маркова, Г. В. Авакянц // Российская детская офтальмология. – 2021. – № 3. – С. 33–38.
88. Маркова, Е. Ю. Миопия: патогенез и современные методы контроля. Обзор литературы / Е. Ю. Маркова, Р. С. Исабеков, Г. В. Авакянц, М. М. Яхьяева // Офтальмология. – 2022. – Т. 19. – № 1. – С. 149–155.
89. Маркова, Е. Ю. Патология органа зрения у детей как симптом дисплазии соединительной ткани / Е. Ю. Маркова, Г. В. Авакянц, Л. В. Аминуллы, А. З. Цыганов // Российская детская офтальмология. – 2022. – № 1. – С. 35–42.
90. Маркова, Е. Ю. Прогнозирование клинико–морфофункциональных результатов кросслинкинга роговичного коллагена у детей / Е. Ю. Маркова, Е. В. Кечин, Г. В. Авакянц [и др.] // Офтальмохирургия. – 2023. – № 4. – С. 62–67.
91. Маркова, Е. Ю. Современные подходы в диагностике и лечении поражений роговицы у детей. Клинический случай / Е. Ю. Маркова, А. Е. Никитина, Д. Я. Наврузалиева [и др.] // Офтальмология. – 2024. – Т. 21. – № 1. – С. 172–177.

92. Медведев, М. А. Наш опыт применения комбинированного лечения язвы мурена / М. А. Медведев, Н. А. Тургунбаев, Л. Б. Гогаева, А. И. Островерхов // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 3 (34). – С. 121–122.
93. Медведев, М. А. Послойная пересадка роговицы с применением кросслинкинга в лечении кератоконуса / М. А. Медведев, Б. Х. Бебезов, Н. А. Тургунбаев, А. И. Островерхов // Вестник Авиценны. – 2020. – Т. 22. – № 2. – С. 237–240.
94. Митичкина, Т. С. Возможности повышения переносимости контактной коррекции при кератоконусе (клиническое наблюдение) / Т. С. Митичкина, Г. В. Воронин, Л. Р. Бунятова, А. Э. Асламазова // Вестник офтальмологии. – 2021. – Т. 137. – № 4. – С. 90–97.
95. Мягков, А. В. Современные возможности "нехирургической" коррекции кератоконуса / А. В. Мягков, К. Федотова, Т. С. Митичкина [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2020. – Т. 136. – № 5–2. – С. 289–295.
96. Нероев, В. В. Эффективность лечения экспериментальных язв роговицы с помощью локального ультрафиолетового кросслинкинга / В. В. Нероев, Е. В. Яни, Е. Н. Иомдина [и др.] // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2020. – Т. 2. – С. 492–498.
97. Новиков, С. А. Отдалённые результаты кросслинкинга роговичного коллагена при рецидивирующей эрозии роговицы / С. А. Новиков, Н. В. Ткаченко, О. А. Фролов, А. С. Сейфеддин // Офтальмологические ведомости. – 2021. – Т. 14. – № 1. – С. 15–24.
98. Образцова, М. Р. Применение метода акселерированного ультрафиолетового кросслинкинга роговичного коллагена с использованием кастомизированной защитной контактной линзы без ультрафиолетового фильтра у пациента со вторичной кератоктазией после лазерной коррекции зрения (клинический случай) / М. Р. Образцова, И. А. Мушкова, Н. В. Майчук // Современные технологии в офтальмологии. – 2021. – № 2 (37). – С. 71–74.

99. Оганесян, О. Г. 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.
100. Оганесян, О. Г. Сравнительный анализ результатов трансплантации боуменоваго 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.
101. Оренбуркина, О. И. Биологическая роль оксида азота в офтальмопатологии / О. И. Оренбуркина, А. Э. Бабушкин, Н. А. Никитин // Вестник офтальмологии. – 2007. – № 2. – С. 40–42.
102. Оренбуркина, О. И. Особенности выполнения переднего капсулорексиса для профилактики капсульного блока после факоэмульсификации катаракты с имплантацией заднекамерной ИОЛ / О. И. Оренбуркина, Г. Ф. Ханова, А. Э. Бабушкин // Точка зрения. Восток – Запад. – 2021. – № 4. – С. 20–23.
103. Осипян, Г. А. Интрастромальное укрепление роговицы по технологии "блок" при эктазии после лазерной кератотомии при ограничении ее толщины и неэффективности кросслинкинга (клиническое наблюдение) / Г. А. Осипян, В. М. Шелудченко, Ю. Н. Юсеф [и др.] // Офтальмология. – 2021. – Т. 18. – № S3. – С. 746–752.
104. Паштаев, А. Н. Реабилитация пациента с субтотальным расплавлением роговицы, ассоциированным с ношением контактных линз, на основе сквозной кератопластики с использованием криоконсервированного трансплантата и последующей пересадкой жизнеспособного эндотелия: 3 года наблюдения / А. Н. Паштаев, Д. Н. Сушенцова, А. З. Цыганов // Клинические случаи в офтальмологии. – 2022. – № 1. – С. 24–29.
105. Плескова, А. В. Опыт клинического применения ультрафиолетового кросслинкинга роговичного коллагена в лечении язвенных поражений роговицы и трансплантата у детей / А. В. Плескова, Л. А. Катаргина, Е. Н. Иомдина [и др.] // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2023. – Т. 2. – С. 409–413.

106. Плескова, А. В. Первые результаты клинического применения ультрафиолетового кросслинкинга роговичного коллагена в лечении язвенных поражений роговицы и трансплантата у детей / А. В. Плескова, Л. А. Катаргина, Е. Н. Иомдина [и др.] // Офтальмология. – 2022. – Т. 19. – № 3. – С. 692–698.
107. Плескова, А. В. Первый опыт комбинированного лечения язвы роговицы и трансплантата у детей дошкольного возраста с применением локального ультрафиолетового кросслинкинга (клинические случаи) / А. В. Плескова, Л. А. Катаргина, Е. Н. Иомдина [и др.] // Офтальмология. – 2023. – Т. 20. – № 2. – С. 358–362.
108. Попов, И. А. Дегидротермический кросслинкинг стромальных графтов роговицы свиньи: влияние температуры на основные трансплантологические свойства. Экспериментальное исследование / И. А. Попов, С. И. Анисимов // Современные технологии в офтальмологии. – 2022. – № 5 (45). – С. 211–216.
109. Рогова, Л. Н. Матриксные металлопротеиназы и роль в физиологических и патологических процессах (обзор) / Л. Н. Рогова, Н. В. Шестернина, Т. В. Замечник, И. А. Фастова // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18. – № 2. – С. 86–89.
110. Севостьянов, Е. Н. Апоптоз кератоцитов при кератоконусе / Е. Н. Севостьянов, Р. У. Гиниатуллин, Е. Н. Горскова, С. Н. Теплова // Вестник офтальмологии. – 2002. – Т. 118. – № 4. – С. 36–38.
111. Севостьянов, Е. Н. Кератоконус плюс / Е. Н. Севостьянов, Е. Н. Горскова. – Челябинск: ПИРС, 2006. – 148 с.
112. Селиверстова, К. Е. Исследования эффективности применения ускоренного (акселерированного) трансэпителиального кросслинкинга роговичного коллагена с помощью портативного прибора кератолинк в терапии пациентов с буллезной дистрофией роговицы / К. Е. Селиверстова, Е. В. Яни, Е. Н. Иомдина // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2023. – Т. 1. – С. 86–88.

113. Семенова, А. Л. Диагностические возможности иммунологического анализа слезной жидкости при кератоконусе / А. Л. Семенова, О. С. Слепова, М. Н. Колединцев // Офтальмология. – 2008. – Т. 5. – № 1. – С. 46–50.
114. Семесько, С. Г. Значение оксида азота и пероксинитрита в патогенезе увеита / С. Г. Семесько // Вестник офтальмологии. – 2005. – № 6. – С. 49–52.
115. Семесько, С. Г. Суммарная антиокислительная активность слезной жидкости / С. Г. Семесько, Р. Р. Фархутдинов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 5. – С. 24–34.
116. Сепиашвили, Р. И. Апоптоз в иммунологических процессах / Р. И. Сепиашвили, М. Г. Шубич, Н. В. Колесникова [и др.] // Аллергология и иммунология. – 2000. – № 1. – С. 15–21.
117. Серебряков, В. А. Фотофизические аспекты кросслинкинга роговицы. Проблемы и перспективы (обзор) / В. А. Серебряков, Э. В. Бойко, В. Г. Маслов [и др.] // Оптический журнал. – 2020. – Т. 87. – № 8. – С. 21–40.
118. Сеницын, М. В. Сравнительный анализ клинико–функциональных результатов фемтолазерных имплантаций интрастромальных сегментов и колец myoring у пациентов с кератоконусом / М. В. Сеницын, Н. А. Поздеева, Н. П. Паштаев // Офтальмохирургия. – 2014. – № 3. – С. 35–41.
119. Слонимский, Ю. Б. Hydrops corneae. дифференциальная диагностика и лечение / Ю. Б. Слонимский, А. Ю. Слонимский // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2014. – № 12 (173). – С. 276–281.
120. Солодкова, Е. Г. Анализ результатов модифицированной персонализированной топографически и томографически ориентированной методики ультрафиолетового кросслинкинга роговичного коллагена / Е. Г. Солодкова, Б. Э. Малюгин, В. П. Фокин [и др.] // Вестник офтальмологии. – 2023. – Т. 139. – № 3. – С. 5–14.
121. Солодкова, Е. Г. Идентификация параметров модели роговицы с кератоконусом при численно–экспериментальном исследовании ее геометрии и

- механического поведения / Е. Г. Солодкова, Б. Э. Малюгин, И. Н. Захаров [и др.] // Российский журнал биомеханики. – 2023. – Т. 27. – № 3. – С. 67–80.
122. Солодкова, Е. Г. Применение программного обеспечения для оценки биомеханических свойств роговицы у пациентов с кератоконусом до и после кросслинкинга роговичного коллагена / Е. Г. Солодкова, С. В. Балалин, Д. Д. Сибакин // Исследования. Инновации. Практика. – 2023. – № 5 (10). – С. 34–37.
123. Солодкова, Е. Г. Разработка комплекса математических моделей биомеханических параметров роговицы с диагностированным кератоконусом до и после лечения кросслинкингом роговичного коллагена / Е. Г. Солодкова, Б. Э. Малюгин, И. Н. Захаров [и др.] // Российский журнал биомеханики. – 2022. – Т. 26. – № 3. – С. 10–28.
124. Сомов, Е. Е. К вопросу об амблиопии, ее закономерностях и лечении / Е. Е. Сомов, Н. Е. Кононова // Российская детская офтальмология. – 2021. – № 2. – С. 15–21.
125. Суркова, В. К. Кератоконус: хирургические методы лечения и коррекции рефракционных нарушений / В. К. Суркова // Точка зрения. Восток – Запад. – 2020. – № 3. – С. 90–93.
126. Суркова, В. К. Кератэктазии и современные методы их лечения / В. К. Суркова, А. Р. Халимов, Г. М. Казакбаева // Точка зрения. Восток – Запад. – 2021. – № 2. – С. 84–88.
127. Терещенко, А. В. Динамика кератотопографических и биомеханических параметров роговицы после проведения акселерированного ультрафиолетового кросслинкинга с использованием защитного лоскута донорской роговицы в лечении прогрессирующего кератоконуса при "тонкой роговице" / А. В. Терещенко, И. Г. Трифаненкова, С. К. Демьянченко [и др.] // Современные технологии в офтальмологии. – 2022. – № 5 (45). – С. 224–228.
128. Терещенко, А. В. Использование интраоперационного ОКТ переднего отрезка глаза при проведении акселерированного кросслинкинга на "тонкой" роговице / А. В. Терещенко, С. К. Демьянченко, Ю. Ю. Голубева, Е. Н.

- Вишнякова // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 2. – С. 125.
129. Терещенко, А. В. Малоинвазивные методы хирургического лечения кератоконуса (обзор) / А. В. Терещенко, И. Г. Трифаненкова, Е. Н. Вишнякова [и др.] // Саратовский научно–медицинский журнал. – 2020. – Т. 16. – № 1. – С. 298–302.
130. Терещенко, А. В. Методика акселерированного кросслинкинга с использованием защитного донорского лоскута роговицы в лечении прогрессирующего кератоконуса на "тонких" роговицах / А. В. Терещенко, И. Г. Трифаненкова, С. К. Демьянченко [и др.] // Офтальмохирургия. – 2021. – № 2. – С. 26–31.
131. Терещенко, А. В. Ультрафиолетовый кросслинкинг роговичного коллагена у пациентов с тонкой роговицей. Обзор литературы / А. В. Терещенко, И. Г. Трифаненкова, Ю. Ю. Голубева [и др.] // Acta Biomedica Scientifica. – 2021. – Т. 6. – № 6–1. – С. 229–236.
132. Титаренко, З. Д. О классификации кератоконуса / З. Д. Титаренко // Офтальмологический журнал. – 1982. – № 3. – С. 169–171.
133. Титов, А. В. Одномоментное лечение кератоконуса I–III стадии с применением различных технологий / А. В. Титов, Д. Р. Мирсаитова // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 79–80.
134. Труфанов, С. В. Кросслинкинг как метод лечения инфекционной кристаллической кератопатии / С. В. Труфанов, И. А. Рикс, С. С. Папанян [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2022. – Т. 15. – № 1. – С. 117–121.
135. Труфанов, С. В. Кросслинкинг как метод лечения инфекционной кристаллической кератопатии / С. В. Труфанов, И. А. Рикс, Р. Бутаба // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2022. – Т. 1. – С. 344–345.

136. Труфанов, С. В. Рецидивирующая эрозия роговицы / С. В. Труфанов, А. С. Сейфеддин, В. А. Тургель // Офтальмологические ведомости. – 2021. – Т. 14. – № 4. – С. 55–64.
137. Туйчибаева, Д. М. Современные аспекты лечения кератоконуса. Обзор / Д. М. Туйчибаева, А. А. Ким // Офтальмология. Восточная Европа. – 2023. – Т. 13. – № 1. – С. 73–89.
138. Туйчибаева, Д. М. Сравнительная оценка эффективности хирургического лечения кератоконуса комбинированным методом / Д. М. Туйчибаева, А. А. Ким // Современные технологии в офтальмологии. – 2023. – № 4 (50). – С. 170–179.
139. Тургунбаев, Н. А. Применение одномоментной послойной кератопластики с кросслинкингом роговицы в лечении язвы Мурена / Н. А. Тургунбаев, Ю. К. Уметалиев, А. И. Островерхов, Л. Б. Гогаева // Вестник Кыргызско–Российского Славянского университета. – 2023. – Т. 23. – № 1. – С. 110–114.
140. Усубов, Э. Л. Лентикулярная хирургия SMILE после передней послойной кератопластики / Э. Л. Усубов, Р. М. Бикбулатов, Л. А. Минязева // Точка зрения. Восток – Запад. – 2023. – № 1. – С. 56–61.
141. Усубов, Э. Л. Локализация демаркационной линии стромы после непрерывного и импульсного акселерированного УФ кросслинкинга роговицы у пациентов с кератоконусом / Э. Л. Усубов, Л. И. Халимова // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 83–84.
142. Файзрахманов, Р. Р. Ультрафиолетовый кросслинкинг коллагена роговицы в сочетании с персонализированной трансэпителиальной фоторефракционной кератэктомии на эксимерном лазере микроскан визум / Р. Р. Файзрахманов, А. А. Голяков, М. М. Шишкин // Вестник Национального медико–хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2022. – Т. 17. – № S4. – С. 48–50.
143. Фисенко, Н. В. Оптическая когерентная томография в диагностике и лечении заболеваний роговицы / Н. В. Фисенко, Г. А. Осипян // Офтальмология. – 2021. – Т. 18. – № S3. – С. 703–711.

144. Флора, С. В. Влияние УФ–А кросслинкинга на биомеханические свойства лиофилизированной роговицы марки "Биопласт" / С. В. Флора, Е. Н. Иомдина, Е. В. Ченцова // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 84–85.
145. Флора, С. В. Кросслиндинг пластического материала "Биопласт" как средство повышения его биомеханической стабильности и эффективности кератопластики при язвах роговицы / С. В. Флора, Е. В. Ченцова, Е. Н. Иомдина // Российский офтальмологический журнал. – 2021. – Т. 14. – № 2. – С. 36–41.
146. Флора, С. В. Кросслиндинг силиковысушенного трансплантата роговицы как средство повышения эффективности ургентной кератопластики / С. В. Флора, Е. В. Ченцова, Т. В. Целяя // Российский офтальмологический журнал. – 2023. – Т. 16. – № 4. – С. 92–96.
147. Фролов, О. А. Кросслиндинг роговичного коллагена в лечении эктазий роговицы / О. А. Фролов, С. А. Новиков, В. О. Соколов. – СПб., 2022. – 126 с.
148. Халимов, А. Р. Динамика локального антиоксидантного статуса при ультрафиолетовом кросслинкинге роговицы / А. Р. Халимов // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 265–266.
149. Халимов, А. Р. Динамика уровня рибофлавина во влаге передней камеры глаза кроликов при трансэпителиальном насыщении стромы с использованием различных устройств для ионофореза роговицы / А. Р. Халимов, Н. Е. Шевчук // Современные технологии в офтальмологии. – 2020. – № 4 (35). – С. 266–267.
150. Халимов, А. Р. Матриксные металлопротеиназы и их роль в патогенезе кератоконуса (обзор литературы) / А. Р. Халимов, Н. Е. Шевчук // Точка зрения. Восток–Запад. – 2016. – № 4. – С. 63–66.
151. Халимов, А. Р. Молекулярные и клеточные механизмы ультрафиолетового сшивания роговицы : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.01.02, 14.03.03 / Халимов Азат Рашидович. – Уфа, 2018. – 48 с.

152. Халимов, А. Р. Морфологическая оценка изменений в роговице экспериментальных животных после ультрафиолетового кросслинкинга / А. Р. Халимов, Э. Л. Усубов // Точка зрения. Восток – Запад. – 2021. – № 1. – С. 66–69.
153. Халимов, А. Р. Результаты экспериментального исследования устройства для ультрафиолетового кросслинкинга роговицы "УФАЛИНК КВАНТ" / А. Р. Халимов, Н. Е. Шевчук, В. К. Суркова [и др.] // Точка зрения. Восток – Запад. – 2020. – № 1. – С. 14–17.
154. Халимов, А. Р. Фотодинамическая терапия в офтальмологии / А. Р. Халимов, В. К. Суркова, Э. Л. Усубов // Точка зрения. Восток – Запад. – 2023. – № 1. – С. 26–30.
155. Храйстин, Х. Результаты ускоренного локального кросслинкинга при кератоконусе / Х. Храйстин, Г. А. Осипян, С. И. Анисимов [и др.] // Офтальмология. – 2023. – Т. 20. – № 3. – С. 437–443.
156. Чумаков, П. М. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме / П. М. Чумаков // Успехи биологической химии. – 2007. – Т. 47. – С. 3–52.
157. Шаимова, В. А. Роль провоспалительных цитокинов при заболеваниях глаз / В. А. Шаимова // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4. – № 2. – С. 13–15.
158. Шевчук, Н. Е. Роль цитокинов и иммуно–эндокринные взаимодействия при воспалительных и дистрофических процессах в оболочках глаза : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.36 / Шевчук Наталья Евгеньевна. – Уфа, 2009. – 44 с.
159. Шелудченко, В. М. Изменение качества зрения после интрастромальной аллокератопластики по поводу кератоконуса (клиническое наблюдение) / В. М. Шелудченко, Ю. Н. Юсеф, Г. А. Осипян, Р. А. Джалили // Вестник офтальмологии. – 2022. – Т. 138. – № 5. – С. 87–93.
160. Шелудченко, В. М. К вопросу о тактике хирургического лечения кератоконуса при существенных изменениях толщины роговицы / В. М. Шелудченко, Г. А. Осипян, Х. Храйстин, Р. А. Джалили // Вестник офтальмологии. – 2022. – Т. 138. – № 3. – С. 35–40.

161. Шелудченко, В. М. Методы хирургического лечения кератэктазии и анализ послеоперационного качества зрения / В. М. Шелудченко, Г. В. Воронин, Г. А. Осипян, Р. А. Джалили // Вестник офтальмологии. – 2020. – Т. 136. – № 5–2. – С. 308–316.
162. Шефер, К. К. Результаты применения уф–кросслинкинга роговичного коллагена у детей и подростков при кератоконусе I–III стадии / К. К. Шефер, Д. Р. Мирсаитова, А. В. Титов // Российская педиатрическая офтальмология. – 2020. – Т. 15. – № 3. – С. 17–22.
163. Шипигузова, С. А. Хирургическое лечения язв роговицы / С. А. Шипигузова // Вестник оперативной хирургии и топографической анатомии. – 2021. – Т. 1. – № 1 (2). – С. 51–54.
164. Щулькин, А. В. Роль свободных радикалов в регенерации эпителия роговицы / А. В. Щулькин, А. В. Колесников, М. Н. Николаев, О. И. Баренина // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7. – С. 451–455.
165. Юсеф, Ю. Н. Клинические аспекты различных модификаций кросслинкинга роговичного коллагена / Ю. Н. Юсеф, Х. Храйстин, Г. А. Осипян [и др.] // Офтальмология. – 2024. – Т. 21. – № 1. – С. 5–15.
166. Яни, Е. В. Возможности терапии вторичной эпителиально–эндотелиальной дистрофии роговицы с помощью портативного устройства для локального кросслинкинга коллагена / Е. В. Яни, К. Е. Селиверстова // Российский офтальмологический журнал. – 2023. – Т. 16. – № 2. – С. 108–112.
167. Яни, Е. В. Клинические случаи лечения язв роговицы затяжного течения с помощью ультрафиолетового кросслинкинга роговичного коллагена / Е. В. Яни, Е. С. Вахова, В. В. Позднякова, К. Е. Селиверстова // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2021. – Т. 1. – С. 255–259.
168. Яни, Е. В. Лечение язв роговицы затяжного течения с помощью ультрафиолетового кросслинкинга роговичного коллагена. Клинические случаи / Е. В. Яни, Е. Н. Иомдина, В. В. Позднякова [и др.] // Российский офтальмологический журнал. – 2021. – Т. 14. – № 3. – С. 106–112.

169. Яни, Е. В. Первый опыт использования кросслинкинга роговичного коллагена с помощью портативного прибора "кератолинк" в терапии пациентов с буллезной дистрофией роговицы / Е. В. Яни, К. Е. Селиверстова, Е. С. Вахова // Российский общенациональный офтальмологический форум. – 2022. – Т. 1. – С. 351–354.
170. Aatila, M. Keratoconus severity classification using features selection and machine learning algorithms / M. Aatila, L. Mohamed, H. Hrimech, K. Ali // *Comput. Math. Methods Med.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 9979560.
171. Ahuja, P. Relevance of IgE, allergy and eye rubbing in the pathogenesis and management of Keratoconus / P. Ahuja, Z. Dadachanji, R. Shetty [et al.] // *Indian J. Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 68. – № 10. – P. 2067–2074.
172. Alio, J. L. Keratoconus recent advances in diagnosis and treatment / J. L. Alio. – Springer, 2017. – 390 p.
173. Asimellis, G. Keratoconus / G. Asimellis, E. J. Kaufman // *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan.
174. Ates, K. M. Potential underlying genetic associations between keratoconus and diabetes mellitus / K. M. Ates, A. J. Estes, Y. Liu // *Adv. Ophthalmol. Pract. Res.* – 2021. – Vol. 1. – P. 100005.
175. Atilano, S. R. Corneal oxidative damage in keratoconus cells due to decreased oxidant elimination from modified expression levels of SOD enzymes, PRDX6, SCARA3, CPSF3, and FOXM1 / S. R. Atilano, D. H. Lee, P. S. Fukuhara [et al.] // *J. Ophthalmic Vis. Res.* – 2019. – Vol. 14. – № 1. – P. 62–70.
176. Avni–Zauberman, N. Accelerated versus standard corneal collagen crosslinking in the treatment of keratoconus: one–year results / N. Avni–Zauberman, B. S. Avni–Zauberman, A. Weissman [et al.] // *Isr. Med. Assoc. J.* – 2021. – Vol. 23. – № 12. – P. 811–814.
177. Bakkar, M. M. Patient–related barriers to Rigid Gas Permeable (RGP) lens wear among keratoconus patients in Jordan / M. M. Bakkar, M. F. Haddad, M. A. Qadir // *Cont. Lens. Anterior. Eye.* – 2018. – Vol. 41. – № 3. – P. 267–272.

178. Balasubramanian, S. A. Are proteinases the reason for keratoconus? / S. A. Balasubramanian, D. C. Pye, M. D. Willcox // *Curr. Eye Res.* – 2010. – Vol. 35. – № 3. – P. 185–191.
179. Balasubramanian, S. A. Effects of eye rubbing on the levels of protease, protease activity and cytokines in tears: Relevance in keratoconus / S. A. Balasubramanian, D. C. Pye, M. D. P. Willcox // *Clin. Exp. Optom.* – 2013. – Vol. 96. – № 2. – P. 214–218.
180. Balasubramanian, S. A. Proteases, proteolysis and inflammatory molecules in the tears of people with keratoconus / S. A. Balasubramanian, S. Mohan, D. C. Pye, M. D. Willcox // *Acta Ophthalmol.* – 2012. – Vol. 90. – № 4. – P. 303–309.
181. Balmus, I. M. Oxidative stress markers dynamics in keratoconus patients' tears before and after corneal collagen crosslinking procedure / I. M. Balmus, A. I. Alexa, R. E. Ciuntu [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2020. – Vol. 190. – P. 107897.
182. Barbara, R. Collagen corneal cross-linking and the epithelium / R. Barbara, L. Abdelaziz, A. Barua [et al.] // *Int. J. Kerat. Ect. Corn. Dis.* – 2012. – Vol. 1. – № 3. – P. 179–184.
183. Beatriz de Luis, A. Evaluation of the reliability and repeatability of Scheimpflug system measurement in keratoconus / A. Beatriz de Luis, E. A. Julene, I. P. Z. Jose [et al.] // *Cornea.* – 2018. – Vol. 37. – № 2. – P. 177–181.
184. Belin, M. W. ABCD: A new classification for keratoconus / M. W. Belin, G. Kundu, N. Shetty [et al.] // *Indian J. Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 68. – № 12. – P. 2831–2834.
185. Belin, M. W. Keratoconus: diagnosis and staging cornea / M. W. Belin, H. S. Jang, M. Borgstrom // *Cornea.* – 2022. – Vol. 41. – № 1. – P. 1–11.
186. Bikbova, G. Transepithelial corneal collagen cross-linking by iontophoresis of riboflavin / G. Bikbova, M. Bikbov // *Acta Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 92. – № 1. – P. 30–34.
187. Bilgihan, K. Pregnancy-induced progression of keratoconus / K. Bilgihan, A. Hondur, S. Sul, S. Ozturk // *Cornea.* – 2011. – Vol. 30. – № 9. – P. 991–994.

188. Borderie, V. M. Corneal endothelial cell apoptosis in patients with Fuchs' dystrophy / V. M. Borderie, M. Baudrimont, A. Vallée [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2000. – Vol. 41. – № 9. – P. 2501–2505.
189. Bottos, K. M. Effect of corneal epithelium on ultraviolet-A and riboflavin absorption / K. M. Bottos, P. Schor, J. L. Dreyfuss [et al.] // *Arq. Bras. Oftalmol.* – 2011. – Vol. 74. – № 5. – P. 348–351.
190. Buddi, R. Evidence of oxidative stress in human corneal diseases / R. Buddi, B. Lin, S. R. Atilano [et al.] // *J. Histochem. Cytochem.* – 2002. – Vol. 50. – № 3. – P. 341–351.
191. Bühren, J. Detection of subclinical keratoconus by using corneal anterior and posterior surface aberrations and thickness spatial profiles / J. Bühren, D. Koks, G. Yoon, T. Kohonen // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2010. – Vol. 51. – P. 3424–3432.
192. Carlson, A. N. Expanding our understanding of eye rubbing and keratoconus / A. N. Carlson // *Cornea.* – 2010. – Vol. 29. – № 2. – P. 245.
193. Chai, N. Short-term effect of rose bengal photodynamic therapy (RB-PDT) on collagen I, collagen V, NF- κ B, LOX, TGF- β and IL-6 expression of human corneal fibroblasts, in vitro / N. Chai, T. Stachon, T. Berger [et al.] // *Curr. Eye Res.* – 2024. – Vol. 49. – № 2. – P. 150–157.
194. Cheung, I. M. Beneficial effect of the antioxidant riboflavin on gene expression of extracellular matrix elements, antioxidants and oxidases in keratoconic stromal cells / I. M. Cheung, C. N. McGhee, T. Sherwin // *Clin. Exp. Optom.* – 2014. – Vol. 97. – № 4. – P. 349–355.
195. Chiou, G. C. Review: effects of nitric oxide on eye diseases and their treatment / G. C. Chiou // *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* – 2001. – Vol. 17. – № 2. – P. 189–198.
196. Chwa, M. Increased stress-induced generation of reactive oxygen species and apoptosis in human keratoconus fibroblasts / M. Chwa, S. R. Atilano, V. Reddy [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2006. – Vol. 47. – № 5. – P. 1902–1910.

197. Cinar, Y. Accelerated corneal collagen cross-linking for progressive keratoconus / Y. Cinar, A. K. Cingü, F. M. Turkcu [et al.] // *Cutan. Ocul. Toxicol.* – 2014. – Vol. 33. – № 2. – P. 168–171.
198. Cirman, T. Selective disruption of lysosomes in HeLa cells triggers apoptosis mediated by cleavage of Bid by multiple papain-like lysosomal cathepsins / T. Cirman, K. Oresić, G. D. Mazovec [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – № 5. – P. 3578–3587.
199. Claessens, J. L. J. Nationwide epidemiological approach to identify associations between keratoconus and immune-mediated diseases / J. L. J. Claessens, D. A. Godefrooij, G. Vink [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2022. – Vol. 106. – № 10. – P. 1350–1354.
200. Crawford, A. Z. The enigma of environmental factors in keratoconus / A. Z. Crawford, J. Zhang, A. Gokul [et al.] // *Asia Pac. J. Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 9. – № 6. – P. 549–556.
201. Davidson, A. E. The pathogenesis of keratoconus / A. E. Davidson, S. Hayes, A. J. Hardcastle, S. J. Tuft // *Eye (Lond).* – 2014. – Vol. 28. – № 2. – P. 189–195.
202. Deiana, M. Inhibition of peroxynitrite dependent DNA base modification and tyrosine nitration by the extra virgin olive oil-derived antioxidant hydroxytyrosol / M. Deiana, O. I. Aruoma, M. L. Bianchi [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 1999. – Vol. 26. – № 5–6. – P. 762–769.
203. Deshmukh, R. Current concepts in crosslinking thin corneas / R. Deshmukh, F. Hafezi, G. D. Kymionis [et al.] // *Indian J. Ophthalmol.* – 2019. – Vol. 67. – P. 8–15.
204. Dou, S. Single-cell atlas of keratoconus corneas revealed aberrant transcriptional signatures and implicated mechanical stretch as a trigger for keratoconus pathogenesis / S. Dou, Q. Wang, B. Zhang [et al.] // *Cell Discov.* – 2022. – Vol. 8. – № 1. – P. 66.
205. D'Souza, S. Keratoconus patients exhibit a distinct ocular surface immune cell and inflammatory profile / S. D'Souza, A. P. Nair, G. R. Sahu [et al.] // *Sci. Rep.* – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 20891.

206. Fan, W. Y. The cytotoxic effect of oxybuprocaine on human corneal epithelial cells by inducing cell cycle arrest and mitochondria-dependent apoptosis / W. Y. Fan, D. P. Wang, Q. Wen, T. J. Fan // *Hum. Exp. Toxicol.* – 2017. – Vol. 36. – № 8. – P. 765–775.
207. Fink, B. A. Differences in keratoconus as a function of gender / B. A. Fink, H. Wagner, K. Steger-May [et al.] // *Am. J. Ophthalmol.* – 2005. – Vol. 140. – № 3. – P. 459–468.
208. Fodor, M. Tear mediators NGF along with IL-13 predict keratoconus progression / M. Fodor, G. Vitályos, G. Losonczy [et al.] // *Ocul. Immunol. Inflamm.* – 2021. – Vol. 29. – № 6. – P. 1090–1101.
209. Galluzzi, L. Essential versus accessory aspects of cell death: recommendations of the NCCD 2015 / L. Galluzzi, J. M. Bravo-San Pedro, I. Vitale [et al.] // *Cell Death Differ.* – 2015. – Vol. 22. – № 1. – P. 58–73.
210. Gao, H.-B. KeratoScreen: early keratoconus classification with zernike polynomial using deep learning / H.-B. Gao, Z.-G. Pan, M.-X. Shen [et al.] // *Cornea.* – 2022. – Vol. 41. – № 9. – P. 1158–1165.
211. Georgiou, T. Influence of ethnic origin on the incidence of keratoconus and associated atopic disease in Asians and white patients / T. Georgiou, C. L. Funnell, A. Cassels-Brown, R. O'Connor // *Eye (Lond).* – 2004. – Vol. 18. – P. 379–383.
212. Gilevska, F. Prevalence of keratoconus in refractive surgery practice population in North Macedonia / F. Gilevska, K. Biljana, I. Osmani [et al.] // *Int. Ophthalmol.* – 2022. – Vol. 42. – № 10. – P. 3191–3198.
213. Gokhale, N. S. Epidemiology of keratoconus / N. S. Gokhale // *Indian J. Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 61. – P. 382–383.
214. Gomes, I. B. Influence of interleukin 17 A and 17 F polymorphisms in keratoconus / I. B. Gomes, C. M. Ayo, A. G. Lopes [et al.] // *Mol. Biol. Rep.* – 2021. – Vol. 48. – № 11. – P. 7165–7170.

215. Gordon–Shaag, A. Is consanguinity a risk factor for keratoconus? / A. Gordon–Shaag, M. Millodot, M. Essa [et al.] // *Optom. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 90. – № 5. – P. 448–454.
216. Gordon–Shaag, A. The genetic and environmental factors for keratoconus / A. Gordon–Shaag, M. Millodot, E. Shneur, Y. Liu // *Biomed. Res. Int.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 795738.
217. Guicciardi, M. E. Lysosomes in cell death / M. E. Guicciardi, M. Leist, G. J. Gores // *Oncogene*. – 2004. – Vol. 23. – № 16. – P. 2881–2890.
218. Hafezi, F. Collagen crosslinking with ultraviolet–A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas / F. Hafezi, M. Mrochen, H. P. Iseli, T. Seiler // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2009. – Vol. 35. – № 4. – P. 621–624.
219. Hammerstein, W. Ophthalmologic and computer tomographic findings in Recklinghausen disease / W. Hammerstein, A. Aulich, H. Koppelberg // *Fortschr. Ophthalmol.* – 1984. – Bd. 81. – № 4. – S. 356–9.
220. Hamrah, P. Corneal antigen–presenting cells / P. Hamrah, M. R. Dana // *Chem. Immunol. Allergy*. – 2007. – Vol. 92. – P. 58–70.
221. Hasby, E. A. Immunohistochemical expression of Fas ligand (FasL) and neprilysin (neutral endopeptidase/CD10) in keratoconus / E. A. Hasby, H. A. Saad // *Int. Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 33. – № 2. – P. 125–131.
222. Hashemi, H. Corneal collagen cross–linking with riboflavin and ultraviolet a irradiation for keratoconus: long–term results / H. Hashemi, M. A. Seyedian, M. Miraftab [et al.] // *Ophthalmology*. – 2013. – Vol. 120. – № 8. – P. 1515–1520.
223. Hashemi, H. Short–term comparison of accelerated and standard methods of corneal collagen crosslinking / H. Hashemi, A. Fotouhi, M. Miraftab [et al.] // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2015. – Vol. 41. – P. 533–540.
224. Hashemi, H. Standard and accelerated corneal cross–linking long–term results: A randomized clinical trial / H. Hashemi, M. Mohebbi, S. Asgari // *Eur. J. Ophthalmol.* – 2020. – Vol. 30. – № 4. – P. 650–657.

225. Hashemi, H. The prevalence and risk factors for keratoconus: a systematic review and meta-analysis / H. Hashemi, S. Heydarian, E. Hooshmand [et al.] // *Cornea*. – 2020. – Vol. 39. – № 2. – P. 263–270.
226. Hsu, Y.–L. Heat shock induces apoptosis through reactive oxygen species involving mitochondrial and death receptor pathways in corneal cells / Y.–L. Hsu, H.–S. Yu, H.–Ch. Lin [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2011. – Vol. 93. – № 4. – P. 405–412.
227. Hsueh, Y. J. The pathomechanism, antioxidant biomarkers, and treatment of oxidative stress-related eye diseases / Y. J. Hsueh, Y. N. Chen, Y. T. Tsao [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. – Vol. 23. – № 3. – P. 1255.
228. Huo, Y. Reactive oxygen species (ROS) are essential mediators in epidermal growth factor (EGF)-stimulated corneal epithelial cell proliferation, adhesion, migration, and wound healing / Y. Huo, W.–Y. Qiu, Q. Pan [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2009. – Vol. 89. – № 6. – P. 876–886.
229. Ionescu, I. C. Overexpression of tear inflammatory cytokines as additional finding in keratoconus patients and their first degree family members / I. C. Ionescu, C. G. Corbu, C. Tanase [et al.] // *Mediators Inflamm.* – 2018. – Vol. 2018. – P. 4285268.
230. Jun, A. S. Subnormal cytokine profile in the tear fluid of keratoconus patients / A. S. Jun, L. Cope, C. Speck [et al.] // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6. – № 1. – P. 1–8.
231. Jurkiewicz, T. Correlation between keratoconus and pollution / T. Jurkiewicz, A. S. Marty // *Ophthalmic Epidemiol.* – 2021. – Vol. 28. – № 6. – P. 495–501.
232. Jaattela, M. Lysosomes and mitochondria in the commitment to apoptosis: a potential role for cathepsin D and AIF / M. Jaattela, C. Cande, G. Kroemer // *Cell Death Differ.* – 2004. – Vol. 11. – № 2. – P. 135–136.
233. Kallinikos, P. On the etiology of keratocyte loss during contact lens wear / P. Kallinikos, N. Efron // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2004. – Vol. 45. – № 9. – P. 3011–3020.
234. Kamaev, P. Photochemical kinetics of corneal cross-linking with riboflavin / P. Kamaev, M. D. Friedman, E. Sherr, D. Muller // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2012. – Vol. 53. – № 4. – P. 2360–2367.

235. Kanellopoulos, A. J. Long term results of a prospective randomized bilateral eye comparison trial of higher fluence, shorter duration ultraviolet A radiation, and riboflavin collagen cross linking for progressive keratoconus / A. J. Kanellopoulos // Clin. Ophthalmol. – 2012. – Vol. 6. – P. 97–101.
236. Katipoğlu, Z. May Monocyte/HDL Cholesterol Ratio (MHR) and Neutrophil/Lymphocyte Ratio (NLR) be an indicator of inflammation and oxidative stress in patients with keratoconus? / Z. Katipoğlu, E. Mirza, R. Oltulu, B. Katipoglu // Ocul. Immunol. Inflamm. – 2020. – Vol. 28. – № 4. – P. 632–636.
237. Kennedy, R. H. A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus / R. H. Kennedy, W. M. Bourne, J. A. Dyer // Am. J. Ophthalmol. – 1986. – Vol. 101. – № 3. – P. 267–273.
238. Kenney, M. C. Everett Kinsey lecture. The elusive causes of keratoconus: a working hypothesis / M. C. Kenney, D. J. Brown, B. Rajeev // CLAO J. – 2000. – Vol. 26. – № 1. – P. 10–13.
239. Kenney, M. C. The cascade hypothesis of keratoconus / M. C. Kenney, D. J. Brown // Cont. Lens Anterior Eye. – 2003. – Vol. 26. – № 3. – P. 139–146.
240. Kissner, A. Pharmacological modification of the epithelial permeability by benzalkonium chloride in UVA/Riboflavin CXL / A. Kissner, E. Spoerl, R. Jung [et al.] // Curr. Eye Res. – 2010. – Vol. 35. – № 8. – P. 715–721.
241. Kobia–Acquah, E. Prevalence of keratoconus in Ghana: A hospital–based study of tertiary eye care facilities / E. Kobia–Acquah, N. Esther, K. Ellen [et al.] // Eur. J. Ophthalmol. – 2022. – Vol. 32. – № 6. – P. 3185–3194.
242. Kohlhaas, M. Collagen crosslinking with riboflavin and UVA–light in keratoconus / M. Kohlhaas // Ophthalmologe. – 2008. – Vol. 105. – № 8. – P. 785–793.
243. Kohlhaas, M. Complications and postoperative therapeutic strategies in cross–linking / M. Kohlhaas // Ophthalmologe. – 2017. – Bd. 114. – № 8. – S. 693–696.
244. Koller, T. Therapeutic cross–linking of the cornea using riboflavin/UVA / T. Koller, T. Seiler // Klin. Monbl. Augenheilkd. – 2007. – Bd. 224. – № 9. – S. 700–706.

245. Kolli, S. Safety and efficacy of collagen crosslinking for the treatment of keratoconus / S. Kolli, I. M. Aslanides // *Expert Opin. Drug Saf.* – 2010. – Vol. 9. – № 6. – P. 949–957.
246. Krachmer, J. H. Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders / J. H. Krachmer, R. S. Feder, M. W. Belin // *Surv. Ophthalmol.* – 1984. – Vol. 28. – P. 293–322.
247. Krachmer, J. H. Potential research projects. Castroviejo Lecture / J. H. Krachmer // *Cornea.* – 2007. – Vol. 26. – P. 243–245.
248. Kristiansund, O. Keratoconus more common than widely assumed / O. Kristiansund, L. C. Tovås, A. Thorsrud, L. Drolsum // *Tidsskr Nor Lægeforen.* – 2021. – Vol. 141. – № 5. – doi: 10.4045/tidsskr.20.1059.
249. Kundu, G. Artificial intelligence–based stratification of demographic, ocular surface high–risk factors in progression of keratoconus / G. Kundu, N. Shetty, R. Shetty [et al.] // *Indian J. Ophthalmol.* – 2023. – Vol. 71. – № 5. – P. 1882–1888.
250. Kurpakus–Wheater, M. Maintaining corneal integrity how the "window" stays clear / M. Kurpakus–Wheater, K. A. Kernacki, L. D. Hazlett // *Prog. Histochem. Cytochem.* – 2001. – Vol. 36. – № 3. – P. 185–259.
251. Kymionis, G. D. One–year follow–up of corneal confocal microscopy after corneal cross–linking in patients with post laser in situ keratosmileusis ectasia and keratoconus / G. D. Kymionis, V. F. Diakonis, M. Kalyvianaki [et al.] // *Am. J. Ophthalmol.* – 2009. – Vol. 147. – № 5. – P. 774–778.
252. Lamy, R. Ultrasound–enhanced penetration of topical riboflavin into the corneal stroma / R. Lamy, E. Chan, H. Zhang [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 54. – № 8. – P. 5908–5912.
253. Lanchares, E. Biomechanical property analysis after corneal collagen cross–linking in relation to ultraviolet A irradiation time / E. Lanchares, M. A. del Buey, J. A. Cristóbal [et al.] // *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* – 2011. – Bd. 249. – № 8. – S. 1223–1227.

254. Lapeyre, G. Keratoconus prevalence in families: a french study / G. Lapeyre, F. Pierre, V. Raphaël [et al.] // *Cornea*. – 2020. – Vol. 39. – № 12. – P. 1473–1479.
255. Le Discorde, M. Expression of HLA–G in human cornea, an immune–privileged tissue / M. Le Discorde, P. Moreau, P. Sabatier [et al.] // *Hum. Immunol.* – 2003. – Vol. 64. – № 11. – P. 1039–1044.
256. Lema, I. Inflammatory molecules in the tears of patients with keratoconus / I. Lema, J. A. Duran // *Ophthalmology*. – 2005. – Vol. 112. – № 4. – P. 654–659.
257. Li, X. Longitudinal study of the normal eyes in unilateral keratoconus patients / X. Li, Y. S. Rabinowitz, K. Rasheed, H. Yang // *Ophthalmology*. – 2004. – Vol. 111. – P. 440–446.
258. Li, Y. Corneal denervation causes epithelial apoptosis through inhibiting NAD⁺ biosynthesis / Y. Li, X. Ma, J. Li [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2019. – Vol. 60. – № 10. – P. 3538–3546.
259. Lin, J. Efficacy S–formula and kinetics of non–oxygen–mediated (Type–I) and oxygen–mediated (Type–II) corneal cross–linking / J. Lin // *Ophthalmol. Res.* – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 1–11.
260. Lin, Q. A novel variant in TGFBI causes keratoconus in a two–generation Chinese family / Q. Lin, L. Zheng, Z. Shen // *Ophthalmic Genet.* – 2022. – Vol. 43. – № 2. – P. 159–163.
261. Liu, R. Oxidative stress in corneal stromal cells contributes to the development of keratoconus in a rabbit model / R. Liu, X. Yan // *Eur. J. Ophthalmol.* – 2021. – Vol. 31. – № 6. – P. 3518–3524.
262. Liza–Sharmini, A. T. Ocular findings in Malaysian children with Down syndrome / A. T. Liza–Sharmini, Z. N. Azlan, B. A. Zilfalil // *Singapore Med. J.* – 2006. – Vol. 47. – № 1. – P. 14–19.
263. Loh, I. P. Is keratoconus an inflammatory disease? The implication of inflammatory pathways / I. P. Loh, T. Sherwin // *Ocul. Immunol. Inflamm.* – 2022. – Vol. 30. – № 1. – P. 246–255.

264. Lombardo, M. Ultraviolet A: Visible spectral absorbance of the human cornea after transepithelial soaking with dextran-enriched and dextran-free riboflavin 0.1% ophthalmic solutions / M. Lombardo, N. Micali, V. Villari [et al.] // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2015. – Vol. 41. – № 10. – P. 2283–2290.
265. Lupasco, T. Corneal epithelium in keratoconus underexpresses active NRF2 and a subset of oxidative stress-related genes / T. Lupasco, Z. He, M. Cassagne [et al.] // *PLoS One.* – 2022. – Vol. 17. – № 10. – P. e0273807.
266. Maharana, P. K. Microbial keratitis after accelerated corneal collagen cross-linking in keratoconus / P. K. Maharana, P. Sahay, M. Sujeeth [et al.] // *Cornea.* – 2018. – Vol. 37. – № 2. – P. 162–167.
267. Maier, P. Active transforming growth factor-beta2 is increased in the aqueous humor of keratoconus patients / P. Maier, A. Broszinski, U. Heizmann [et al.] // *Mol. Vis.* – 2007. – Vol. 13. – P. 1198–1202.
268. Marques, J. C. Inflammatory profile of keratoconic corneal epithelium / J. C. Marques, K. I. Ladislau de Carvalho, R. Xavier [et al.] // *BMC Ophthalmol.* – 2023. – Vol. 23. – № 1. – P. 326.
269. Matthews, F. J. Changes in the balance of the tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMPs)–1 and –3 may promote keratocyte apoptosis in keratoconus / F. J. Matthews, S. D. Cook, M. A. Majid [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2007. – Vol. 84. – № 6. – P. 1125–1134.
270. Mazotta, C. Pulsed light accelerated crosslinking versus continuous light accelerated crosslinking: one year results / C. Mazotta, C. Traversi, A. L. Paradiso [et al.] // *J. Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 2014. – P. 604731.
271. McKay, T. B. Mechanisms of collagen crosslinking in diabetes and keratoconus / T. B. McKay, S. Priyadarsini, D. Karamichos // *Cells.* – 2019. – Vol. 8. – P. 1239.
272. McMonnies, C. W. Screening for keratoconus suspects among candidates for refractive surgery / C. W. McMonnies // *Clin. Exp. Optom.* – 2014. – Vol. 97. – № 6. – P. 492–498.

273. McQuaid, R. Second-harmonic reflection imaging of normal and accelerated corneal crosslinking using porcine corneas and the role of intraocular pressure / R. McQuaid, J. Li, A. Cummings [et al.] // *Cornea*. – 2014. – Vol. 33. – № 2. – P. 125–130.
274. Medeiros, C. S. Accelerated corneal collagen crosslinking: Technique, efficacy, safety, and applications / C. S. Medeiros, N. T. Giacomini, R. L. Bueno [et al.] // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2016. – Vol. 42. – № 12. – P. 1826–1835.
275. Messmer, E. M. Morphological and immunohistochemical changes after corneal cross-linking / E. M. Messmer, P. Meyer, M. C. Herwig [et al.] // *Cornea*. – 2013. – Vol. 32. – № 2. – P. 111–117.
276. Mita, M. High-irradiance accelerated collagen crosslinking for the treatment of keratoconus: six-month results / M. Mita, G. O. Waring, M. Tomita // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2014. – Vol. 40, № 6. – P. 1032–1040.
277. Mou, Y. Risk factors and severity of keratoconus on the East Coast of China / Y. Mou, Q. Qin, X. Huang, X. Jin // *Int. Ophthalmol.* – 2022. – Vol. 42. – № 7. – P. 2133–2140.
278. Moura, G. S. Increased lacrimal inflammatory mediators in patients with keratoconus / G. S. Moura, A. Santos, M. A. Cenedeze [et al.] // *Mol. Vis.* – 2021. – Vol. 27. – P. 656–665.
279. Munir, S. Z. Estimated prevalence of keratoconus in The United States from a large vision insurance database / S. Z. Munir, M. M. Wuqaas, A. Jennifer // *Eye Contact Lens.* – 2021. – Vol. 47. – № 9. – P. 505–510.
280. Nakamura, H. Histopathological and immunohistochemical studies of lenticules after epikeratoplasty for keratoconus / H. Nakamura, F. Riley, H. Sakai [et al.] // *Br. J. Ophthalmol.* – 2005. – Vol. 89. – № 7. – P. 841–846.
281. Navel, V. Oxidative and antioxidative stress markers in keratoconus: a systematic review and meta-analysis / V. Navel, J. Malecaze, B. Pereira [et al.] // *Acta Ophthalmol.* – 2021. – Vol. 99. – № 6. – P. e777–e794.

282. Ortiz–Toquero, S. Classification of keratoconus based on anterior corneal high–order aberrations: a cross–validation study / S. Ortiz–Toquero, F. Itziar, M. Raul // *Optom. Vis. Sci.* – 2020. – Vol. 97. – № 3. – P. 169–177.
283. Ortiz–Toquero, S. Keratoconus screening in primary eye care – a general overview / S. Ortiz–Toquero, M. Raul // *Eur. Ophthalmic Rev.* – 2016. – Vol. 10. – № 2. – P. 80.
284. Özalp, O. Prevalence and risk factors for keratoconus in a university–based population in Turkey / O. Özalp, A. Eray, Y. Nilgün // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2021. – Vol. 47. – № 12. – P. 1524–1529.
285. Pan, C. W. Ethnic variation in central corneal refractive power and steep cornea in Asians / C. W. Pan, C. Y. Cheng, C. Sabanayagam [et al.] // *Ophthalmic Epidemiol.* – 2014. – Vol. 21. – № 2. – P. 99–105.
286. Pan, Q. Low levels of hydrogen peroxide stimulate corneal epithelial cell adhesion, migration, and wound healing / Q. Pan, W. Y. Qiu, Y. N. Huo [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2011. – Vol. 52. – № 3. – P. 1723–1734.
287. Pecorella, I. Histological findings in a failed corneal riboflavin–UVA collagen cross–linking performed for progressive keratoconus / I. Pecorella, R. Appolloni, A. Tiezzi [et al.] // *Cornea.* – 2013. – Vol. 32. – № 2. – P. 191–195.
288. Perez–Santonja, J. J. Microbial keratitis after corneal collagen crosslinking / J. J. Perez–Santonja, A. Artola, J. Javaloy [et al.] // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2009. – Vol. 35. – P. 1138–1140.
289. Pinheiro–Costa, J. Serum inflammatory biomarkers are associated with increased choroidal thickness in keratoconus / J. Pinheiro–Costa, M. Lima Fontes, C. Luís [et al.] // *Sci. Rep.* – 2023. – Vol. 13. – № 1. – P. 10862.
290. Pobelle–Frasson, C. Keratoconus: What happens with older patients? / C. Pobelle–Frasson, S. Velou, V. Huslin [et al.] // *J. Fr. Ophtalmol.* – 2004. – Vol. 27. – № 7. – P. 779–782.

291. Pollhammer, M. Bacterial keratitis early after corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A / M. Pollhammer, C. Cursiefen // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2009. – Vol. 35. – P. 588–589.
292. Priyadarsini, S. Keratoconus in vitro and the key players of the TGF- β pathway / S. Priyadarsini, T. B. McKay, A. Sarker-Nag, D. Karamichos // *Mol. Vis.* – 2015. – Vol. 21. – P. 577–588.
293. Rabinowitz, Y. S. Keratoconus / Y. S. Rabinowitz // *Surv. Ophthalmol.* – 1998. – Vol. 42. – № 4. – P. 297–319.
294. Raiskup, F. Riboflavin osmolar modification for transepithelial corneal cross-linking / F. Raiskup, R. Pinelli, E. Spoerl // *Curr. Eye Res.* – 2012. – Vol. 37. – № 3. – P. 234–238.
295. Rama, P. Acanthamoeba keratitis with perforation after corneal crosslinking and bandage contact lens use / P. Rama, F. Di Matteo, S. Matuska [et al.] // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2009. – Vol. 35. – P. 788–791.
296. Randleman, J. B. Risk factors and prognosis for corneal ectasia after LASIK / J. B. Randleman, B. Russell, M. A. Ward [et al.] // *Ophthalmology.* – 2003. – Vol. 110. – № 2. – P. 267–275.
297. Razmjoo, H. Cornea collagen cross-linking for keratoconus: a comparison between accelerated and conventional methods / H. Razmjoo, A. Peyman, A. Rahimi, H. J. Modrek // *Adv. Biomed. Res.* – 2017. – Vol. 6. – P. 10.
298. Romagnani, S. The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: Missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? / S. Romagnani // *Immunology.* – 2004. – Vol. 112. – № 3. – P. 352–363.
299. Ruane, P. H. Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrates using riboflavin and light / P. H. Ruane, R. Edrich, D. Gampp [et al.] // *Transfusion.* – 2004. – Vol. 44. – № 6. – P. 877–885.
300. Saini, J. S. Keratoconus in Asian eyes at a tertiary eye care facility / J. S. Saini, V. Saroha, P. Singh [et al.] // *Clin. Exp. Optom.* – 2004. – Vol. 87. – № 2. – P. 97–101.

301. Salman, A. Prevalence of keratoconus and keratoconus suspect among patients seeking refractive surgery in Syria / A. Salman, D. Taym, A. B. Abdul [et al.] // Middle East Afr. J. Ophthalmol. – 2023. – Vol. 29. – № 4. – P. 181–185.
302. Sánchez–Fernández, C. Immunocytochemical analysis of crocin against oxidative stress in trigeminal sensory neurons innervating the cornea / C. Sánchez–Fernández, S. Del Olmo–Aguado, E. Artime [et al.] // Molecules. – 2024. – Vol. 29. – № 2. – P. 456.
303. Santodomingo–Rubido, J. Keratoconus: An updated review / J. Santodomingo–Rubido, G. Carracedo, M. Suzuki [et al.] // Cont. Lens Anterior Eye. – 2022. – Vol. 45. – № 3. – P. 101559.
304. Sarker–Nag, A. Mitochondrial profile and responses to TGF- β ligands in keratoconus / A. Sarker–Nag, A. E. Hutcheon, D. Karamichos // Curr. Eye Res. – 2016. – Vol. 41. – № 7. – P. 900–907.
305. Sedaghat, M. R. Impact of a 50bp insertion/deletion polymorphism of the superoxide dismutase–1 on oxidative stress status and risk of keratoconus / M. R. Sedaghat, H. Shiri, J. Tavakkol–Afshari [et al.] // Exp. Eye Res. – 2024. – Vol. 238. – P. 109742.
306. Seigneurin, D. Ki–67 antigen, a cell cycle and tumor growth marker / D. Seigneurin, P. Guillaud // Pathol. Biol. (Paris). – 1991. – Vol. 39. – № 10. – P. 1020–1028.
307. Shalchi, Z. Safety and efficacy of epithelium removal and transepithelial corneal collagen crosslinking for keratoconus / Z. Shalchi, X. Wang, M. A. Nanavaty // Eye (Lond.). – 2015. – Vol. 29. – № 1. – P. 15–29.
308. Shetty, R. Allergen–specific exposure associated with high immunoglobulin E and eye rubbing predisposes to progression of keratoconus / R. Shetty, S. Sureka, P. Kusumgar [et al.] // Indian J. Ophthalmol. – 2017. – Vol. 65. – № 5. – P. 399–402.
309. Shetty, R. Characterization of corneal epithelial cells in keratoconus / R. Shetty, K. P. Vunnava, K. Dhamodaran [et al.] // Transl. Vis. Sci. Technol. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 2.

310. Shneor, E. Prevalence of keratoconus among young Arab students in Israel / E. Shneor, M. Millodot, A. Gordon-Shaag [et al.] // IJKECD. – 2014. – Vol. 3. – P. 9–14.
311. Sorkhabi, R. Tear film inflammatory mediators in patients with keratoconus / R. Sorkhabi, A. Ghorbanihaghjo, N. Taheri, M. H. Ahoor // Int. Ophthalmol. – 2015. – Vol. 35. – № 4. – P. 467–472.
312. Spoerl, E. Biophysical principles of collagen cross-linking / E. Spoerl, F. Raiskup-Wolf, L. E. Pillunat // Klin. Monbl. Augenheilkd. – 2008. – Bd. 225. – № 2. – S. 131–137.
313. Spoerl, E. Corneal cross-linking and safety issues / E. Spoerl, A. Hoyer, L. E. Pillunat, F. Raiskup // Open Ophthalmol. J. – 2011. – Vol. 5. – P. 14–16.
314. Spoerl, E. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion / E. Spoerl, G. Wollensak, T. Seiler // Curr. Eye Res. – 2004. – Vol. 29. – № 1. – P. 35–40.
315. Spoerl, E. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea / E. Spoerl, M. Mrochen, D. Sliney [et al.] // Cornea. – 2007. – Vol. 26. – № 4. – P. 385–389.
316. Spoerl, E. Thermomechanical behavior of collagen-cross-linked porcine cornea / E. Spoerl, G. Wollensak, D. D. Dittert, T. Seiler // Ophthalmologica. – 2004. – Vol. 218. – № 2. – P. 136–140.
317. Streilein, J. W. Ocular immune privilege: the eye takes a dim but practical view of immunity and inflammation / J. W. Streilein // J. Leukoc. Biol. – 2003. – Vol. 74. – № 2. – P. 179–185.
318. Streilein, J. W. Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature / J. W. Streilein // Nat. Rev. Immunol. – 2003. – Vol. 11. – № 3. – P. 879–889.
319. Subramanian, P. Keratoconus classification with convolutional neural networks using segmentation and index quantification of eye topography images by particle swarm optimisation / P. Subramanian, G. P. Ramesh // Biomed. Res. Int. – 2022. – Vol. 2022. – P. 8119685.

320. Sun, X. Comprehensive transcriptome analysis of patients with keratoconus highlights the regulation of immune responses and inflammatory processes / X. Sun, H. Zhang, M. Shan [et al.] // *Front. Genet.* – 2022. – Vol. 13. – P. 782709.
321. Takacs, L. Expression of betaig-h3 is lower than normal in keratoconus corneas but increases with scarring / L. Takacs, A. Csutak, E. Balazs [et al.] // *Cornea.* – 1999. – Vol. 18. – № 5. – P. 599–605.
322. Tanabe, U. Prevalence of keratoconus patients in Japan / U. Tanabe, K. Fujiki, A. Ogawa [et al.] // *Nihon Ganka Gakkai Zasshi.* – 1985. – Vol. 89. – P. 407–411.
323. Tomita, M. Accelerated versus conventional corneal collagen crosslinking / M. Tomita, M. Mita, T. Huseynova // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2014. – Vol. 40. – № 6. – P. 1013–1020.
324. Toprak, I. Scheimpflug parameters after corneal collagen crosslinking for keratoconus / I. Toprak // *Eur. J. Ophthalmol.* – 2013. – Vol. 23. – № 6. – P. 793–8.
325. Vinciguerra, P. Intra- and postoperative variation in ocular response analyzer parameters in keratoconic eyes after corneal cross-linking / P. Vinciguerra, E. Albè, A. M. Mahmoud [et al.] // *J. Refract. Surg.* – 2010. – Vol. 26. – P. 669–676.
326. Vohra, V. Collagen cross linking for keratoconus / V. Vohra, S. Tuteja, B. Gurnani, H. Chawla // *StatPearls [Internet].* – Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan.
327. Wang, J. Transforming growth factor- β 2 induces morphological alteration of human corneal endothelial cells in vitro / J. Wang, T. J. Fan, X. X. Yang, S. M. Chang // *Int. J. Ophthalmol.* – 2014. – Vol. 7. – № 5. – P. 759–763.
328. Weed, K. H. The Dundee University Scottish Keratoconus study: demographics, corneal signs, associated diseases, and eye rubbing / K. H. Weed, C. J. MacEwen, T. Giles [et al.] // *Eye (Lond.).* – 2008. – Vol. 22. – № 4. – P. 534–541.
329. Weed, K. H. The variable expression of keratoconus within monozygotic twins: Dundee University Scottish Keratoconus Study (DUSKS) / K. H. Weed, C. J. MacEwen, C. N. J. McGhee // *Cont. Lens Anterior Eye.* – 2006. – Vol. 29. – № 3. – P. 123–126.

330. Wernli, J. The efficacy of corneal cross-linking shows a sudden decrease with very high intensity UV light and short treatment time / J. Wernli, S. Schumacher, E. Spoerl, M. Mrochen // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2013. – Vol. 54. – № 2. – P. 1176–1780.
331. Wollensak, G. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro / G. Wollensak, E. Spoerl, F. Reber, T. Seiler // *Eye.* – 2004. – Vol. 18. – № 7. – P. 718–722.
332. Wollensak, G. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus / G. Wollensak, E. Spoerl, T. Seiler // *Am. J. Ophthalmol.* – 2003. – Vol. 135. – № 5. – P. 620–627.
333. Wollensak, G. Significance of the lacunar hydration pattern after corneal cross-linking / G. Wollensak, H. Herbst // *Cornea.* – 2010. – Vol. 29. – № 8. – P. 899–903.
334. Wollensak, G. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking / G. Wollensak, E. Spoerl, T. Seiler // *J. Cataract. Refract. Surg.* – 2003. – Vol. 29. – № 9. – P. 1780–1785.
335. Wyman, A. L. Benedict Duddell: pioneer oculist of the 18th century / A. L. Wyman // *J. R. Soc. Med.* – 1992. – Vol. 85. – № 7. – P. 412–415.
336. Xanthopoulou, K. Accelerated corneal crosslinking for treatment of keratoconus in children and adolescents under 18 years of age / K. Xanthopoulou, G. Milioti, L. Daas [et al.] // *Klin. Monbl. Augenheilkd.* – 2022. – Bd. 240. – № 10. – S. 1131–1142.
337. Yam, G. H. F. Keratocyte biology / G. H. F. Yam, A. K. Riau, M. L. Funderburgh [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 2020. – Vol. 196. – P. 108062.
338. Yang, T. Norfloxacin induces apoptosis and necroptosis in human corneal epithelial cells / T. Yang, T. J. Fan, B. Xu // *Toxicol. Vitro.* – 2020. – Vol. 66. – P. 104868.
339. Yildirim, Y. Comparison of accelerated corneal collagen cross-linking types for treating keratoconus / Y. Yildirim, O. Olcucu, Z. K. Gunaydin [et al.] // *Curr. Eye Res.* – 2017. – Vol. 30. – P. 1–5.

340. Zadnik, K. Baseline findings in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study / K. Zadnik, J. T. Barr, T. B. Edrington [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 1998. – Vol. 39. – № 13. – P. 2537–2546.
341. Zadnik, K. Biomicroscopic signs and disease severity in keratoconus. Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study Group / K. Zadnik, J. T. Barr, M. O. Gordon, T. B. Edrington // *Cornea.* – 1996. – Vol. 15. – P. 139–146.
342. Zhang, H. Tear levels of inflammatory cytokines in keratoconus: a meta-analysis of case-control and cross-sectional studies / H. Zhang, X. Cao, Y. Liu [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2021. – Vol. 2021. – P. 6628923.
343. Zhao, X. Associations between keratoconus and the level of sex hormones: a cross-sectional study / X. Zhao, Y. Yuan, T. Sun [et al.] // *Front. Med. (Lausanne).* – 2022. – Vol. 9. – P. 828233.
344. Zhou, L. Expression of wound healing and stress-related proteins in keratoconus corneas / L. Zhou, B. Y. Yue, S. S. Twining [et al.] // *Curr. Eye Res.* – 1996. – Vol. 15. – № 11. – P. 1124–1131.