

# Гистоморфологическая картина роговицы по данным лазерной конфокальной микроскопии при кератопластике

Д.А. Крахмалева<sup>✉</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-4591-2367>, eskess@mail.ru

З.В. Сурнина, <http://orcid.org/0000-0001-5692-1800>, MEDZOE@yandex.ru

С.А. Маложен, <https://orcid.org/0000-0003-0534-1536>, smalozhen@mail.ru

А.А. Гамидов, <https://orcid.org/0000-0002-9192-449X>, eskess@mail.ru

Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а

## Резюме

**Введение.** Пересадка роговицы является наиболее успешной и часто выполняемой процедурой аллотрансплантации по сравнению с другими органами и тканями. В мире ежегодно осуществляется более 100 000 трансплантаций роговицы.

**Цель исследования.** Провести при помощи лазерной конфокальной микроскопии роговицы анализ изменения клеточных структур и плотности иммунных клеток после сквозной кератопластики. Исследовать возможности конфокальной микроскопии в диагностике реакции отторжения трансплантата.

**Материалы и методы.** В исследование вошло 34 пациента, перенесших сквозную кератопластику при помутнениях роговицы различной этиологии. Средний возраст пациентов  $51,1 \pm 13,6$  года (от 23 до 76 лет). Срок наблюдения составил от 12 до 36 мес. ( $24,5 \pm 4,84$  мес.). Офтальмологическое обследование проводили всем пациентам через 1, 3, 6, 12 мес. и ежегодно после СКП. Всем пациентам для изучения прижизненной морфологии роговицы проводили КМР, при помощи которой оценивался базальный эпителий, суббазальный слой, строма и эндотелий. Иммунные клетки были идентифицированы и оценены по форме, длине отростков и их плотности.

**Результаты.** На протяжении всего срока наблюдения у пациентов, перенесших сквозную кератопластику, нами было зарегистрировано 7 случаев (20,5%) реакции отторжения. При возникновении реакции отторжения трансплантата у всех пациентов отмечалась аккумуляция гиперрефлективных древовидных структур, преимущественно в суббазальном слое. Кроме того, клетки приобретали более зрелую морфологию (степень 2–3). Плотность ДК составляла  $809,17 \pm 342,19$  ( $p < 0,001$ ). Была выявлена положительная корреляция между плотностью ДК и реакцией отторжения трансплантата ( $r$ -Спирмена = 709,  $p < 0,001$ ). Также у пациентов отмечались признаки несостоятельности эндотелия с низкой плотностью эндотелиальных клеток и плеоморфизмом, повышение светорассеяния и гиперрефлективность стромы.

**Выводы.** В комплексе диагностических мер конфокальная микроскопия может выступать в качестве метода ранней диагностики реакции отторжения трансплантата, определения тяжести патологического процесса, а также контроля эффективности и безопасности проводимого лечения.

**Ключевые слова:** кератопластика, реакция отторжения трансплантата, конфокальная микроскопия роговицы, клетки Лангерганса, дендритиформные макрофаги

**Для цитирования:** Крахмалева Д.А., Сурнина З.В., Маложен С.А., Гамидов А.А. Гистоморфологическая картина роговицы по данным лазерной конфокальной микроскопии при кератопластике. *Медицинский совет.* 2021;(21-2):110–117. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-21-2-110-117>.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

## Histomorphological view of the cornea investigated by laser confocal microscopy in keratoplasty

Daria A. Krakhmaleva<sup>✉</sup>, <https://orcid.org/0000-0002-4591-2367>, eskess@mail.ru

Zoya V. Surnina, <http://orcid.org/0000-0001-5692-1800>, MEDZOE@yandex.ru

Sergey A. Malzhoen, <https://orcid.org/0000-0003-0534-1536>, smalozhen@mail.ru

Alibek A. Gamidov, <https://orcid.org/0000-0002-9192-449X>, eskess@mail.ru

Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia

## Abstract

**Introduction.** Corneal transplantation is the most successful and commonly performed allotransplantation procedure as compared with other organs and tissues. Over 100,000 corneal transplantations are performed worldwide every year.

**Purpose.** This study investigated whether in vivo confocal microscopy (IVCM) can aid in the diagnosis of a graft rejection reaction by detecting changes in cellular structures and density of immune cells after penetrating keratoplasty.

**Materials and methods.** The study included thirty-four eyes of 34 patients who underwent penetrating keratoplasty (7 eyes with corneal graft rejection, 27 without rejection). The average age of patients is  $51.1 \pm 13.6$  years (from 23 to 76 years). The follow-up

period ranged from 12 to 36 months ( $24.5 \pm 4.84$  months). Follow-up was performed at 1, 3, 6, 12 months and annually after PKP. To study the morphology of the cornea all patients underwent IVCM to assess the basal epithelium, subbasal layer, stroma and endothelium. Immune cells were identified and evaluated for the shape, length of the processes and their density.

**Results.** Patients with corneal graft rejection demonstrated significant accumulation of corneal dendritic-like immune cells compared to patients with non-rejected grafts. In addition, the cells acquired a more mature morphology (grade 2–3). The density of dendritic cells (DC) was  $809.17 \pm 342.19$  ( $p < 0.001$ ). A positive correlation was found between DC density and graft rejection ( $p < 0.001$ ). As well the patients showed signs of endothelial failure with low endothelial cell density and pleomorphism, increased light scattering and hyperreflectivity of the stroma.

**Conclusions.** In a complex of diagnostic measures, confocal microscopy may provide a valuable clinical adjunctive tool in diagnosis and management of early corneal graft rejection.

**Keywords:** corneal transplant, graft rejection, confocal microscopy, dendritic cells, Langerhans cells

**For citation:** Krakhmaleva D.A., Surnina Z.V., Malojen S.A., Gamidov A.A. Histomorphological view of the cornea investigated by laser confocal microscopy in keratoplasty. *Meditinskiy sovet = Medical Council*. 2021;(21-2):110–117. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2021-21-2-110-117>.

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

## ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация роговицы — способ хирургического лечения, используемый для восстановления оптических и структурных свойств патологически измененной роговой оболочки глаза, который с успехом применяется уже более 100 лет [1, 2].

Пересадка роговицы является наиболее успешной и часто выполняемой процедурой аллотрансплантации по сравнению с другими органами и тканями. В мире ежегодно осуществляется более 100 000 трансплантаций роговицы [3].

Известно, что результат пересадки роговицы имеет выраженную зависимость от этиологии ее поражения, в то время как у реципиентов с кератоконусом и некоторыми формами дистрофии роговицы частота прозрачного приживления в первые два года после кератопластики без использования тканевого типирования и системных иммуносупрессивных препаратов в среднем равна 90%. Это демонстрирует иммунную привилегию роговой оболочки глаза у пациентов группы высокого риска: с воспалительной этиологией повреждения, после неоднократных кератопластик — вероятность неблагоприятного исхода аллотрансплантации может достигать 70% [4, 5].

Иммунная реакция тканевой несовместимости остается одной из самых распространенных причин неудовлетворительного результата сквозной кератопластики. Случаи развития реакции отторжения трансплантата роговицы, по данным литературы, колеблются от 2,3 до 65% в зависимости от факторов риска, имеющих место у реципиента [6, 7].

Предоперационное и послеоперационное воспаление глаза способствует усиленному выходу антигенпредставляющих клеток (АПК) роговицы к дренирующим лимфатическим узлам, где они представляют донорские антигены Т-лимфоцитам, вызывая аллосенсибилизацию. Новые кровеносные сосуды обеспечивают усиленный приток Т-эффекторных клеток и дополнительные АПК

в трансплантаты роговицы. Активированные и сенсibilизированные Т-клетки распознают антигены роговицы и могут вызвать иммуноопосредованное отторжение трансплантата. Следовательно, трансплантат роговицы становится отечным и прозрачность тканей снижается. Для подавления этого разрушительного иммунного процесса и восстановления прозрачности роговицы необходимо раннее выявление иммунных реакций и своевременное лечение [7].

Обычно диагноз отторжения аллотрансплантата роговицы основывается на симптомах и клинических признаках пациента, обнаруженных при биомикроскопии на щелевой лампе [8]. К сожалению, раннее отторжение трансплантата может быть пропущено при обследовании. Кроме того, некоторые состояния, такие как инфекции, могут искажать признаки и симптомы иммунной реакции, что приводит к пропущенной или поздней диагностике. Для выявления ранних признаков отторжения роговичного трансплантата было введено использование зеркальной микроскопии или оптической когерентной томографии переднего сегмента (AS-OCT). Однако зеркальная микроскопия способна визуализировать только эндотелиальный слой роговицы, а AS-OCT может продемонстрировать лишь увеличение толщины комплекса «эндотелий/десцеметова мембрана», но не клеточные изменения в других роговичных слоях [9–12]. Таким образом, в клинической практике эти методы обычно остаются второстепенными при оценке отторжения трансплантата.

Конфокальная микроскопия роговицы (КМП) широко используется при исследовании заболеваний роговицы. Технология позволяет неинвазивно получать *in vivo* изображения роговицы на клеточном уровне с высоким разрешением. Такой квазигистологический вид диагностики может помочь в постановке диагноза неясных состояний или процессов роговицы, что облегчает исследование микроструктурных изменений и иммунных клеток роговицы аналогично гистопатологическим методам, которые

зачастую не используют при стандартном офтальмологическом обследовании [13].

В текущем исследовании с использованием лазерной КМР мы проанализировали плотность иммунных клеток и изменения клеточных структур в трансплантатах роговицы у пациентов, которые перенесли СКП, а также сравнили результаты у пациентов с прозрачным приживлением трансплантата и с отторжением последнего.

**Цель исследования:** при помощи лазерной конфокальной микроскопии роговицы (КМР) провести анализ изменения клеточных структур и плотности иммунных клеток после сквозной кератопластики. Исследовать возможности конфокальной микроскопии в диагностике реакции отторжения трансплантата.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошло 34 пациента, перенесших сквозную кератопластику при помутнениях роговицы различной этиологии. Для трансплантации роговицы использовались консервированные в среде Борзенка – Мороз корнеосклеральные лоскуты, полученные из сертифицированного глазного банка. Диаметр кератотрансплантата варьировал в пределах от 7,5 до 9,5 мм. Предоперационная плотность эндотелиальных клеток доноров составляла  $2\,681 \pm 301$  кл/мм<sup>2</sup>.

Средняя максимально скорректированная острота зрения (МКОЗ) до операции составила  $0,05 \pm 0,62$  (0,005–0,33). Средний возраст пациентов  $51,1 \pm 13,6$  года (от 23 до 76 лет). Срок наблюдения составил от 12 до 36 мес. ( $24,5 \pm 4,84$  мес.).

Общее офтальмологическое обследование проводили всем пациентам через 1, 3, 6, 12 мес. и ежегодно после СКП. Помимо стандартного офтальмологического обследования, включающего визометрию, биомикроскопию, тонометрию, офтальмоскопию, для изучения прижизненной морфологии роговицы проводили КМР.

Конфокальная микроскопия роговицы была выполнена по стандартной методике с использованием конфокального микроскопа Heidelberg Retinal Tomographer HRT-III (Heidelberg Engineering, Германия) при помощи роговичной насадки RCM. Оптически прозрачный гель (Корнерегель, «Валеант», Россия) наносился на внутреннюю поверхность наконечника в качестве иммерсионной жидкости. В качестве местной анестезии применялся препарат Алкаин 0,5% («Алкон», США).

Измерение плотности иммунных дендритных клеток (т. н. клеток Лангерганса (ДК)) для проведения сравнительного анализа осуществлялось с помощью программы Liner Calculate, которая позволяет оценить количество, длину и плотность отростков ДК (рис. 1).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На протяжении всего срока наблюдения у пациентов, перенесших сквозную кератопластику, нами было зарегистрировано 7 случаев (20,5%) реакции отторжения. Клиническими симптомами отторжения трансплантата

были снижение зрения, покраснение и чувство дискомфорта. Как правило, при появлении данных симптомов пациенты обращались до назначенной даты контрольного осмотра. При биомикроскопии наблюдались цилиарная инъекция, субэпителиальные инфильтраты, отек трансплантата, преципитаты на эндотелии, вращение новообразованных сосудов. Средний срок возникновения реакции отторжения трансплантата составил  $8,28 \pm 6,77$  (от 3 до 22 мес.).

Средняя МКОЗ у пациентов с прозрачным приживлением трансплантата составила 0,28 (0,02–0,6) и снижалась до 0,08 (0,05–0,3) у пациентов с отторжением.

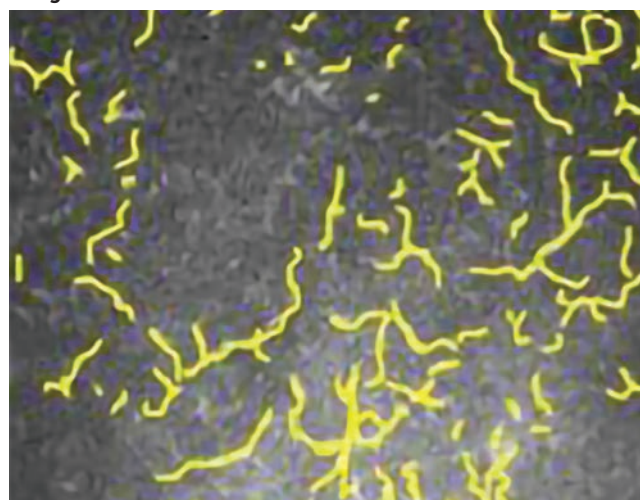
### Конфокальная микроскопия роговицы

При помощи конфокальной микроскопии роговицы оценивался базальный эпителий, суббазальный слой, включая субэпителиальные ДК и нервные волокна роговицы, передняя строма и эндотелий. Дендритные макрофаги были идентифицированы и оценены по форме, длине отростков и их плотности. Клетки Лангерганса (дендритные клетки) имели вид ярких корпускулярных частиц с древовидной морфологией и диаметром до 15 нм. Они выявлялись у пациентов, локализуясь в базальном эпителии и боуменовом слое. Количество и морфология ДК оценивались по степеням активности: 0-я степень соответствовала отсутствию ДК; 1-я степень – клетки без отростков; 2-я степень (маленькие отростки) – размер отростков меньше, чем максимальный диаметр тела клетки; 3-я – длина отростков превосходит максимальный диаметр тела клетки [14]. Плотность дендритных клеток оценивалась в эпителиальном и суббазальном слое центральной зоны роговицы.

У пациентов, перенесших кератопластику, отмечалось повышение плотности иммунных клеток во всех слоях начиная с 3-го мес. после хирургического вмешательства. Как правило, при исследовании через 1 мес. ДК не визуализировались.

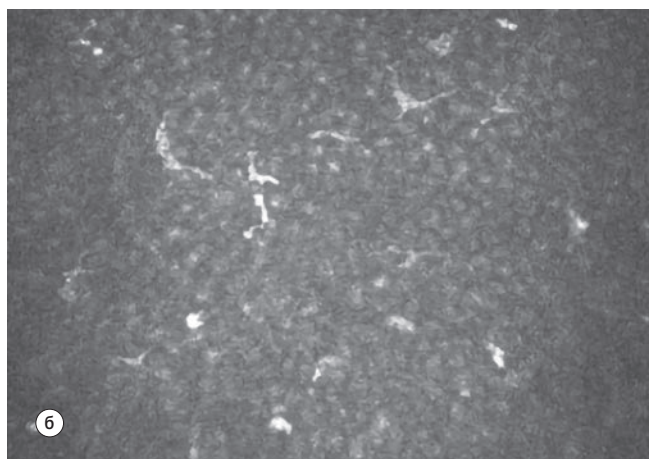
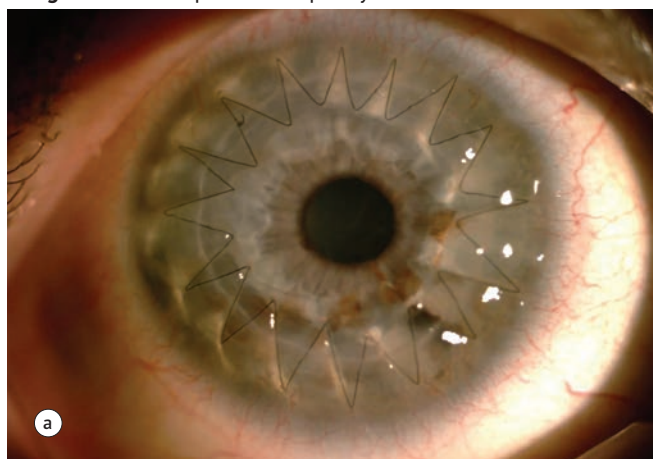
● **Рисунок 1.** Интерфейс программного обеспечения Liner Calculate

● **Figure 1.** Liner Calculate software interface



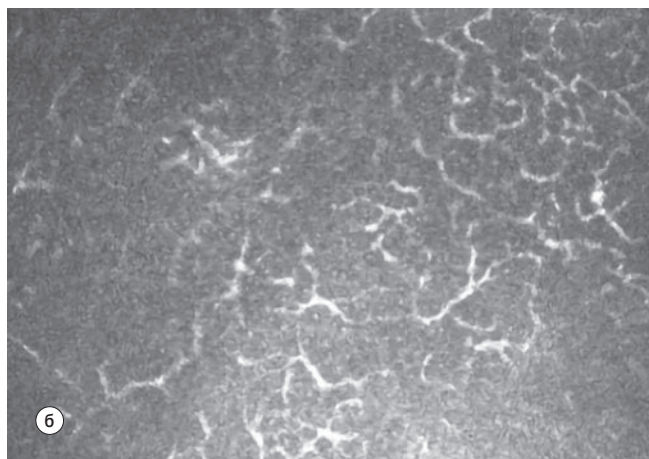
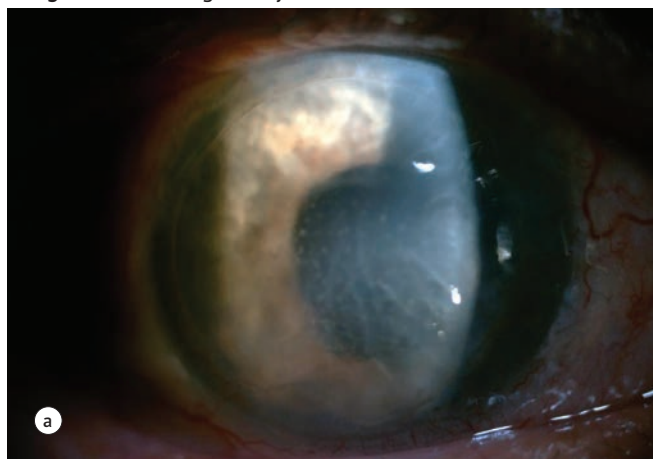
Желтым цветом выделены дендритные клетки, автоматически подсчитано их количество, длина и плотность

- **Рисунок 2.** Состояние после кератопластики
- **Figure 2.** Status post keratoplasty



а) прозрачное приживление трансплантата, признаки реакции отторжения отсутствуют; б) конфокальная микроскопия роговицы. В эпителиальном слое выявляют дендритные клетки без отростков, плотность дендритных клеток не увеличена (первая степень активности)

- **Рисунок 3.** Реакция отторжения кератотрансплантата
- **Figure 3.** Cornea graft rejection reaction



а) отек, складки десцеметовой оболочки, преципитаты на эндотелии; б) конфокальная микроскопия роговицы. Скопление ДК и отсутствие нервных волокон на уровне боуменовы мембраны (3-я степень активности). Длинные отростки и увеличение плотности ДК

При прозрачном приживлении трансплантата дендритные клетки выявлялись у 8 (29%) пациентов после кератопластики и имели незрелую структуру с короткими отростками (степень 1) (рис. 2). Плотность клеток у данных пациентов составила в среднем  $16,42 \pm 29,47$  (от 0 до 84,84).

При возникновении реакции отторжения трансплантата у всех пациентов отмечалась аккумуляция гиперрефлексивных древовидных структур, преимущественно в суббазальном слое. Кроме этого, клетки приобретали более зрелую морфологию (степень 2–3) (рис. 3).

Плотность ДК резко увеличивалась, составляя в среднем  $809,17 \pm 342,19$  ( $p < 0,001$ ). Были выявлены статистически значимые различия ( $p = 0,001$ ) между глазами с отторжением трансплантата и с прозрачным приживлением. Была выявлена положительная корреляция между плотностью ДК и реакцией отторжения трансплантата ( $r$ -Спирмена = 709,  $p < 0,001$ ).

Следует отметить, что в двух случаях мы зарегистрировали изменения клеточной морфологии (увеличение плотности и степени активности ДК, повышение гиперрефлексивности экстрацеллюлярного матрикса и количе-

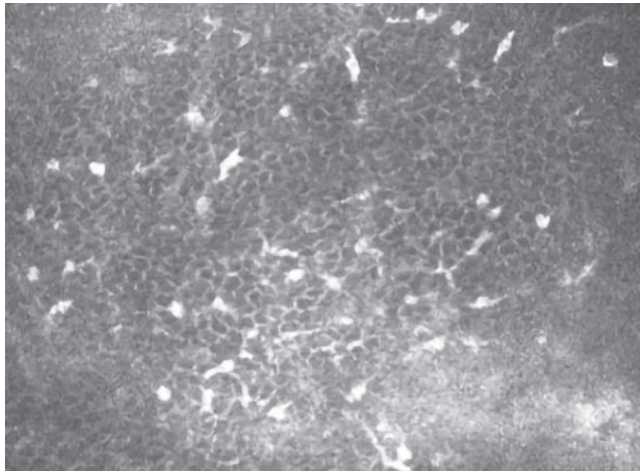
ства включений) за 2 и 6 нед. до появления клинических признаков реакции тканевой несовместимости (рис. 4).

Сосуды выявлялись у пациентов с неоваскуляризацией кератотрансплантата и визуализировались практически во всех слоях стромы роговицы на глубине от 60 до 570 нм, однако наиболее частой их локализацией являлись передние слои стромы. В просвете визуализировался ток форменных элементов крови, которые имели вид гиперрефлексивных округлых телец, а также выявлялись запустевшие сосуды (рис. 5а, б).

Количество и плотность кератоцитов были снижены как в передних, так и глубоких слоях стромы в разной степени, от умеренных изменений вплоть до участков бесклеточной структуры стромы с редко встречающимися «островками» дистрофически измененных ядер кератоцитов (рис. 6).

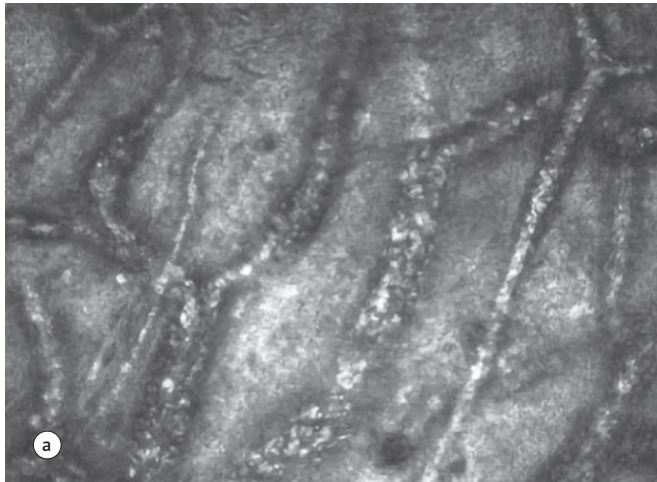
Наблюдала т. н. активированные кератоциты, представляющие собой клетки с видимыми цитоплазматическими отростками, присутствовавшие как в передних, так и задних слоях стромы роговицы (рис. 7). Обращало на себя внимание увеличение размеров кератоцитов.

- **Рисунок 4.** Конфокальная микроскопия роговицы
- **Figure 4.** Corneal confocal microscopy

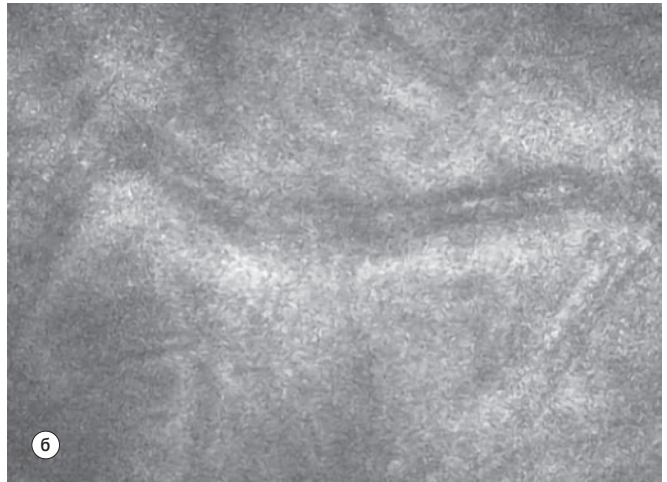


В эпителиальном слое отмечается повышение плотности дендритных клеток, увеличение длины их отростков (первая степень активности)

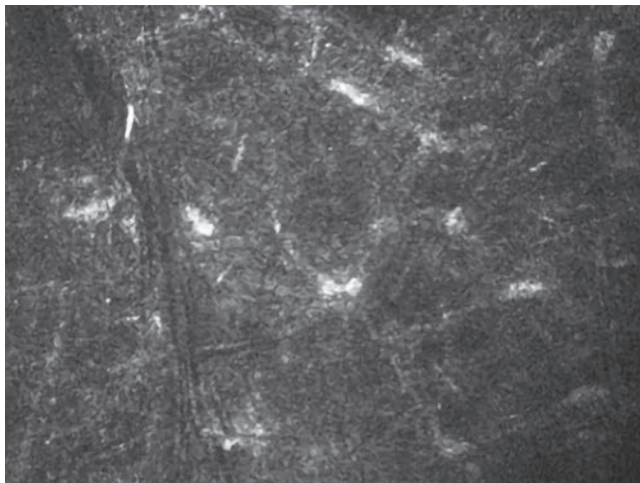
- **Рисунок 5.** Конфокальная микроскопия
- **Figure 5.** Confocal microscopy



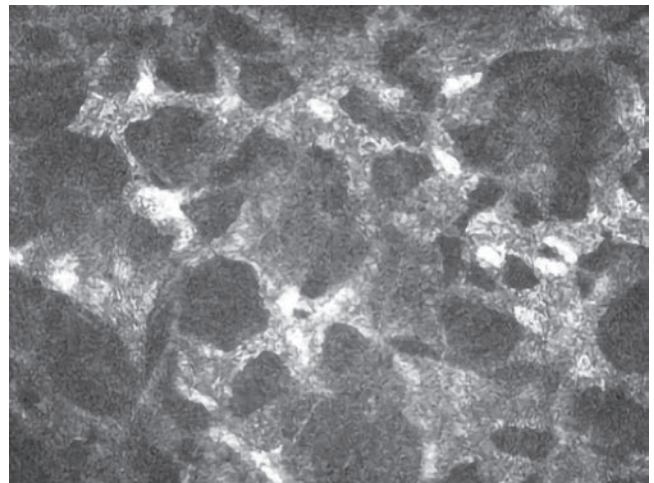
а) в просвете сосуда визуализируются гиперрефлективные тельца – форменные элементы крови; б) визуализируется спавшийся просвет сосудов роговицы



- **Рисунок 6.** Конфокальная микроскопия роговицы. Поврежденные кератоциты, выраженные изменения экстрацеллюлярного матрикса, множественные стрии
- **Figure 6.** Corneal confocal microscopy. Damaged keratocytes, pronounced changes in extracellular matrix, multiple striae



- **Рисунок 7.** Конфокальная микроскопия роговицы. Активированные кератоциты в передней строме трансплантата
- **Figure 7.** Corneal confocal microscopy. Activated keratocytes in the anterior stroma of a graft



Начальная иннервация, представленная единичными извитыми нервными волокнами в суббазальном слое на периферии кератотрансплантата, была выявлена лишь у 7 (20,5%) пациентов в срок 12 мес. после СКП. Регенерация нервных волокон имела случайный и неупорядоченный характер. Центральная иннервация была зарегистрирована через 2 года у 33% пациентов, через 3 года – у 58,8%. На протяжении всего периода наблюдения (3 года) сохранялось значительное снижение плотности и извитости роговичных нервов (рис. 8) по сравнению с глазами без патологии. Существенных различий в иннервации трансплантата между глазами с прозрачным приживлением трансплантата и глазами с отторжением не было выявлено.

Во всех слоях стромы визуализировали изменения экстрацеллюлярного матрикса (отек, фиброз), наиболее выраженные – в передних слоях, которые приводили к увеличению уровня светорассеяния и, как следствие,

к повышенной рефлексивности слоев. Также мы наблюдали иглоподобные и точечные гиперрефлективные включения (рис. 6). Считается, что они представляют собой продукты клеточного распада или другой дезорганизованный экстрацеллюлярный материал [15]. Их количество увеличивались в раннем послеоперационном периоде, а также при развитии реакции отторжения.

Плотность эндотелиальных клеток в прозрачных трансплантатах была значительно ниже, чем в здоровой роговице. Их плотность через 6 мес. после кератопластики составляла  $2\ 162 \pm 339$  кл/мм<sup>2</sup>, через 1 год –  $1\ 797 \pm 355$  кл/мм<sup>2</sup>, через 2 года –  $1\ 503 \pm 369$  кл/мм<sup>2</sup>. Клетки эндотелия увеличивались в размерах. Визуализировали гиперрефлективные ядра, в некоторых случаях встречались многоядерные клетки. При возникновении реакции тканевой несовместимости отмечали снижение плотности клеток в среднем до  $837 \pm 143$  (от 485 до  $1\ 572$  кл/мм<sup>2</sup>). Такая разница была статистически значима по сравнению с группой пациентов, сопоставимых по сроку наблюдения, с прозрачным приживлением трансплантата ( $p < 0,05$ ). Усугублялись явления плеоморфизма и анизоцитоза (рис. 9).

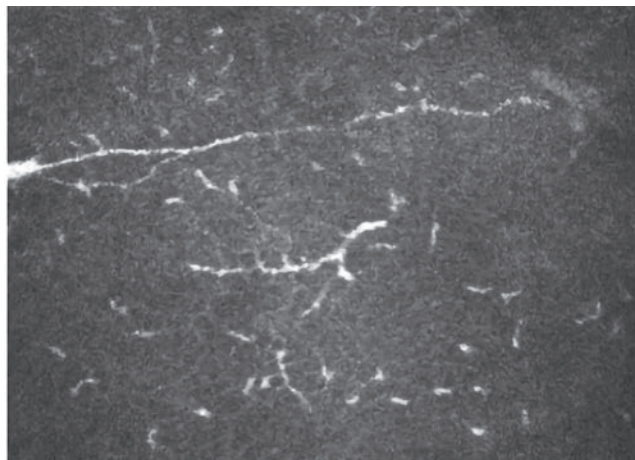
## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время диагностика отторжения трансплантата роговицы основана исключительно на клинических признаках и симптомах. Большинство пациентов обращаются по крайней мере с одним из клинических признаков воспалительной реакции в трансплантате, выявляемых при осмотре с помощью щелевой лампы. Основные признаки отторжения трансплантата: снижение зрения, раздражение и покраснение глаз, светобоязнь и боль в глазах – являются неспецифическими. Профилактические посещения офтальмолога могут позволить выявить отторжение трансплантата только в случаях с явными проявлениями, а тонкие изменения на очень ранних стадиях отторжения трудно дифференцировать с помощью щелевой лампы [16]. Современные технологии были введены с целью улучшения качества диагностики и более детального понимания патогенетических механизмов заболеваний роговицы. В последнее время широко применяют КМР для оценки заболеваний роговицы и поверхности глаза. Также технология позволяет визуализировать микроструктурные изменения, включая патогенные организмы, иммунные и воспалительные клетки, присутствующие в роговице [14, 17–23]. J. Niederer et al. описали два случая пациентов с клиническим отторжением трансплантата, продемонстрировавших с помощью КМР наличие агрегации гиперрефлективных дендритиформных структур на уровне базального эпителия и боуеновой мембраны [21]. Ученые, предположительно, определили данные структуры как воспалительные клетки Лангерганса.

Клетки Лангерганса являются профессиональными антигенпрезентирующими клетками (АПК), которые играют ключевую роль в инициации иммунной реакции, а также индукции толерантности. Их присутствие в цен-

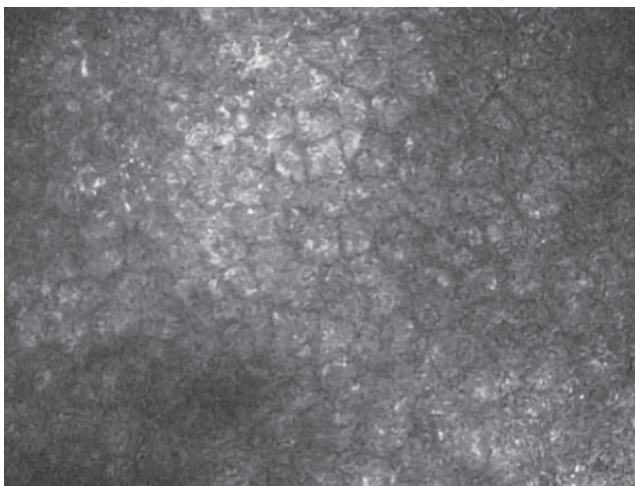
● **Рисунок 8.** Конфокальная микроскопия роговицы. Нервные волокна вытянуты, однонаправлены, извиты, их количество резко снижено, визуализируются неактивные клетки Лангерганса

● **Figure 8.** Corneal confocal microscopy. Nerve fibers are elongated, unidirectional, twisted, the number of fibres is sharply decreased, inactivated Langerhans cells are visualized



● **Рисунок 9.** Конфокальная микроскопия роговицы через два года после кератопластики. Уменьшение плотности эндотелиальных клеток, плеоморфизм

● **Figure 9.** Corneal confocal microscopy two years after keratoplasty. Decrease in endothelial cell density, pleomorphism



тральной роговице было подтверждено P. Hamrah et al. с использованием конфокальной микроскопии ex-vivo и иммуногистохимически меченых дендритных клеток в роговице мыши [22]. Позже А. Живов и др. [24] использовали конфокальную микроскопию in vivo (HRT II Rostock Corneal Module) для подтверждения наличия дендритиформных структур на уровне базального эпителия и боуеновой мембраны у 31,3% здоровых добровольцев со средней плотностью  $34 \pm 3$  клетки/мм<sup>2</sup> в центральной части роговицы. Увеличение плотности этих ДК наблюдалось у пациентов с аденовирусным кератоконъюнктивитом и кератитом, возникшими после лазерного кератомилеза in situ (LASIK) [25–27]. В инициации реакции тканевой несовместимости иммунные АПК играют определяющую роль. Отторжение трансплантата органа

вызывается двумя различными типами аллосенсибилизации: прямым и непрямым путями. В прямом пути участвуют Т-клетки, которые непосредственно отвечают на чужеродные молекулы МНС, экспрессируемые донорскими АПК. В непрямом пути АПК реципиента представляют аллопептиды донорского происхождения в контексте собственного МНС. Традиционно считается, что прямой путь является наиболее мощным механизмом, участвующим в остром отторжении трансплантата. Непрямой путь преобладает на более поздних сроках после трансплантации и является основным механизмом аллораспознавания, запускающим хроническое отторжение [28].

По данным литературы, на фоне иммуносупрессии иммунные клетки были обнаружены только у 16% пациентов, перенесших кератопластику, что может свидетельствовать о том, что применение кортикостероидных глазных капель или системной иммуносупрессии может снизить количество иммунных клеток в трансплантатах [29]. Следовательно, обнаружение иммунных клеток *in vivo* может иметь большое клиническое значение для своевременной диагностики и разработки оптимальных алгоритмов лечения.

## ВЫВОДЫ

1. Конфокальная микроскопия роговицы – современный неинвазивный метод, позволяющий провести прижизненную оценку функционального и морфологического состояния роговой оболочки в динамике.

2. Анализ КМР у пациентов с реакцией отторжения трансплантата свидетельствует о резком повышении количества и степени активности ДК, коррелирующей с силой иммунной реакции, по сравнению с глазами с прозрачным приживлением трансплантата. Выявлены признаки несостоятельности эндотелия с низкой плотностью эндотелиальных клеток и плеоморфизмом, повышение светорассеяния и гиперрефлексивность стромы вследствие ее отека.

3. В комплексе диагностических мер конфокальная микроскопия роговицы может выступать в качестве метода ранней диагностики реакции отторжения трансплантата, определения тяжести патологического процесса, а также контроля эффективности и безопасности проводимого лечения.



Поступила / Received 15.11.2021

Поступила после рецензирования / Revised 03.12.2021

Принята в печать / Accepted 03.12.2021

## Список литературы / References

- Coster D., Williams K. Transplantation of the cornea. *Med J Aust.* 1992;157(6):405–408. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1992.tb137253.x>.
- George A., Larkin D. Corneal Transplantation: The Forgotten Graft. *Amer J Transpl.* 2004;4(5):678–685. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2004.00417.x>.
- Oliva M., Gulati M., Schottman T. Turning the tide of corneal blindness. *Ind J Ophthalmol.* 2012;60(5):423. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2004.00417.x>.
- Jerry Y., Niederkorn J.Y., Larkin D.P. Immune Privilege of Corneal Allografts. *Ocul Immunol Inflamm.* 2010;18(3):162–171. <https://doi.org/10.3109/09273948.2010.486100>.
- Труфанов С.В., Маложен С.А., Крахмалева Д.А., Сурнина З.В., Пивин Е.А., Каспарова Е.А. Антиангиогенная терапия при кератопластике высокого риска. *Вестник офтальмологии.* 2020;136(4):11–18. <https://doi.org/10.17116/oftalma202013604111>.
- Trufanov S.V., Malozhen S.A., Krakhmaleva D.A., Surnina Z.V., Pivin E.A., Kasparova E.A. Antiangiogenic therapy in high-risk keratoplasty. *Vestnik oftalmologii = The Russian Annals of Ophthalmology.* 2020;136(4):11–18. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma202013604111>.
- Shapiro M.B., Mandel M.R., Krachmer J.H. Rejection. In: Bright B. (ed.) *Corneal Surgery, Theory, Technique and Tissues.* 2<sup>nd</sup> ed. St. Louis: CV Mosby; 1997, pp. 254–268.
- Труфанов С.В., Суббот А.М., Маложен С.А., Саловарова Е.П., Крахмалева Д.А. Факторы риска, клинические проявления, методы профилактики и лечения реакции отторжения трансплантата роговицы. *Вестник офтальмологии.* 2016;132(6):108–116. <https://doi.org/10.17116/oftalma20161326108-116>.
- Trufanov S.V., Subbot A.M., Malozhen S.A., Salovarova E.P., Krakhmaleva D.A. Risk factors, clinical presentations, prevention, and treatment of corneal graft rejection. *Vestnik oftalmologii = The Russian Annals of Ophthalmology.* 2016;132(6):108–116. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma20161326108-116>.
- Panda A., Vanathi M., Kumar A., Dash Y., Priya S. Corneal Graft Rejection. *Surv Ophthalmol.* 2007;52(4):375396. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2007.04.008>.
- Monnerau C., Bruinsma M., Ham L., Baydoun L., Oellerich S., Melles G.R. Endothelial cell changes as an indicator for upcoming allograft rejection following descemet membrane endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol.* 2014;158:485–495. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2014.05.030>.
- Benetz B., Lass J., Gal R., Sugar A., Menegay H., Dontchev M. et al. Endothelial Morphometric Measures to Predict Endothelial Graft Failure After Penetrating Keratoplasty. *JAMA Ophthalmol.* 2013;131(5):601. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2013.1693>.
- Liu Y., Lwin N., Chan N., Mehta J. Use of Anterior Segment Optical Coherence Tomography to Predict Corneal Graft Rejection in Small Animal Models. *Inves Ophthalmol Visual Science.* 2014;55(10):6736–6741. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-14475>.
- Abou Shousha M., Yoo S., Sayed M., Edelstein S., Council M., Shah R. et al. In Vivo Characteristics of Corneal Endothelium/Descemet Membrane Complex for the Diagnosis of Corneal Graft Rejection. *Amer J Ophthalmol.* 2017;178:27–37. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2017.02.026>.
- Chirapapaian C., Abbouda A., Jamali A., Müller R.T., Cavalcanti B.M., Colon C. et al. In Vivo Confocal Microscopy Demonstrates Increased Immune Cell Densities in Corneal Graft Rejection Correlating With Signs and Symptoms. *Am J Ophthalmol.* 2019;203:26–36. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2019.02.013>.
- Resch M., Marsovszky L., Németh J., Bocskai M., Kovács L., Balog A. Dry Eye and Corneal Langerhans Cells in Systemic Lupus Erythematosus. *J Ophthalmol.* 2015;2015:1–8. <https://doi.org/10.1155/2015/543835>.
- Shtein R., Kelley K., Musch D., Sugar A., Mian S. In Vivo Confocal Microscopic Evaluation of Corneal Wound Healing After Femtosecond Laser-Assisted Keratoplasty. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina.* 2012;43(3):205–213. <https://doi.org/10.3928/15428877-20120209-01>.
- Tham V.M., Abbott R.L. Corneal graft rejection: recent updates. *Int Ophthalmol Clin.* 2002;42:105–113. <https://doi.org/10.1097/00004397-200201000-00015>.
- Kheirkhah A., Rahimi Darabad R., Cruzat A., Hajrasouliha A., Witkin D., Wong N. et al. Corneal Epithelial Immune Dendritic Cell Alterations in Subtypes of Dry Eye Disease: A Pilot In Vivo Confocal Microscopic Study. *Investig Ophthalmol Visual Science.* 2015;56(12):7179. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-17433>.
- Chidambaranathan G., Mathews S., Panigrahi A., Mascarenhas J., Prajna N., Muthukkaruppan V. In vivo Confocal Microscopic Analysis of Limbal Stroma in Patients With Limbal Stem Cell Deficiency. *Cornea.* 2015;34(11):1478–1486. <https://doi.org/10.1097/ico.0000000000000593>.
- Müller R., Abedi F., Cruzat A., Witkin D., Baniyasi N., Cavalcanti B. et al. Degeneration and Regeneration of Subbasal Corneal Nerves after Infectious Keratitis. *Ophthalmology.* 2015;122(11):2200–2209. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2015.06.047>.
- Hamrah P., Sahin A., Dastjerdi M., Shahatit B., Bayhan H., Dana R. et al. In Vivo Confocal Microscopic Changes of the Corneal Epithelium and Stroma in Patients With Herpes Zoster Ophthalmicus. *Amer J Ophthalmol.* 2015;159(6):1036–1044.e1. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2015.03.003>.
- Niederer R., Sherwin T., McGhee C. In Vivo Confocal Microscopy of Subepithelial Infiltrates in Human Corneal Transplant Rejection. *Cornea.* 2007;26(4):501–504. <https://doi.org/10.1097/ico.0b013e3180318107>.
- Hamrah P., Dana M.R. Corneal antigen-presenting cells. *Chem Immunol Allergy.* 2007;92:58–70. <https://doi.org/10.1159/000099254>.

23. Hamrah P, Liu Y, Zhang Q, Dana M. The Corneal Stroma Is Endowed with a Significant Number of Resident Dendritic Cells. *Investig Ophthalmol Visual Science*. 2003;44(2):581. <https://doi.org/10.1167/iovs.02-0838>.
24. Zhivov A, Stave J, Vollmar B, Guthoff R. In vivo confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243(10):1056–1061. <https://doi.org/10.1007/s00417-004-1075-8>.
25. Eckard A, Stave J, Guthoff R. In Vivo Investigations of the Corneal Epithelium With the Confocal Rostock Laser Scanning Microscope (RLSM). *Cornea*. 2006;25(2):127–131. <https://doi.org/10.1097/01.ic0.0000170694.90455.f7>.
26. Hadden O, Patel D, Gray T, Morris A, Ring C. Multifocal lamellar keratitis following laser in situ keratomileusis. *J Cat Refr Surg*. 2007;33(1):144–147. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2006.07.043>.
27. Alshuhaibani A, Sutphin J, Wagoner M. Confocal Microscopy of Subepithelial Infiltrates Occurring After Epidemic Keratoconjunctivitis. *Cornea*. 2006;25(7):778–780. <https://doi.org/10.1097/01.ic0.0000220773.04155.7a>.
28. Hattori T, Takahashi H, Dana R. Novel Insights Into the Immunoregulatory Function and Localization of Dendritic Cells. *Cornea*. 2016;35(1 Suppl):49–54. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001005>.
29. Wang D, Song P, Wang S, Sun D, Wang Y, Zhang Y, Gao H. Laser Scanning In Vivo Confocal Microscopy of Clear Grafts after Penetrating Keratoplasty. *BioMed Res Inter*. 2016;2016:1–6. <https://doi.org/10.1155/2016/5159746>.

#### Вклад авторов:

Концепция статьи – Крахмалева Д.А., Сурнина З.В., Маложен С.А.

Написание текста – Крахмалева Д.А.

Обзор литературы – Крахмалева Д.А.

Перевод на английский язык – Крахмалева Д.А.

Анализ материала – Крахмалева Д.А., Сурнина З.В.

Статистическая обработка – Крахмалева Д.А., Гамидов А.А.

#### Contribution of authors:

Concept of the article – Daria A. Krakhmaleva, Zoya V. Surnina, Sergey A. Malzhoen

Text development – Daria A. Krakhmaleva

Literature review – Daria A. Krakhmaleva

Translation into English – Daria A. Krakhmaleva

Material analysis – Daria A. Krakhmaleva, Zoya V. Surnina

Statistical processing – Daria A. Krakhmaleva, Alibek A. Gamidov

#### Информация об авторах:

**Крахмалева Дарья Александровна**, младший научный сотрудник отдела оптических сред глаза, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а; [eskess@mail.ru](mailto:eskess@mail.ru)

**Сурнина Зоя Васильевна**, к.м.н., старший научный сотрудник отдела оптических сред глаза, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а; [MEDZOE@yandex.ru](mailto:MEDZOE@yandex.ru)

**Маложен Сергей Андреевич**, д.м.н., ведущий научный сотрудник отдела реконструктивной хирургии переднего отрезка глаза, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а; [smalozhen@mail.ru](mailto:smalozhen@mail.ru)

**Гамидов Алибек Абдулмуталимович**, д.м.н., старший научный сотрудник, Научно-исследовательский институт глазных болезней; 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, д. 11а; [algam@bk.ru](mailto:algam@bk.ru)

#### Information about the authors:

**Daria A. Krakhmaleva**, Junior Research Associate, Department of Ocular Media, Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; [eskess@mail.ru](mailto:eskess@mail.ru)

**Zoya V. Surnina**, Cand. Sci. (Med.), Senior Research Associate, Department of Ocular Media, Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; [MEDZOE@yandex.ru](mailto:MEDZOE@yandex.ru)

**Sergey A. Malzhoen**, Dr. Sci. (Med.), Lead Research Associate, Department of Anterior Segment Reconstruction, Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; [smalozhen@mail.ru](mailto:smalozhen@mail.ru)

**Alibek A. Gamidov**, Dr. Sci. (Med.), Senior Research Associate, Research Institute of Eye Diseases; 11a, Rossolimo St., Moscow, 119021, Russia; [algam@bk.ru](mailto:algam@bk.ru)