

Обзор
УДК 617.713
doi: 10.25276/0235-4160-2022-3-82-97

Диагностика синдрома лимбальной недостаточности

Б.Э. Малюгин^{1, 2}, С.А. Борзенко^{1, 2}, С.Ю. Калинин¹, М.Ю. Герасимов¹

¹НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва

²Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, Москва

РЕФЕРАТ

Актуальность. Синдром лимбальной недостаточности (СЛН) является патологией, приводящей к снижению зрения, развитию неоваскуляризации роговицы, появлению персистирующих эрозий и негативному воздействию на качество жизни пациента. Известно, что эффективность трансплантации роговицы при этом невысока и требует неоднократных повторных вмешательств. Одной из важных проблем, является отсутствие четкого алгоритма диагностики и стандартизированного набора методов исследований для данного заболевания. **Цель.** Подробное изложение основных методов диагностики СЛН. **Материал и методы.** Произведен системный анализ научных публикаций отечественных и зарубежных авторов на ресурсах PubMed, Medline, eLibrary, а также диссертационных работ и учебников с 1992 до 2021 г., посвященных существующим на настоящий момент методам диагностики СЛН. Результаты. Основными прижизненными методами диагностики СЛН помимо биомикро-

скопии являются: окрашивание глазной поверхности, импрессионная цитология с выявлением специфических цитокератинов, конфокальная микроскопия, оптическая когерентная томография (ОКТ) переднего отрезка и ОКТ-ангиография. **Заключение.** У пациентов с конъюнктивализацией и васкуляризацией роговицы следует проявлять настороженность и проводить дополнительную диагностику на предмет наличия СЛН. Диагностика данного заболевания должна быть комплексной и, помимо сбора анамнеза и биомикроскопии с обязательной прижизненной окраской (флюоресцеин), включать инструментальные исследования, основанные на детальной визуализации переднего отрезка глаза с высоким разрешением (ОКТ, конфокальная микроскопия), а также лабораторной диагностике (цитология, иммуноцитохимия).

Ключевые слова: синдром лимбальной недостаточности, импрессионная цитология, лазерная сканирующая конфокальная микроскопия, бокаловидные клетки, цитокератины, сквозная кератопластика, цитокины ■

Для цитирования: Малюгин Б.Э., Борзенко С.А., Калинин С.Ю., Герасимов М.Ю. Диагностика синдрома лимбальной недостаточности. Офтальмохирургия. 2022;3: 82–97. <https://doi.org/10.25276/0235-4160-2022-3-82-97>

Автор, ответственный за переписку: Светлана Юрьевна Калинин, svkalinnikova@gmail.com

ABSTRACT

Review

Limbal stem cell deficiency diagnostics

B.E. Malyugin^{1, 2}, S.A. Borzenok^{1, 2}, S.Yu. Kalinnikova¹, M.Yu. Gerasimov¹

¹Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Moscow, Russian Federation

²Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

Relevance. Limbal stem cell deficiency (LSCD) is a pathology that leads to substantial vision decrease, corneal neovascularization, corneal epithelial persistent erosions and have a negative impact on patient's the quality of life. It is known that the efficiency of corneal transplantation in LSCD patients is low and requires repeated interventions. One of the important problems is the lack of a clear diagnostic algorithm and a standardized set of diagnostic techniques for this condition.

Purpose. Systematically analyze domestic and foreign literature

on the currently existing methods for diagnosing LSCD.

Material and methods. A systematic analysis of scientific publications from 1992 to 2021 was carried out. Its included domestic and foreign authors on the resources of PubMed, Medline, eLibrary, as well as dissertations and textbooks devoted to currently existing methods for diagnosing LSCD.

Results. In addition to biomicroscopy, the main *in vivo* methods for diagnosing LSCD are staining of the ocular surface, impression cytology with the detection of specific cytokeratins, confocal microscopy, optical coherence tomography

of the anterior segment (OST) and OST-angiography. **Conclusion.** Physician awareness and vigilance are required for the diagnosis of LSCD, especially in patients with conjunctivalization and corneal neovascularization. It is impossible to use only biomicroscopy and the patient's complaints, since LSCD is not always obvious. That is why diagnostics should include an integrated

approach, including all available research methods, which are briefly described in Table No. 1 with their disadvantages and advantages.

Key words: *limbal stem cell deficiency, impression cytology, laser confocal scanning microscopy, goblet cells, cytokeratin, penetrating keratoplasty, cytokines* ■

For quoting: Malyugin B.E., Borzenok S.A., Kalinnikova S.Yu., Gerasimov M.Yu. Limbal stem cell deficiency diagnostics. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2022;1: 82–97. <https://doi.org/10.25276/0235-4160-2022-3-82-97>

Corresponding author: Svetlana Yu. Kalinnikova, svkalinnikova@gmail.com

АКТУАЛЬНОСТЬ

Согласно международному консенсусу относительно синдрома лимбальной недостаточности (СЛН) (Global Consensus on Definition Classification, Diagnosis, and Staging of Limbal Stem Cell Deficiency), опубликованному в 2019 г., СЛН определяется как заболевание глазной поверхности, вызванное уменьшением популяции и/или функции эпителиального слоя роговицы/клеток-предшественников; что приводит к неспособности поддерживать нормальный гомеостаз эпителия роговицы [1]. Такое нарушение способности стволовых клеток к самообновлению может развиваться вследствие травмы, ожога, аутоиммунных, воспалительных и генетически опосредованных заболеваний [2].

Клинические проявления СЛН связаны с возникновением признаков эпителиальной дисфункции, таких как персистирующие и рецидивирующие дефекты эпителия роговицы, конъюнктивализация, неоваскуляризация, хроническое воспаление глазной поверхности и образование рубцовой ткани. В связи с полным или частичным отсутствием источника регенерации роговичного эпителия происходит миграция ткани конъюнктивы и бокаловидных клеток (БК) на поверхность роговицы, что сопровождается образованием фиброваскулярного паннуса и в тяжелых случаях – тотальным помутнением роговицы [3, 4]. В результате происходит значительное снижение зрительных функций пораженного глаза, появляется светобоязнь, возникает хронический болевой синдром [5].

Точная диагностика СЛН имеет решающее значение, поскольку соответствующее лечение может предотвратить прогрессирование заболевания и дальнейшее повреждение глазной поверхности. Известно, что проведение сквозной кератопластики (СКП) при СЛН относится к категории «высокого риска», так как приводит к рецидиву конъюнктивализации и васкуляризации донорского трансплантата по причине отсутствия источника для регенерации нормального роговичного эпителия [6–9].

Именно поэтому необходима точная диагностика СЛН на дохирургическом этапе. На сегодняшний день описано большое количество методов диагностики СЛН, но далеко не многие из них дают точное представление

о фенотипе клеток, покрывающих роговицу, а именно о наличии БК и других клеток конъюнктивального происхождения [10], а также об экспрессии специфических кератинов [11] и муцинов [12].

ЦЕЛЬ

Системный анализ отечественной и иностранной литературы, посвященной методам диагностики СЛН. В обзоре кратко излагаются все существующие методы, используемые в настоящее время, и сообщается об их возможных модификациях и усовершенствованиях. В конце обзора приведена таблица, описывающая каждый метод, его возможности и ограничения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Произведен системный анализ научных публикаций отечественных и зарубежных авторов на ресурсах PubMed, Medline, eLibrary, а также диссертационных работ и учебников с 1992 до 2021 г., посвященных существующим на настоящий момент методам диагностики СЛН.

Клиническая картина СЛН

Симптомы и жалобы

У пациентов с СЛН довольно часто наблюдается широкий спектр симптомов, связанных с плохим заживлением роговицы из-за наличия эпителиальных дефектов и рецидивирующих эрозий. По этой причине они нередко испытывают внезапную глазную боль. Также частыми жалобами являются: хроническое покраснение (гиперемия) конъюнктивы, снижение остроты зрения, светобоязнь, слезотечение, блефароспазм, ощущение инородного тела [13]. Наряду со слезотечением еще одной распространенной жалобой является сухость глаз, которая объясняется развитием синдрома «сухого глаза» (ССГ), степень которого варьируется от средней до тяжелой. Чаще всего ССГ наблюдается при обширной конъюнктивализации и при ожогах давностью более одного года. Однако большинство из этих симптомов неспецифичны и их наличия недостаточно для правильной постановки диагноза СЛН.

Биомикроскопия и окрашивание глазной поверхности при осмотре на щелевой лампе

Биомикроскопия при помощи щелевой лампы является «золотым стандартом» осмотра пациентов с подозрением на СЛН [79, 96]. Так, на легкой стадии визуализируются неровная поверхность роговицы с потерей нормального светового рефлекса, непрозрачность или ступенчатость эпителия, отсутствие палисад Фогта и/или уплощение лимба в этой области. Непрозрачность эпителия при СЛН обусловлена наличием аномальных метапластических эпителиальных клеток роговицы и конъюнктивы при отсутствии неоваскуляризации [4, 14]. На средней стадии эпителий значительно истончен, неравномерной толщины, присутствует поверхностная неоваскуляризация, происходит формирование фиброваскулярного паннуса по периферии роговицы. Для тяжелой стадии характерны: рубцевание стромы с диффузным или тотальным помутнением вплоть до глубоких слоев роговицы, поверхностная и глубокая неоваскуляризация роговицы и в ряде случаев образование стойкого или рецидивирующего эпителиального дефекта [13].

Стадии СЛН классифицируются по степени вовлеченности центральной (5 мм) зоны роговицы. На I стадии поражается только периферия роговицы, имеется нормальный эпителий в пределах 5 мм оптической части роговицы. Ее подразделяют на 3 подстадии по проценту вовлеченности лимбальной области (более или менее 50%). Для II стадии характерно поражение как периферии, так и центральной зоны роговицы (5 мм). Она подразделяется на 2 подстадии также по проценту вовлеченности лимбальной области (более или менее 50%). На III стадии поражается вся поверхность роговицы и вовлеченность лимба составляет 100% [1].

Однако стандартное обследование с помощью щелевой лампы дает ограниченную информацию о состоянии эпителиального слоя роговицы. Исходя из этого, оно всегда дополняется окрашиванием низкомолекулярным флюоресцеином и осмотром при освещении кобальтово-синим светом, что позволяет оценить эпителиальный слой более детально. Так как склера рассеивает падающий синий свет и обесцвечивает флюоресцеин, для создания максимального контраста между окрашенными и неокрашенными участками конъюнктивы и роговицы необходимо использование дополнительного желтого «барьерного» фильтра.

Как известно, в норме роговичный эпителий не окрашивается флюоресцеином. Однако при ССГ и эпителиопатиях различной этиологии, при ношении контактных линз, кератитах и некоторых видах дистрофий роговицы может выявляться паттерн в виде точечного окрашивания («punctate staining» – англ.). На ранних стадиях СЛН такой вид окрашивания может также присутствовать, что затрудняет постановку диагноза [15–17].

При аппликации флюоресцеина на конъюнктиву в норме краситель скапливается в естественных складках и гребнях конъюнктивы, попадая в межэпителиаль-

ные пространства. При этом наблюдается характерное окрашивание в виде бороздок («furrow staining» – англ.) [18, 19].

При СЛН аномальный слой конъюнктивального/метапластического эпителия, как правило, тоньше и имеет меньше плотных межклеточных соединений [20]. Поэтому он может окрашиваться в виде завитка или вихря («vortex pattern staining» – англ.). При данном виде окрашивания аномальный эпителий имеет вид расправляющегося спирально от зоны лимба до зрительной оси [13].

При СЛН можно наблюдать окрашивание аномального эпителия по типу «воронкообразной эпителиопатии», («whorl-like epitheliopathy» – англ.), которая присутствует чаще на средней стадии СЛН [14, 16, 21].

При оценке глазной поверхности нередко используют окрашивание лиссаминовым зеленым для выявления нежизнеспособных эпителиальных клеток. Окрашенные области имеют ярко-зеленый цвет [22].

Гистологическое исследование

Когда в ходе операции иссекается паннус, он может быть направлен на гистологическое исследование для подтверждения либо опровержения диагноза СЛН. В ходе этого исследования также определяют наличие воспаления и его характер, наличие новообразованных сосудов, БК, состояние эпителия и стромы роговицы.

В работе Fatima и соавт. были исследованы гистологически фиброваскулярные паннусы от 29 пациентов с диагнозом СЛН. Было обнаружено, что в 62% присутствует гиперплазия эпителия, 66% – активный фиброз, 21% – воспаление, 28% – гигантоклеточная реакция и в 14% случаях – наличие кальцификатов в строме. Бокаловидные клетки при этом наблюдали лишь в 64%, а их отсутствие авторы объяснили плоскоклеточной метаплазией конъюнктивы вследствие длительной ишемии. Также было обнаружено, что амниотическая мембрана, используемая для реконструкции поверхности глаза, может сохраняться в паннусах роговицы в течение длительного времени (42% случаев), а наиболее тяжелая степень СЛН наблюдается у пациентов, получивших ожог щелочью [23].

Теми же авторами в 2015 г. было сделано сообщение о влиянии гистологических особенностей паннуса роговицы после ожога на результат трансплантации культивированного лимбального эпителия (CLET). Ученые обнаружили, что пациенты с гиперплазией эпителия или кальцификатами в иссеченном паннусах демонстрируют неблагоприятный исход трансплантации по сравнению с пациентами без гиперплазии ($p=0,003$) или кальцификатов ($p=0,018$) [24].

Импрессионная цитология

Предоперационной неинвазивной диагностикой, дающей более полную картину наличия или отсутствия специфических цитокератинов (ЦК) и муцинов, по мне-

нию ряда авторов, является метод импрессионной цитологии (ИЦ) [25, 26].

Впервые ИЦ была описана Egbert и соавт. в 1977 г. Тогда эта методика была использована как способ получения клеточных мазков-отпечатков конъюнктивы при помощи целлюлозно-ацетатных дисков с последующим окрашиванием гематоксилином и красителем Шиффа (Periodic acid-Schiff – PAS). В результате исследователи описали муцин-продуцирующие БК наряду с эпителиальными [27, 28].

Tseng модифицировал методику Egbert и окрашивал образцы комбинацией PAS и окраски по Папаниколау. На основе изменений плотности БК, морфологических изменений ядра и цитоплазмы им была предложена классификация плоскоклеточной метаплазии эпителия конъюнктивы [28, 29].

S. Maskin (1986) описал специальную технику, с помощью которой эпителиальные клетки конъюнктивы, полученные методом импрессионной цитологии, могут быть изучены при помощи электронной микроскопии [28, 30].

В исследовании Puangsricharn и Tseng ИЦ была выполнена у 137 пациентов с клиническим диагнозом СЛН. Результаты исследования выявили признаки конъюнктивализации (на основании наличия БК) в 94 (70%) случаях; в остальных 40 (30%) БК не были обнаружены. Исследователи предположили, что отсутствие БК у этой подгруппы пациентов может представлять собой субклиническую стадию СЛН или может быть связано с нечувствительностью метода ИЦ к ранним стадиям заболевания. Тем не менее присутствие БК в роговице является признаком конъюнктивализации и, следовательно, подтверждает диагноз дефицита лимбальных эпителиальных стволовых клеток (ЛЭСК) [3].

Чуть позднее те же исследователи обнаружили на поверхности ранее пришитой амниотической мембраны (АМ) фенотип эпителия конъюнктивы с БК у всех пациентов с СЛН. Был сделан вывод, что отсутствие фенотипа эпителия роговицы на аваскулярной строме подтверждает предположение об отсутствии трансдифференцировки конъюнктивы *in vivo* и указывает на необходимость дополнительной трансплантации ЛЭСК для эффективной реконструкции поверхности роговицы [31].

Японские ученые J. Shimazaki, H. Yang, K. Tsubota также занимались изучением реконструкции роговичного эпителия после трансплантации АМ у пациентов с химическими и термическими ожогами. До операции трем пациентам была проведена ИЦ бульбарной конъюнктивы и роговицы, а также гистологическое исследование фиброваскулярного паннуса. По результатам ИЦ у всех трех пациентов до операции были выявлены БК на поверхности роговицы. Гистологический анализ также показал наличие БК, массивный коллагеноз с умеренной клеточной инфильтрацией. Несмотря на успешные исходы проведенного лечения, незначительная конъюн-

ктивизация авторами наблюдалась во всех трех случаях, однако она не затрагивала оптическую зону [32].

В 2001 г. вышла статья о классификации ожогов роговицы (Dua Н. и соавт.) в которой указывается на то, что наличие БК действительно подтверждает диагноз СЛН, но их отсутствие не исключает диагноза, особенно в случаях тяжелого течения СЛН, когда повреждена вся поверхность глаза [33].

Отечественными авторами была предложена усовершенствованная методика ИЦ с проведением морфологического и визуально-количественного анализа, которая позволила разделить пациентов с васкуляризацией и помутнением роговицы на 2 группы по показаниям: подходящих для СКП или для лимбальной трансплантации. В ходе исследования 40 глаз роговичный фенотип был выявлен в 28 (70%), а конъюнктивальный – в 12 (30%). В последующем пациентам было проведено соответствующее оперативное лечение, которое подтвердило правильность выделения этих групп. У 22 (55%) пациентов 1-й группы и 6 (15%) пациентов 2-й группы отмечались быстрая эпителизация и преимущественно прозрачное бессосудистое приживление роговичных трансплантатов [10].

Т.К. Волкович и соавт. изучали вопрос диагностических возможностей ИЦ при целом ряде заболеваний, в том числе СЛН. Исследователи сочли данную методику эффективной в диагностике патологического рубцевания при формировании бельма различной этиологии, симблефарона, рубцового пемфигоида. В работе указывается, что множественные фибробласты (в стадии эпителизации) обуславливают формирование грубого помутнения, а морфофункциональные изменения эпителия могут наблюдаться в визуальной здоровой зоне [25].

В 2004 г. перед итальянскими исследователями встала задача оценить и соотнести клинические и цитологические особенности дефицита ЛЭСК по наличию в образцах БК, ЦК-3 и ЦК-19 позитивных клеток. Из 29 пациентов (44 глаза) с клиническим диагнозом СЛН ИЦ не подтвердила диагноз в 18 случаях (62%). У данных пациентов было выявлено отсутствие БК, при этом наблюдалось наличие ЦК-3 и ЦК-19 позитивных клеток. Это исследование позволяет предположить, что окрашивание на ЦК-19 следует проводить в качестве дополнительного теста в тех глазах, где клиническая картина СЛН присутствует, но БК по результатам ИЦ отсутствуют. Наличие врастания конъюнктивального эпителия без БК на поверхности роговицы может объясняться недостаточной точностью окрашивания PAS. Также отсутствие БК может быть связано с изменением микроокружения глазной поверхности вследствие собственно СЛН или основного заболевания. Интересен факт, что порядка 90% образцов с положительным окрашиванием на ЦК-19 и отсутствием БК также были положительными на ЦК-3, что указывает на то, что СЛН ассоциируется с различной степенью конъюнктивализации – от легкой до тяжелой либо полной [4].

В 2010 г. (Barbato V. и соавт.) вышла статья по оценке нарушения глазной поверхности, основанной на ИЦ и конфокальной лазерной сканирующей микроскопии. В ходе исследования проводился анализ экспрессии ЦК-3, ЦК-12, ЦК-19, муцина MUC1, включая конъюнктиву, лимб и роговицу от 12 здоровых субъектов и 12 пациентов предположительно с СЛН. Полученные результаты свидетельствовали о том, что в роговицах с конъюнктивализацией присутствовал только MUC1 и отсутствовал ЦК-12. В образцах здоровых роговиц паттерн экспрессии был обратным: присутствовал только ЦК-12, а MUC1 не детектировался. Маркеры ЦК-3/ЦК-19 показали отсутствие специфичности. Исходя из результатов был сделан вывод о способности ЦК-12 и MUC1 четко различать лимб/роговицу и конъюнктиву в образцах отпечатков для цитологии, что может стать ценным диагностическим инструментом для оценки изменений глазной поверхности и классификации СЛН [12].

Высокая специфичность роговицы для ЦК-12 и высокая специфичность конъюнктивы для ЦК-7, ЦК-13 и MUC5AC описана и в других исследованиях [34–36].

Аналогичное исследование было проведено французскими учеными, изучавшими методы диагностики СЛН методом ИЦ. Среди пациентов с дефицитом ЛЭСК в 9 из 10 образцов была выявлена экспрессия ЦК-13 и ЦК-19 и отсутствие ЦК-12, который наблюдался лишь в одном случае, клинически самом легком. В таком контексте ученые пришли к выводу, что ЦК-3 не специфичен для роговицы, а ЦК-13 и ЦК-19 являются маркерами дифференцировки конъюнктивального эпителия, в то время как появление ЦК-12 может давать оценку тяжести дефицита ЛЭСК [37].

В связи с вышеописанным исследованием те же авторы поставили перед собой цель сравнить биомаркеры для верификации СЛН для определения тяжести заболевания. Оценивали биомаркеры, характерные для роговицы (ЦК-12) и конъюнктивы (ЦК-7/ЦК-13/ЦК-19/MUC5AC). Эпителиальные клетки изучали с помощью ИЦ, наличие клеток конъюнктивы в центральной зоне роговицы было диагностическим доказательством СЛН, в то время как обнаружение остаточных клеток роговицы определяло степень СЛН. В результате ученые пришли к выводу о том, что только ЦК-7/ЦК-13 являются высокоспецифичными для дифференцировки конъюнктивы и подтверждают диагноз СЛН, так как высокоспецифичные и способны преодолевать изменчивость плотности БК. В то время как ЦК-19 и 12, а также MUC5AC не могут быть рекомендованы, так как не показали должные чувствительность и специфичность. В связи с этим оценка тяжести СЛН не может быть оценена данным методом [38], об ИЦ говорится как о методе, обладающем слабой чувствительностью для диагностики начальной стадии СЛН, при которой БК могут отсутствовать [39, 40].

Для диагностики СЛН I. Garcia и соавт. проводили полимеразную цепную реакцию (ПЦР) с обратной транскрипцией. Данный метод использовали для выявления

специфической мРНК, которая экспрессируется в клетках конъюнктив. ПЦР обладает высокой чувствительностью к маркерам конъюнктивы, в особенности для обнаружения MUC5AC, и представляется более чувствительным, чем использование иммуногистохимического метода [41].

Несмотря на множество исследований, протокол обнаружения биомаркеров эпителиоцитов конъюнктивы в диагностике СЛН различается во многих исследовательских центрах, а стандартизированный протокол отсутствует. Кроме того, процедура занимает много времени и требует дорогостоящей лабораторной поддержки. Для того чтобы сделать проведение этого метода широко применимым в практике, требуется дополнительная работа [42].

Тем не менее в ряде публикаций указываются факторы, влияющие на чувствительность ИЦ в диагностике СЛН, а именно:

- 1) материал, используемый для отбора проб, влияет на результат [13, 43];
- 2) давление, оказываемое фильтром на поверхность глаза, также влияет на результаты отбора проб;
- 3) расположение и размер выборки важны, особенно в случаях секторального СЛН;
- 4) получение клеток конъюнктивы более эффективно, чем эпителиальных клеток роговицы [1].

Поэтому авторы подчеркивают, что отсутствие эпителиальных клеток роговицы на фильтровальной бумаге не обязательно указывает на отсутствие эпителиальных клеток роговицы на поверхности глаза, как это часто бывает у пациентов с нормальной роговицей.

В данном аспекте интересным является применение лазерной сканирующей микроскопии, которая, по мнению авторов ряда работ, может быть использована для выявления остаточных клеток лимбального и роговичного эпителия после взятия мазков-отпечатков [44, 45].

Конфокальная микроскопия

Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия (ЛСКМ) роговицы *in vivo* – это не инвазивный диагностический инструмент для получения прижизненных изображений с высоким разрешением и возможностью получать серию снимков на различных глубинах внутри образца [46–51].

В настоящее время существуют две коммерчески доступные системы для выполнения ЛСКМ роговицы *in vivo*. Обе пригодны для клинического применения. Confoscan 4 (Nidek Technologies, Япония) представляет собой конфокальный микроскоп с щелевым сканированием белого света, в то время как Гейдельбергский томограф сетчатки 3 с роговичным модулем (HRT3-RCM) от Heidelberg Engineering представляет собой конфокальный микроскоп с точечным сканированием красным лазером [52].

В России для морфологических исследований роговицы *in vivo* применяют конфокальные микроскопы:

целевой – Confoscan 4 и лазерный – HRT II с Rostock Cornea Module (Heidelberg Engineering GmbH, Германия). У каждого прибора есть свои преимущества и недостатки. HRT II RCM в отличие от Confoscan 4 позволяет получать высококачественные снимки не только роговицы, но и конъюнктивы, зоны лимба, радужки и капсулы хрусталика. Для получения записи оба прибора работают в ручном, автоматическом и z-скан режимах. Приборы отличаются по размеру исследуемой зоны, при использовании в контактном режиме Confoscan 4 – 460 x 345 мкм, HRT II RCM – от 300×300 до 400×400 мкм, при работе в бесконтактном режиме Confoscan 4 – 460×690 мкм, HRT II с RCM – от 470×470 до 2000×2000 мкм. Кроме того, они отличаются скоростью получения изображений, при проведении исследований Confoscan 4 – 25 кадров/с HRT II RCM – 30 кадров/с [57].

Для диагностики СЛН при оценке состояния зоны лимба и непрозрачной роговицы используют только HRT с Rostock Cornea Module. Например, клетки эпителия роговицы, конъюнктивы и лимба можно различать на основе их различной клеточной морфологии [16]. Значительные изменения в микроструктуре лимба роговицы были зарегистрированы у пациентов с СЛН, они включали уменьшение плотности базальных эпителиальных клеток, толщины эпителия и плотности суббазальных нервов (SND), а также морфологические изменения (отсутствие четкой границы клеток, увеличение размера базальных клеток, ядер, метаплазия эпителиальных клеток) в зависимости от стадии [16, 53, 54].

С помощью ЛСКМ исследователям удалось проанализировать плотность и извитость суббазальных нервов у пациентов с СЛН. В результате было выявлено, что степень извитости нервов была значительно выше у пациентов с СЛН, чем у здоровых лиц, и различалась между ранними, промежуточными и поздними стадиями СЛН. Снижение общей суббазальной плотности нервов и плотности длинных нервов положительно коррелировало с тяжестью СЛН. Также авторы указали на необходимость дальнейших долгосрочных исследований для выяснения обратимости изменений нервов после лечения СЛН [39].

Ряд научных работ предлагает использование ЛСКМ *in vivo* для визуализации микроструктур тканей поверхности глаза на клеточном уровне. Указываются такие преимущества данного метода перед ИЦ, как получение результата в реальном времени и хорошая повторяемость, возможность более точного исследования наличия бокаловидных клеток или конъюнктивоподобных эпителиоцитов на роговице, изменения клеточной морфологии, плотности базального эпителия, толщины эпителия и суббазального нервного сплетения [18, 25–30].

Обнаружение ниши ЛЭСК с помощью ЛСКМ позволило выявить структурные различия лимба здоровых субъектов, и в случаях дефицита ЛЭСК, где палисады могут быть разрушены или отсутствовать вовсе, или быть по-

крытыми новообразованными сосудами, с большим количеством воспалительных клеток, которые имеют тенденцию к рассеивающейся при выполнении снимка. Также авторы указывают на факт пигментации кожи пациента, который является дополнительным фактором, влияющим на оценку морфологии палисад [52, 55, 56].

Оптическая когерентная томография роговицы

Оптическая когерентная томография (ОКТ) переднего сегмента (AS-OCT) появилась в качестве альтернативного, неинвазивного метода визуализации пациентов с СЛН [58–62].

Хотя AS-OCT не обеспечивает такой степени разрешения на клеточном уровне, как IVCM, она может оказаться полезной для измерения толщин эпителия и фиброваскулярного паннуса, оценки палисад Фогта и лимбальных крипт, визуализации перехода между гипорефлексивным эпителием роговицы и гиперрефлексивным эпителием конъюнктивы в зоне лимба [63–64].

По этому поводу А.А. Воскресенской, Н.А. Поздеевой и соавт. (2017) было проведено исследование по оценке информативности визуализации лимбальных палисад Фогта при помощи ОКТ. Авторы сравнивали участки при помощи ЛСКМ лимбальной зоны у пациентов с СЛН и у здоровых добровольцев. В ходе исследования оценивали степень визуализации, деформации и рефлективности крипт, сосудистые аркады, суббазальные нервные сплетения. В результате авторы отметили, что визуализация лимбальных крипт в верхнем лимбе по данным ЛСКМ их контуры на снимках ОКТ либо четко не визуализировались, либо были трудноотличимы от тени поверхностных кровеносных сосудов или глубже лежащих волокон склеры в месте их корнеосклерального перехода. В отличие от палисад верхней половины роговицы, крипты нижнего лимба визуализировались лучше обоими методами исследования. Также были отмечены ограничения метода, связанные с контактностью и длительностью процедуры, необходимостью использования местных анестетиков, невозможностью его проведения у пациентов младшего возраста, особенно при наличии нистагма и отсутствии хорошей фиксации у пациентов [65].

В 2020 г. Liang и соавт., используя AS-OCT, проводили одно- и 3-точечное измерение центральной толщины эпителия роговицы (ЦТЭР) и максимальную толщину лимбального эпителия (МЛТЭ) в верхнем, нижнем, назальном и височных сегментах здорового глаза и глаза с СЛН. Полученные изображения ЦТЭР-1 и ЦТЭР-3 сравнивали с IVCM. В результате были описаны более низкие значения ЦТЭР и МЛТЭ у пациентов с СЛН в сравнении со здоровым глазом. Авторы отметили, что использование таких параметров по OCT может быть использовано для подтверждения диагноза СЛН. При этом параметры ЦТЭР и МЛТЭ зависят от стадии и давности, следовательно, могут быть полезны только для количественной оценки [66].

*Оптическая когерентная томография переднего
отрезка глаза в режиме ангиографии*

Оптическая когерентная томография-ангиография (ОСТА) имеет большую диагностическую ценность для визуализации глазного кровотока в сосудах без использования красителей, таких как флюоресцеин или индоцианиновый зеленый [67].

М. Ang и соавт (2015) были первыми, кто применил и оценил ОСТА для визуализации сосудистой сети переднего сегмента [68].

В 2017 г. Yoshinori Oie и соавт. использовали AS-OCTA для визуализации неоваскуляризации роговицы у пациентов с СЛН и сравнивали их со снимками фотоцелевой лампы. По результатам исследования AS-OCTA имело два преимущества. Во-первых, AS-OCTA может четко показывать неоваскуляризацию в случаях с тяжелым помутнением роговицы. Во-вторых, AS-OCTA может обнаруживать не только крупные, но и мелкие сосуды. Тем не менее, при биомикроскопии более или менее прозрачной роговицы, мелкие сосуды визуализируются с трудом. Причиной этому, вероятно, является схожесть в оптической плотности прозрачной роговицы и плотности мелкого сосуда. Благодаря ОСТА возможна четкая визуализация даже самых мелких капилляров. По мнению авторов, эти два преимущества позволяют использовать AS-OCTA для будущих исследований, для объективной и неинвазивной оценки неоваскуляризации роговицы при различных патологиях [69].

В исследовании Nanji и соавт. (2019) использовали AS-OCTA для оценки глубины залегания сосудов при различной патологии, сочетанной с неоваскуляризацией роговицы, в том числе в двух случаях СЛН. В первом случае СЛН развился после неудачной СКП и сочетался с поверхностной неоваскуляризацией на глубине 156 мкм. Во втором случае СЛН развился на фоне синдрома Стивена–Джонсона, при этом сосуды располагались на глубине 200–250 мкм. По мнению авторов, ОСТА роговицы обеспечивает точную количественную оценку глубины сосуда *in vivo*, является неинвазивным методом, позволяет изучить только функционально активные сосуды и легко воспроизводима в идентичных участках с течением времени [70].

Ретроспективное исследование William W. Binottia и соавт. (2020) демонстрирует возможности AS-OCTA при СЛН для изучения не только глубины залегания сосудов, но и площади неоваскуляризации. Авторы разделили группы пациентов по клиническим стадиям и изучали различия в сосудистой системе лимба в ранние сроки. Так, авторы выяснили, что показатель глубины залегания сосудов полезен для дифференциации II и III стадии заболевания и может служить потенциальным прогностическим фактором тяжести СЛН. Они также продемонстрировали, что площадь поверхностной неоваскуляризации значительно увеличивается на ранних стадиях заболевания, в то время как толщина сосудов значительно увеличивается на III стадии. Таким образом, данные

параметры в сочетании с клинической оценкой могут быть полезными инструментами для определения стадии заболевания и мониторинга ее тяжести. В исследовании также выявили ограничения метода, связанные с необходимостью выполнения серии снимков в связи с ограниченным рабочим полем размером 6х6 мм. Аналогичным образом было показано, что современная технология AS-OCTA обеспечивает худшую визуализацию сосудов меньшего размера за счет более низкого качества изображения по сравнению с ангиографией с использованием флюоресцеина. Тем не менее AS-OCTA была способна обнаруживать значительные сосудистые изменения между группами без введения красителей [71].

В 2021 г. Shobhit Varma и соавт. исследовали особенности AS-OCT с высоким разрешением (HR-OCT) и ангиографии HR-OCT (HR-OCTA) у пациентов с подтвержденным СЛН по результатам ИЦ и конфокальной микроскопии, здоровых добровольцев и пациентов с другими заболеваниями глазной поверхности. В каждой группе проводился анализ средней отражательной способности эпителия и стромы, а также средней плотности сосудов. По результатам HRT-OCT на глазах с СЛН были выявлены высокая отражательная способность эпителия и низкая рефлексивность стромы, в отличие от глаз с другими заболеваниями роговицы, схожими с СЛН. HR-OCTA показал повышенную плотность сосудов и потерю петлистого рисунка строения лимбальных сосудов у пациентов с СЛН, в отличие от других групп. По мнению авторов, ангиографические изображения требуют сложных технологий для анализа; тем не менее они помогают в диагностике и могут стать методом анализа в будущем [72].

*Синдром лимбальной недостаточности
и кератопластика*

Случаи реакции отторжения трансплантата роговицы, по данным литературы, колеблются от 2,3 до 65% в зависимости от факторов риска, имеющих место у реципиента [73, 74]. Наличие СЛН является таким фактором и относится к категории кератопластик высокого риска [75, 76]. Другими причинами возникновения СЛН помимо ожоговой травмы являются перенесенные кератиты, опухоли конъюнктивы, обширная хирургия в области лимба, синдром Стивена–Джонсона, глазной пимфигиоид а также предшествующие неудачные кератопластики [1, 77–82].

Повышенный риск отторжения в случае повторной кератопластики обусловлен избыточной сенсibilизацией реципиента, что может служить стимулом для васкуляризации роговичного ложа, что, в свою очередь, дополнительно повышает риски [83].

Как известно, трансплантация лимбальных клеток существенно влияет на инверсию новообразованных сосудов, особенно глубоко расположенных, в этой связи даже после успешного восстановления эпителиального слоя роговицы таким пациентам в большинстве случа-

Методы диагностики СЛН, их краткая характеристика, достоинства и недостатки Methods of diagnosis of LSCD their brief characteristics, advantages and disadvantages					Таблица Table
Методика исследования Research methods	Диагностические возможности Diagnostic capabilities	Достоинства Advantage	Недостатки Disadvantages		
Окрашивание низкомолекулярным флуоресцеином Staining with low molecular weight fluorescein	Роговичное окрашивание (в норме роговица не окрашивается, но может иметь место точечное окрашивание как вариант относительной нормы при синдроме «сухого глаза» (ССГ) или ношении мягких контактных линз) Corneal staining (normally, the cornea does not stain), but it may have a «punctate staining» as a variant of the relative norm for dry eye disease (DED) or wearing soft contact lenses Конъюнктивальное окрашивание: в виде бороздок Conjunctival staining: in the form of grooves – «furrow staining» Окрашивание при СЛН: в виде завитка или вихря, или воронкообразная эпителиопатия Staining in LSCD: in the form of a curl or vortex «vortex pattern staining» or funnel-shaped epitheliopathy «whorl-like epitheliopathy» Окрашивает мертвые эпителиальные клетки и слизь Stains dead epithelial cells and mucus	Неинвазивный, метод «быстрой» диагностики A non-invasive, «fast» diagnostic method Возможность оценки качества реэпителизации в послеоперационном периоде The possibility of assessing the quality of reepithelization in the postoperative period Возможность одновременной оценки времени разрыва слезной пленки Possibility of simultaneous estimation of tear breakup time Возможность фотографирования с целью динамического сравнения The possibility of photographing for the purpose of dynamic comparison	Не всегда точно подтверждает диагноз СЛН It does not always accurately confirm the diagnosis of LSCD Может вызывать аллергические реакции May cause allergic reactions		
Окрашивание лиссаминовым зеленым Staining with lissamine green					

Методика исследования Research methods	Диагностические возможности Diagnostic capabilities	Достоинства Advantage	Недостатки Disadvantages
Гистология Histology	Бокаловидные клетки, наличие новообразованных сосудов, морфология клеток, характер клеточной инфильтрации Goblet cells, the presence of newly formed vessels, cell morphology, the nature of cellular infiltration	Подтверждение диагноза СЛН, возможность послойной оценки тканей, использование стандартных методов окрашивания Confirmation of the diagnosis of LSCD, the possibility of a layer-by-layer assessment of the tissue, the use of standard staining methods	Не является дооперационной диагностикой Сложность равномерного забора цельного материала во время операции Сложность препарирования паннуса It is not a preoperative diagnosis The complexity of uniform intake of solid material during the operation The complexity of pannus dissection
ИЦ и ИГХ* IC and IHC	Бокаловидные клетки и муцины: Goblet cells and mucins MUC5AC MUC1 Цитокератины (ЦК) Cytokeratins (CK) ЦК-3/ЦК-12 (роговичный эпителий) (corneal epithelium) ЦК-10 (эпителиальные, кератинизированные) (epithelial keratinized) ЦК-7 (железистый эпителий) (glandular epithelium) ЦК-8+18 (переходный эпителий) (transitional epithelium) ЦК-13 (плоский неороговевающий, переходный эпителий) (flat non-keratinized, transitional epithelium) ЦК-19 (железистый эпителий) (glandular epithelium)	Использование стандартных красителей, возможность многократного окрашивания и хранения образцов The use of standard dyes, the possibility of multiple staining and storage of samples Дооперационный метод диагностики, выявляющий экспрессию более специфических белков на поверхности роговицы и конъюнктивы-ЦК A preoperative diagnostic method that detects the expression of more specific proteins on the surface of the cornea and conjunctiva-CK	Сложность забора клеток The complexity of cell sampling Необходимость группы контроля (здоровый глаз) The need for a control group (healthy eye) Возможность травматизации роговицы во время забора клеток The possibility of corneal injury during cell sampling Неспецифично для каждого случая, следовательно, не подтверждает диагноз в полной мере It is not specific to each case, therefore it does not fully confirm the diagnosis Необходимость применения большого количества дорогостоящих красителей The need to use a large number of expensive dyes Сложность протокола окрашивания The complexity of the staining protocol Отсутствие единого мнения о специфичности. Lack of consensus on specificity Неоднократный забор материала в случае выбраковки образца Not a single sampling of the material in case of sample rejection

Методика исследования Research methods	Диагностические возможности Diagnostic capabilities	Достоинства Advantage	Недостатки Disadvantages
ЛСКМ** IVCM	Бокаловидные клетки или конъюнктивоподобные эпителиоциты, изменения клеточной морфологии, плотность и толщина базального эпителия, суббазального нервного сплетения, извитость нервов Goblet-shaped cells or conjunctival epithelial cells, changes in cellular morphology, density and thickness of the basal epithelium, subbasal nerve plexus, tortuosity of nerves	Неинвазивный метод диагностики Non-invasive diagnostic method Получение результата в реальном времени Getting the result in real time Хорошая повторяемость метода Good repeatability of the method	Не подтверждает точно диагноз СЛН Does not exactly confirm the diagnosis of LSCD Необходимо дорогостоящее оборудование Expensive equipment is needed Плохая четкость конфокальных изображений роговицы из-за изменений во внеклеточном матриксе роговицы может затруднить визуализацию Poor clarity of confocal images of the cornea due to changes in the extracellular matrix of the cornea can make visualization difficult Из-за наличия клеток конъюнктивы и воспалительной клеточной инфильтрации может наблюдаться увеличение отражательной способности стромы роговицы Due to the presence of conjunctival cells and inflammatory cell infiltration, an increase in the reflectivity of the corneal stroma may be observed Невозможно проведение исследования на глазах с сильным рубцовыми изменениями It is impossible to conduct IVCM on the eyes with severe scarring

Методика исследования Research methods	Диагностические возможности Diagnostic capabilities	Достоинства Advantage	Недостатки Disadvantages
ПО-ОКТ*** AS-OCT	Эпителиальные и пахиметрические карты Epithelial and pachymetry maps Сагиттальный срез роговицы Sagittal section of the cornea Гиперрефлексивность стромы, наличие рубцовых изменений и грубых помутнений Hyperreflectivity of the stroma, the presence of scarring and dense opacities Выявления палисад Фогта и диагностика состояния лимбальной зоны Identification of the palisade of Vogt and diagnosis of the limbal zone	Неинвазивный метод Non-invasive method Возможности оценки изменения толщины роговицы и характера эпителия The possibility of assessing changes in the thickness of the cornea and the nature of the epithelium Возможности ручного просчета толщины интересующих участков роговицы The possibility of manual calculation of the thickness of the corneal areas of interest Хорошая повторяемость Good repeatability Возможности сравнительной оценки в послеоперационном периоде Possibilities of comparative evaluation in the postoperative period Высокое разрешение метода High resolution of the method	Не дает в полной мере диагностировать СЛН Does not allow to fully diagnose LSCD Сложность выполнения у пациентов с отсутствием фиксации взгляда The difficulty of performing in patients with a lack of fixation of the gaze Неточность в просчете эпителиальной карты у пациентов с тяжелым течением ССГ и при неравномерной форме роговицы Inaccuracy in the calculation of the epithelial map in patients with severe DED and with an uneven shape of the cornea

Методика исследования Research methods	Диагностические возможности Diagnostic capabilities	Достоинства Advantage	Недостатки Disadvantages
ПО-ОКТ-A*** AS-OCT-A	Глубина залегания сосудов Depth of occurrence of vessels Возможности их качественной и количественной оценки The possibilities of their qualitative and quantitative assessment Выбор кератопластики в зависимости от вовлеченности сосудов The choice of keratoplasty depending on the involvement of vessels	Не инвазивный метод Non-invasive method Возможности сравнительной оценки в послеоперационном периоде Possibilities of comparative evaluation in the postoperative period	Не подтверждает диагноз СЛН Does not confirm the diagnosis of LCS.D. Сложность выполнения из-за большого количества настроек «вручную» The complexity of execution due to the large number of «manual» settings Длительная процедура для получения качественного снимка A long procedure to obtain a high-quality image Сложность выполнения у пациентов с отсутствием фиксации взгляда The difficulty of performing in patients with a lack of fixation of the gaze
Цитокины в слезе Cytokines in tears	Определение концентрации про-воспалительных и противовоспалительных цитокинов, хемокинов, факторов некроза опухоли и их качественная и количественная оценка Determination of the concentration of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, chemokines, tumor necrosis factors and their qualitative and quantitative assessment	Неинвазивный метод Non-invasive method Анализ каждого случая в реальном времени Real-time analysis in each case Возможность осознанного подбора терапии The possibility of conscious selection of therapy Прогноз исхода кератопластики Prognosis of the outcome of keratoplasty	Требуются дополнительное оборудование и дорогостоящие реагенты для проведения анализа, обученный персонал и лаборатория Additional equipment and expensive reagents are required for conducting analysis, trained personnel and a laboratory
Примечание: *ИЦ – импрессионная цитология, ИГХ – иммуногистохимия; **ЛСКМ – лазерная сканирующая конфокальная микроскопия; ПО-ОКТ – оптическая когерентная томография переднего отрезка глаза; ПО-ОКТ-A – оптическая когерентная томография-ангиография. Note: *IC – impression cytology, IHC – immunohistochemistry; **IVCM – <i>in vivo</i> confocal microscopy; ***AS-OCT – anterior segment optical coherence tomography; ****ASOCT-A – anterior segment optical coherence tomography.			

ев необходима сквозная или послойная пересадка роговицы [84–90].

В то же время неоваскуляризация ложа реципиента в двух и более квадрантах с глубоко расположенными сосудами, заходящими, по крайней мере, на 2 мм в строму, является фактором риска, связанным с высокой вероятностью развития реакции тканевой несовместимости [91]. Более того, наличие сосудов в четырех квадрантах удваивает риск отторжения, увеличивая тяжесть иммунной реакции [92].

По данным литературы, характер приживления кератотрансплантата в 70–80% наблюдений находится в прямой зависимости от предоперационной активации иммунитета и послеоперационной динамики его показателей: от соотношения пулов отдельных популяций иммунокомпетентных клеток, количества циркулирующих иммунных комплексов, уровней антител и цитокинов, в первую очередь интерлейкина-1 β (IL-1 β) и фактора некроза опухолей- α (TNF- α) в сыворотке крови и в слезе, а также от наличия сенсибилизации иммунокомпетентных клеток к антигенам роговицы [93–95].

Таким образом, немаловажное значение имеют грамотный предоперационный мониторинг состояния иммунной системы реципиента и послеоперационная диагностика, которые представляются возможными посредством изучения цитокинов, косвенно демонстрирующих развитие эффекторных реакций на трансплантат [96, 97].

На наш взгляд, такое направление в предоперационной диагностике и лечении пациентов с СЛН кажется весьма перспективным.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исходя из данных научной литературы можно сделать вывод о том, что СЛН – это полиэтиологическое заболевание глазной поверхности, диагностика которого не может быть ограничена только биомикроскопией или биомикроскопией в сочетании с окрашиванием различными красителями. Использование низкомолекулярного флюоресцеина дает возможность быстрого скрининга на наличие или отсутствия паттернов: здорового роговичного или аномального. Углубляясь в диагностику СЛН, что гистологическое исследование не является малоинвазивным дооперационным вариантом диагностики, поэтому оно не является основополагающим, и может быть использовано только в качестве подтверждения поставленного диагноза *post factum* проведенного хирургического лечения.

Метод выполнения мазков-отпечатков является доступным, не инвазивным, однако зависит от материала и формы используемого диска, методики забора клеток, способа хранения и типа красителей, более того, требует специальных навыков окрашивания, дополнительного лабораторного оборудования и обученного персона-

ла. Тем не менее данная методика ценна, так как может показать прижизненную экспрессию белков эпителиального или конъюнктивального происхождения. Однако, исходя из анализа большого количества работ БК, конъюнктивы могут полностью отсутствовать у пациентов с другими заболеваниями глаз, такими, как например кератизация [98, 99]. Следовательно, обнаружение БК конъюнктивы подтверждает диагноз СЛН, но их отрицательный результат не исключает СЛН.

Иммуногистохимическое исследование позволяет более точно обнаруживать внутриклеточные и секретируемые белки, которые экспрессируются в эпителиальных клетках роговицы и бокаловидных клетках конъюнктивы [59].

Тем не менее существуют противоречивые данные относительно специфичности ЦК-19 [12, 35, 100, 101, 102]. При этом ЦК-12, экспрессирующийся на роговичном эпителии [12, 34–36], и ЦК-7 – маркер конъюнктивального происхождения выявляют наибольшую специфичность в отношении диагностики СЛН [34–36, 38].

Диагностика при помощи AS-OCT и AS-OCTA является перспективной методикой в отношении оценки динамики васкуляризации, предоперационной оценки толщины роговицы, количественной и качественной оценки эпителия и т.д. Однако эти методики носят лишь вспомогательный характер и имеют большее существенное значение в выборе кератопластики, а также в определении степени её риска.

Конфокальная микроскопия как прижизненный метод исследования может быть использована для выявления плотности и извитости суббазальных нервов и их обратимости в ходе лечения [39]. Она также позволяет проанализировать морфологические изменения эпителиальных, клеток роговицы и БК конъюнктивы. Однако пациентам с сильными рубцовыми изменениями или отсутствием возможности фиксации взгляда проведение такого исследования является затруднительным. Более того, требуется дорогостоящее оборудование.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с конъюнктивализацией и васкуляризацией роговицы следует проявлять настороженность и проводить дополнительную диагностику на предмет наличия СЛН. Диагностика данного заболевания должна быть комплексной и, помимо сбора анамнеза и биомикроскопии с обязательной прижизненной окраской (флюоресцеин), включать инструментальные исследования, основанные на детальной визуализации переднего отрезка глаза с высоким разрешением (ОКТ, конфокальная микроскопия), а также лабораторной диагностике (цитология, иммуноцитохимия). В *таблице* суммирована краткая характеристика всех вышеописанных методов с их недостатками и достоинствами.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Deng SX, Borderie V, Chan CC, Dana R, Figueiredo FC, Gomes JAP, Pellegrini G, Shimmura S, Kruse FE; and The International Limbal Stem Cell Deficiency Working Group. Global consensus on definition, classification, diagnosis, and staging of limbal stem cell deficiency. *Cornea*. 2019;38(3): 364–375. doi: 10.1097/ICO.0000000000001820
- Тонаева Х.Д., Онищенко Н.А., Борзенко С.А. Лимбальная трансплантация как способ индукции локальной иммунной толерантности при кератопластике высокого риска. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2011;8: 95–102. doi: 10.15825/1995-1191-2011-2-95-102. [Tonaeva KD, Onishchenko NA, Borzenok SA. Limbal transplantation as a method of local immune tolerance induction in high risk keratoplasty. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2011;13(2): 95–102. (In Russ.)]
- Puangsricharn V, Tseng SC. Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency. *Ophthalmology*. 1995;102(10): 1476–1485. doi: 10.1016/s0161-6420(95)30842-1
- Sacchetti M, Lambiase A, Cortes M, Sgrulletta R, Bonini S, Merlo D, Bonini S. Clinical and cytological findings in limbal stem cell deficiency. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243(9): 870–876. doi: 10.1007/s00417-005-1159-0
- Deng S, Sejal K, Bakhtiar P. Presentation, diagnosis and management of limbal stem cell deficiency. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2013;20(1): 5–10. doi: 10.4103/0974-9233.106381
- Dua HS, Saini JS, Azuara-Blanco A, Gupta P. Limbal stem cell deficiency: concept, aetiology, clinical presentation, diagnosis and management. *Indian J Ophthalmol*. 2000;48(2): 83–92.
- Черныш В.Ф., Бойко В.Ф. Ожоги глаз – состояние проблемы и новые подходы. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008. [Chernikh VF, Boyko VF. Eye burns – the state of the problem and new approaches. М.: GEOTAR-Media; 2008. (In Russ.)]
- Holland EJ, Schwartz GS. The evolution of epithelial transplantation for severe ocular surface disease and a proposed classification system. *Cornea*. 1996;15(6): 549–556.
- Zuazo F, Lopez-Ponce D, Salinas-Toro D, Valenzuela F, Sans-Puroja J, Srur M, López-Solis RO, Traipe-Castro L. Conjunctival impression cytology in patients with normal and impaired OSDI scores. *Arch Soc Esp Ophthalmol*. 2014;89(10): 391–396. doi: 10.1016/j.oftal.2014.04.013
- Чирский В.С., Чурашов С.В., Злобин И.А., Рудько А.С., Черныш В.Ф., Курносов В.Е. Роль импрессионной цитологии в оценке фенотипа эпителия роговицы при решении вопроса о показаниях к операции оптической кератопластики. Вестник Российской Военно-Медицинской Академии. 2016;1(53): 89–93. [Zlobin IA, Chernysh VF, Churashov SV, Chirsky VA, Rudko AS, Kurnosov VE. Role of impression cytology in cornea epithelium phenotype assessment at solution of question of indications to operation of optical keratoplasty. *Bulletin of Russian Military Medical Academy*. 2016;1(53): 89–93. (In Russ.)]
- Krenzer KL, Fredro TE. Cytokeatin expression in normal human bulbar conjunctiva obtained by impression cytology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1997;38(1): 142–152.
- Barbaro V, Ferrari S, Fasolo A, Pedrotti E, Marchini G, Sbabo A, Nettis N, Ponzin D, Di Iorio E. Evaluation of ocular surface disorders: a new diagnostic tool based on impression cytology and confocal laser scanning microscopy. *Br J Ophthalmol*. 2010;94(7): 926–932. doi: 10.1136/bjo.2009.164152
- Le Q, Xu J, Deng SX. The diagnosis of limbal stem cell deficiency. *The Ocular Surface*. 2018;16(1): 58–69. doi: 10.1016/j.jtos.2017.11.002
- Dua HS, Joseph A, Shanmuganathan VA, Jones RE. Stem cell differentiation and the effects of deficiency. *Eye (Lond)*. 2003;17(8): 877–885. doi: 10.1038/sj.eye.6700573
- Rossen J, Amram A, Milani B, Park D, Harthan J, Joslin C, McMahon T, Djallilian A. Contact lens-induced limbal stem cell deficiency. *Ocul Surf*. 2016;14(4): 419–434. doi: 10.1016/j.jtos.2016.06.003
- Deng SX, Sejal KD, Tang Q, Aldave AJ, Lee OL, Yu F. Characterization of limbal stem cell deficiency by *in vivo* laser scanning confocal microscopy: a microstructural approach. *Arch Ophthalmol*. 2012;130(4): 440–445. doi: 10.1001/archophthalmol.2011.378
- Efron Contact Lens Complications 4th Ed. Elsevier; 2019: 366–2010.
- Lakkis C, Brennan NA. Bulbar conjunctival fluorescein staining in hydrogel contact lens wearers. *CLAO J*. 1996;22(3): 189–194.
- Norn MS. Fluorescein vital staining of the cornea and conjunctiva. Studied by triple staining with fluorescein, rose Bengal, and alcian blue. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 1964;42: 1038–1045.
- Dua HS. The conjunctiva in corneal epithelial wound healing. *Br J Ophthalmol*. 1998;82(12): 1407–1411. doi: 10.1136/bjo.82.12.1407
- Chan CC, Holland EJ. Severe limbal stem cell deficiency from contact lens wear: patient clinical features. *Am J Ophthalmol*. 2013;155(3): 544–549.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2012.09.013
- Guillon M, Maissa C. Bulbar conjunctival staining in contact lens wearers and non-lens wearers and its association with symptomatology. *Cont Lens Anterior Eye*. 2005;28(2): 67–73. doi: 10.1016/j.clae.2005.02.002
- Fatima A, Iftekhar G, Sangwan VS, Vegumanti GK. Ocular surface changes in limbal stem cell deficiency caused by chemical injury: a histologic study of excised pannus from recipients of cultured corneal epithelium. *Eye (Lond)*. 2008;22(9): 1161–1167. doi: 10.1038/sj.eye.6702895
- Sati A, Basu S, Sangwan VS, Vegumanti GK. Correlation between the histological features of corneal surface pannus following ocular surface burns and the final outcome of cultivated limbal epithelial transplantation. *Br J Ophthalmol*. 2015;99(4): 477–481. doi: 10.1136/bjophthalmol-2014-305568
- Волкович Т.К., Самсонова И.В., Имшенецкая Т.А., Залутский И.В. Импрессионная цитология: диагностические возможности в офтальмологии. Российская детская офтальмология. [Volkovich TK, Samsonova IV, Imshenetskaya TA, Zalutsky IV. Impression cytology: diagnostic possibilities in ophthalmology. *Russian Pediatric Ophthalmology*. 2016;1: 46–52. (In Russ.)]
- Zuazo F, López-Ponce D, Salinas-Toro D, Valenzuela F, Sans-Puroja J, Srur M, López-Solis RO, Traipe-Castro L. Conjunctival impression cytology in patients with normal and impaired OSDI scores. *Arch Soc Esp Ophthalmol*. 2014;89(10): 391–396. doi: 10.1016/j.oftal.2014.04.013
- Egbert PR, Lauber S, Maurice DM. A simple conjunctival biopsy. *Am J Ophthalmol*. 1977;84(6): 789–801. doi: 10.1016/0002-9394(77)90499-8
- Singh R, Joseph A, Umapathy T, Tint NL, Dua HS. Impression cytology of the ocular surface. *Br J Ophthalmol*. 2005;89(12): 1655–1659. doi: 10.1136/bjo.2005.073916
- Tseng SCG. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. *Ophthalmology*. 1985;92(6): 728–733. doi: 10.1016/s0161-6420(85)33967-2
- Maskin SL, Bode DD. Electron microscopy of impression-acquired conjunctival epithelial cells. *Ophthalmology*. 1986;93(12): 1518–23. doi: 10.1016/s0161-6420(86)33538-3
- Prabhasawat P, Tseng SCG. Impression cytology study of epithelial phenotype of ocular surface reconstructed by preserved human amniotic membrane. *Arch Ophthalmol*. 1997;115(11): 1360–1367. doi: 10.1001/archophth.1997.01100160530001
- Shimazaki J, Yang H, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology*. 1997;104(12): 2068–2076. doi: 10.1016/s0161-6420(97)30057-8
- Dua HS, King AJ, Joseph A. A new classification of ocular surface burns. *Br J Ophthalmol*. 2001;85(11): 1379–1383. doi: 10.1136/bjo.85.11.1379
- Jirsova K, Dudakova L, Kalasova S, et al. The OV-TL 12/30 clone of anti-cytokeratin 7 antibody as a new marker of corneal conjunctivalization in patients with limbal stem cell deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(8): 5892–5898. doi: 10.1167/iovs.10-6748
- Ramirez-Miranda A, Nakatsu MN, Zarei-Ghanavati S, et al. Keratin 13 is a more specific marker of conjunctival epithelium than keratin 19. *Mol Vision*. 2011;17: 1652–1661.
- Wei ZG, Wu RL, Lavker RM, et al. *In vitro* growth and differentiation of rabbit bulbar, fornix, and palpebral conjunctival epithelia. Implications on conjunctival epithelial transdifferentiation and stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1993;34(5): 1814–1828.
- Muriel P, Helene J, Virginie J, Celine A, Carole B, Odile D. Keratin 13 immunostaining in corneal impression cytology for the diagnosis of limbal stem cell deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(13): 9411–9415. doi: 10.1167/iovs.10-7049
- Poli M, Burillon C, Auxenfans C, Rovere M, Damour O. Immunocytochemical diagnosis of limbal stem cell deficiency: comparative analysis of current corneal and conjunctival biomarkers. *Cornea*. 2015;34(7): 817–823. doi: 10.1097/ICO.0000000000000457
- Chuephanich P, Supiyaphun C, Aravena C, Bozkurt T, Yu F, Deng SX. Characterization of the corneal subbasal nerve plexus in limbal stem cell deficiency. *Cornea*. 2017;36(3): 347–352. doi: 10.1097/ICO.00000000000001092
- Colorado LH, Alzahrani Y, Pritchard N, Efron N. Assessment of conjunctival goblet cell density using laser scanning confocal microscopy versus impression cytology. *Cont Lens Anterior Eye*. 2016;39(3): 221–226. doi: 10.1016/j.clae.2016.01.006
- Garcia I, Etzebarria J, Boto-de-Los-Bueis A, Diaz-Valle D, Rivas L, Martinez-Soraa I, Saenz N, Lopez C, Del-Hierro-Zarzuolo A, Méndez R, Soria J, González N, Suárez-Torres A. Comparative study of limbal stem cell deficiency diagnosis methods: detection of MUC5AC mRNA and goblet cells in corneal epithelium. *Ophthalmology*. 2012;119(5): 923–929. doi: 10.1016/j.ophtha.2011.10.031
- Le Q, Chauhan T, Deng SX. Diagnostic criteria for limbal stem cell deficiency prior to surgical intervention. A systematic literature review and analysis. *Surv Ophthalmol*. 2020;65(1): 32–40. doi: 10.1016/j.survophthal.2019.06.008
- Vadrevu VL, Fullard RJ. Enhancements to the conjunctival impression cytology technique and examples of applications in a clinico-biochemical study of dry eye. *CLAO J*. 1994;20(1): 59–63.
- Chan E, Le Q, Codrinsky A, Hong J, Xu J, Deng SX. Existence of normal limbal epithelium in eyes with clinical signs of total limbal stem cell deficiency. *Cornea*. 2016;35(11): 1483–1487. doi: 10.1097/ICO.0000000000000914
- Nubile M, Lanzini M, Miri A, Pocobelli A, Caliendo R, Curcio C, Mastropasqua R, Dua HS, Mastropasqua L. *In vivo* confocal microscopy in diagnosis of limbal stem cell deficiency. *Am J Ophthalmol*. 2013;155(2): 220–232. doi: 10.1016/j.ajo.2012.08.017
- Wang Y, Le Q, Zhao F, Hong J, Xu J, Zheng T, Sun X. Application of *in vivo* laser scanning confocal microscopy for evaluation of ocular surface diseases: lessons learned from pterygium, meibomian gland disease, and chemical burns. *Cornea*. 2011;30(suppl 1): S25–S28. doi: 10.1097/ICO.0b013e318227fcd9
- Cruzat A, Pavan-Langston D, Hamrah P. *In vivo* confocal microscopy of corneal nerves: analysis and clinical correlation. *Semin Ophthalmol*. 2010;25(5–6): 171–177. doi: 10.3109/08820538.2010.518133
- Lum E, Golebiowski B, Swarbrick HA. Mapping the corneal sub-basal nerve plexus in orthokeratology lens wear using *in vivo* laser scanning confocal microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;53(4): 1803–1809. doi: 10.1167/iovs.11-8706
- Nubile M, Lanzini M, Miri A, Pocobelli A, Caliendo R, Curcio C, Mastropasqua R, Dua HS, Mastropasqua L. *In vivo* confocal microscopy in diagnosis of limbal stem cell deficiency. *Am J Ophthalmol*. 2013;155(2): 220–32. doi: 10.1016/j.ajo.2012.08.017
- Vera LS, Gueudry J, Delcampe A, Roujeau JC, Brasseur G, Muraine M. *In vivo* confocal microscopic evaluation of corneal changes in chronic Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Cornea*. 2009;28(4): 401–7. doi: 10.1097/ICO.0b013e31818cd299
- Zhivov A, Winter K, Hovakimyan M, Peschel S, Harder V, Schober HC, Kundt G, Baltrusch S, Guthoff RF, Stachs O. Imaging and quantification of subbasal nerve plexus in healthy volunteers and diabetic patients with or without retinopathy. *PLoS One*. 2013;8(1): e52157. doi: 10.1371/journal.pone.0052157
- Lagali N. Laser-scanning *in vivo* confocal microscopy of the cornea: imaging and analysis methods for preclinical and clinical applications. In: Lagali N (ed). *Confocal laser microscopy: Principles and applications in medicine, biology, and the food sciences*. London, UK: IntechOpen Limited; 2013: 51–80.
- Chan EH, Chen L, Rao JY, Fei Y, Deng SX. Limbal basal cell density decreases in limbal stem cell deficiency. *Am J Ophthalmol*. 2015;160(4): 678–84.e4. doi: 10.1016/j.ajo.2015.06.026

54. Chan EH, Chen L, Yu F, Deng SX. Epithelial thinning in limbal stem cell deficiency. *Am J Ophthalmol*. 2015;160(4): 669–77.e4. doi: 10.1016/j.ajo.2015.06.029
55. Patel DV, Sherwin T, Mcghee CN. Laser scanning *in vivo* confocal microscopy of the normal human corneoscleral limbus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006; 47(7): 2823–2827. doi: 10.1167/iops.05-1492
56. Miri A, Al-aqaba M, Otri AM, Fares U, Said DG, Faraj LA, Dua HS. *In vivo* confocal microscopic features of normal limbus. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(4): 530–536. doi: 10.1136/bjophthalmol-2011-300550
57. Паштаев Н.П., Куликова И.Л., Шленская О.В., Волкова Л.Н. Конфокальная микроскопия роговицы в кераторефракционной хирургии. Обзор литературы. *Вестник ТГУ*. 2015;20(3): 662–666. [Pashataev NP, Kulikova IL, Shlenskaya OV, Volkova LN. Confocal microscopy of the cornea in keratorefractive surgery. Literature review. 2015;20(3): 662–666. (In Russ.)]
58. Bizheva K, Hutchings N, Sorbara L, Moayed AA, Simpson T. *In vivo* volumetric imaging of the human corneo-scleral limbus with spectral domain OCT. *Biomed Opt Express*. 2011;2(7): 1794–1792. doi: 10.1364/BOE.2.001794
59. Romano A, Espana EM, Djalilian AR, Yoo SH. En face optical coherence tomography imaging of corneal limbal stem cell niche. In: Lumbroso B, Huang D, Romano A, Rispoli M, Coscas G (eds.). *Clinical en face OCT atlas*. New Delhi, India: Jaypee Brothers Medical Publishers Ltd; 2013: 77–79.
60. Haagdorens M, Behaegel J, Rozema J, Van Gerwen V, Michiels S, Ni Dhubbghaill S, Tassignon MJ, Zakaria N. A method for quantifying limbal stem cell niches using OCT imaging. *Br J Ophthalmol*. 2017;101(9): 1250–1255. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-309549
61. Bizheva K, Tan B, MacLellan B, Hosseinaee Z, Mason E, Hileeto D, Sorbara L. *In vivo* imaging of the palisades of Vogt and the limbal crypts with sub-micrometer axial resolution optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2017;8(9): 4141–4151. doi: 10.1364/BOE.8.004141
62. Le Q, Yang Y, Deng SX, Xu J. Correlation between the existence of the palisades of Vogt and limbal epithelial thickness in limbal stem cell deficiency. *Clin Exp Ophthalmol*. 2017;45(3): 224–231. doi: 10.1111/ceo.12832
63. Zakaria N, Ni Dhubbghaill S, Taal M, Berneman Z, Koppen C, Tassignon MJ. Optical coherence tomography in cultivated limbal epithelial stem cell transplantation surgery. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2015;4(6): 339–345. doi: 10.1097/APO.0000000000000163
64. Banayan N, Georgeon C, Grieve K, Borderie VM. Spectral domain optical coherence tomography in limbal stem cell deficiency: A case control study. *Am J Ophthalmol*. 2018;190: 179–190. doi: 10.1016/j.ajo.2018.03.034
65. Воскресенская А.А., Поздеева Н.А., Шипунов А.А., Глаголев В.В. Диагностические возможности оптической когерентной томографии в визуализации лимбальных палисад Фогта. Современные технологии в офтальмологии. 2017;3: 103–106. [Voskresenskaya AA, Pozdeeva NA, Shipunov AA, Gagloev BV. Diagnostic capabilities of optical coherence tomography in visualization of limbal palisades of Vogt. Modern technology in ophthalmology. 2017;3: 103–106. (In Russ.)]
66. Liang Q, Le Q, Cordova DW, Tseng CH, Deng SX. Corneal epithelial thickness measured using anterior segment optical coherence tomography as a diagnostic parameter for limbal stem cell deficiency. *Am J Ophthalmol*. 2020;216: 132–139. doi: 10.1016/j.ajo.2020.04.006
67. Jia Y, Bailey ST, Hwang TS, McClintic SM, Gao SS, Pennesi ME, Flaxel CJ, Lauer AK, Wilson DJ, Horneegger J, Fujimoto JG, Huang D. Quantitative optical coherence tomography angiography of vascular abnormalities in the living human eye. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(18): 2395–2402. doi: 10.1073/pnas.1500185112
68. Ang M, Sim DA, Keane PA, Sng, CC, Egan, CA, Tufail A, Wilkins MR. Optical coherence tomography angiography for anterior segment vasculature imaging. *Ophthalmology*. 2015;122(9): 1740–1747. doi: 10.1016/j.ophtha.2015.05.017
69. Oie Y, Nishida K. Evaluation of corneal neovascularization using optical coherence tomography angiography in patients with limbal stem cell deficiency. *Cornea*. 2017;36(suppl 1): 72–75. doi: 10.1097/ICO.0000000000001382
70. Nanji A, Redd T, Chamberlain W, Schallhorn JM, Chen S, Ploner S, Maier A, Fujimoto JG, Jia Y, Huang D, Li Y. Application of corneal optical coherence tomography angiography for assessment of vessel depth in corneal neovascularization. *Cornea*. 2020;39(5): 598–604. doi: 10.1097/ICO.0000000000002232
71. Binotti WW, Nosé RM, Koseoglu ND, Dieckmann GM, Kenyon K, Hamrah P. The utility of anterior segment optical coherence tomography angiography for the assessment of limbal stem cell deficiency. *Ocul Surf*. 2021;19: 94–103. doi: 10.1016/j.jtos.2020.04.007
72. Varma S, Shanbhag SS, Donthineni PR, Mishra DK, Singh V, Basu S. High-resolution optical coherence tomography angiography characteristics of limbal stem cell deficiency. *Diagnostics*. 2021;11(6): 1130. doi: 10.3390/diagnostics11061130
73. Maguire MG, Stark WJ, Gottsch JD, Stulting RD, Sugar A, Fink NE, Schwartz A. Risk factors for corneal graft failure and rejection in the collaborative corneal transplantation studies. Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. *Ophthalmology*. 1994;101(9): 1536–1547. doi: 10.1016/s0161-6420(94)31138-9
74. Sangwan VS, Ramamurthy B, Shah U, Garg P, Sridhar MS, Rao GN. Outcome of corneal transplant rejection: a 10-year study. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2005;33(6): 623–627. doi: 10.1111/j.1442-9071.2005.01107.x
75. Holland EJ, Djalilian AR, Schwartz GS. Management of aniridic keratopathy with keratolimbal allograft: a limbal stem cell transplantation technique. *Ophthalmology*. 2003;110(1): 125–130. doi: 10.1016/s0161-6420(02)01451-3
76. Ramaesh K, Ramaesh T, Dutton GN, Dhillon B. Evolving concepts on the pathogenic mechanisms of aniridia related keratopathy. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37(3): 547–557. doi: 10.1016/j.biocel.2004.09.002
77. Каспаров А.А. Офтальмогерпес. М., Издательство «Медицина»; 1994: 224. [Kasparov AA. Ophthalmog herpes. M.: Izdatel'stvo «Medicina»; 1994: 224. (In Russ.)]
78. Комакх Ю.А., Мороз З.И., Борзенко С.А. Современное состояние проблемы повторной пересадки роговицы (обзор литературы). Офтальмохирургия. 1997;(1): 19–27. [Komakh YA, Moroz ZI, Borzenok SA. The current state of the problem of repeated corneal transplantation (literature review). *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 1997;(1): 19–27. (In Russ.)]
79. Малюгин Б.Э., Герасимов М.Ю., Борзенко С.А., Головин А.В. Клеточная хирургия при дисфункции стволовых клеток лимба. Офтальмохирургия. 2019;1: 77–86. <https://doi.org/10.25276/0235-4160-2019-1-77-86> [Malyugin BE, Gerasimov MYu, Borzenok SA, Golovin AV. Cellular surgery for limb stem cell dysfunction. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2019;1: 77–86. <https://doi.org/10.25276/0235-4160-2019-1-77-86> (In Russ.)]
80. Пирогов Ю.И., Дронов М.М., Першин К.Б., Пашинова Я.Ф., Азербайев Т.Э., Першин Б.Б. Состояние иммунитета при заболеваниях, травмах и трансплантации роговицы. Офтальмохирургия и терапия. 2002;2: 29–47. [Pirogov JU, Drovon MM, Perchin KB, Pachinova NF, Aserbaev TE, Perchin BB. Immune status during diseases, traumas and cornea transplantations. *Ophthalmochirurgia and therapy*. 2002;2: 29–47. (In Russ.)]
81. Biswas S, Suresh P, Bonshek RE, Corbitt G, Tullo AB, Ridgway AE. Graft failure in human donor corneas due to transmission of herpes simplex virus. *Br J Ophthalmol*. 2000;84(7): 701–705. doi: 10.1136/bjo.84.7.701
82. Guilbert E, Laroche L, Borderie V. Rejection of corneal allografts. *Fr Ophthalmol*. 2011;34(5): 331–348. doi: 10.1016/j.jfo.2011.02.001
83. Khodadoust AA, Abkizadeh A. The rate of corneal rejection after previous rejection reaction. In: Silverstein AM, O'Connor GR (eds.). *Immunology and immunopathology of the eye*. New York, Masson; 1979: 271–283.
84. Zierhut M, Pleyer U, Thiel HJ. *Immunology of corneal transplantation*. Amsterdam, Aeolus Press; 1994: 233–238.
85. Rumelt S, Bersudsky V, Blum-Hareuveni T, Rehany U. Systemic cyclosporine A in high failure risk, repeated corneal transplantation. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(9): 988–992. doi: 10.1136/bjo.86.9.988
86. Polisetty N, Fatima A, Madhira SL, Sangwan VS, Vemuganti GK. Mesenchymal cells from limbal stroma of human eye. *Mol Vis*. 2008;4(14): 431–442.
87. Panda A, Vanathi M, Kumar A, Dash, Y, Priya S. Corneal graft rejection. *Surv Ophthalmol*. 2007;52(4): 375–396. doi: 10.1016/j.survophthal.2007.04.008
88. Kaminska A, Szaflik J, Minkiewicz-Timlar G, Sybilka M, Pawluczuk-Djycinska M, Cieslik K. Retrospective evaluation of risk factors for graft rejection in patients after corneal transplantation performed at the Eye Clinic in the years 2001–2003. *Klin Oczna*. 2005;107(4–6): 209–211.
89. Hill JC. The relative importance of risk factors used to define high-risk keratoplasty. *Ger J Ophthalmol*. 1996;5(1): 36–41.
90. De Freitas AM, Melo BC, Mendonca CN, Machado RP, Rocha FJ. Causes and risk factors for graft failure in surgeries performed by physicians in fellowship training. *Cornea*. 2006;25(3): 251–256. doi: 10.1097/01.icc.0000222480.45371.31
91. Maguire MG, Stark WJ, Gottsch JD, Stulting RD, Sugar A, Fink NE, Schwartz A. Risk factors for corneal graft failure and rejection in the collaborative corneal transplantation studies. Collaborative corneal transplantation studies research group. *Ophthalmology*. 1994;101(9): 1536–1547. doi: 10.1016/s0161-6420(94)31138-9
92. Bachmann B, Taylor RS, Cursiefen C. Corneal neovascularization as a risk factor for graft failure and rejection after keratoplasty: an evidence-based meta-analysis. *Ophthalmology*. 2010;117(7): 1300–1305.e7. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.01.039
93. Иммунология глазной патологии. Под ред. Пучковской Н.А., Шульгиной Н.С., Минеева Н.Г., Игнатова Р.К. Издательство «Медицина»; 1983. [Immunology of ocular pathology. Puchkovskaya NA, Shulgina NS, Mineev NG, Ignatov RK (eds.). M.: Izdatel'stvo «Medicina»; 1983. (In Russ.)]
94. Волков В.В., Хавинсон В.Х., Пасхина М.Н., Пирогов Ю.И. Иммунологическая диагностика и прогнозирование приживления кератотрансплантатов. Вестник офтальмологии. 1986;5: 27–31. [Volkov VV, Havinson VH, Pashina MN, Pirogov YI. Immunological diagnostics and prediction of keratograft engraftment. *The Russian Annals of Ophthalmology*. 1986;5: 27–31. (In Russ.)]
95. Roy R, Boisjoly HM, Wagner E, Langlois A, Bernard PM, Bazin R, Laughrea PA, Dubé I. Pretransplant and posttransplant antibodies in human corneal transplantation. *Transplantation*. 1992;54(3): 463–467. doi: 10.1097/00007890-199209000-00015
96. Malyugin BE, Gerasimov MY, Borzenok SA. Glueless simple limbal epithelial transplantation (G-SLET). The report of the first two cases. *CORNEA*. 2020;39: 1588–1591. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000002467>
97. Слепова О.С. Практическое значение исследования цитокинов при заболеваниях глаз. VII Всероссийский съезд офтальмологов России. Материалы съезда. М.: 2000: 159–160. [Slepova OS. Practical significance of cytokine research in eye diseases. VII All-Russian Congress of Ophthalmologists of Russia. Materials of the congress. M.; 2000: 159–160. (In Russ.)]
98. Kim KH, Park SW, Kim MK, et al. Effect of age and early intervention with a systemic steroid, intravenous immunoglobulin or amniotic membrane transplantation on the ocular outcomes of patients with Stevens – Johnson syndrome. *Korean J Ophthalmol*. 2013;27(5): 331–340. doi: 10.3341/kjo.2013.27.5.331
99. Ohji M, Ohmi G, Kiritoshi A, Kinoshita S. Goblet cell density in thermal and chemical injuries. *Arch Ophthalmol*. 1987;105(12): 1686–1688. doi: 10.1001/archophth.1987.01060120084031
100. Chen Z, de Paiva CS, Luo L, Kretzer FL, Pflugfelder SC, Li D Q. Characterization of putative stem cell phenotype in human limbal epithelia. *Stem Cells*. 2004;22(3): 355–366. doi: 10.1634/stemcells.22-3-355
101. Kasper M, Moll R, Stosiek P, Karsten U. Patterns of cytokeratin and vimentin expression in the human eye. *Histochemistry*. 1988;89(4): 369–377. doi: 10.1007/BF00500639
102. Yoshida S, Shimmura S, Kawakita T, Miyashita H, Den S, Shimazaki J, Tsubota K. Cytokeratin 15 can be used to identify the limbal phenotype in normal and diseased ocular surfaces. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47(11): 4780–4786. doi: 10.1167/iops.06-0574

Информация об авторах

Борис Эдуардович Малюгин, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор, boris.malyugin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5666-3493>

Сергей Анатольевич Борзенко, д.м.н., mborzenok@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9160-6240>

Светлана Юрьевна Калининкова, врач-офтальмолог, аспирант, svkalinnikova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9109-2400>

Максим Юрьевич Герасимов, врач-офтальмолог, младший научный сотрудник, gerasimovmy@mntk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3433-8352>

Information about the authors

Boris E. Malyugin, Corr. Member of RAS, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, boris.malyugin@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5666-3493>

Sergey A. Borzenok, Doctor of Sciences (Medicine), mdborzenok@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9160-6240>

Svetlana Yu. Kalinnikova, ophthalmologist, postgraduate student, svkalinnikova@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9109-2400>

Maksim Yu. Gerasimov, ophthalmologist, junior researcher, gerasimovmy@mntk.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3433-8352>

Вклад авторов в работу:

Б.Э. Малиюгин: существенный вклад в концепцию и дизайн работы, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.

С.А. Борзенко: существенный вклад в концепцию и дизайн работы, окончательное утверждение версии, подлежащей публикации.

С.Ю. Калинникова: существенный вклад в концепцию и дизайн работы, сбор, анализ и обработка материала, написание текста.

М.Ю. Герасимов: статистическая обработка данных, редактирование.

Authors' contribution:

B.E. Malyugin: significant contribution to the concept and design of the work, final approval of the version to be published.

S.A. Borzenok: significant contribution to the concept and design of the work, final approval of the version to be published.

S.Yu. Kalinnikova: significant contribution to the concept and design of the work, collection, analysis and processing of material, writing the text.

M.Yu. Gerasimov: statistical data processing, editing.

Финансирование: Авторы не получали конкретный грант на это исследование от какого-либо финансирующего агентства в государственном, коммерческом и некоммерческом секторах.

Согласие пациента на публикацию: Письменного согласия на публикацию этого материала получено не было. Он не содержит никакой личной идентифицирующей информации.

Конфликт интересов: Отсутствует.

Funding: The authors have not declared a specific grant for this research from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Patient consent for publication: No written consent was obtained for the publication of this material. It does not contain any personally identifying information.

Conflict of interest: There is no conflict of interest.

Поступила: 18.03.2022

Переработана: 30.05.2022

Принята к печати: 15.08.2022

Originally received: 18.03.2022

Final revision: 30.05.2022

Accepted: 15.08.2022