

DOI: 10.15825/1995-1191-2026-1-154-163

ПРОБЛЕМА КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ РОГОВИЦ В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

С.А. Борзенко^{1, 2}, О.А. Свитич³, Т.З. Керимов^{1, 2}

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

³ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Российская Федерация

Введение. Настоящая работа посвящена оценке основных структурных характеристик роговицы индейки, критическому анализу полученных и литературных данных для определения потенциала применения данного ксеногенного материала при кератопластике. Подсчитано, что на сегодня количество пациентов, ожидающих кератопластику, составляет более 12 миллионов человек во всем мире. Основная причина длительного ожидания заключается в острой нехватке трупных донорских человеческих роговиц – необходимого материала для проведения кератопластики. Результаты последних исследований позволяют оптимистично охарактеризовать развивающееся направление ксеногенной кератопластики, однако количество изученных в мировой литературе животных-доноров на сегодня остается достаточно ограниченным. По этой причине была сформулирована цель настоящего исследования. **Цель:** в эксперименте провести оценку основных структурных характеристик и возможности использования роговицы индейки (лат. *Meleagris gallopavo*) в качестве потенциального ксеногенного материала для селективной кератопластики. **Материалы и методы.** Для выполнения данной цели использовали энуклеированные глазные яблоки индейки ($n = 24$), из которых были выделены роговично-склеральные комплексы ($n = 24$). На первом этапе проводили оценку особенностей микростроения роговицы индейки, для этого выполняли сканирующую электронную микроскопию и конфокальную микроскопию. На втором этапе оценивали возможность выкраивания роговичного ксенотрансплантата для глубокой передней послойной кератопластики. На третьем этапе оценивали возможность консервации полученного ксенотрансплантата, используя ксеногенный материал роговицы индейки. **Результаты.** В результате проведенных исследований установлено, что роговица индейки представлена всеми основными слоями, характерными для роговицы человека. Установлено, что толщина роговицы индейки составляет $508 \pm 33,5$ мкм. Подтверждено наличие боуменовой мембраны. Показана возможность консервации роговицы индейки до 5 суток с сохранением высокой плотности эндотелиальных клеток. Продемонстрирована возможность заготовки ксенотрансплантата для глубокой передней послойной кератопластики из ксеногенного материала роговицы индейки. **Заключение.** Анализ данных конфокальной микроскопии, сканирующей электронной микроскопии, а также оценка состояния ксенотрансплантата после гипотермической консервации позволяют охарактеризовать роговицу индейки как перспективный ксеногенный материал для селективной кератопластики с необходимостью дальнейшего изучения для возможности применения в реконструктивной хирургии роговицы.

Ключевые слова: роговица, индейка, кератопластика, ксенотрансплантация, ксеноматериал.

Для корреспонденции: Керимов Тимур Захирович. Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59а. Тел. (499) 906-50-01. E-mail: TimKerimov2014@yandex.ru

Corresponding author: Timur Kerimov. Address: 59a, Beskudnikovskiy Bul'var, Moscow, 127486, Russian Federation. Phone: (499) 906-50-01. E-mail: TimKerimov2014@yandex.ru

CORNEAL XENOTRANSPLANTATION IN OPHTHALMOLOGY: CHALLENGES AND PROSPECTS

S.A. Borzenok^{1, 2}, O.A. Svitich³, T.Z. Kerimov^{1, 2}

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

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

³ Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Introduction. This paper evaluates the key structural characteristics of turkey cornea and critically analyzes both the obtained results and existing literature to assess the feasibility of using this xenogeneic material for keratoplasty. Currently, more than 12 million patients worldwide are awaiting keratoplasty. The prolonged waiting times is largely driven by severe shortage of cadaveric human corneas required for the procedure. Recent studies have generated growing optimism regarding the potential of xenogeneic keratoplasty; however, the number of animal donors studied to date remains quite limited. In light of this gap, the objective of this study was formulated.

Objective: to assess the main structural characteristics of turkey (*Meleagris gallopavo*) cornea and to evaluate its potential use as a xenogeneic material for selective keratoplasty. **Materials and methods.** Corneoscleral buttons (n = 24) were isolated from enucleated turkey eyeballs. In the first stage, the corneal microstructure was examined using scanning electron microscopy and confocal microscopy. In the second stage, the feasibility of cutting out a corneal xenograft suitable for deep anterior lamellar keratoplasty was evaluated. In the third stage, the potential for preservation of the obtained xenografts using xenogeneic turkey corneal material was assessed.

Results. The turkey cornea was shown to possess all the principal layers characteristic of the human cornea. Its mean thickness was $508 \pm 33.5 \mu\text{m}$, and the presence of Bowman's membrane was confirmed. Preservation of the turkey cornea for up to five days was feasible while maintaining a high endothelial cell density. In addition, the preparation of a xenograft suitable for deep Anterior lamellar keratoplasty from turkey corneal tissue was successfully demonstrated. **Conclusion.** Analysis using confocal microscopy and scanning electron microscopy, together with assessment of xenograft integrity following hypothermic preservation, indicates that turkey cornea represents a promising xenogeneic material for selective keratoplasty. Further studies are warranted to assess its potential application in reconstructive corneal surgery.

Keywords: cornea, turkey, keratoplasty, xenotransplantation, xenogeneic material.

ВВЕДЕНИЕ

По последним данным, на сегодня в мире насчитывается 36 миллионов слепых людей [1]. При этом одной из наиболее распространенных причин потери зрения является поражение роговицы. Для восстановления пораженной ткани роговицы сегодня применяют различные варианты кератопластики – хирургической операции, заключающейся в замене пораженной помутневшей части роговицы реципиента на прозрачную трупную донорскую роговицу.

На сегодня кератопластика крайне востребована, в связи с чем в очереди на данную операцию во всем мире находится более 12 миллионов человек [2, 3]. Основным фактором длительного ожидания кератопластики является значительный дефицит трупных донорских роговиц – основного материала, используемого во время операции по трансплантации роговицы. По этой причине на сегодня поиску и разработке подходящего для кератопластики донорского ксеноматериала посвящается все больше исследований [4–6]. Примечательно, что в историческом аспекте первые задокументированные попытки пересадки роговицы использовали ксенотрансплантаты. Так,

автором концепции ксенотрансплантации является Карл Химли. Его ученик Франц Рейзингер в 1818 году в экспериментах на животных провел первую в мире успешную пересадку роговицы и назвал данную процедуру термином «кератоластика», который с неизменным смыслом дошел до наших дней [7]. Первую клиническую ксенотрансплантацию роговицы от животного человеку осуществил Ричард Киссам в 1838 году, используя в качестве донорского ксеноматериала роговицы свиней [8]. Последующие эксперименты с роговицами различных животных показали скромные результаты. Помимо свиней наиболее обнадеживающие результаты демонстрировали эксперименты по пересадке роговиц гиббонов, которые в 50% случаев оставались прозрачными на сроке наблюдения более 5 месяцев [4]. Однако широкое распространение данного ксеноматериала было исключено, поскольку приматы демонстрируют ограниченную репродуктивную способность, что значительно влияет на доступность материала, а также несет потенциальную опасность передачи многих вирусов, характерных и для человека, в том числе относящихся к ВИЧ-семейству. Помимо вышеуказанных причин использование видов, имеющих много поведенческих сходств с людьми, для части общества

остается этически неприемлемым. По сравнению с нечеловеческими приматами использование свиней имеет несколько преимуществ [4]. Считается, что свиней легче и дешевле разводить, они активно размножаются за счет большого числа особей в помете, существует возможность их генетической модификации для преодоления иммунных барьеров, а также их возможно выращивать в условиях, свободных от внешних патогенов. Помимо вышеуказанных причин свиньи представляют меньшее количество этических проблем, поскольку во многих странах используются в пищу [9]. Однако в некоторых частях мира, исповедующих ислам или иудаизм, использование свиньи как источника роговиц может быть неприемлемо по религиозным соображениям [9]. Также свиная роговица не соответствует человеческой по основным морфологическим характеристикам. Так, толщина свиной роговицы сильно варьирует в зависимости от породы и составляет от 660 до 990 мкм. В то же время нормальная толщина роговицы человека значительно меньше и составляет около 550–560 мкм. Поскольку роговица является биологической линзой, крайне важным аспектом являются ее физические качества. В этом вопросе роговица свиней также значительно отличается от человеческой. Так, толщина свиной роговицы в центральной оптической зоне равна толщине на периферии, в то время как у человека толщина роговицы постепенно увеличивается от центра к периферии. Помимо значимых морфологических отличий роговица свиней не подходит человеку, поскольку индуцирует активную иммунную реакцию. Так, в работе Y.W. Song et al. сообщается, что слой заднего эпителия свиной роговицы экспрессирует CD80 и CD86, что активирует Т-клеточную иммунную реакцию в организме человека и приводит к помутнению и отторжению ксенотрансплантата [10]. Также в работе R. Islam et al. было показано, что нативная свиная роговица индуцирует выработку интерлейкинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, IL-1 α), хемокинов (MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β) и ряда других цитокинов (TNF, G-CSF, INF- γ , FGF-basic). По мнению авторов работы блокада C5 экулизумабом в сочетании с ингибированием TLR4 может иметь терапевтический потенциал при ксенотрансплантации роговицы от свиньи человеку [11]. Еще одной значимой проблемой ксенотрансплантации свиной роговицы является зоонозная передача инфекции. Эндогенный ретровирус свиньи (PERV) является наиболее значимым вирусом, с которым сталкиваются офтальмологи. Известно, что PERV способен интегрироваться в геном свиньи и заражать человеческие клетки в условиях *in vitro*. Исследований *in vivo* о том, что PERV может передаваться хозяевам, на сегодня не существует [10].

По причине значительного морфологического и иммунного несоответствия свиной роговицы чело-

веческой в последние годы подготовку роговичного ксенотрансплантата проводят при помощи децеллюляризации – метода, позволяющего полностью или частично удалить клеточные и иммуногенные компоненты из ксенотрансплантата роговицы, сохраняя при этом внеклеточный матрикс с его нативной микро- и макроскопической структурой. Децеллюляризованная ткань роговицы может служить *in vivo* скаффолдом для регенерации тканей, который сохраняет физиологические свойства, необходимые для замещения органа-мишени. Для внедрения децеллюляризованной роговицы в клиническую практику необходимо введение дополнительного этапа стерилизации для снижения риска передачи трансплантат-ассоциированных инфекций реципиентам. С этой целью обычно используют гамма-облучение – хорошо стандартизированный метод стерилизации [12].

Использование метода децеллюляризации роговицы позволило в последние годы преодолеть основные иммунные барьеры ксенотрансплантации и использовать роговицы животных для лечения заболеваний роговицы у людей. Так, в 2019 году J. Zheng et al. показана возможность использования децеллюляризованных свиных ксенотрансплантатов роговицы для лечения последствий кератита и перфораций роговицы, вызванных вирусом простого герпеса [13]. Позднее, в 2020 году, J. Zheng et al. использовали аналогичные децеллюляризованные свиные ксенотрансплантаты для лечения последствий грибкового кератита, получив значительную прибавку в остроте зрения [14]. Авторы упомянутых исследований акцентируют внимание на высокой эффективности метода децеллюляризации и росте перспективности ксенотрансплантации роговицы в последние годы в связи с совершенствованием способов заготовки ксеноматериала [14].

Развитие ксенотрансплантации роговицы побуждает ученых проводить сравнительные исследования, направленные на поиск оптимального ксеноматериала. Так, в работе ученых из Китая во главе с X.N. Liu в 2016 году сообщаются результаты сравнения эффективности ксенотрансплантации роговицы страуса и свиньи кролику в эксперименте *in vivo* [15]. При анализе полученных данных группа ученых отмечает значительно лучшие результаты прозрачного приживления при использовании роговиц страуса по сравнению с использованием свиных роговиц. В ходе обсуждения результатов исследования авторы подчеркивают необходимость наиболее близкого соответствия основных морфологических и гистологических характеристик донорского ксеноматериала роговицы аналогичным параметрам ткани реципиента. Обобщая полученные данные, авторы исследования приходят к выводу о большем соответствии человеческой роговицы по основным морфологическим

и гистологическим параметрам роговице страуса по сравнению со свиной роговицей. Высокий терапевтический потенциал межвидовой ксенотрансплантации был показан в России еще в середине XX века. Так, в 1956 году в диссертационной работе профессора Аркадия Павловича Нестерова «Экспериментальные исследования по пересадке гетерогенной роговой оболочки» впервые в мире было показано, что использование птичьего, а именно куриного роговичного ксеноматериала во время трансплантации способствует наиболее благоприятному исходу ксенокератопластики по сравнению с использованием роговиц других видов животных [16]. К сожалению, по причине несоответствия диаметра и толщины куриной роговицы человеческой она не может использоваться для современной кератопластики.

В связи с вышеизложенным, опираясь на данные академика А.П. Нестерова [16] и современной научной литературы, С.А. Борзенок предлагает рассмотреть роговицу индейки как возможный перспективный ксеноматериал для ксенокератопластики, поскольку на сегодня в мире нет единого мнения об оптимальном животном-доноре, чей биологический материал возможно использовать в ходе ксенотрансплантации роговицы. По результатам проведенного анализа литературы по теме ксенотрансплантации роговицы становится очевидно, что большинство проведенных исследований посвящены работам со свиными роговицами, однако значительные отличия основных анатомо-топографических, морфологических и рефракционных характеристик свиных роговиц от человеческих являются фундаментальными факторами, ограничивающими возможность клинического применения. В связи с этим нами была определена цель данной работы.

Цель: в эксперименте провести оценку основных структурных характеристик и возможности использования роговицы индейки (лат. *Meleagris gallopavo*) в качестве потенциального ксеногенного материала для селективной кератопластики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выполнения поставленной цели использовали головы индейки (лат. *Meleagris gallopavo*) в количестве 12 штук, из которых затем, согласно принятому алгоритму заготовки трупных донорских роговиц в глазном тканевом банке, были выделены 24 роговично-склеральных комплекса. На первом этапе работы головы индейки использовали при проведении конфокальной микроскопии роговицы с целью оценки толщины, морфологической структуры, а также для подсчета особенностей клеточного состава. Конфокальная микроскопия роговицы индейки проводилась контактным методом на цельных головах при помощи конфокального микроскопа HRT3 (Heidelberg Engineering GmbH, Германия). Для оценки осо-

бенностей микростроения роговицы индейки проводили сканирующую электронную микроскопию при помощи сканирующего электронного микроскопа JSM-6000 Plus (JEOL, Япония). Для этого образцы роговиц фиксировали в растворах формальдегида 4% на 24 часа. Дегидратацию проводили в растворе ацетона по следующей схеме: 5% раствор ацетона – 20 мин, 10% раствор ацетона – 20 мин, 30% раствор ацетона – 20 мин, 50% раствор ацетона – 20 мин, 70% раствор ацетона – 20 мин, 90% раствор ацетона – 20 мин, 100% ацетон – 3 раза по 20 мин. Полученные дегидратированные образцы роговиц помещались в микропористые капсулы CPD800A (Quorum Technologies Ltd., Великобритания). Затем проводили сушку в течение 30 минут в критической точке ($t = 31\text{ }^{\circ}\text{C}$, $P = 7,39\text{ МПа}$) в блоке сушки K850 (Quorum Technologies Ltd., Великобритания), в ходе которой ацетон в образцах замещался на жидкий CO_2 . Затем образцы фиксировали на алюминиевых подставках при помощи карбонового скотча и токопроводящего клея эндотелием вверх и помещали в вакуумную напылительную установку Smart Coater (Structure Probe, Inc., США) для создания электронно-проводящего слоя на поверхности исследуемых роговичных дисков путем нанесения 5 нм слоя золота (проба 999). После окончания пробоподготовки образцы переносили в отсек сканирующего электронного микроскопа для изучения микростроения роговиц. На втором этапе работы из роговично-склеральных комплексов формировали трансплантаты для глубокой передней послойной кератопластики. Для этого выделенный комплекс тканей, состоящий из роговицы и части склеры, ориентировали эндотелием роговицы кверху, фиксируя в таком положении в искусственной передней камере глаза Moria ALK Artificial Anterior Chamber (MORIA Inc., Франция). Затем устанавливали нормотонус и проводили исходную пахиметрическую оценку толщины центральной части роговицы с использованием оптического когерентного томографа iVue100 (Optovue, США). После чего запускали микрокератом Moria Evolution 3E (MORIA Inc., Франция) и формировали трансплантат необходимой толщины (около 350 мкм). Затем проводили итоговую пахиметрическую оценку оставшейся ткани роговицы для контроля толщины сформированного трансплантата для передней послойной кератопластики. На третьем этапе заготовленные трансплантаты для передней послойной кератопластики помещали во флаконы с раствором для консервации роговицы Борзенка–Мороз и хранили в условиях гипотермии ($+4\text{ }^{\circ}\text{C}$). Спустя сутки проводили оценку толщины полученного трансплантата при помощи оптического когерентного томографа. Затем оценивали возможность продолжительной консервации ксенотрансплантата для глубокой передней послойной кератопластики, используя ксеногенный материал роговицы индей-

ки, для чего по окончании консервации на 5-е сутки проводили итоговую пахиметрию при помощи оптического когерентного томографа, после чего трансплантаты выводили из эксперимента и проводили сканирующую электронную микроскопию.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведенной конфокальной микроскопии глазного яблока индейки установлено, что роговица представлена всеми основными слоями, характерными для человеческой роговицы. Установлено наличие боуеновой мембраны, располагающейся на глубине около 50 мкм, аналогично человеческой характеризующейся гиперрефлексивностью и бесструктурностью, отличающейся от человеческой отсутствием на передней поверхности боуеновой мембраны субэпителиального (суббазального) нервного сплетения. Стромальный слой роговицы индейки имеет характерный вид поперечно-полосатой исчерченности. В глубоких слоях определяется наличие единичных интрастромальных нервных волокон. По сравнению с человеческой роговицей в роговице индейки отмечено значительно меньшее количество и плотность стромальных нервных волокон и кератоцитов. Установлено, что толщина роговицы индейки равномерно увеличивается от центра к периферии. Верифицировано наличие десцеметовой мембраны.

Эндотелиальный слой представлен монослоем гексагональных клеток с гиперрефлексивной цитоплазмой и гипорефлексивными границами межклеточных контактов. Плотность эндотелиальных клеток по данным конфокальной микроскопии составляет 4373 ± 532 кл./мм². Пример измерения роговицы индейки в ходе конфокальной микроскопии представлен на рис. 1. Основные морфометрические характеристики нативной роговицы индейки представлены в таблице.

В ходе сканирующей электронной микроскопии установлено, что стромальный слой роговицы индейки представлен плотно упакованными коллагеновыми волокнами, среди которых отмечены минимальные свободные пространства между волокнами и белковые тяжи, скрепляющие коллагеновые волокна в поперечном направлении. По данным электронно-микроскопического исследования, слой заднего эпителия представлен гексагональными клетками с высокой плотностью и тесными межклеточными контактами. Пример снимка сканирующей электронной микроскопии роговицы индейки представлен на рис. 2.

Из энуклеированных глазных яблок индейки по стандартному алгоритму заготовки трупных донорских роговиц были выделены роговично-склеральные комплексы. Процесс выделения роговично-склерального комплекса представлен на рис. 3.

Из выделенных роговично-склеральных комплексов были заготовлены трансплантаты для передней послойной кератопластики. Средняя толщина заготовленного ксенотрансплантата для передней послойной кератопластики составила $325 \pm 42,9$ мкм. Выкраивание ксенотрансплантата для передней послойной кератопластики со стороны эндотелия в сочетании с использованием лезвия 130 мкм позволяло наиболее точно предусмотреть итоговую толщину полученного ксенотрансплантата.

Таблица

Основные морфометрические характеристики нативной роговицы индейки

Main morphometric characteristics of native turkey cornea

Толщина роговицы, мкм	$508 \pm 33,5$
Толщина стромы, мкм	$440 \pm 29,7$
Плотность кератоцитов на мм ²	478 ± 43
Плотность эндотелиальных клеток на мм ²	4373 ± 532

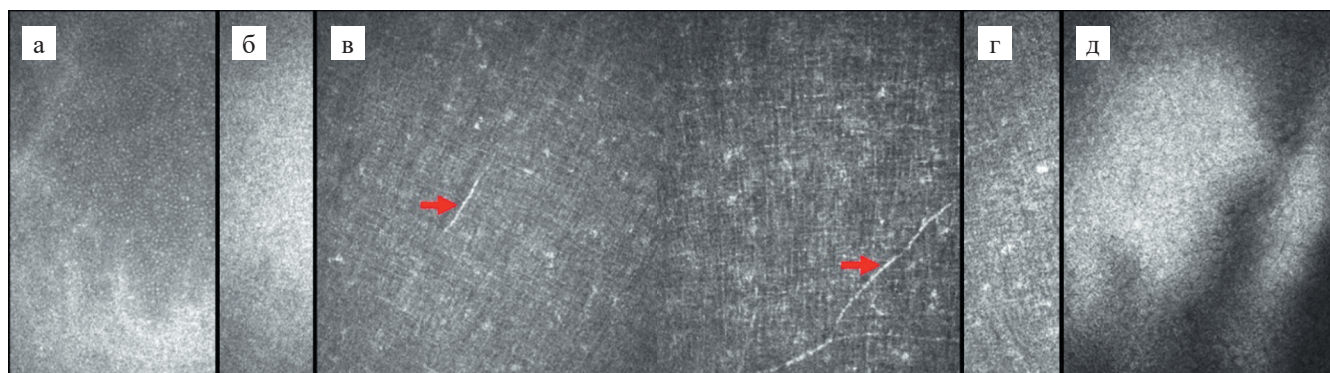


Рис. 1. Конфокальная микроскопия роговицы индейки: а – передний эпителий; б – боуенова мембрана; в – строма; г – десцеметова мембрана; д – задний эпителий. Стрелками указаны стромальные нервные волокна

Fig. 1. Confocal microscopy of a turkey cornea: а – anterior epithelium; б – Bowman’s layer; в – stroma; г – Descemet’s membrane; д – posterior epithelium. Arrows indicate stromal nerve fibers

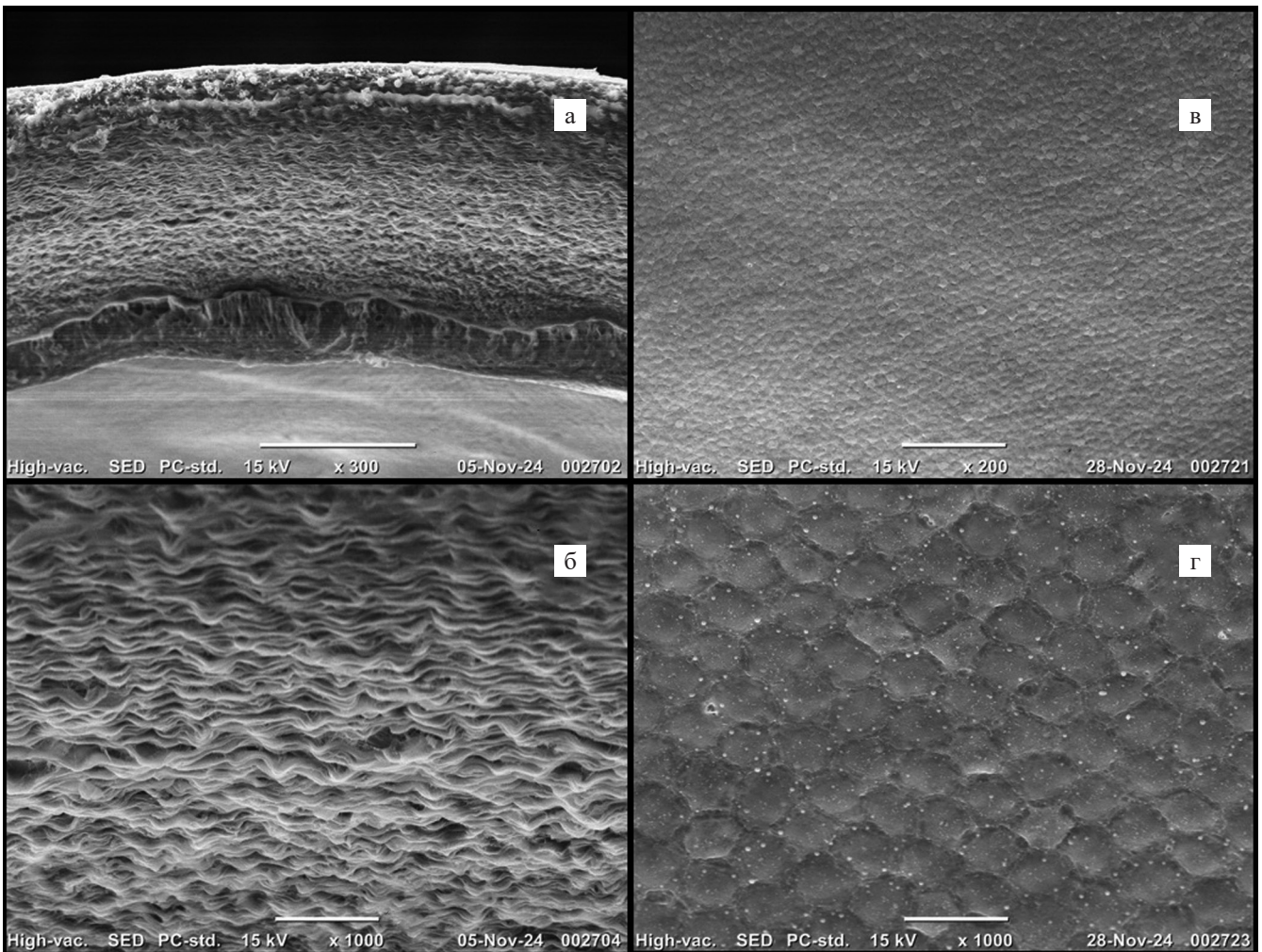


Рис. 2. Сканирующая электронная микроскопия роговицы индейки: а – обзорный снимок стромы; б – коллагеновые волокна стромы; в – обзорный снимок заднего эпителия; г – гексагональные клетки заднего эпителия

Fig. 2. Scanning electron microscopy of a turkey cornea: а – overview of the stroma; б – stromal collagen fibers; в – overview of the posterior epithelium; г – hexagonal cells of the posterior epithelium

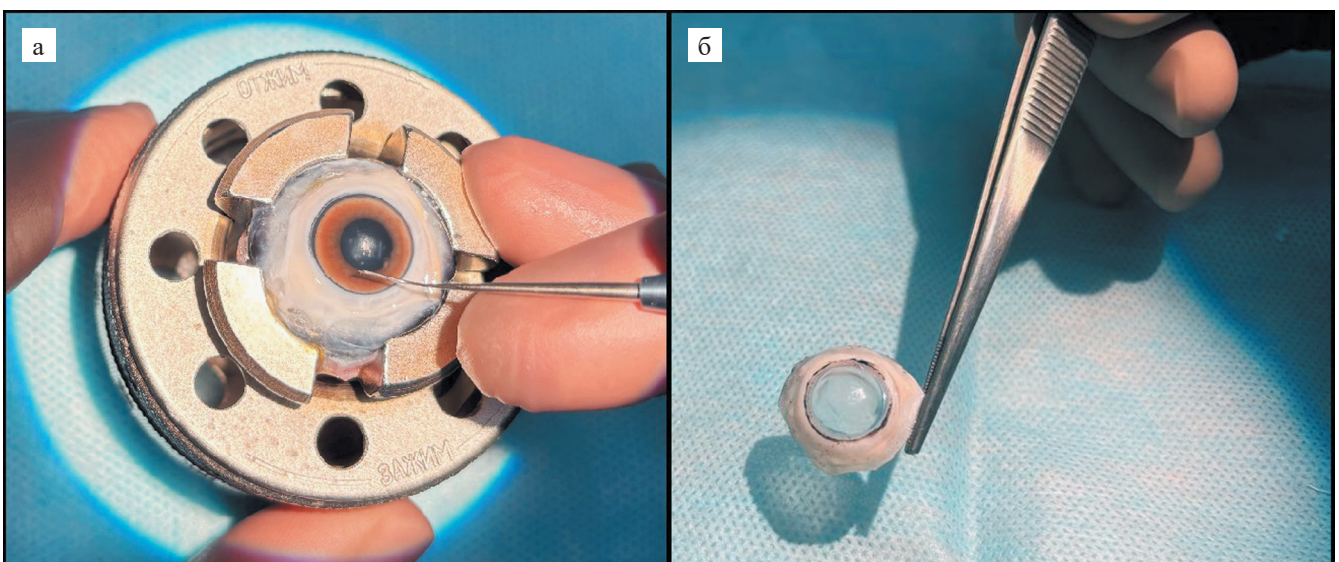


Рис. 3. Процедура выделения из энуклеированного глазного яблока индейки (а) роговично-склерального комплекса (б)

Fig. 3. Procedure for isolating the corneal button (б) from an enucleated turkey eyeball (а)

Спустя сутки консервации толщина трансплантата достоверно увеличилась и составила $385 \pm 53,9$ мкм. Пример оценки заготовленного трансплантата для передней послойной кератопластики методом оптической когерентной томографии после 1 суток гипотермической консервации в растворе для хранения роговицы с толщиной роговицы в центральной зоне, равной 369 мкм, представлен на рис. 4.

Величина отека ксенотрансплантата для передней послойной кератопластики на основе роговицы индейки на всех сроках наблюдения не превышала величину отека роговицы человека на аналогичных сроках наблюдения. Величину отека ксенотрансплантата стоит учитывать при подготовке ксенотрансплантата для использования в клинической практике аналогично трансплантатам, заготовленным из трупных донорских человеческих роговиц. Среднее значение толщины ксенотрансплантата для передней послойной кератопластики спустя 5 суток гипотермической консервации в растворе для хранения роговицы составило $445 \pm 61,5$ мкм. Пример оценки заготовленного ксенотрансплан-

тата для передней послойной кератопластики методом оптической когерентной томографии после 5 суток гипотермической консервации в растворе для хранения роговицы с толщиной роговицы в центральной зоне, равной 433 мкм, представлен на рис. 5.

По окончании консервации на 5-е сутки образцы экспериментальных ксенотрансплантатов роговицы для передней послойной ксенокератопластики были исследованы методом сканирующей электронной микроскопии. Было установлено, что спустя 5 суток консервации поверхность стромы после работы микрокератома имела ровный рельеф, коллагеновые волокна трансплантата сохраняли правильную поперечно-полосатую исчерченность. По данным сканирующей электронной микроскопии отмечена сохранность пласта клеток заднего эпителия, имеющих гексагональную форму, что говорит о переносимости роговицы индейки гипотермической консервации до 5 суток. Пример изображения роговицы спустя 5 суток консервации, полученный методом сканирующей электронной микроскопии, представлен на рис. 6.

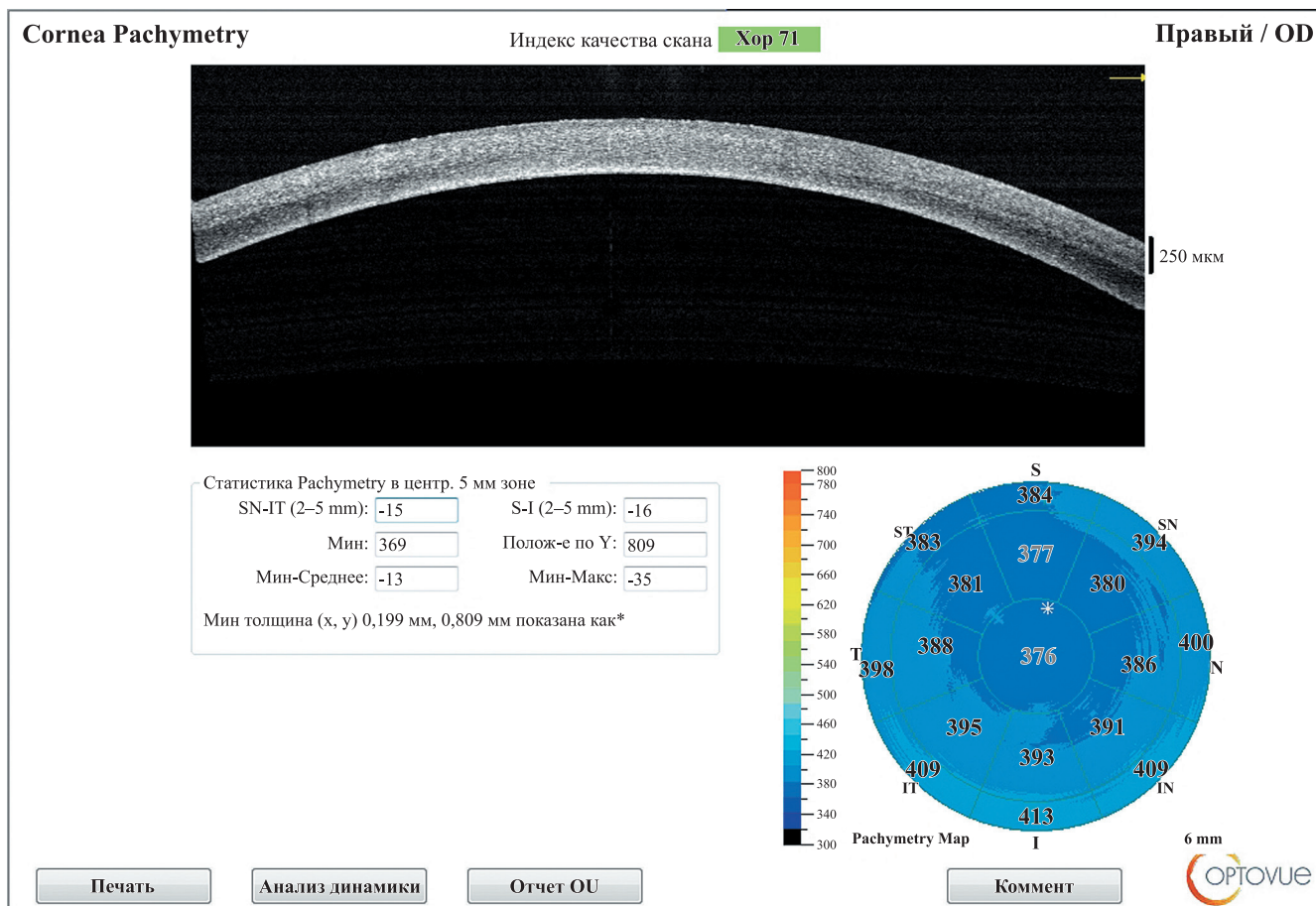


Рис. 4. Оптическая когерентная томография трансплантата для передней послойной кератопластики после 1 суток консервации

Fig. 4. Optical coherence tomography of the graft for anterior lamellar keratoplasty after 1 day of preservation

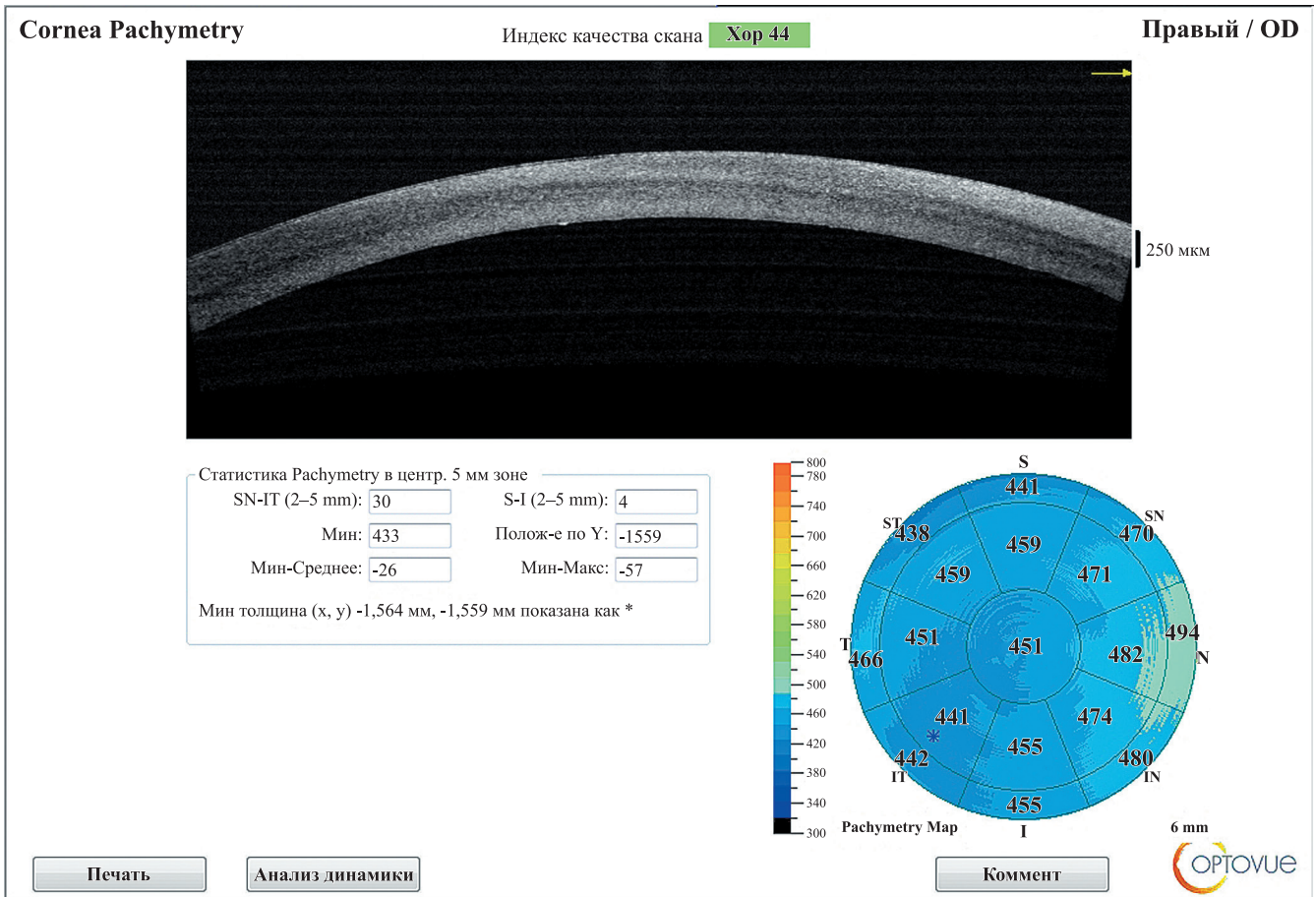


Рис. 5. Оптическая когерентная томография трансплантата для передней послойной кератопластики после 5 суток консервации

Fig. 5. Optical coherence tomography of the graft for anterior lamellar keratoplasty after 5 days of preservation

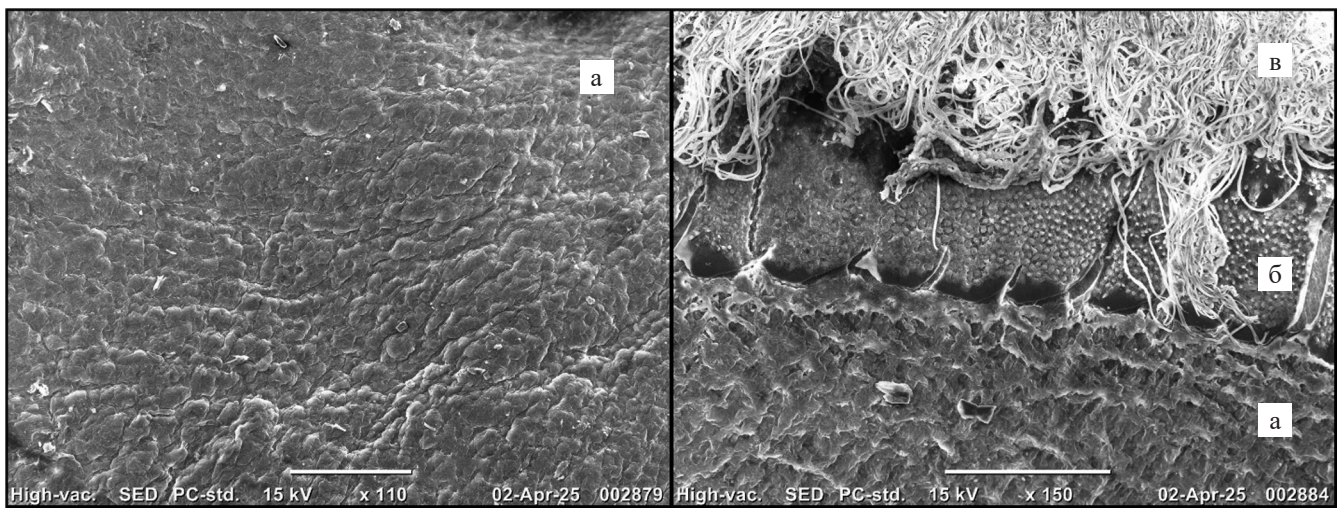


Рис. 6. Сканирующая электронная микроскопия роговицы индейки после гипотермической консервации на 5-е сутки: а – поверхность стромы после работы микрокератома; б – эндотелий на периферии роговицы; в – трабекулярная сеть глаза

Fig. 6. Scanning electron microscopy of a turkey cornea after 5 days of hypothermic preservation: а – stromal surface after microkeratome treatment; б – endothelium at the periphery of the cornea; в – trabecular meshwork of the eye

ОБСУЖДЕНИЕ

Настоящая работа была посвящена проведению экспериментальной оценки основных структурных характеристик роговицы индейки, а также изучению возможности использования роговицы индейки в качестве потенциального ксеногенного материала для селективной кератопластики, в частности для передней послойной кератопластики. Исследования трупных донорских человеческих роговиц, как показано в научной литературе, возможно проводить при помощи некоторых офтальмологических приборов, однако это может быть затруднительно при использовании ксеногенного материала. В этой связи в ходе настоящего исследования впервые показана возможность проведения конфокальной микроскопии роговицы индейки на нативных глазах индейки, без предшествующей энуклеации, что позволяет объективизировать полученные данные. Интерпретация полученных данных проводилась специалистами с многолетним опытом работы с данными приборами, а также все исследования выполнялись с привлечением одних и тех же специалистов и калиброванных приборов. В результате проведенного исследования впервые было получено представление о следующих фундаментальных характеристиках роговицы индейки по данным конфокальной микроскопии: толщина роговицы индейки $508 \pm 33,5$ мкм; толщина стромального слоя $440 \pm 29,7$ мкм, плотность кератоцитов 478 ± 43 кл./мм² и плотность эндотелиальных клеток 4373 ± 532 кл./мм². Установлено, что из роговицы индейки возможно сформировать ксенотрансплантат для передней послойной кератопластики необходимой толщины при помощи стандартного оборудования Глазного тканевого банка. Показано, что модернизация оборудования под данный ксеноматериал в таком случае не требуется. Также установлено, что ксенотрансплантат для передней послойной кератопластики из роговицы индейки переносит гипотермическую консервацию в среде для хранения роговицы Борзенка–Мороз до 5 суток. В данной работе показана часть основных параметров роговицы индейки, однако на данном этапе можно заключить, что роговица индейки является перспективным материалом для ксенокератопластики, поскольку широко распространенные свиные роговицы по основным ключевым параметрам, в том числе по толщине, имеют значительные отличия от человеческих роговиц. Так, толщина роговицы свиньи в центральной зоне значительно превосходит человеческую, что, вероятно, для их использования потребует пересмотра и модернизации оборудования для заготовки трансплантата для передней послойной кератопластики. В этой связи в отличие от свиной роговицы роговица индейки в значительной степени приближена по толщине к человеческой. Поскольку роговица, как известно,

вносит значительный вклад в оптическую систему глаза, крайне важно отметить, что роговица свиньи имеет одинаковую толщину центральной зоны и периферии, что является значительным отличием от роговицы индейки и человека, которые имеют более тонкую центральную часть и равномерно утолщаются к периферии. Таким образом, вышеуказанные особенности не позволяют охарактеризовать свиную роговицу как оптимальный ксеноматериал для кератопластики. По этой причине существует возможность использования роговицы индейки в процессе разработки ксенотрансплантата для кератопластики в качестве нового ксеногенного материала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные о фундаментальных особенностях строения роговицы индейки, а именно общая морфологическая структура, толщина роговицы, плотность кератоцитов и клеток эндотелиального монослоя, количество нервных волокон и организация коллагеновых волокон стромы, позволяют охарактеризовать роговицу индейки как перспективный донорский ксеногенный материал для ксенокератопластики, однако требующий дальнейшего изучения перед возможностью применения в реконструктивной хирургии роговицы.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Ackland P, Resnikoff S, Bourne R. World blindness and visual impairment: despite many successes, the problem is growing. *Community Eye Health*. 2017; 30 (100): 71–73.
2. Holland G, Pandit A, Sánchez-Abella L, Haiek A, Loiaz I, Dupin D et al. Artificial Cornea: Past, Current, and Future Directions. *Front Med (Lausanne)*. 2021 Nov 12; 8: 770780. doi: 10.3389/fmed.2021.770780.
3. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, Thuret G. Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking. *JAMA Ophthalmol*. 2016 Feb; 134 (2): 167–173. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.4776.
4. Yoon CH, Choi HJ, Kim MK. Corneal xenotransplantation: Where are we standing? *Prog Retin Eye Res*. 2021 Jan; 80: 100876. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100876.
5. Nascimento H, Martins TMM, Moreira R, Barbieri G, Pires P, Carvalho LN et al. Current Scenario and Future Perspectives of Porcine Corneal Xenotransplantation. *Cornea*. 2025 Mar 1; 44 (3): 387–404. doi: 10.1097/ICO.0000000000003723.
6. Kim MK, Hara H. Current status of corneal xenotransplantation. *Int J Surg*. 2015 Nov; 23 (Pt B): 255–260. doi: 10.1016/j.ijssu.2015.07.685.

7. Maghsoudlou P, Sood G, Gurnani B, Akhondi H. Cornea Transplantation. 2024 Feb 24. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30969512/>.
8. Crawford AZ, Patel DV, McGhee CNj. A brief history of corneal transplantation: From ancient to modern. *Oman J Ophthalmol*. 2013 Sep; 6 (Suppl 1): S12–S17. doi: 10.4103/0974-620X.122289.
9. Hara H, Cooper DK. Xenotransplantation – the future of corneal transplantation? *Cornea*. 2011 Apr; 30 (4): 371–378. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181f237ef.
10. Song YW, Pan ZQ. Reducing porcine corneal graft rejection, with an emphasis on porcine endogenous retrovirus transmission safety: a review. *Int J Ophthalmol*. 2019 Feb 18; 12 (2): 324–332. doi: 10.18240/ijo.2019.02.21.
11. Islam R, Islam MM, Nilsson PH, Mohlin C, Hagen KT, Paschalis EI et al. Combined blockade of complement C5 and TLR co-receptor CD14 synergistically inhibits pig-to-human corneal xenograft induced innate inflammatory responses. *Acta Biomater*. 2021 Jun; 127: 169–179. doi: 10.1016/j.actbio.2021.03.047.
12. Shi Y, Bikkuzin T, Song Z, Jin X, Jin H, Li X, Zhang H. Comprehensive evaluation of decellularized porcine corneal after clinical transplantation. *Xenotransplantation*. 2017 Nov; 24 (6): e12338. doi: 10.1111/xen.12338.
13. Zheng J, Huang X, Zhang Y, Wang Y, Qin Q, Lin L et al. Short-term results of acellular porcine corneal stroma keratoplasty for herpes simplex keratitis. *Xenotransplantation*. 2019 Jul; 26 (4): e12509. doi: 10.1111/xen.12509.
14. Zheng Q, Zhang Y, Ren Y, Zhao Z, Hua S, Li J et al. Deep anterior lamellar keratoplasty with cross-linked acellular porcine corneal stroma to manage fungal keratitis. *Xenotransplantation*. 2021 Mar; 28 (2): e12655. doi: 10.1111/xen.12655.
15. Liu XN, Zhu XP, Wu J, Wu ZJ, Yin Y, Xiao XH et al. Acellular ostrich corneal stroma used as scaffold for construction of tissue-engineered cornea. *Int J Ophthalmol*. 2016 Mar 18; 9 (3): 325–331. doi: 10.18240/ijo.2016.03.01.
16. Нестеров АП. Экспериментальные исследования по пересадке гетерогенной роговой оболочки: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Куйбышев, 1956; 20. Nesterov AP. Experimental studies on transplantation of heterogeneous cornea: Abstract of Cand. Sci. (Medicine) dissertation. Kuibyshev, 1956; 20.

Статья поступила в редакцию 8.07.2025 г.
The article was submitted to the journal on 8.07.2025