



Меликсетян Н.А. ✉, Суббот А.М., Марченко Н.Р., Осипян Г.А.
Научно-исследовательский институт глазных болезней имени М.М. Краснова,
Москва, Россия

Методы и техники сохранения корнеосклерального лоскута с жизнеспособным эндотелиальным слоем

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: сбор и обработка материала, написание текста – Меликсетян Н.А., Суббот А.М.; редактирование – Суббот А.М., Марченко Н.Р., Осипян Г.А.

Подана: 02.10.2025

Принята: 10.11.2025

Контакты: n.9055889594@yandex.ru

Резюме

Проблема дефицита донорского материала для проведения кератопластики ставит вопрос о разработке различных технологий длительного сохранения роговицы, в первую очередь с целью поддержания жизнеспособности ее самого уязвимого слоя – эндотелия. Обзор охватывает исторические и современные аспекты развития методов консервации донорской роговицы. В работе собраны данные отечественных и зарубежных исследований, посвященных технологиям консервации, включая криоконсервацию, органное культивирование и гипотермию. В обзоре особое внимание уделено гипотермическому методу консервации донорской роговицы и освещено разнообразие составов консервационных сред, применяемых по всему миру. В заключении подчеркнута необходимость дальнейших исследований для оптимизации существующих и разработки новых консервационных сред, которые обеспечивают долгосрочное сохранение донорской роговицы с жизнеспособным эндотелиальным слоем.

Ключевые слова: консервация роговицы, эндотелиальные клетки, кератопластика, криоконсервация, органное культивирование, гипотермическая консервация роговицы, среда для сохранения роговицы

Meliksetyan N. ✉, Subbot A., Marchenko N., Osipyan G.
Krasnov Research Institute of Eye Diseases, Moscow, Russia

Methods and Techniques of Corneoscleral Flap Preserving with a Viable Endothelial Layer

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: collection and processing of material, writing the text – Meliksetyan N., Subbot A.; editing – Subbot A., Marchenko N., Osipyan G.

Submitted: 02.10.2025

Accepted: 10.11.2025

Contacts: n.9055889594@yandex.ru

Abstract

The problem of the donor cornea tissue shortage raises the issue of various techniques developing for long-term cornea preservation, particularly for preserving its most vulnerable layer – the endothelium. This review highlights historical and modern aspects of the donor cornea preservation methods. Worldwide studies on preservation technologies are summarized, including cryopreservation, organ cultivation and hypothermia. This review also describes the hypothermic method of donor cornea preservation and the variety of preservation media compositions used worldwide. Further studies are required for optimal preservation media development in order to maintain the viable endothelial layer of donor corneas.

Keywords: corneal preservation, endothelial cells, keratoplasty, cryopreservation, organ culturing, hypothermic corneal preservation, corneal preservation media

■ ВВЕДЕНИЕ

Пересадка донорской роговицы, или кератопластика, является самой распространенной и успешной формой трансплантации органов в мире [1]. Однако недостаточное количество донорского материала и короткий срок его пригодности к трансплантации ограничивают возможности проведения таких операций и приводят к формированию долгих списков ожидания. Поэтому непрерывно ведутся разработки способов длительного сохранения материала, идут поиски его альтернативных источников.

Первые публикации в медицинской литературе о возможности сохранения кадаверных человеческих глаз для дальнейшей трансплантации роговицы принадлежат нашему соотечественнику – советскому ученому с мировым именем академику В.П. Филатову. В 1934 г. благодаря его исследованиям было положено начало решению проблемы хранения донорских роговиц в условиях глазного банка. Ученый предложил метод консервации свежих энуклеированных кадаверных глаз при температуре от +2 до +4 °C в стерильной стеклянной емкости с плотно закрывающейся крышкой, наполненной влажным воздухом в асептических условиях, после обработки глазного яблока раствором бриллиантового зеленого – хранение во «влажной камере» по Филатову. На основании многочисленных экспериментальных и клинических исследований В.П. Филатова было установлено, что оптимальные условия

банкирования кадаверных глаз в таких условиях сохраняются не более трех суток [2, 3]. Такой способ хранения по сей день широко применяется в офтальмохирургии. Однако недостатком метода является короткий срок хранения: уже на четвертые сутки консервации во «влажной камере» роговица теряет свою прозрачность и недопустима к трансплантации. Дегградация материала происходит вследствие того, что после прекращения кровоснабжения клетки роговицы, лишенные доступа к кислороду и питательным веществам, постепенно гибнут и разрушаются, что влечет за собой накопление конечных продуктов метаболизма во влаге передней камеры. Маркером разрушения клеток является накопление в передней камере лактатдегидрогеназы и сукцинатдегидрогеназы [4]. Гибель клеток эндотелия приводит к стромальному отеку и снижению прозрачности роговицы.

Обеспечение целостности и сохранение функциональности эндотелиального слоя является приоритетной задачей успешной кератопластики. Поэтому критически важно сохранить этот слой интактным при консервации. Это послужило началом для сдвига консервационной парадигмы от использования цельного кадаверного глазного яблока в сторону формирования изолированного корнеосклерального лоскута. На сегодняшний день проводятся многочисленные исследования, направленные на изучение трех основных методов консервации с сохранением жизнеспособности эндотелиального слоя:

- 1) криоконсервация – хранение материала при температуре от -70°C до -196°C в течение длительного срока с использованием криопротекторов (для уменьшения холодового и осмотического шока клеток);
- 2) нормотермический метод – хранение материала при температуре от $+31^{\circ}\text{C}$ до $+37^{\circ}\text{C}$ сроком до 35 дней в питательной среде;
- 3) гипотермический метод – хранение материала при температуре от $+2^{\circ}\text{C}$ до $+4^{\circ}\text{C}$ сроком до 14 дней в консервационном растворе.

Используя метод криоконсервации и гипотермии, мы имеем возможность вводить ткани в частичный анабиоз, т. е. достигать обратимого временного снижения интенсивности процессов жизнедеятельности, с целью отсрочить трансплантацию ткани без потери ее жизнеспособности [5].

■ КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Криоконсервацию используют в различных областях медицины с целью сохранения клеток крови, яйцеклеток, семени, эмбрионов и в том числе роговицы [6]. Используют две основные технологии: программируемое медленное замораживание (slow programmable freezing, SPF) и витрификацию («остекловывание»). При медленном замораживании вода в растворе претерпевает переход из жидкой фазы в твердую посредством кристаллизации, т. е. образования льда. Витрификация же предполагает быстрое охлаждение биологического материала в среде с высокой концентрацией смеси криопротекторов, предотвращающих формирование льда. Достигнув температуры фазового перехода, раствор приобретает свойства твердого вещества, при этом сохраняя хаотичное расположение молекул, подобно жидкости.

Обе техники имеют множество модификаций, направленных на повышение жизнеспособности клеточных структур после размораживания. Для повышения криорезистентности роговицы применяют смеси специальных веществ – криопротекторов.



Криопротекторы делятся на два типа по их способности проникать через плазматическую мембрану:

- 1) эндоцеллюлярные (мембранопроникающие) – глицерин, диметилсульфоксид, пропиленгликоль и этиленгликоль;
- 2) экзоцеллюлярные (мембранонепроникающие) – сахароза, трегалоза, фикоколл, альбумин, поливинилпирролидон и декстран [7].

Первый тип уменьшает свободное содержание внутриклеточной воды и предотвращает возможность возникновения кристаллов льда во время заморозки. Второй тип воздействует на скорость образования кристаллов вне клетки, защищает от осмотического шока и увеличивает концентрацию растворенных веществ в клетках [8]. Использование смеси из двух типов криопротекторов позволяет достичь максимальной защиты клеток.

В 1965 г. в США была успешно выполнена сквозная кератопластика с использованием донорской роговицы после медленного замораживания в криозащитном растворе. Подготовку осуществляли следующим образом: корнеосклеральный лоскут после промывания комбинированным антибактериальным раствором неоспорина, содержащим бацитрацин, неомицин и полимиксин В, погружали в жидкую среду, содержащую диметилсульфоксид и сахарозу. Затем флакон подвергали контролируемому равномерному охлаждению до -80°C с последующим переносом в жидкий азот при -190°C на длительное хранение. При надобности использования такого материала выполняли размораживание флакона в теплой воде в течение 1–2 минут. После этого роговицу переносили в раствор альбумина при температуре $+4^{\circ}\text{C}$, затем в течение 10 минут донорский материал необходимо использовать для трансплантации [9]. Несмотря на преимущество длительного хранения (до одного года и более), распространение этой техники ограничивают ряд весомых и неоспоримых факторов. Во-первых, материал должен быть получен от донора моложе 50 лет (предположительно с большой плотностью эндотелиальных клеток) и не позднее чем через шесть часов после смерти. Во-вторых, консервирование и размораживание материала необходимо проводить специально обученному персоналу с особой осторожностью из-за высокого риска повреждения эндотелиальных клеток. Кроме того, следует отметить потребность в специальном дорогостоящем оборудовании (азотном криохранилище) и шаговой доступности к операционной.

Витрификация обеспечивает сохранение архитектоники и целостности тканей как при заморозке, так и при оттаивании материала [10]. Однако мембранопроникающие криопротекторы, такие как пропиленгликоль и этиленгликоль, токсичны, в связи с чем после размораживания витрифицированной роговицы происходит необратимая потеря эндотелиальных клеток [11, 12].

В 1965 г. F.W. Stocker исследовал возможность сохранения донорской роговицы в сыворотке крови реципиента при $+4^{\circ}\text{C}$ до проведения кератопластики [13]. Сыворотка, содержащая естественные белки, факторы роста и витамины, создает более физиологичную среду для хранения роговицы, сохраняя жизнеспособность эндотелиальных клеток, и снижает риск отторжения. Такой подход показал преимущества сывороточных сред для хранения роговицы, став основой для создания современных гипотермических и культуральных сред [14]. Однако необходимость забора крови и высокая вероятность контаминации ограничили применение этого подхода

в условиях глазного банка, что привело к переходу на более стандартизированные и контролируемые среды для хранения.

В 1975 г. Т.И. Ерошевский и Н.М. Яхина предложили использовать гамма-глобулин для консервации роговицы при температуре от 0 °C до +4 °C в сроки от 12 часов до трех месяцев с целью снижения иммунного ответа и уменьшения риска отторжения. Неоваскуляризацию трансплантата авторы рассматривали как маркер реакции тканевой несовместимости [80]. Результаты сравнительного исследования показали, что использование раствора иммуноглобулина при гипотермической консервации позволяет сохранить 75–80% эндотелиальных клеток после семи дней хранения, в то время как при использовании «влажной камеры» по Филатову теряется более 60% эндотелиоцитов [82]. Однако из-за дефицита гамма-глобулина и потенциальных рисков, связанных с препаратами крови, метод не получил широкого распространения. Современные подходы к консервации роговицы и иммуносупрессии обеспечивают более эффективное и безопасное снижение риска отторжения, что делает этот метод исторически значимым, но неактуальным в современной практике [81].

■ НОРМОТЕРМИЧЕСКИЙ МЕТОД

Нормотермическая консервация, предложенная в 1974 г., представляет собой метод органного культивирования эндотелиоцитов, при котором донорский корнеосклеральный лоскут сохраняют в базовой питательной среде в условиях термостата при температуре, близкой к температуре тела человека [14].

Добавление к культуральной среде декстрана, антибиотиков и антимикотиков позволяет сохранить ультраструктуру роговицы, нормальную толщину стромы, избежать складок десцеметовой мембраны, обеспечить высокую жизнеспособность эндотелия и увеличить срок консервации до пяти недель, одновременно подавляя рост бактериальной и грибковой микрофлоры. На сегодняшний день пенициллин, стрептомицин и гентамицин – наиболее часто используемые антибиотики, а амфотерицин В – наиболее часто используемый антимикотик [15].

В своих работах S. Sperling в 1979 г. смог модифицировать ранее принятые эталоны нормотермической консервации, оптимизировав температуру инкубации и состав среды. Наименьшую потерю клеток эндотелия наблюдают при температуре +31 °C в средах, состоящих из 8% декстрана-250 и 20% сыворотки или 8% декстрана-500 и 10% сыворотки [16]. Протективные свойства декстрана обусловлены его высокой осмолярностью: эндотелиоциты остаются неповрежденными и функционально сохраненными на протяжении 20 дней консервации [17].

Однако имеется публикация, свидетельствующая о токсическом эффекте декстрана при длительном воздействии [18]. Несмотря на известные риски, декстран остается неотъемлемым компонентом консервации роговицы с целью предотвращения отека ткани, а температура консервации может варьироваться от +31 до +37 °C [19]. Учитывая набухание стромы в процессе консервации, было предложено хранить роговицу в среде без декстрана с последующим переносом в 5% декстран-500 за 24 часа до трансплантации.

С точки зрения микробиологической безопасности нормотермическая техника превосходит остальные методики по причине того, что антибиотики и противогрибковые средства действуют более эффективно при температуре, близкой к температуре тела человека [22]. Кроме того, инфицирование ткани легче выявить при

нормотермической консервации, так как рост патогенных микроорганизмов в условиях термостата происходит быстрее.

Качество донорского эндотелия критически важно для успешной сквозной кератопластики, поэтому выбор метода консервации должен гарантировать жизнеспособность клеток этого слоя. Исследования D.J. Doughman в 1974 г. и S. Sperling в 1979 г. были направлены на усовершенствование критериев оценки состояния эндотелия после нормотермической консервации. Сформированные авторами критерии оценки структурной и функциональной целостности эндотелия включали: целостность монослоя, плотность слоя не менее 2000 клеток/мм², регулярность клеточной мозаики, состояние межклеточных контактов, утрату не более 20% от исходного количества клеток [15].

В ходе многочисленных исследований было проведено сравнение нормотермической и гипотермической консервации роговицы. Так, W.M. Bourne и соавторы в 1977 г. получили идентичные результаты потери эндотелиальных клеток в отдаленном послеоперационном периоде после консервации обоими методами [20]. Ретроспективный анализ с оценкой остроты зрения, плотности эндотелия и толщины роговицы также показал сопоставимые результаты [21].

Скрининговое исследование среды на патогены проводят на седьмые сутки от начала хранения и непосредственно перед трансплантацией. Благодаря этому менее 5% роговиц отбраковывается до пересадки, в то время как при гипотермической технике исследование на предмет контаминации роговицы возможно только после кератопластики [22, 23]. Тем не менее имеются данные о кандидозном эндофтальмите после нормотермической консервации [24].

Резюмируя вышеизложенное, следует отметить, что нормотермический метод сохранения донорского материала имеет некоторые преимущества даже перед более современным гипотермическим способом консервации: увеличенный срок хранения позволяет планировать операции и минимизировать потери донорской ткани, а температурный режим дает возможность контролировать питательную среду перед кератопластикой на предмет контаминации патогенной микрофлорой. На сегодняшний день эта техника консервации является альтернативой более распространенному гипотермическому методу, однако из-за дороговизны, трудоемкости и необходимости проведения культуральных работ нормотермическая консервация все же менее распространена.

■ ГИПОТЕРМИЧЕСКИЙ МЕТОД

Гипотермическая консервация – на сегодня наиболее распространенный в мировой практике способ сохранения донорской роговицы в системе глазного банкирования. Этот метод предполагает хранение ткани в жидкой питательной среде при температуре от +2 до +4 °С. В таких условиях происходит замедление скорости обменных процессов в клетках и уменьшение потребления кислорода. Однако низкая температура подавляет ионный транспорт, вызывая отек клеток. Несмотря на это, метод поддерживает жизнеспособность трансплантата, замедляя ферментативные процессы до минимума [25].

В 1974 г. B.E. McCarey и H. Kaufman разработали первую для консервации роговицы успешную жидкую питательную среду McCarey – Kaufman (M-K, США), которая позволяла сохранять корнеосклеральный лоскут в условиях гипотермии

до 14 дней [26, 27]. Основой состава М-К служила среда «ТС 199» (базовая питательная среда для культивирования тканей), содержащая 5% декстрана в качестве осмотически активного вещества, с добавлением буферного раствора HEPES (стабилизатор pH), бикарбоната натрия, фенолового красного (индикатор pH) и стрептомицина с пенициллином. Впоследствии комбинация этих антибактериальных препаратов была заменена на гентамицин. Однако из-за низкой эффективности гентамицина против большинства штаммов стрептококков и стафилококков имели место случаи послеоперационного эндофтальмита бактериальной этиологии [28, 29]. Корнеосклеральный лоскут должен быть помещен в среду в течение 48 часов после смерти донора во избежание негативного влияния влаги передней камеры на эндотелиоциты [30].

По мере расширения знаний и возможностей в вопросе сохранения максимального количества жизнеспособных клеток донорской роговицы росли требования к составу оптимальной консервационной среды. Идеальная среда должна поддерживать на минимальном уровне метаболизм клеток, обеспечивать осмотическое и онкотическое равновесие для предотвращения отека, сохранять оптимальный уровень pH и оставаться стерильной [31].

Исследователи разрабатывают и предлагают многочисленные модификации среды М-К. Например, в варианте K-Sol (Cilco, США) декстран заменен на 2,5% хондроитин сульфат, добавлен гентамицин, а в качестве базы использована среда «ТС 199» [32]. Однако случаи эндофтальмита (стафилококкового, стрептококкового и грибкового) поставили под сомнение эффективность антибактериальной защиты гентамицина [33]. В среде K-Sol трансплантационные свойства материала сохраняются до 10 дней [34].

Модифицированная среда Dexsol (Chiron Ophthalmics, США) отличается от K-Sol антибактериальной комбинацией гентамицина в концентрации 100 г/мл и ванкомицина в концентрации 10 г/мл с целью эффективного подавления роста патогенной микрофлоры [35]. В ходе исследования роговиц собак, консервированных в Dexsol, наблюдали сохранность структурно-функциональных характеристик эндотелиальных клеток на протяжении девятидневного периода наблюдения. Однако уже с третьего дня отмечали изменения межклеточных контактов, а с седьмого дня – плеоморфизм клеток эндотелия [36].

Несмотря на достоинства Dexsol, среда Optisol (Chiron Ophthalmics, США) продемонстрировала лучшие показатели сохранности донорского материала. Среда Optisol, разработанная в 1990 г., представляет собой гибрид М-К и Dexsol. Она содержит 2,5% хондроитин сульфат, 1% декстран молекулярной массой 40 000, комбинацию базовых сред «ТС 199» и MEM (минимальная среда Игла для культивирования клеток млекопитающих), HEPES-буфер, гентамицин, дополнительные аминокислоты, бикарбонат натрия, пируват натрия, антиоксиданты и предшественники АТФ (аденозин, инозин, аденин) [37, 38]. Исследования показали, что консервация роговиц в среде Optisol в течение 14 дней при +4 °С приводит к меньшим морфологическим изменениям и более высокой сохранности эндотелиальных структур, чем хранение в среде Dexsol в аналогичных условиях. По мнению исследователей, это связано с антиоксидантными свойствами хондроитина сульфата, который предотвращает повреждение клеточных мембран, вызванное перекисным окислением липидов.



Из многочисленных зарубежных модификаций сред лидирующей стала Optisol-GS (Bausch & Lomb, США), содержащая комбинацию гентамицина в концентрации 100 мкг/мл со стрептомицином в концентрации 200 мкг/мл [40, 41]. Сочетание двух антибактериальных препаратов обеспечивает защиту от широкого спектра микроорганизмов, включая стрептококки и стафилококки. В серии исследований среда Optisol-GS демонстрирует высокие показатели качества донорского материала, сохраняя прозрачность стромы, структурную и функциональную целостность клеток эндотелия [39, 42].

Для среды Dexsol предложена композиция с добавлением в состав человеческого эпидермального фактора роста hEGF (от англ. human epidermal growth factor) в концентрации 10 нг/мл и человеческого инсулина в концентрации 10 мкг/мл. Такая модификация получила название ProCell. Клинические испытания показали безопасность и эффективность по результатам трансплантации, однако не продемонстрировали статистически значимого преимущества над стандартной средой Dexsol по степени прозрачности трансплантата, утери эндотелиальных клеток или частоте осложнений [43].

Несмотря на признанную эффективность, Optisol-GS остается дорогостоящей и логистически сложной для распространения в ряде стран [77]. Поэтому за пределами США и Европы интерес вызывают альтернативные консервационные растворы, разработанные в странах Азиатско-Тихоокеанского региона и на Ближнем Востоке.

Cornisol (Aurolab, Индия) является более доступным по цене дженериком Optisol-GS, однако содержит дополнительные компоненты в качестве усилителей метаболизма: рекомбинантный инсулин, витамины, коэнзимы и микроэлементы [44]. Независимые исследования Cornisol продемонстрировали сохранение эндотелиальной клеточной плотности и гистологической структуры, сопоставимое с Optisol-GS, после 14 дней консервации при 2–8 °C [45–47].

Другая перспективная альтернатива – среда Sinasol (ZiSol; TiamPharma Company, Иран), которую используют как экономичную замену Optisol-GS. Она обеспечивает эффективное хранение донорских роговиц при +4 °C до 14 дней. В отличие от Optisol-GS и Cornisol, в составе Sinasol нет дополнительных аминокислот, предшественников АТФ, рекомбинантного инсулина, L-глутамина и витаминов. Она основана исключительно на MEM вместо смеси MEM и «ТС 199». Это упрощает ее состав и снижает стоимость производства. Осмотическую активность среды обеспечивает декстран Т70 (вместо Т40 в Optisol-GS). В исследовании *ex vivo* потери эндотелиальных клеток составили 3,7% и 19,9% для Sinasol после 7 и 14 дней соответственно по сравнению с 4,6% и 20,8% для Optisol-GS [75, 76].

В недавнем прошлом был разработан и запатентован состав CN 101524063B (Shenzhen Duanli Biotech Group, Китай) – гипотермический раствор на основе среды Дюльбекко – Игла (DMEM – Dulbecco's Modified Eagle Medium) для хранения роговицы при температуре от +2 до +8 °C в условиях глазных банков. Добавление дексаметазона обеспечивает противовоспалительный эффект и снижает риски развития реакции отторжения трансплантата. В качестве осмотически активного вещества в этом составе выступает гидроксипропилметилцеллюлоза (HPMC, от англ. Hydroxypropyl cellulose), которая повышает вязкость среды, стабилизирует роговичный лоскут и снижает механическое напряжение за счет способности к гелеобразованию. Важно отметить, что эта среда была опробована только для хранения роговицы в условиях *in vitro* и пока не была применена в клинической практике [51].

Среда Cornea Cold (Eurobio Scientific, Франция) – европейский аналог и экономичная альтернатива Optisol-GS для гипотермической консервации роговицы с заявленным увеличенным сроком хранения до 21 дня без ущерба для качества трансплантата. В ее составе – базовая питательная среда MEM, антибиотики гентамицин и стрептомицин, буферная система HEPES и бикарбонат, хондроитин сульфат, феноловый красный, а ключевым отличием является осмопротектор – декстран T500 (по сравнению с T40 в Optisol-GS). Экспериментальные исследования показали сопоставимую потерю эндотелиальных клеток при хранении в Cornea Cold и Optisol-GS. Хотя толщина центральной роговицы при хранении в Cornea Cold была больше примерно на 50 мкм на 7-й день, к 21-му дню различия нивелировались [41, 77, 78].

Еще одна интересная альтернативная консервационная среда, позволяющая сохранить роговицу при +4 °C до 21 дня, – Chen Medium (Chen Laboratories, США). Это изотонический раствор на основе среды «ТС 199», в котором бикарбонатная буферная система (NaHCO_3) и хондроитин сульфат заменены на короткоцепочечную жирную кислоту и/или кетоновые тела, в том числе на предшественников кетоновых тел, таких как β -гидроксипутират (β -гидроксимасляная кислота) и кетогенные аминокислоты, которые окисляются до гидрокарбоната (HCO_3^-), поддерживая pH и формируя эндогенную буферную систему [48]. Такой подход позволяет избежать нестабильности экзогенного бикарбонатного буфера и образования лактата. В рандомизированных исследованиях эта среда показала сопоставимые с Optisol-GS результаты по толщине роговицы, потере клеток эндотелия и эпителизации без значимых различий даже через год после трансплантации [49, 50]. Хотя точный состав среды варьируется в зависимости от протокола, основная идея среды направлена на создание внутренней буферной системы.

Еще одна зарубежная среда LIFE 4 °C (Numedis Inc., США) на основе MEM содержит хондроитин сульфат, рекомбинантный человеческий инсулин, декстран, глутатион, L-глутамин, предшественников АТФ, аминокислоты, витамины, микроэлементы, гентамицин, стрептомицин и феноловый красный. Консервационная среда поставляется в специальном пластиковом флаконе – TRANSEND (смотровая камера). Флакон обеспечивает надежную фиксацию корнеосклерального диска и содержит увеличенный объем среды (30 мл). Исследования с небольшой выборкой показали сопоставимые результаты LIFE 4 °C и Optisol-GS [58]. Однако анализ более 50 роговиц выявил превосходство LIFE 4 °C над Optisol-GS после 28 дней консервации. Среда LIFE 4 °C обеспечила увеличение плотности эндотелиальных клеток примерно на 250 клеток/мм² и уменьшение толщины практически на 50 мкм по сравнению с роговицами, консервированными в Optisol-GS [59].

В ряде стран отмечается рост заболеваемости кератомикозами [60–62]. Кроме этого, наблюдается тревожная тенденция к увеличению грибковой контаминации в послеоперационном периоде после ламеллярных кератопластик. Известно, что наиболее частый возбудитель кератомикозов – *Candida albicans* [65]. По этой причине были предприняты попытки модернизировать Optisol-GS путем добавления антимикотических средств; было показано, что добавление амфотерицина В более эффективно против *C. albicans* по сравнению с вориконазолом [66]. В связи с ростом числа кератомикозов разрабатываются новые консервационные растворы с усиленным противогрибковым действием.



Итальянская среда Kerasave (Alchimia S.r.l., Италия) относится к таким модификациям. Раствор на основе базовой среды MEM содержит декстран, HEPES-буфер, пируват натрия, глюкозу, аминокислоты, минеральные соли, никотинамид, бикарбонат натрия, феноловый красный и комбинацию антибактериальных препаратов – гентамицин в концентрации 100 мкг/мл и стрептомицин в концентрации 200 мкг/мл. Особенностью Kerasave является добавление сотрудниками глазного банка таблетированного антимикотического средства – амфотерицина В в концентрации 2,5 мкг/мл во флакон со средой непосредственно перед консервацией [67]. Производители заявляют, что такой подход обеспечивает оптимальную противогрибковую активность в течение 14 дней, сохраняя при этом безопасность для эндотелиальных клеток, аналогичную Optisol-GS, без противогрибковых средств [68, 69].

Среда Eusol-C (Alchimia S.r.l., Италия) – еще один консервационный раствор на основе среды «TC 199», содержащий гентамицин, бикарбонат натрия, декстран T500, пируват, глютамин, 2-меркаптоэтанол (антиоксидант), HEPES-буфер. Ограниченные исследования подтвердили безопасность и клиническую эффективность Eusol-C [70]. Анализ 50 случаев сквозной кератопластики с применением донорской роговицы, консервированной в среде Eusol-C, показал, что в 34% случаев потребовалась повторная кератопластика (из-за рецидива исходного заболевания или отторжения трансплантата), а в 8% случаев был получен положительный бактериологический посев. Тем не менее в подавляющем большинстве случаев была отмечена успешная приживаемость трансплантатов [71]. В России негосударственная лаборатория «Ай-лаб» использует Eusol-C для хранения материала, применяемого для хирургического восстановления роговицы [72, 73].

Масштабное исследование, в рамках которого было проанализировано более 6000 донорских роговиц, консервированных в гипотермических условиях с использованием Optisol-GS, LIFE 4 °C, Kerasave и Eusol-C, показало наибольшую плотность эндотелиальных клеток в роговицах, законсервированных в Kerasave и Eusol-C, а наименьшую толщину оптической зоны – в Optisol-GS и LIFE 4 °C. Несмотря на выявленные морфометрические различия, все четыре среды демонстрируют сопоставимые результаты после проведения эндотелиальной кератопластики [74].

В Российской Федерации в настоящее время использование импортных консервационных растворов осложнено высокой стоимостью сред и коротким сроком их годности (в среднем шесть месяцев с момента производства), что ограничивает одномоментную закупку большого объема среды, так как поставки занимают не менее трех месяцев, сокращая в два раза срок годности заказанной партии.

Следует отметить, что эффективность консервирующих растворов для сохранения трансплантата остается предметом исследований, поскольку существующие коммерческие среды были разработаны в прошлом веке, а современные фармакологические средства предлагают широкий диапазон потенциально эффективных субстанций для коррекции состояния эндотелия.

Публикации исследований китайских, японских и израильских научных групп сообщают о потенциальном применении в качестве компонента консервационных растворов ингибитора Rho-киназы (ROCK) Y-27632 – регулятора молекулярных систем, ответственных за выживание клеток после стресс-реакции. Такие составы демонстрируют повышение адаптационных возможностей эндотелиоцитов во время

консервации и также высокую выживаемость после экспериментального хирургического воздействия (имитация факохирургии) [54–57].

С целью усиления гипотермической устойчивости роговицы было предложено модернизировать среду Optisol добавлением флавоноидов С6-церамида или апигенина (патент CN112602703A, Китай). Авторы предполагают, что вышеозначенные флавоноиды, индуцируя транслокацию транскрипционного фактора FOXO1 в ядро эндотелиальных клеток, способствуют их выживаемости при хранении роговиц в условиях гипотермии за счет улучшения адаптации к холоду [52, 53].

На территории Российской Федерации в свое время было разработано несколько оригинальных консервационных сред. На базе НИИ глазных болезней им. М.М. Краснова был предложен состав, схожий с композицией Optisol, с добавлением гликопротеина «Адгелон» (биосубстрат, стимулирующий регенерацию роговицы и обладающий антиоксидантными свойствами) [88]. Однако на сегодняшний день для гипотермической консервации донорских роговиц в России используется единственный отечественный раствор – зарегистрированная и официально разрешенная среда «Борзенок – Мороз» (БМ; МНТК «МГ» им. С.Н. Федорова, Россия), разработанная в 1995 г. [79]. Среда БМ обеспечивает стабилизацию клеточных структур и морфометрических характеристик эндотелиальных клеток донорской роговицы при гипотермической консервации в течение шести суток, поддерживая жизнеспособность клеток и оптические свойства ткани. Это позволяет успешно проводить как сквозную, так и послойную кератопластику с минимальным риском отторжения и высоким качеством зрения [84, 86]. Основой среды является комбинация базовых сред: «ТС 199», F-10 (Ham's F-10 Nutrient Mixture) и DMEM. В состав также входят хондроитин сульфат А, декстран-40, HEPES-буфер и гамма-оксибутират натрия (в качестве энергетического субстрата для стабилизации липопротеинового комплекса и сохранения нативных свойств клеточных мембран). Антибактериальную и противогрибковую защиту обеспечивают пенициллин, стрептомицин и амфотерицин В. Кроме этого, серийно выпускается раствор для хранения роговиц, являющийся его редуцированным по составу вариантом.

Многочисленные клинические исследования подтверждают эффективность среды БМ [83, 85]. Послеоперационные результаты у 600 пациентов с кератоконусом показали сопоставимые показатели остроты зрения после приживления нативных и консервированных в среде БМ роговиц, при этом корригируемая острота зрения была несколько выше у реципиентов с консервированными трансплантатами. Исследование показало, что через год после операции потеря эндотелиальных клеток в группе нативных трансплантатов составила 28,1%, в группе консервированных – 20,5%.

Несмотря на признанную эффективность среды БМ, в России, также как и во всем мире, активно проводятся исследования по усовершенствованию и разработке растворов для консервации, например путем добавления компонентов с противовирусной активностью – препаратов Циклоферон и Цимевен [92], с иммуностимулирующим эффектом – индуктора синтеза эндогенного интерферона Полудан [87, 90, 91], различных типов адаптогенов – препарата NeyDIL № 37 [89], Фосфоглив [93], растворов с антиоксидантными свойствами – эхинохрома А и гидроксизетилкрахмала (осмопротектор) [94] (см. таблицу).

Сравнительная таблица составов гипотермических сред для консервации роговицы
Comparative table of compositions of hypothermic media for corneal preservation

Среды		K-Sol (Cilco, США)	Dexsol (Chiron Ophthalmics, США)	Optisol-GS (Bausch & Lomb, США)	Kerasave (Alchimia S.r.l., Италия)	Eusol-C (Alchimia S.r.l., Ита- лия)	LIFE 4 °C (Numedis Inc., США)	Sinasol (ZiSol; Tiam Pharma Company, Иран)	Cornea Cold (Eurobio Scientifics, Франция)	Chen Medium (Chen Labora- tories, США)	«Борзенок – Мороз» (МНТК «МП» им. С.Н. Федорова, Россия) *заявленная в патенте
Базовая культуральная среда		TC 199	MEM	MEM + TC 199	MEM + DMEM	TC 199	MEM	MEM	MEM	TC 199	TC 199 (25%), F-10 (25%), DMEM (~50%)
Стабилизатор pH		HEPES	HEPES	HEPES + NaHCO ₃	HEPES + NaHCO ₃	HEPES + NaHCO ₃	HEPES + NaHCO ₃	HEPES + NaHCO ₃	HEPES + NaHCO ₃	HEPES, β-гидрокси- бутират	HEPES + NaHCO ₃
Антибиотики/ антимикотики		Гентами- цин	Гентамицин	Гентами- цин + стрептоми- цин	Гентамицин + стрептомицин В (2,5 мкг/мл)	Гентамицин	Гентамицин + стрептомицин	Гента- мицин + стрепто- мицин	Гентамицин + стрептоми- цин	Гентамицин + стрептомицин	Пенициллин + стрептомицин + амфотерицин В
Осмотически активные вещества		Хондро- итин сульфат (2,5%)	Хондроитин сульфат (1,35%), дек- стран-40	Хондроитин сульфат (2,5%), дек- стран-40	Хондроитин сульфат (2,5%), декстран-40	Декстран T500	Хондроитин суль- фат, декстран-40	Декстран T70	Хондроитин сульфат, декстран T500	β-гидрокси- бутират	Хондроитин суль- фат, декстран-40
Дополнитель- ные аминокис- лоты, антиок- сиданты и/или витамины		–	L-глутамин, 2-меркапто- этанол	L-глутамин, аскорбат, токоферол, 2-меркапто- этанол	L-глутамин, аскорбат, токо- ферол, витамины (никотинамид и др.)	L-глутамин, аскорбат, 2-меркапто- этанол	L-глутамин, глутатион	Есть	Есть	Кетогенные аминокислоты	Глутатион, вита- мины
Энерге- тические субстраты		–	Пируват, предше- ственные АТФ (адено- зин, инозин)	Пируват, предше- ственные АТФ (адено- зин, инозин, аденин)	Пируват, глюкоза, предшественни- ки АТФ (аденозин, инозин)	Пируват, глюкоза	Предшественни- ки АТФ (аденозин, инозин, аденин), рекомбинантный человеческий инсулин	–	Нет данных	β-гидрокси- бутират → окисляется до HCO ₃ ⁻	γ-оксibuтират
Срок хранения и прочие особенности		До 10 дней хра- нения	До 10 дней хранения	До 14 дней, стандарт FDA	До 14 дней, уси- ленная противо- грибковая защита	До 10–14 дней, при- меняется в РФ	14 дней	14 дней, дженерик Optisol-GS	21 день, ана- лог Optisol	21 день, имеет внутреннюю буферизацию	До 6 дней, при- меняется в РФ

Несмотря на широкий выбор консервирующих сред, представленных сегодня на рынке, проблема сохранения эндотелиальных клеток донорской роговицы по-прежнему остается актуальной. В связи с этим продолжается разработка новых, более эффективных сред, способных обеспечивать высокую выживаемость эндотелиоцитов. Современные исследования также ориентированы на оптимизацию экономической составляющей и снижение финансовых затрат для приготовления и транспортировки консервационных сред. Развитие фармакологических и биотехнологических подходов открывает перспективы для создания в ближайшем будущем усовершенствованных консервирующих растворов, обеспечивающих длительное и надежное сохранение жизнеспособности эндотелиального слоя роговицы.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Niederhorn J.Y. High-risk corneal allografts and why they lose their immune privilege. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*. 2010;10(5):493–497. <https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e32833d3dfa11>
2. Filatov V.P. Transplantation of the cornea from preserved cadavers' eyes. *Lancet*. 1937;229.
3. Filatov V.P. Tissue therapy: History, method and clinical application. *Nature*. 1951;40(11):39–46. Retrieved from <https://archive.org/details/1951filatovtissuetherapypprirodanaturev40n1112>
4. Moller H.J., Ehlers N., Engelmann K. Evaluation of potential organ culture media for eye banking using human donor corneas. *The British journal of ophthalmology*. 2001;85(9):1075–1079. <https://doi.org/10.1136/bjo.85.9.1075>
5. Ugarov G.S. (2020) Anabiosis. In: *Hypobiology*. Publishing House Academy of Natural Science. Part 2.2.1. <https://monographies.ru/en/book/section?id=17673>
6. Zaikina E.V., Goncharova A.S., Pozdnyakova V.V., et al. Review of modern methods of cryopreservation of different types of biological material. *Modern problems of science and education*. 2022;4. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31790>
7. Lovelock J.E. The haemolysis of human red blood-cells by freezing and thawing. *Biochimica et biophysica acta*. 1953;10(3):414–26. [https://doi.org/10.1016/0006-3002\(53\)90273-x](https://doi.org/10.1016/0006-3002(53)90273-x)
8. Best B.P. Cryoprotectant Toxicity: Facts, Issues, and Questions. *Rejuvenation research*. 2015;18(5):422–436. <https://doi.org/10.1089/rej.2014.1656>
9. Ginsberg S.P., Capella J.A., Kaufman H.E. Normal patterns of corneal thinning after penetrating keratoplasty using refrigerated and cryopreserved donor material. *American Journal of Ophthalmology*. 1972;73(4):555–559. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(72\)90007-4](https://doi.org/10.1016/0002-9394(72)90007-4)
10. Wowk B. Thermodynamic aspects of vitrification. *Cryobiology*. 2010;60(1):11–22. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2009.05.007>
11. Best B.P. Cryoprotectant Toxicity: Facts, Issues, and Questions. *Rejuvenation research*. 2015;18(5):422–436. <https://doi.org/10.1089/rej.2014.1656>
12. Bourne W.M., Shearer D.R., Nelson L.R. Human Corneal Endothelial Tolerance to Glycerol, Dimethylsulfoxide, 1,2-Propanediol, and 2,3-Butanediol. *Cryobiology*. 1994;31(1):1–9. <https://doi.org/10.1006/cryo.1994.1001>
13. Stocker F.W. Preservation of donor cornea in autologous serum prior to penetrating grafts. *American Journal of Ophthalmology*. 1965;60(1):21–24. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(65\)92383-4](https://doi.org/10.1016/0002-9394(65)92383-4)
14. Lindstrom R.L., Doughman D.J., Van Horn D.L., et al. Organ culture corneal storage at ambient room temperature. *Archives of Ophthalmology*. 1977;95(5):869–878. <https://doi.org/10.1001/archophth.1977.04450050147019>
15. Pels E., Schuchard Y. Organ-culture preservation of human corneas. *Doc Ophthalmol*. 1983;56(1–2):147–153. <https://doi.org/10.1007/bf00154722>
16. Sperling S. Human corneal endothelium in organ culture. The influence of temperature and medium of incubation. *Acta ophthalmologica*. 1979;57(2):269–276. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.1979.tb00491.x>
17. Van der Want H.J., Pels E., Schuchard Y., et al. Electron microscopy of cultured human corneas. Osmotic hydration and the use of a dextran fraction (dextran T 500) in organ culture. *Archives of ophthalmology* (Chicago, Ill: 1960). 1983;101(12):1920–1926. <https://doi.org/10.1001/archophth.1983.01040020922019>
18. Filev F., Oezcan C., Feuerstacke J., et al. Semi-quantitative assessments of dextran toxicity on corneal endothelium: conceptual design of a predictive algorithm. *Cell Tissue Bank*. 2017. <https://doi.org/10.1007/s10561-016-9596-z>
19. Pels E., Beele H., Claerhout I. Eye bank issues: II. Preservation techniques: warm versus cold storage. *International ophthalmology*. 2008;28(3):155–163. <https://doi.org/10.1007/s10792-007-9086-1>
20. Bourne W.M., Doughman D.J., Lindstrom R.L. Organ-Cultured Corneal Endothelium In Vivo. *Archives of Ophthalmology*. 1977;95(10):1818–1819. doi: 10.1001/archophth.1977.04450100120016
21. Bachmann B.O., Horn F.K., Schlötzer-Schrehardt U., et al. Donor tissue culture conditions and outcome after descemet membrane endothelial keratoplasty. *American journal of ophthalmology*. 2011;151(6):1007–1018.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jajo.2010.11.027>
22. Pels L. Organ culture: the method of choice for preservation of human donor corneas. *The British journal of ophthalmology*. 1997;81(7):523–525. <https://doi.org/10.1136/bjo.81.7.523>
23. Farrell P.L., Fan J.T., Smith R.E., et al. Donor cornea bacterial contamination. *Cornea*. 1991;10(5):381–386. <https://doi.org/10.1097/00003226-199109000-00004>
24. Schotveld J.H., Rajmakers A.J.W., Henry Y., et al. Donor-to-host transmitted Candida endophthalmitis after penetrating keratoplasty. *Cornea*. 2005;24(7):887–889. <https://doi.org/10.1097/01.icc.0000157403.27150.c1>
25. Bonanno J.A. Molecular mechanisms underlying the corneal endothelial pump. *Experimental eye research*. 2012;95(1):2–7. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2011.06.004>
26. Meyer R.F., McCarey B.E., Valenti J., et al. Scanning electron microscopy of postoperative M-K and moist chamber-stored corneas. *Investigative ophthalmology*. 1976;15(4):260–266.

27. Bigar F, Kaufman H.E., McCarey B.E., et al. Improved corneal storage for penetrating keratoplasties in man. *American Journal of Ophthalmology*. 1975;79(1):115–120. https://archive.org/details/sim_AJO_1975
28. Matoba A, Moore M.B., Merten J.L., et al. Donor-to-host transmission of streptococcal infection by corneas stored in McCarey-Kaufman medium. *Cornea*. 1984;3(2):105–108. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6399232/>
29. Baer J.C., Nirankari V.S., Glaros D.S. Streptococcal endophthalmitis from contaminated donor corneas after keratoplasty. Clinical and laboratory investigations. *Arch Ophthalmol*. 1988;106(4):517–520. <https://doi.org/10.1001/archophth.1988.01060130563037>
30. Stainer G.A., Brightbill F.S., Calkins B. A Comparison of Corneal Storage in Moist Chamber and McCarey – Kaufman Medium in Human Keratoplasty. *Ophthalmology*. 1981;88(1):46–49. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(81\)35084-2](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(81)35084-2)
31. Moller-Pedersen T., Hartmann U., Moller H.J., et al. Evaluation of potential organ culture media for eye banking using human donor corneas. *Br J Ophthalmol*. 2001 Sep;85(9):1075–9.
32. Yau C., Kaufman H.E. A Medium-Term Corneal Preserving Medium (K-Sol). *Arch Ophthalmol*. 1986;104(4):598–601. <https://doi.org/10.1001/archophth.1986.01050160154032>
33. Fong L.P., Gladstone D., Casey T.A. Corneo-scleral rim cultures: donor contamination a case of fungal endophthalmitis transmitted by K-Sol stored cornea. *Eye (Lond)*. 1988;2(Pt 6):670–676. <https://doi.org/10.1038/eye.1988.123>
34. Farge E.J., Fort R.A., Wilhelmus K.R., et al. Morphologic changes of K-Sol preserved human corneas. *Cornea*. 1989;8(3):159–169. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2501066/>
35. Lindquist T.D., Roth B.P., Fritsche T.R. Stability and activity of vancomycin in corneal storage media. *Cornea*. 1993;12(3):222–227. <https://doi.org/10.1097/00003226-199305000-00007>
36. Wang I.J., Hu F.R. Effect of shaking of corneal endothelial preservation. *Current eye research*. 1997;16(11):1111–1118. <https://doi.org/10.1076/ceyr.16.11.1111.5111>
37. Lindstrom R.L., et al. *Method and apparatus for a defined serumfree medical solution useful for corneal preservation*. US Patent 5104787. Published April 14, 1992. US-5104787-A – Patent Public Search.
38. Lindstrom R.L., et al. *Method and apparatus of a defined serumfree medical solution*. US Patent 5407669. Published April 18, 1995. US-5407669-A – Patent Public Search | USPTO.
39. Kaufman H.E., Beuerman R.W., Steinemann T.L., et al. Optisol Corneal Storage Medium. *Arch Ophthalmol*. 1991;9(6). doi:10.1001/archophth.1991.01080060128040
40. Szaflik J., Liberek I., Brix M. Corneal storage methods. *Transplantation Proceedings*. 2000;32(6):1424–1425. doi:10.1016/s0041-1345(00)01280-x
41. Gimenes I., Pintor A.V.B., da Silva Sardinha M., et al. Cold Storage Media versus Optisol-GS in the Preservation of Corneal Quality for Keratoplasty: A Systematic Review. *Applied Sciences*. 2022;12(14):7079. <https://doi.org/10.3390/app12147079>
42. Wagoner M.D., Gonnah el-S. Corneal graft survival after prolonged storage in Optisol-GS. *Cornea*. 2005;24(8):976–979. <https://doi.org/10.1097/01.icc.0000159731.52801.b6>
43. Lass J.H., Musch D.C., Gordon J.F., et al. Epidermal growth factor and insulin use in corneal preservation. Results of a multi-center trial. The Corneal Preservation Study Group. *Ophthalmology*. 1994;101(2):352–359. [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(94\)31329-7](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(94)31329-7)
44. Cornisol: Corneal storage for 14 days. <https://d1cihbb125h48.cloudfront.net/1742360529.pdf>
45. Basak S., Prajna N.V. A Prospective, In Vitro, Randomized Study to Compare Two Media for Donor Corneal Storage. *Cornea*. 2016;35(9):1151–1155. doi: 10.1097/ICO.0000000000000912
46. Sundaresan Y., Gaikwad G.G., Prajapati K.A., et al. Comparison of structural integrity and functional status of corneal endothelium stored in Cornisol and Optisol-GS. *Indian J Ophthalmol*. 2019;67(10):1579–1584. doi: 10.4103/ijo.IJO_2026_18
47. Sharma N., Shaikh F., Nagpal R., et al. Evaluation of various preservation media for storage of donor corneas. *Indian J Ophthalmol*. 2021;69(9):2452–2456. doi:10.4103/ijo.IJO_258_21
48. Chen C.-H., Chen S.-C. *Cornea storage medium*. US Patent 4873186A. Filed September 2, 1987. Issued October 10, 1989.
49. Sulewski M., Orlin S., Rama P., et al. Clinical study on bicarbonate-free corneal storage medium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996 Feb 15;37(3):S85.
50. Bourne W.M., Nelson L.R., Hodge D.O. Comparison of Chen medium and Optisol-GS for long-term storage of donor corneas. *Cornea*. 2001;20(5):523–527.
51. Shenzhen Duanli Biotech Group. *Cornea mid-term preserving fluid*. CN Patent CN 101524063B; 2012. Available from: <https://patents.google.com/patent/CN101524063B>
52. Shenzhen Duanli Biotech Group. *Preparation method and application of cold preservation solution for cells, tissues or organs*. CN Patent CN 112602703A; 06 Apr 2021. Available from: <https://patents.google.com/patent/CN112602703A>
53. Ou J., Jin G. *Composition and method of preserving cells, tissues, or organs*. US Patent US 20240041023A1; 2024. Available at: <https://patents.justia.com/patent/20240041023>
54. Specialty of Ophthalmology Research Institute, Shandong Province (2013, April 24). *Cornea metaphase preservation solution, and preparing and using methods thereof* (Patent No. CN103053511A).
55. Wang Y., Duan H., Yang L., et al. The promoting effects of ROCK inhibitor Y-27632 on the activity of limbal stem cells in corneal preservation medium. *Chinese Journal of Experimental Ophthalmology*. 2015;33(9):787–792. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.09.004>
56. Okumura N., Inoue R., Okazaki Y., et al. Effect of the Rho Kinase Inhibitor Y-27632 on Corneal Endothelial Wound Healing. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2015;56(10): 6067–6074. <https://doi.org/10.1167/iov.15-17595>
57. Achiron A., Feldman A., Karmona L., et al. Prophylactic exposure of human corneal endothelial cells to Rho-associated kinase inhibitor reduced apoptosis rate after phacoemulsification: Ex vivo study. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2018;44(10):1261–1266. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2018.04.044>
58. Petithomme R., Karmakar R., Lohmeier J., et al. Comparison of corneal endothelial cell density and morphology with Optisol GS and Life4C storage media in the eye bank: a 5-year retrospective analysis. *Eye banking and corneal transplantation*. 2023;2(4):e0019. <https://doi.org/10.1097/ebct.0000000000000019>
59. Skelnik D.L., Wilson R.R., Wilson J.R., et al. Life4C: A new corneal preservation system. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2006;47(13):2365. <https://doi.org/10.1167/iov.06-02365>
60. Tuft S.J., Tullo A.B. Fungal keratitis in the United Kingdom 2003–2005. *Eye (London, England)*. 2009;23(6):1308–1313. <https://doi.org/10.1038/eye.2008.298>
61. Wang L., Sun S., Jing Y., et al. Spectrum of fungal keratitis in central China. *Clinical & experimental ophthalmology*. 2009;37(8):763–771. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2009.02155.x>

62. Davletshina N.I., Samoylov A.N. Epidemiology and treatment of fungal keratitis. *Russian Annals of Ophthalmology*. 2020;136(4):138–145. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma2020136041138>
63. Tena D., Rodríguez N., Toribio L., et al. Infectious Keratitis: Microbiological Review of 297 Cases. *Japanese journal of infectious diseases*. 2019;72(2):121–123. <https://doi.org/10.7883/yoken.JIID.2018.269>
64. Zakirova G.Z. Fungal keratitis associated with the use of contact lenses (clinical case). *Russian Annals of Ophthalmology*. 2021;137(1):74–77. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma202113701174>
65. Duan H., Meng F., Liu X., et al. Extracellular vesicles from *Candida albicans* modulate immune cells function and play a protective role in fungal keratitis. *Microbial pathogenesis*. 2024;189:106606. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106606>
66. Layer N., Cevallos V., Maxwell A.J., et al. Efficacy and safety of antifungal additives in Optisol-GS corneal storage medium. *JAMA ophthalmology*. 2014;132(7):832–837. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2014.397>
67. Giurgola L., Gatto C., Honisch C., et al. Killing efficacy of a new hypothermic corneal storage medium against the micro-organisms frequently found in human donor cornea intended for transplantation. *BMJ open ophthalmology*. 2021;6(1):e000833. <https://doi.org/10.1136/bmjophth-2021-000833>
68. Mistò R., Giurgola L., Pateri F., et al. A new storage medium containing amphotericin B versus Optisol-GS for preservation of human donor corneas. *The British Journal of Ophthalmology*. 2022;106(2):184–189. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2020-317136>
69. Tran K.D., Ellison M., Straike M.M.W., et al. Prospective In Vitro Comparison of Kerasave and Optisol-GS Corneal Storage Solutions. *Cornea*. 2023;42(5):630–638. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000003201>
70. Koo E.H., Goodman C.F., Vanner E.E., et al. Eusol-C as Corneal Cold Storage Solution: Early Clinical Outcomes of Keratoplasty. *Cornea*. 2022;41(12):e26–e28. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000003164>
71. Burgos-Blasco B., Vidal-Villegas B., Collado-Vincueria I., et al. Clinical outcomes of long-term corneas preserved frozen in Eusol-C used in emergency tectonic grafts. *Cell and tissue banking*. 2023;24(2):351–356. <https://doi.org/10.1007/s10561-022-10037-1>
72. Zolotarevsky A.V., Kildyushov E.M., Zolotarevsky K.A. Results of penetrating keratoplasty in patients with the use of Cornea Restoration Material. *Modern Technologies in Ophthalmology*. 2016;2:167–170. (In Russ.)
73. Popova E.V., Lev I.V., Manaenkova G.E., et al. Comparative analysis of penetrating keratoplasty results in patients with keratoconus. *Modern Problems of Science and Education*. 2021;2. (In Russ.)
74. Raminani A., Titus M.S., Sawant O.B. Comparative Analysis of Endothelial Cell Density and Central Thickness of Corneas Used for Endothelial Keratoplasty Procedures Using Various Storage Solutions. *Cornea*. 2025 Jan;44(1):93–97. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000003589>
75. Javadi M.A., Rezaeian Akbarzadeh A., Chamani T., et al. Sinasol versus Optisol-GS for cold preservation of human cornea: a prospective ex vivo and clinical study. *Cell Tissue Bank*. 2021;22:563–574. <https://doi.org/10.1007/s10561-021-09930-y>
76. Javadi F., Khouri B., Rezaeian Akbarzadeh A., et al. Thickness Profile of Donated Corneas Preserved in Optisol-GS versus Sinasol: An Ex-vivo Study. *Journal of ophthalmic & vision research*. 2023;18(4):379–385. <https://doi.org/10.18502/jov.v18i4.14546>
77. Ho J.W., Jung H., Chau M., et al. Comparisons of Cornea Cold, a New Corneal Storage Medium, and Optisol-GS. *Cornea*. 2020;39(8):1017–1019. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000002330>
78. Roy A., Jeng B.H., Chaurasia S., et al. Overview of Short-Term and Intermediate-Term Corneal Storage Solution: Comparison of Clinical Outcomes and Need For Future Research. *Eye & contact lens*. 2022;48(4):141–148. <https://doi.org/10.1097/ICL.0000000000000875>
79. Fedorov S.N., Moroz Z.I., Borzenok S.A., Komakh Y.A. *Medium for preservation of the eye cornea*. Russian Federation patent No 2069951, priority of 21.02.1993 elibrary_RU(11)2069951(13)C1
80. Eroshevsky T.I., Yakhina N.M. About eye banks for keratoplasty. *Vestnik Oftalmologii*. 1975;4:60–63. (In Russ.)
81. Trufanov S.V., Subbot A.M., Malozhen S.A., et al. Risk factors, clinical presentations, prevention, and treatment of corneal graft rejection. *Russian Annals of Ophthalmology*. 2016;132(6):108–116. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma20161326108-116>
82. Zolotaryov A.V., Milyudin E.S., Silchenok A.I. Assessment of corneal graft viability. *Bioimplantology on the threshold of the 21st century: a collection of abstracts from a symposium on tissue banking issues with international participation*. Samara, 2018. P. 20.
83. Sheludchenko V.M., Osipyan G.A., Khaystyn Kh., et al. Deep anterior lamellar keratoplasty in extrusion of an incomplete intrastromal corneal ring segment (clinical observation). *Russian Annals of Ophthalmology*. 2023;139(1):75–79. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma202313901175>
84. Borzenok S.A. *Medical-technological and methodological foundations of effective activity of eye tissue banks in Russia in providing penetrating corneal transplantation operations* [dissertation]. M.: 2008. (In Russ.) https://new-diss.ru/_avtoreferats/01004054011.pdf
85. Borzenok S.A., et al. Comparative analysis of clinical results of penetrating keratoplasty in elderly patients performed with native and Borzenok – Moroz medium-preserved donor material. *Eroshevskie chteniya*. 2002:227–227. Available from: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_26102389_70837838.pdf
86. Avetisov S.E., Mamikonian V.R., Trufanov S.V., et al. Selective principle of modern approaches in keratoplasty. *Russian Annals of Ophthalmology*. 2013;129(5):97–103. (In Russ.)
87. Borzenok S.A., Malyugin B.E., Tonayeva K.D., et al. *A means for corneal storage*. Patent RU № 2674585 C1 Appl. 09.11.2017. Published 11.12.2018 (In Russ.). RU(11)2674585(13)C1
88. Kasparov A.A., Rozinova V.N., Yamskova V.P., et al. *Medium for donor cornea preservation*. RU Patent No. 2138163. Published 1999 Sep 27 (In Russ.). patents_RU2138163C1
89. Borzenok S.A., Rolik O.I., Onishchenko N.A., et al. Application of homologous cellular peptides in medium-term preservation of donor corneas in hypothermic regime. *Bulletin of Orenburg State University*. 2011;14(133):79–82.
90. Borzenok S.A., Malyugin B.E., Tonayeva H.D., et al. *Means for preservation of donor cornea*. RU Patent No. 2 674 585, published 11.12.2018
91. Kasparova E.A., Kasparova Evg.A. Scientific legacy of Professor A.A. Kasparov. Inductor of endogenous interferon Poludan in the treatment of ocular herpes and other corneal diseases. *Russian Annals of Ophthalmology*. 2023;139(6):183–192. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/oftalma2023139061183>
92. Borzenok S.A., Malyugin B.E., Kerimov T.Z., et al. *Means for organotypic preservation of donor cornea*. RU Patent No. 2745114 C1 publ. 22.03.2021 elibrary_RU(11)2745114(13)C1
93. Akhmedov A.K. *Algorithm of preoperative preparation of posterior layer-by-layer corneal graft in conditions of eye tissue bank* [dissertation ... candidate of medical sciences]. Moscow: 2022. (In Russ.) mntk.ru_Dissertation-Akhmedov
94. Bikkev M.M., Nikitin N.A., Surkova V.K. (2013, November 20) *Solution for storing donor cornea at +2... +6 °C* (Russian Patent No. 2498570 C1). Ufa Research Institute of Eye Diseases, Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan.