

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
Державна установа «Інститут очних хвороб і тканинної терапії
ім. В. П. Філатова НАМН України»

Додаток до плану НДР на тему:

«Розробити еквівалент строми рогівки на основі колагену та вивчити
можливості його застосування в якості матеріалу для кератопластики»

Науковий керівник – д.мед.н., професор Н.В. Пасечнікова
Відповідальні виконавці – д.мед.н., професор С.А. Якименко,
к.мед.н. О.І. Бузник

Одеса

2013

**ВИВЧЕННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ ТА ЕФЕКТИВНОСТІ КОЛАГЕН-
МЕТИЛФОСФОРІХОЛІНОВИХ ЗАМІННИКІВ РОГІВКИ У ХВОРИХ, ЩО
ПОТРЕБУЮТЬ ПОШАРОВОЇ КЕРАТОПЛАСТИКИ**

1. ВСТУП ТА ОБГРУНТУВАННЯ

Всесвітня організація охорони здоров'я виявила 23 мільйони людей по всьому світу, що страждають від захворювань рогівки, які призводять до часткової, а у 10 мільйонів, - до повної втрати зору на одному або обох очах. При цьому, на рік у світі проводиться лише від 100 до 200 тисяч пересадок рогівки. Таким чином, у світі існує значний дефіцит донорських рогівок для пересадки. В західних країнах існує відносний дефіцит донорських рогівок, але у країнах, що розвиваються, спостерігається майже повна їхня відсутність. Такі хвороби, як трахома, травми та опіки рогівки, кір та бактеріальні інфекції є провідними причинами сліпоти, яка може бути вилікувана пересадкою рогівки. В Україні щорічно потрібно біля 4000 рогівок для пересадки, в той же час в рік виконується лише близько 500 пересадок рогівки.

Виходячи з цього, команда вчених з Дослідницького інституту госпіталю Оттави та Університет Оттави, Канада, почали розробку біосинтетичної або «тканинно-інженерної» штучної рогівки. Концепція полягала у створенні безклітинного матріксу, що складається з поперечно-зшитого колагену (кросс-лінкінг). Матеріал протягом 12 років розвитку технології був змінений з тваринного колагену до рекомбінантного колагену людини, поперечно-зшитого з синтетичною молекулою. Було розроблено декілька версій матріксу, але версія, що була використана у клінічному випробуванні на 10 хворих у госпіталі Лінчюпінгського університету (Швеція), складалася з рекомбінантного людського колагену III типу (Recombinant Human Collagen Type III (RHСIII)), що був вироблений у дріжджах компанією Fibrogen Inc. (США) шляхом генетичної інженерії. Отриманий очищений колаген піддавався кросс-лінкінгу карбодімідом, хімічною речовиною, що належить до водорозчинних агентів для кросс-лінкінгу, для утворення гідрогелю. Рогівкові імпланти були протестовані на декількох видах тварин – кролях, собаках та міні-свинях – в Канаді, Швеції

та в Інституті Філатова - для вивчення не тільки їхньої біосумісності, але також для розробки оптимальних методів імплантації перед тестуванням імплантатів в клініці. Крім того, перед клінічним випробуванням матеріал пройшов серію тестів на токсичність.

Трансплантовані імпланти були безклітинні та оптично прозорі, та добре загоїлися без стійкої імуносупресії в середньому за 6,5 тижнів і майже не відрізнялися від навколишніх тканин. Регенерація нервів була підтверджена за допомогою конфокальної мікроскопії *in vivo*. Через два роки після операції не було ні необхідності в довгостроковій імуносупресії, ні відторгнення трансплантату. Проте, імпланти були м'якими і пацієнти повинні були застосувати жорсткі контактні лінзи для оптимального зору.

Університет м. Лінч'юпінг продовжив розробку біоінженерної рогівки з використанням колагену. Імпланти були посилені мережею метіл-фосфорілхоліну (methyl-phosphorylcholine (MPC)) – фосфоліпиду клітинних мембран, що зробило їх міцнішими, але дозволило їм зберегти всі сприятливі для клітин властивості і сприяти регенерації в різних моделях тварин, включаючи мишей, морських свинок, кроликів. Крім того, ці імпланти краще проявили себе на моделі лужного опіку ока – вони попереджали вrostання судин в імплант та зберігали свою прозорість на відміну від імплантів без додавання MPC. Ці дані були підтвержені експериментальними дослідженнями, проведеними в Інституті очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П.Філатова.

В дослідженні, яке буде проведено згідно даного протоколу, буде використовуватися посилена версія матеріалу.

2. ДОКЛІНІЧНІ ДАНІ

До початку досліджень на людині, RHSP-MPC імпланти пройшли доклінічні тести на біосумісність та фізико-хімічні випробування для

визначення безпеки матеріалу. Ці випробування проводили в спосіб, приведений нижче.

2.1 Тестування на стерильність та цитотоксичність/біосумісність.

Доклінічне оцінювання РНСШ-МРС імплантів, яке складалось з біологічного, хімічного/фізичного тестування і тестування стерильності, підсумок якого наводиться нижче.

Таблиця 1. Підсумок тестування на стерильність та цитотоксичність.

Дослідження	РНСШ-МРС імплант
Випробування стерильності	Імпланти виявлені стерильними
Випробування на цитотоксичність та біосумісність з використанням лінії культивованих епітеліальних клітин рогівки	Тестування не виявило цитотоксичності. Епітеліальні клітини зростали на поверхні імпланту

2.2 Біосумісність / Ефективність випробувань на тваринах

Результати надані в Таблиці 2.

Таблиця 2. Підсумок тестування на біосумісність / ефективність

Дослідження	РНСШ-МРС імплант
In vivo імплантація на морських свинках для оцінки регенерації нервів	Різні нервові підтипи регенерували в ході дослідження протягом 8 місяців
In vivo імплантація на кроликах з лужними опіками рогівки	РНС-МРС імплантати змогли блокувати вrostання судин, яке існувало при використанні імплантів без МРС та при трансплантації донорських рогівок

3. ПОПЕРЕДНІ КЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічне дослідження на десяти пацієнтах було проведено у лікарні Університету м. Лінчюпінг професором P. Fagerholm з використанням

біоінженерної рогівки з рекомбінантного людського колагену III типу (RHСIII). Дев'ять пацієнтів мали прогресуючий кератоконус та один пацієнт мав глибокий рогівковий рубець. Через два роки біоінженерна рогівка залишалася біосумісною.

4. МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Метою даного дослідження є оцінка безпеки та ефективності нового покоління біосинтетичної рогівки, де мережа рекомбінантного людського колагену III типу посилена мережею метіл-фосфорілхоліну (RHСIII-MPC), у пацієнтів з найкращою коригованою гостротою зору 0,1 або гірше через виразку рогівки або помутніння рогівки від рогівкової травми, опіку або інфекції.

5. ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ

Це буде відкрите, проспективне клінічне дослідження, в якому в рогівки максимум у 10 хворих (10 очей) буде проведена трансплантація RHСIII-MPC імплантата, та які будуть спостерігатися протягом 12 місяців після операції.

Потенційні кандидати будуть обстежуватись на предмет відповідності вимогам дослідження; ті кандидати, які відповідатимуть вимогам та матимуть зацікавленість у прийнятті участі у дослідженні, підписуватимуть інформовану згоду на участь. Придатні кандидати проходять передопераційне обстеження для збору історії захворювання та оцінки стану очей на момент початку дослідження. Після цього особам, що будуть включені у дослідження, проводитимуть пересадку рогівки, використовуючи RHСIII-MPC замінник рогівки.

Матеріал: біосинтетично вироблений RHСIII-MPC замінник рогівки товщиною 250-500 мкм та діаметром 4 - 8.25 мм буде трансплантований в рогівки хворих методом передньої пошарової кератопластики.

Підбирання хворих: підбиратимуть хворих, у яких буде зберігатися ділянка прозорої рогівкової стріми навколо трансплантату. Це дозволить клітинам реципієнту проникати в трансплантований замітник рогівки. Хворі, що будуть включені у дослідження, будуть обмежені очима, які матимуть центральні виразки та помутніння рогівки, що не пошкоджують десцеметову мембрану та ендотелій. Хворим надаватимуть письмову інформацію, а також додаткову інформацію. Хворі завжди та в будь-який час матимуть можливість відмовитись від участі у дослідженні.

Оцінювання результатів проводитимуть під час кожного наступного візиту за винятком першого дня. При кожному відвідуванні визначатимуть ступінь та вид кон'юнктивальної ін'єкції, ступінь прозорості рогівки, імпланту та водянистої вологи, гостроту зору, ОКТ переднього відділу (ультразвукова біомікроскопія), внутрішньоочний тиск та ін.

Рогівка вважається такою, що загоїлась, при умові відсутності дефектів епітелію рогівки, що підтверджується фарбуванням флуоресцеїном рогівкової поверхні.

6. ПОПЕРЕДНІ ПАРАМЕТРИ БЕЗПЕКИ ТА ЕФЕКТИВНОСТІ

6.1 Параметри ефективності

Основний кінцевий показник для помутніння рогівки – покращення гостроти зору вдаль з корекцією на 1 або більше ліній.

Основний кінцевий показник для виразки рогівки – загоєння виразки. Виразка вважалась такою, що загоїлась, за умов відсутності дефектів епітелію рогівки, що підтверджувалось фарбуванням рогівкової поверхні флуоресцеїном.

6.2 Параметри безпеки

Кумулятивна та постійна частота побічних дій.

Демонстрація біосумісності.

7. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦІЄНТІВ

Максимум 10 пацієнтів, готових до трансплантації рогівки.

7.1 Критерії включення:

1. Хворі повинні підписати та отримати копію інформованої згоди.
2. Хворі повинні мати кориговану гостроту зору 0,1 та нижче, як наслідок виразки або рубця рогівки, що виникли після опіку, травми, інфекції ока на оперованому оці.
3. Вік хворих повинен складати від 18 до 85 років на момент початку дослідження.
4. Хворі повинні бажати та мати можливість приїжджати на заплановані за розкладом обстеження у післяопераційному періоді протягом 12 місяців після операції.

7.2 Критерії виключення:

1. Хворі з важкими або небезпечними для життя системними захворюваннями.
2. Хворі з неконтрольованою артеріальною гіпертензією.
3. Хворі з аутоімунними захворюваннями.
4. Хворі з неконтрольованим діабетом або інсулін-залежним цукровим діабетом.
5. Перфорована виразка рогівки
6. Хворі з патологією переднього сегменту ока, такими як хронічний ірит, іридоцикліт, рубеоз райдужки, псевдоексfolіації на оці, що планується оперувати.
7. Хворі з іншими важкими очними патологіями, важкими очними ускладненнями під час пересадки рогівки, що лежить в основі серйозних захворювань, на підставі медичного висновку дослідника.
8. Хворі, які годують груддю або які планують завагітніти протягом клінічного дослідження.

8. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

8.1 Включення в дослідження

Дослідник пояснить мету дослідження, процедури та обов'язки хворого, який бажає прийняти участь у дослідженні. У осіб, що бажають прийняти участь у дослідженні, зберуть історію захворювання та оцінять їхнє бажання та можливість виконання вимог до післяопераційного періоду. Після того, як буде прийнято рішення про відповідність бажуючого вимогам дослідження, буде отримано інформовану згоду на участь у дослідженні. Хворий підписує форму інформованої згоди. Дослідник або содослідник також підписують інформовану згоду. Оригінал підписаної інформованої згоди зберігатиметься в історії хвороби.

Після отримання інформованої згоди хворий підлягатиме комплексному передопераційному обстеженню для оцінки стану очей та загального стану здоров'я на початку дослідження. Передопераційне обстеження виконуватимуть не раніше ніж за 7 днів до запланованої дати операції пересадки РНСІІ-МРС рогівки. В передопераційному обстеженні оцінюватимуть не кориговану та кориговану гостроту зору на відстані, виконуватимуть біомікроскопію, досліджуватимуть внутриочний тиск транспальпебральним тонометром. Якщо не буде протипоказань з боку рогівки (її прозорість, товщина), також виконуватимуть ультразвукову біомікроскопію, сканування, *in vivo* конфокальну мікроскопію, естезіометрію, також буде проведене обстеження очного дна при розширеній зіниці. Хворого реєструватимуть після того, як він задовольнить всім критеріям включення і виключення.

ПРИМІТКА: протягом передопераційного обстеження та під час дослідження також можуть бути призначені додаткові дослідження, якщо це буде здаватися необхідним головному досліднику.

8.2 Імплантація РНСШ-МРС замінників рогівки

Хірургічна техніка: операція виконується за допомогою стандартної технології з використанням місцевої або загальної анестезії. На ураженій рогівці буде зроблена насічка за допомогою трепану на глибину до приблизно 50-90% від товщини рогівки (в залежності від глибини виразки рогівки або глибини рубця), рогівка в межах насічки видалятиметься скребцем. Діаметр трепану буде залежити від максимального розміру виразки або рубця. В утворене рогівкове ложе розміщують РНСШ-МРС імплант товщиною 250-500 мікрон та діаметром рівним або більшим на 0,25 мм діаметру насічки на рогівці та фіксують перекидними швами. Рогівку покривають бандажною контактною лінзою. Бандажну лінзу видаляють після завершення процесу епітелізації рогівки.

Рогівковий РНСШ-МРС імплант буде імплантовано на День 0 дослідження основним дослідником з використанням стандартних мікрохірургічних технік. Всі інструменти та процедури, які використовуються, будуть ідентичні тим, які зазвичай використовуються для трансплантацій рогівки. Після завершення операції в око призначають антибіотики і протизапальні препарати, на око накладається асептична пов'язка.

Ускладнення під час операції

Якщо під час операції виникають ускладнення, вони будуть записані у індивідуальну реєстраційну карту операції для оцінки впливу хірургічних ускладнень на післяопераційний період та для подальшого спостереження. Інтраопераційні ускладнення будуть записані як несприятлива подія і будуть відзначені в цілях безпеки.

8.3 Післяопераційне спостереження

Ведення післяопераційного періоду: місцево антибіотики в краплях призначатимуть три рази в день протягом двох тижнів з подальшою їхньою

заміною на місцевий антисептик (хлоргексидин або водний розчин борної кислоти) протягом ще 4-х тижнів. Післяопераційне запалення буде контролюватися з використанням місцевих нестероїдних препаратів 3 рази на день протягом двох тижнів з подальшою заміною на місцевий стероїдний препарат 3 рази на день, доза якого буде поступово знижуватись протягом 4-х тижнів. Післяопераційний дискомфорт, такі як біль, слезотеча, світлочутливість відзначатимуться та виправлятимуться. Якщо хірург вважає за потрібне, додатково можуть призначені інші медикаменти.

Пацієнтів спостерігатимуть щодня протягом 2-х тижнів, а потім на 1, 3, 6, 9 і 12 місяць після операції. Якщо це вважатиметься доцільним головному досліднику, графік візитів може бути відкоригований. Шви будуть видалені через 4-8 тижнів. При кожному візиті ускладнення будуть відзначатися та виправлятися.

8.4 Вторинні хірургічні втручання

Якщо трансплантат мутний або втрачений, пацієнтові пропонують трансплантацію донорської рогівки. Рогівковий трансплантат має більший діаметр, приблизно 7,75-8,0 мм в діаметрі. Трепанация рогівки, таким чином, охоплює все оригінальне операційне поле.

8.5 Розклад післяопераційних обстежень

Обстеження та оцінювання суб'єктів будуть проведені у відповідності з наступним графіком відвідувань:

Доопераційне оцінювання (День -7 – День -1)

Оцінювання під час операції (День 0)

День 1 (24 - 36 годин після операції)

Тиждень 1 (5 - 9 днів після операції)

Тиждень 2 (12 - 16 днів після операції)

Місяць 1 (3 - 5 тижнів після операції)

Місяць 3 (13 - 16 тижнів після операції)

Місяць 6 (21 - 26 тижнів після операції)

Місяць 9 (38 - 42 тижнів після операції)

Місяць 12

Якщо потрібна вторинна пересадка рогівки, пацієнтів будуть наглядати протягом ще 3 місяців або до досягнення стабілізації рогівки.

8.6 Клінічні параметри

Таблиці відвідувань та процедур з переліком клінічних параметрів для вимірювання при кожному обстеженні можна знайти в Додатку 1. Вимірювання будуть фіксуватися тільки для дослідженого ока (з імплантом) під час до- та післяопераційних відвідувань. Клінічні параметри, що підлягають оцінці:

Передопераційні та післяопераційні дані:

1. Гострота зору вдаль без корекції: До операції, День 1, Тиждень 1, 2; Місяці 1, 3, 6, 9, 12 або під час незапланованих візитів, коли це виправдано. Відстань 5м.
2. Гострота зору вдаль з корекцією: До операції, Тиждень 2; Місяці 1, 3, 6, 9, 12 або під час незапланованих візитів, коли це необхідно. Відстань 5м.
3. Обстеження за допомогою щілинної лампи: До операції, День 1, Тиждень 1, 2; Місяці 1, 3, 6, 9, 12 або під час незапланованих візитів, коли це необхідно.
4. In vivo конфокальна мікроскопія: До операції, Місяці 3, 6, 9, 12 або під час незапланованих візитів, коли це необхідно (якщо стан рогівки дозволяє це зробити).

5. Внутрішньоочний тиск транспальпебральним тонометром: До операції, Тиждень 2; Місяці 1, 3, 6, 9, 12 або під час незапланованих візитів, коли це необхідно.
6. Внутрішньоочний тиск апланаційним тонометром: До операції, Місяці 1, 3, 6, 9, 12 або під час незапланованих візитів, коли це виправдано. В залежності від стану рогівки: цій тест можна не виконувати.
7. Ультразвукова біомікроскопія та сканування: До операції, Місяці 1, 3, 6, 9, 12 або під час незапланованих візитів, коли це необхідно (якщо стан рогівки дозволяє це зробити).
8. Обстеження очного дна при розширеній зіниці: До операції, Місяць 12 або під час незапланованих візитів, коли це необхідно (якщо прозорість рогівки дозволяє це зробити).
9. Естезіометрія рогівки: До операції, Місяці 3, 6, 9, 12 або під час незапланованих візитів, коли це необхідно (якщо стан рогівки дозволяє це зробити).

Примітка: на початку дослідження (до операції) та на 12 місяці кожний тест з розкладу повинен бути проведений на обох очах.

Об'єм досліджень може бути змінений в ході спостережень, якщо це визначено основним дослідником.

8.7 Реєстрація отриманих даних

Всі випадки будуть описані в звіті по науково-дослідницькій роботі.

8.8 Завершення дослідження

1. Завершення участі суб'єкту у дослідженні.

Хворі вважаються такими, що завершили участь у дослідженні, якщо вони пройшли обстеження під час спостереження протягом 12 місяців.

2. Припинення участі хворого у дослідженні.

Хворі можуть бути виключені з дослідження на розсуд головного дослідника з причин, пов'язаних з режимом дослідження, що може поставити під загрозу здоров'я та/або благополуччя досліджуваних, якщо вони продовжать приймати участь в дослідженні.

Хворі можуть бути виключені з дослідження з причин, не пов'язаних з дослідженням тільки тоді, коли немає іншого вибору. Причини припинення участі включають в себе, але не обов'язково обмежуються: 1) добровільний вихід з дослідження хворим; 2) хворий переїхав з даної місцевості і не має можливості для подальшого обстеження; 3) хворий не бажає або не може виконувати вимоги дослідження (схему прийому препарату, наступні візити та інше). Причину припинення буде записано на відповідному бланку історії хвороби.

До виключення хворого з дослідження всі зусилля повинні бути зроблені, щоб зв'язатися з ним або заохочувати хворого дотримуватись протоколу, або отримати якомога більше даних спостереження.

9. СТАТИСТИЧНІ МЕТОДИ

9.1 Загальна обробка даних

Всі зареєстровані очі, які отримують рогівку RHCIII-MPC будуть включені в аналіз даних. Аналіз даних про ефективність та безпеку включатиме в себе дані очей з успішним імплантатом. Аналіз даних буде ґрунтуватися на всіх наявних даних і останні наявні дані будуть включені в аналіз в разі доцільності.

9.2 Аналіз клінічних параметрів

Зведена статистика буде розраховуватися для всіх клінічних параметрів, демографічних і вихідних змінних. Середні, стандартні відхилення, медіани і діапазони будуть використовуватися для опису безперервних вимірювань. Числа і відсотки будуть використані для опису категоризованих даних. Будуть проведені такі розрахунки як кумулятивна

частота, частота, відсоток, верхні межі одностороннього 95% довірчого інтервалу очей, у яких зафіксовано ускладнення та побічні ефекти.

10. РЕЄСТРАЦІЯ ПОБІЧНИХ ДІЙ

Протягом всього пропонованого дослідження, будуть зроблені всі можливі зусилля, щоб запобігти можливих побічних явищ (ПЯ) або реакцій. У разі виникнення ПЯ, перші зусилля будуть направлені на забезпечення безпеки та благополуччя хворого. Буде зроблено належне медичне втручання. Будуть фіксуватися будь-які ПЯ або ускладнення, що спостерігаються дослідником або про які повідомить пацієнт, і які мають відношення до очного яблука, незалежно від того, чи їх виникнення відносять до досліджуваного виробу чи ні. Будь-які пацієнти, які припинять участь з дослідження через побічні явища будуть знаходитися під наглядом та фіксуватися документально, поки не буде визначено результат їхнього лікування.

Раніше існуючі стани та захворювання, які є хронічними, але стабільними, не повинні включатися в форму індивідуальної реєстраційної карти (ІРК) ПЯ. Зміни у хронічному стані або захворюванні, що пов'язані з природним розвитком хвороби, не є ПЯ і також не повинні бути вписаними до ІРК ПЯ.

Серйозні та несерйозні ПЯ повинні мати градацію за трибальною шкалою (легка, помірна, важка) і детально описані у відповідній ІРК ПЯ/серйозних ПЯ.

Визначення полягають в наступному:

- **Легкий ступінь:** Стан відзначено, але відсутнє порушення нормальної повсякденної діяльності.
- **Помірний ступінь:** Стан достатній, щоб зменшити або порушити нормальну повсякденну діяльність.

- **Важкий ступінь:** Стан з нездатністю працювати або виконувати нормальну щоденну діяльність.

Використовуючи наступні критерії, дослідники також повинні оцінити, чи є вірогідність того, що досліджуваний імплант та / або хірургічна процедура, є причиною або внесли свій вклад в розвиток ПЯ.

- **безумовно пов'язаний:** Існує впевненість, що подія пов'язана з досліджуваним імплантом або хірургічною процедурою.
- **ймовірно пов'язаний:** Існує висока ймовірність того, що подія пов'язана з досліджуваним імплантом або хірургічною процедурою.
- **можливо пов'язаний:** Існує ймовірність того, що досліджуваний імплант та / або хірургічна процедура є причиною події, але й інші причини не можуть бути виключені.
- **низька ймовірність:** Не можливо, що подія пов'язана з досліджуваним імплантом або хірургічною процедурою, адже присутні інші більш ймовірні причини.
- **не має відношення:** Існують докази того, що подія пов'язана з чимось іншим, ніж з досліджуваним імплантом або хірургічною процедурою.

Передбачувані побічні явища і ускладнення включають, але не обмежуються:

- гіфема
- гіпопіон
- внутрішньоочні інфекції
- відторгнення імпланту
- набряк макули
- зіничний блок
- відшарування сітківки
- повторне хірургічне втручання
- стійкий набряк рогівки (присутній на 12 місяці після операції)
- стійкий ірит (присутній на 12 місяці після операції)

- підвищення внутришньоочного тиску, яке потребує лікування
- кератит
- ускладнення, пов'язані зі швами

11. РЕЄСТРАЦІЯ СЕРЙОЗНИХ ПОБІЧНИХ ДІЙ

Серйозні побічні явища (СПЯ) вимагають екстреної звітності спонсора або уповноваженої особи незалежно від стосунку до досліджуваного імпланту (див. розділ 10 «Реєстрація побічних явищ» для медичних явищ, які не вважаються ПЯ в даному дослідженні)

ПЯ слід класифікувати як серйозне, якщо воно:

- Є причиною смерті (тобто ПЯ причинило або призвело до смерті)
- Є небезпечним для життя (побічне явище призвело пацієнта до безпосередньої небезпеки смерті; це не відноситься до ПЯ, які гіпотетично могли б викликати смерть, якби воно було більш важким)
- Потребує стаціонарної госпіталізації чи продовження існуючої госпіталізації (наприклад, ПЯ вимагає щонайменше 24-годинної стаціонарної госпіталізації або тривалої госпіталізації за межами очікуваної тривалості перебування).
- Є результатом стійкої або значної втрати працездатності або дієздатності (наприклад, ПЯ призвело до суттєвого порушення здатності суб'єкта здійснювати нормальні життєві функції).
- Є вродженою аномалією / дефектом народження (наприклад, небажаний результат у дитини або плода суб'єкта під впливом досліджуваного пристрою до зачаття або під час вагітності)
- Є загрозою зору. Побічна реакція вважається загрозою зору, якщо вона відповідає одному або декільком з наступних критеріїв:
 - Це викликало зниження гостроти зору на 30 літер (у порівнянні з останньою оцінкою гостроти зору до самого останнього лікування).
 - Це викликало зниження гостроти зору до рівня руху рук або гірше.

- Це пов'язано з важким внутрішньоочним запаленням (наприклад, 4+ клітинна опалесценція в передній камері ока або 4+ вітрит).
- На думку дослідника, це може потребувати медичного втручання для запобігання постійної втрати зору.

Будь-які СПЯ, відносяться вони до досліджуваних процедур або пристрою чи ні, а також непередбачений небажаний вплив вироба (ННВВ – побічні дії, пов'язані з РНСІІ-МРС імплантом та не зазначені в протоколі), будуть повідомлені координатору проекту протягом 5 робочих днів з моменту, як про це явище стало відомо. Для отримання первинних доповідей СПЯ та ННВВ, дослідники повинні записувати всі подробиці справи, які можуть бути зібрані протягом 3-х робочих днів в формах СПЯ або ННВВ і повідомити про результати оцінки керівника, який виконує контроль за дослідженням та всіх залучених дослідників протягом 10 робочих днів. Будь-які суб'єкти, які припиняють участь у дослідженні через ПЯ будуть знаходитися під наглядом та фіксуватися документально, поки не буде визначено результат їхнього лікування.

Ні стан, ні госпіталізація, ні тривала госпіталізація, ні операція не повідомляється як ПЯ або СПЯ в наступних обставинах:

Госпіталізація або тривала госпіталізація для діагностичних або планових хірургічних процедур для раніше існуючого стану, якщо госпіталізація або хірургічне втручання було заплановано заздалегідь до реєстрації. Проте, під час цієї госпіталізації можуть виникнути інші явища, які можуть бути розглянуті як серйозні або несерйозні ПЯ і повинні бути відображені відповідно до протоколу.

12. ІНФОРМОВАНА ЗГОДА ХВОРОГО

Використовуватиметься стандартний документ інформованої згоди, прийнятий в Інституті.

Додаток 1

РОЗКЛАД ВІЗИТІВ ТА ПЕРЕЛІК ДОСЛІДЖЕНЬ¹

	До операції	День 1	Тиждень 1	Тиждень 2	Місяць 1	Місяць 3	Місяць 6	Місяць 9	Місяць 12
Гострота зору без корекції Відстань 5 м	OU*	IE*	IE	OU	IE	IE	IE	IE	OU
Гострота зору з корекцією Відстань 5 м	OU			OU	OU	OU	OU	OU	OU
Щілинна лампа	OU	IE	IE	OU	IE	IE	IE	IE	OU
Внутрішньоочний тиск ^{2,3}	OU			IE	IE	IE	OU	IE	OU
Ультразвукова мікроскопія та сканування ³	OU				IE	IE	IE	IE	OU
<i>In vivo</i> конфокальна мікроскопія ³	OU					OU	OU	OU	OU
Естезіометрія рогівки ³	OU					OU	OU	OU	OU
Обстеження очного дна при розширеній зіниці ³	OU								OU

¹ Перелік досліджень може бути змінений в ході дослідження, якщо це визначено основним дослідником.

² Завжди використовуйте один і той же діагностичний прилад, який використовується під час передопераційного обстеження та при проведенні післяопераційного діагностичного тесту

³ За відсутністю протипоказань через стан рогівки ока (глибина виразки або прозорість рогівки)

* OU – обидва ока, IE – опероване око

Ukrainian-English Translation

NATIONAL ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES OF UKRAINE
State Institution “V.P. Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy
of the NAMS of Ukraine”

Annex to the Research Study Plan:

«Development of collagen-based corneal stroma equivalent and investigation of the potential of its
use as keratoplasty material»

Scientific supervisor – Doctor of Medical Sciences, Professor N.V. Pasychnikova
Responsible investigators – Doctor of Medical Sciences, Professor S.A. Iakymenko,
Candidate of Medical Sciences O.I. Buznyk

Odesa
2013

STUDY OF SAFETY AND EFFECTIVENESS OF THE COLLAGEN-
METHYLPHOSPHORYLCHOLINE CORNEAL SUBSTITUTES IN PATIENTS REQUIRING
LAMELLAR KERATOPLASTY

1. Introduction & Rationale

The World Health Organization has estimated that there are 23 million people worldwide which have corneal disease or injury resulting in partial and 10 million suffering complete loss of vision in one or both eyes. Yet the number of corneal transplants being performed worldwide is between 100,000 and 200,000. Thus, there is a pronounced deficiency in the world of donor corneas for transplantation. In Western countries the lack of donor corneas is relative but in developing countries there is almost a total absence of availability of donor corneas. Diseases such as trachoma, ocular burns and traumas, measles, and bacterial infections are among the leading causes of blindness that can be addressed with corneal transplantation. Around 4000 corneas are needed in Ukraine annually but only 500 corneal transplantations are performed.

Based on this, a research team at the Ottawa Hospital Research Institute – Vision Program & University of Ottawa, Canada began to develop biosynthetic or "tissue engineered" corneas. The concept was to produce a cell-free matrix consisting of cross-linked collagen. The choice of material during the 12 years of development has gone from animal collagen to human recombinant collagen, cross-linked with a synthetic molecule. Several versions of the matrix have undergone development, but the version used in a clinical trial on 10 human patient in Linköping University Hospital was composed of recombinant human collagen type III (RHCIII) produced by Fibrogen Inc., USA, by genetic engineering, in yeast. The resulting processed and purified collagen is cross-linked to a carbodiimide, a chemical belonging to the family of water soluble crosslinking agents for fabrication into a hydrogel. The cornea implants were evaluated in several animal species including rabbit, dog and mini-pigs in Canada, Sweden and the Filatov Institute to study not only the biocompatibility but also to develop the surgical handling prior to clinical testing. The material has undergone a series of tests with regard to toxicity prior to clinical testing.

The grafted corneal implants were cell-free and optically clear and have healed well without sustained immunosuppression beyond the first 6.5 weeks (on average) and become translucent. Nerve regeneration function was confirmed using in vivo confocal microscopy. There has been no need for long term immunosuppression and no graft failure at 2 years post-operative. However, the implants were soft and patients required the use of rigid contact lenses for optimal vision.

Linköping University has continued development of the bioengineered cornea using collagen. The implants have been reinforced with a network of methyl-phosphorylcholine (MPC) – cell membrane phospholipid - making them stronger but allowing them to retain all the cell friendly properties and promote regeneration in a range of animal models including mice, guinea pigs, and rabbits. Besides, these implants were better tolerated in alkali burn model – they prevented vessel ingrowth and preserved transparency unlike implants without MPC. This data was confirmed by V.P. Filatov Institute of Eye Diseases & Tissue Therapy experimental studies.

The study planned under this protocol will use the reinforced version of the material.

2. PRECLINICAL DATA

Prior to human studies, the RHCIII-MPC cornea has undergone preclinical biocompatibility and physico-chemical testing to determine material safety. This testing is summarized as follows.

2.1 Sterility and Cytotoxicity/Biocompatibility Testing

The pre-clinical evaluation of the RHCIII-MPC corneal materials consisted of biological, chemical/physical, and sterilization testing, a summary of which is provided below.

Table 1: Summary of Cytotoxicity/Biocompatibility Testing

Test	RHCIII-MPC corneal implant
Sterility test	Implants found to be sterile.
Cytotoxicity & biocompatibility test with cultured corneal epithelial cell line	No cytotoxicity found. Supported epithelial cell growth.

2.2 Biocompatibility/Efficacy Testing in Animals

An assessment of the biocompatibility and efficacy of RHCIII-MPC corneal implants was performed in animals. Results are provided in Table 2.

Table 2: Summary of Biocompatibility/Efficacy Testing

Test	RHCIII-MPC cornealImplant
In vivo implantation in guinea pigs for nerve regeneration assessment	Different nerve subtypes regenerated over the 8 month course of the study.
In vivo implantation in alkali-burnt rabbits	RHC-MPC implants were able to block vascular in-growth that occurred in both RHC only implants and allografts.

3. PRIOR CLINICAL STUDIES

A ten patient clinical study was carried out at the Linkoping University Hospital by Professor Per Fagerholm using the bioengineered cornea from recombinant human collagen type III (RHCIII). Nine of the patients in the study had progressive keratoconus and one patient had a deep corneal scar. After two years, the bioengineered corneas have remained biocompatible.

4. STUDY OBJECTIVE

The objective of this study is to evaluate the safety and effectiveness of the next generation biosynthetic cornea, where the type III recombinant human collagen interpenetrating network is reinforced by a methyl-phosphorylcholine network (RHCIII-MPC), in patients with best corrected visual acuity of 0,1 or worse due to corneal ulcers or to corneal opacity from corneal injury, burn or infection .

5. STUDY DESIGN

This will be a prospective clinical trial in which a maximum of 10 eyes of 10 patients will be implanted with the RHCIII-MPC cornea and will be followed over a 12 month period.

Potential candidates will be screened for eligibility, and informed consent will be obtained from those who meet the screening criteria and are interested in participation in the study. Eligible subjects will be examined preoperatively to obtain a medical history and to establish a baseline for their ocular condition. Qualified subjects will undergo corneal transplant with the RHCIII-MPC corneal substitute. Material: RHCIII-MPC biosynthetically produced cornea, 250-500 microns thick and 4 to 8,25 mm in diameter referred implanted in the corneas of patients using the anterior lamellar keratoplasty surgical procedure.

Patient Selection: Patients will be selected from patients such that there will be clear corneal stroma around the implanted graft. This will allow recipient cells to invade the matrix. Included patients will be limited to eyes with central corneal ulcers or scars not extending to or involving Descemet's membrane and endothelium. Patients will be informed both in writing and with supporting information. Patients can always and at any time withdraw from the study.

Outcome Measurements: At each return visit with the exception of Day 1. At each return visit, noted the degree and type of conjunctival injection, the degree of transparency of cornea, implant and aqueous humor, visual acuity, anterior segment OCT (ultrasound biomicroscopy), intraocular pressure, etc.

The matrix is considered to have healed up when no defect of corneal epithelium is noted, which is confirmed by fluorescein staining of corneal surface.

6. PRELIMINARY SAFETY AND EFFECTIVENESS PARAMETERS

6.1 Effectiveness Parameters

- a. Primary endpoint in corneal opacity – improvement of 1 or more lines in Corrected Visual Acuity (CVA)
- b. Primary endpoint in corneal ulcer – healing of ulcer. Ulcer is considered to have healed up when there is no defect of corneal epithelium, which is confirmed by fluorescein staining of corneal surface

6.2 Safety Parameter

Cumulative and persistent incidence of adverse events.
Demonstration of biocompatibility.

7. SUBJECT POPULATION

A maximum of 10 patients willing to undergo corneal transplantation

7.1 Inclusion Criteria:

1. Subjects must sign and be given a copy of the written Informed Consent form.
2. Subjects with CVA 0,1 or worse as a result of corneal ulcer or corneal scar due to burn, injury or infection in the operative eye .
3. Subjects must be ≥ 18 and ≤ 85 years of age at the time of subject eligibility visit.

-
4. Subjects must be willing and able to return for scheduled follow-up examinations for 12 months after surgery.

7.2 Exclusion Criteria:

1. Subjects with severe or life-threatening systemic disease.
2. Subjects with uncontrolled hypertension.
3. Subjects with autoimmune disease.
4. Subjects with uncontrolled diabetes or insulin-dependent diabetes.
5. Perforated corneal ulcer
6. Subjects with anterior segment pathology such as chronic iritis, iridocyclitis, rubeosis, pseudoexfoliation in the operative eye.
7. Subjects with any other serious ocular pathology, serious ocular complications at the time of corneal transplant underlying serious medical conditions, based on the investigator's medical judgment.
8. Subjects which are or lactating or who plan to become pregnant over the course of the clinical investigation.

8. STUDY MATERIALS AND METHODS

8.1 Subject Entry

The investigator will explain the study purpose, procedures, and subject responsibilities to the potential participant. The subject's ocular history will be assessed and their willingness and ability to meet the follow-up requirements will be determined. When it has been established that the subject is likely to be eligible for participation, written informed consent will be obtained. The subject will sign the informed consent form. The investigator or sub-investigator will also sign the consent form. The original signed informed consent form will be retained in case history.

Once the written consent has been provided, the subject will undergo a complete preoperative eye examination, a medical history and physical screening (per clinical site's standard of care) to determine eligibility and baseline clinical measurements. The preoperative examination will be performed no more than 7 days prior to implantation of the RHCIII-MPC cornea. Preoperative examination will include uncorrected and best-corrected distance visual acuity, slit lamp examination and picture, transpalpebral intraocular pressure measurement. If no contraindication exists due to cornea status (corneal transparency, thickness) ultrasound biomicroscopy, scan, *in vivo* confocal microscopy, esthesiometry and dilated fundus examination will be performed preoperatively as well. After the subject has met the inclusion and exclusion criteria, the subject will be enrolled.

NOTE: Additional testing may be performed during the preoperative exam and the course of the study as deemed necessary by the principal investigator.

8.2 RHCIII-MPC Cornea Implantation

Surgical Technique: The operation is performed by a routine technique using local or general anesthesia. Diseased cornea will be cut with a trephine to approximately 50-90% of corneal thickness

(depending on corneal ulcer or scar depth) and then a lamellar dissection will be created. Trephine diameter will depend on ulcer or leukoma maximal size. A RHCIII-MPC cornea 250-500 microns thick and equal or 0,25 mm larger in diameter is placed and sutured with overlying sutures. The cornea is covered with a bandage contact lens. The bandage lens will be removed after corneal epithelialisation is complete.

The RHCIII-MPC cornea will be implanted on Day 0 of the study by the Principal Investigator using standard microsurgical techniques. All instruments and procedures used will be identical to those routinely used for corneal transplants. Following completion of the surgery, a topical antibiotic and anti-inflammatory drug should be applied to the eye, followed by a patch.

Intraoperative Complications

If complications occur intraoperatively, they will be recorded on the Operative Case Report Form for assessment of the impact of surgical issues during the postoperative follow up period.

Intraoperative complications will be recorded as an adverse event and will be noted for safety.

8.3 Postoperative Care

Postoperative care: Local antibiotic eye drops will be given three times a day for two weeks followed by topical antiseptic (chlorhexidine or boric acid water solutions) for another 4 weeks. Post-operative inflammation will be controlled using topical non-steroidal drug 3 times daily for two weeks followed by topical steroid 3 times daily which will be tapered for a period of 4 weeks. Postoperative discomfort such as pain, tearing, photosensitivity is noted and repaired. Additional medications as deemed necessary may be administered at the surgeon's discretion. Patients are observed daily during 2 weeks, then in 1, 3, 6, 9 and 12 months after the surgery. Visit schedule may be changed if it is deemed necessary to principal investigator. The sutures will be removed after 4 – 8 weeks. At all visits eyes checked, complications noted and repaired.

8.4 Secondary Surgical intervention

If the transplant is clouded or lost the patient offered transplantation in the usual terms. Normal graft has a greater diameter, approximately 7,75-8,0 mm in diameter. Excision of the cornea will thus cover the whole of the original surgical site.

8.5 Examination Schedule

Subjects will be examined and evaluated according to the following schedule of visits:

Preoperative Evaluation (Day -7 to Day -1)	
Operative Evaluation (Day 0)	
Day 1	(24 to 36 hours post-op)
Week 1	(5 to 9 days post-op)
Week 2	(12 to 16 days post-op)
Month 1	(3 to 5 weeks post-op)
Month 3	(13-16 weeks post-op)
Month 6	(21 to 26 weeks post-op)
Month 9	(38-42 weeks post-op)

If a secondary corneal transplant is required, subjects will be followed for an additional 3 months or until corneal stability is attained.

8.6 Clinical Parameters

A Table of Visits and Procedures listing the clinical parameters to be measured at each examination is found in Appendix 1. Measurements will be recorded for the study eye only (implanted eye) at intraoperative and postoperative visits. The clinical parameters to be evaluated are:

Preoperative and Postoperative Data:

1. Uncorrected visual acuity: Preoperative, Day 1, Week 1, 2; Months 1, 3, 6, 9, 12 or during unscheduled visits when warranted.
 - Distance (5m) (UCDVA)
2. Distance-corrected visual acuity: Preoperative, Week 2; Months 1, 3, 6, 9, 12 or during unscheduled visits when warranted.
 - Distance (5m) (CDVA)
3. Slit lamp examination: Preoperative, Day 1, Weeks 1, 2, Months 1, 3, 6, 9, 12 or during unscheduled visits when warranted.
4. *In vivo* confocal microscopy: Preoperative, Months 3, 6, 9, 12 or during unscheduled visits when warranted (if corneal status allows performing it).
5. Transpalpebral intraocular pressure: Preoperative, Week 2, Months 1, 3, 6, 9, 12 or during unscheduled visits when warranted.
6. Central applanation intraocular pressure: Preoperative, Months 1, 3, 6, 9, 12 or during unscheduled visits when warranted. Due to the corneal condition; this test might not be done.
7. Ultrasound Biomicroscopy and Scan: Preoperative, Months 1, 3, 6, 9, 12 or during unscheduled visits when warranted (if corneal status allows performing it).
8. Dilated fundus examination: Preoperative and month 12 or during unscheduled visits when warranted (if corneal transparency allows performing it).
9. Corneal aesthesiometry: Preoperative, Months 3, 6, 9, 12 and during unscheduled visits when warranted (if corneal status allows performing it).

Note: At baseline (preoperative) and Month 12 each scheduled test will be completed for both eyes.

Number of tests performed may be changed during the course of the study as determined by the principal investigator.

8.7 Data Reporting

All cases will be described in Scientific Research Project report.

8.8 Study Completion

1. Subject Completion

Subjects are considered to have completed the study if they have completed follow-up examinations through 12 months.

2. Subject Discontinuation

Subjects may be discontinued from the study at the discretion of the principal investigator for reasons related to the study regimen that would jeopardize the subjects' health and/or welfare if they were to continue in the study.

Subjects may be discontinued from the study for non-study-related reasons only when no other option is possible. Reasons for discontinuation include, but are not necessarily limited to, 1) voluntary withdrawal from the study by the subject; 2) subject has moved from the area and is determined to be lost to follow-up; 3) subject is unwilling or unable to cooperate with study requirements (medication regimen, follow-up visits, etc.). The reason for discontinuation will be recorded on the appropriate case report form.

Prior to discontinuing a subject, every effort should be made to contact the subject to either encourage the subject to maintain compliance with the protocol or to obtain as much follow-up data as possible regarding the subject's current visual status.

9. STATISTICAL METHODS

9.1 General Data Handling

All enrolled eyes receiving a RHCIII-MPC cornea will be included in the data analyses. The effectiveness and safety data analyses will include the data of eyes with a successful implant. Data analyses will be based on all available data and last-available data will be incorporated into the analysis where applicable.

9.2 Analyses of Clinical Parameters

Summary statistics will be calculated for all the clinical parameters, demographic, and baseline variables. Means, standard deviations, medians, and ranges will be used to describe continuous measurements. Numbers and percentages will be used to describe categorical outcomes. The cumulative incidence, frequencies, proportion, and one-sided upper 95% confidence limits of eyes reported with complications and adverse events will be calculated.

10. ADVERSE EXPERIENCE REPORTING

Throughout the course of the proposed study, all efforts will be made to remain alert to possible adverse experiences or untoward findings. If adverse experiences occur, the first concern will be the

safety and welfare of the subject. Appropriate medical intervention will be made. Any adverse experiences or complications observed by the investigator or reported by the subjects that pertain to the ocular globe, whether or not ascribed to the investigational procedure or device will be recorded. Any subjects who are terminated from the study due to adverse experiences will be followed and documented until their medical outcome is determined.

Pre-existing conditions or diseases that are chronic but stable should not be recorded on adverse event (AE) case report forms (CRF). Changes in a chronic condition or disease that are consistent with natural disease progression are NOT AEs and also should not be recorded on the AE CRF. Both serious and non-serious AEs should be graded on a three-point scale (mild, moderate, severe) and reported in detail on the appropriate Adverse Event/Serious Adverse Event CRF.

The definitions are as follows:

<u>Mild:</u>	Condition noticed but no disruption of normal daily activity
<u>Moderate:</u>	Condition sufficient to reduce or affect normal daily activity
<u>Severe:</u>	Condition with inability to work or perform normal daily activity

Using the following criteria, investigators also need to assess whether there is a reasonable possibility that the study device and/or the surgical procedure caused or contributed to the AE.

- **Definitely related:** There is a certainty that the event is related to the study device or to the surgical procedure
- **Probably related:** There is a high likelihood that the event is related to the study device or to the surgical procedure
- **Possibly related:** There is a likelihood that the study device or the surgical procedure is the cause of the event, but other causes cannot be ruled out
- **Unlikely to be related:** It is not likely that the event is related to the study device, and other more likely causes are present
- **Unrelated:** Evidence exists that the event is related to something other than the study device or to the surgical procedure

The list of identified adverse events is as follows.

Anticipated adverse events and complications include but not limited to:

- Hyphema
- Hypopyon
- Intraocular Infection
- Graft rejection
- Macular Edema
- Pupillary Block
- Retinal Detachment
- Secondary Surgical Intervention
- Persistent Corneal Edema (present at 12 mo. post-op)

-
- Persistent Iritis (present at 12 mo. post-op)
 - Elevated IOP Requiring Treatment
 - Keratitis
 - Suture related complications

11. SERIOUS ADVERSE EXPERIENCE REPORTING

Serious adverse event (SAE) require expedited reporting to the Sponsor or designee regardless of relationship to study device. (Refer to Section 10 “Adverse Experience Reporting” for medical events that are not considered AEs for this study.)

An AE should be classified as **SERIOUS** if it:

- Results in death (e.g., the AE caused or led to death)
- Is life-threatening (e.g., the AE placed the subject at immediate risk of death; it does not apply to an AE that hypothetically might have caused death if it were more severe).
- Requires inpatient hospitalization or prolongation of existing hospitalization (e.g., the AE required at least a 24-hour inpatient hospitalization or prolonged a hospitalization beyond the expected length of stay).
- Results in persistent or significant disability or capacity (e.g., the AE resulted in a substantial disruption of the subject's ability to carry out normal life functions).
- Is a congenital anomaly / birth defect (e.g., an adverse outcome in a child or fetus of a subject exposed to the study device prior to conception or during pregnancy).
- Is sight threatening. An adverse event is considered to be sight-threatening if it meets one or more of the following criteria:
 - It caused a decrease in visual acuity of 30 letters (compared with the last assessment of visual acuity prior to the most recent treatment).
 - It caused a decrease in visual acuity to the level of hand movement or worse.
 - It is associated with severe intraocular inflammation (e.g., 4+ anterior chamber cell/flare or 4+ vitritis).
 - In the opinion of the investigator, it may require medical intervention to prevent permanent loss of sight.

Any SAEs, whether ascribed to the investigational procedure or device or not, and unanticipated adverse device events (UADE- adverse events related to the RHCIII-MPC implant that are not listed in the protocol), will be communicated to project coordinator within 5 working days of learning of the event. For initial SAE and UADE reports, investigators should record all case details that can be gathered within 3 working days on the SAE or UADE Form and will report the results of the evaluation to the supervisor that has study oversight, and participating investigators within 10 working days. Any

subjects who are terminated from the study due to AEs will be followed and documented until their medical outcome is determined.

Neither the condition, hospitalization, prolonged hospitalization, nor surgery are reported as an adverse event or serious adverse event in the following circumstance:

- Hospitalization or prolonged hospitalization for diagnostic or elective surgical procedures for a preexisting condition, if the hospitalization or surgery was pre-planned prior to enrollment. However, other events may occur during this hospitalization that may be considered serious or non-serious AEs and will need to be captured according to the protocol.

12. INFORMED CONSENT DOCUMENT

A standard Informed Consent Document approved at the Institute will be used.

APPENDIX 1: SCHEDULE OF VISITS AND PROCEDURES¹

	Pre-Op	1 Day	1 Wk	2 Wk	1 Mo	3 Mo	6 Mo	9 Mo	12 Mo
Uncorrected VA: Distance at 5m	OU*	IE*	IE	OU	IE	IE	IE	IE	OU
Distance-Corrected VA: • Distance at 5m	OU	IE		OU	OU	OU	OU	OU	OU
Slit Lamp Examination	OU	IE	IE	OU	IE	IE	IE	IE	OU
Intraocular Pressure ^{2,3}	OU			IE	IE	IE	OU	IE	OU
US Biomicroscopy and scan ³	OU				IE	IE	IE	IE	OU
<i>In vivo</i> confocal microscopy ³	OU					OU	OU	OU	OU
Corneal aesthesiometry ³	OU					OU	OU	OU	OU
Dilated Fundus Exam ³	OU								OU

¹ List of tests may be changed during the course of the study as determined by the principal investigator

² Always use the same diagnostic device as used during the preoperative visit testing when performing postoperative diagnostic test

³ If no contraindication exists due to cornea status (ulcer depth or corneal transparency)

* OU – both eyes, IE – operated eye