

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ  
імені П.Л. ШУПИКА**

**ЛИСЕНКО МИХАЙЛО ГРИГОРОВИЧ**



*УДК 617.713-007.64-089.843*

**ЕФЕКТИВНІСТЬ МОДИФІКОВАНОГО МЕТОДУ ЛІКУВАННЯ  
КЕРАТОКОНУСУ**

**14.01.18 – Офтальмологія**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Київ – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, Міністерства охорони здоров'я України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор  
**Шаргородська Ірина Василівна,**  
Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, МОЗ України,  
професор кафедри офтальмології

**Офіційні опоненти:** Доктор медичних наук, професор  
**Завгородня Наталія Григорівна,**  
Запорізький державний медичний університет МОЗ України, завідувача кафедри офтальмології

Доктор медичних наук, старший науковий співробітник

**Гайдамака Тетяна Борисівна,**  
ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П.Філатова НАМН України», с.н.с. відділу патології рогівки ока


Захист відбудеться «30» травня 2019 року о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.26.613.05 при Національній медичній академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, МОЗ України, за адресою: 03126, Україна, м. Київ, просп. Комарова, 3, Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня «Центр мікрохірургії ока», кафедра офтальмології.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, МОЗ України, (04112, Україна, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9).

Автореферат розісланий «23» квітня 2019 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради,

к.мед.н., доцент



**Н. С. Лаврик**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Кератоконус – є хронічним, незапальним, прогресуючим, стадійним захворюванням, яке належить до первинних кератоектазій та призводить до ранньої інвалідизації та сліпоти, особливо в осіб працездатного віку (Каспарова Е.А., 2002, Копаева В.Г., Легких Л.С., 2004, Суркова В. К., Оганисян К. Х., 2015, Rabinowitz Y. et al., 1992, Vazirani J., Basu S., 2013). Проблема боротьби зі сліпотою та слабобаченням залишається актуальною для України, де захворювання рогівки посідають третє місце, і з кожним роком ситуація з поширеністю на кератектазії незмінно погіршується (Слабкий Г. О., Збітнева С. В., 2013).

Незважаючи на значні можливості поширених методик кератопластики, які отримали суттєвий розвиток, наскрізна аллокератопластика (НАКП) залишається «золотим стандартом» в лікуванні рогівкової патології (Ивановская Е. В., 2000, Javadi M. A. et al., 2005, Patel S. V., 2011, Vishal J. et al., 2012, Lass J. H. et al., 2013).

В багатьох країнах світу кератоконус стабільно займає перше місце серед показань до НАКП (Lindquist T. D. et al., 1991, Al-Yousuf N. et al., 2004, Siganos C. S. et al., 2010, Kelly T. L. et al., 2011), яка дає зорову та професійну реабілітацію пацієнтам молодого працездатного віку (Каспарова Е.А., 2002, Vazirani J., Basu S., 2013).

Проблема нестачі донорського рогівкового матеріалу є нагальною для всіх країн і особливо для України (Завгородня Н. Г. и соавт., 2011, Дрожжина Г. И., Гайдамака Т. Б., и соавт., 2016, Брюховецька М. С., 2016, Алещенко И. Е. и соавт., 2017) при збільшенні випадків транспортного, військового та побутового травматизму, що вимагає пошуку рекомендацій щодо раціонального використання наявних донорських рогівок.

Вживання трансплантату залишається провідним показником успіху кератопластики, а якість донорської рогівки - один з найбільш важливих критеріїв, який впливає на вірогідність прозорого приживлення трансплантату (Tan D. T., Mehta J. S., 2007, Patel S. V., 2011). Проводяться роботи щодо оцінювання морфометричних показників стану ендотеліального шару рогівки при різних хірургічних втручаннях (Завгородня Н. Г. и соавт., 2011, Рыков С. А. и соавт., 2017, Jonuscheit S., et al., 2011, Benetz V. A. et al., 2015).

Невирішеним науково-прикладним завданням при операціях у хворих на кератоконус є підвищення інформативності критеріїв доопераційної оцінки стану ендотеліального шару донорської рогівки (Shargorodska I., et al., 2018). Рання діагностика апоптозу клітин ендотелію донорської рогівки, який є невід'ємною частиною посмертних тканинних змін (Jonuscheit S. et al., 2011, Benetz V. A. et al., 2015), дозволила б обґрунтовано проводити відбракування кадаверної рогівки.

В сучасній офтальмологічній літературі обмежена інформація про вплив інтраопераційної ендотеліопротекції на виживаємість трансплантатів на очах, які прооперовані з приводу кератоконусу, де механічний травмуючий фактор відіграє важливу роль в розвитку апоптозу рогівкових ендотеліоцитів (Hennighausen H. et al., 1998, Albon J. et al., 2000). Тому додатковий інтраопераційний захист

ендотеліоцитів трансплантату від механічного пошкодження буде слугувати додатковим фактором виживання ендотеліальних клітин на рогівковому трансплантаті.

Необхідно і доцільно розробити нові ефективні критерії відбракування донорського рогівкового матеріалу, оптимізувати та удосконалити методики інтраопераційного захисту ендотеліоцитів. Вирішення зазначених питань зумовило актуальність проведеного дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана на кафедрі офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика і є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт: «Удосконалення методів діагностики та лікування порушень оптичної системи ока» (№ державної реєстрації 0104U002966), термін виконання 2005 – 2009 рр.; «Діагностика та лікування порушень оптичної системи ока» (№ державної реєстрації 0110U002363), термін виконання 2010-2014 рр.; «Діагностика та лікування порушень оптичної системи, судинних та дистрофічних змін органа зору» (№ державної реєстрації 0115U002167), термін виконання 2015-2016 рр. і «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування і профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органа зору» (№ державної реєстрації 0116U002821), термін виконання 2016-2020 рр., в яких автор був співвиконавцем.

**Мета дослідження:** підвищити ефективність лікування хворих на кератоконус шляхом більш якісного відбору рогівкового алотрансплантату для наскрізної аллокератоластики за рахунок визначення додаткових діагностичних та прогностичних критеріїв якості рогівкового алотрансплантату на передтрансплантаційному етапі та застосуванням інтраопераційної ендотеліопротекції.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити особливості конфокальних мікрофотограм рогівкового ендотелію на кадаверних очах, які використовуються для проведення наскрізної алокератоластики при кератоконусі.
2. Розробити додаткові критерії відбракування донорських рогівок (коефіцієнт рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки).
3. Проаналізувати динаміку втрати ендотеліальних клітин протягом року спостереження на трансплантатах, відібраних за розробленим критерієм рефлексивності ендотеліальних клітин.
4. Визначити структуру відбракування донорських рогівок, які не є придатними для проведення наскрізної алокератоластики при кератоконусі.
5. Розробити методику захисту ендотелію донорських рогівок при НАПК на етапі «back table» та оцінити її ефективність при кератоконусі.
6. Визначити ефективність використання розробленого критерію рефлексивності та модифікованого способу віскопротекції ендотелію при проведенні операції НАКП у хворих на кератоконус шляхом порівняння клінічних показників очей в досліджуваних групах.

7. Розроблені алгоритм визначення коефіцієнт рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки та модифікований спосіб віскопротекції ендотелію при НАКП впровадити в роботу закладів охорони здоров'я.

**Об'єкт дослідження:** кератоконус – (МКХ-10; код Н.18.7.).

**Предмет дослідження:** порівняння функціональних (гострота зору) та клінічних (топографія рогівки, щільність ендотеліальних клітин) показників очей хворих на кератоконус після НАКП; зміни морфометричних показників рогівкового ендотелію на трансплантаті у пацієнтів з кератоконусом, визначення особливостей ендотеліального шару на рогівковому алотрансплантаті з залученням лазерної скануючої конфокальної мікроскопії *ex vivo* та *in vivo*.

**Методи дослідження:** візометрія (таблиця Головіна - Сивцева), кератометрія та рефрактометрія (Huvitz MRK-3100, Huvitz Co., Ltd, Південна Корея), пневмотонометрія (Reichert AT555 NCT, Reichert, США), біомікроскопія *in vivo* (Topcon SL-3F, Topcon Corporation, Японія), кератотопографія (Orbscan II, Bausch&Lomb, США), пахіметрія рогівки та конфокальна мікроскопія *ex vivo* та *in vivo* (лазерний скануючий конфокальний ретинотомограф HRT II з Rostock Cornea Module, Heidelberg Engineering Inc., ФРН), біомікроскопія *ex vivo* (операційний мікроскоп OPMI Lumera 700, Carl Zeiss Meditec AG, Йена, ФРН). Методи статистичної обробки даних: описова статистика, лінійне моделювання, факторний та дисперсійний аналізи, варіаційна статистика, оцінка достовірності результатів за критерієм Ст'юдента, показник достовірності відмінності (p), поправка Бонферроні, парний критерій Ст'юдента, непараметричний критерій Вілкоксона для парних порівнянь, коефіцієнт кореляції Спірмена (r), сплайн-інтерполяція.

**Наукова новизна отриманих результатів:** - Доповнено наукові знання про можливості вивчення за допомогою метода метода *ex vivo* конфокальної мікроскопії ендотеліального шару рогівкових оболонок кадаверних очних яблук. На основі дослідження на клітинному рівні особливостей ендотелію рогівки кадаверних очних яблук, вперше визначено, що наявність органел в цитоплазмі ендотеліоцитів, «об'ємність» ендотеліоцитів та зниження запропонованого коефіцієнта рефлексивності (КРЕКР) (<50) є свідченням негативного прогнозу виживання ендотеліоцитів та трансплантаті при наскрізній алокератоластиці (p<0,05).

– Доповнено наукові дані на підставі проведених клінічних досліджень хворих на кератоконус про динаміку морфометричних характеристик ендотеліальних клітин (щільності ЕК) на наскрізному рогівковому трансплантаті через шість місяців після наскрізної алокератоластики (НАКП). Встановлена достовірна залежність від коефіцієнта рефлексивності ендотеліальних клітин (КРЕКР), який був визначений до трансплантації, щільності ендотеліальних клітин на рогівковому наскрізному алотрансплантаті через шість місяців після НАКП у хворих на кератоконус. Визначена порогова величина КРЕКР (50), яка достовірно корелює з інтенсивною втратою ендотеліальних клітин рогівки (r=0,83; p<0,05).

– Розширено наукову інформацію про модифікований спосіб віскопротекції ендотелію при НАКП у хворих на кератоконус на етапі «back table», який позитивно впливає на виживання ендотеліоцитів на рогівковому трансплантаті. При порівнянні досліджуваних груп відмічено, що застосування розробленого модифікованого способу віскопротекції ендотелію із застосуванням віскопротекторів в поєднанні з відбором донорської трупної рогівки за запропонованими морфометричними критеріями відмічено більше збереження ендотеліоцитів на трансплантаті вже на 3 місяці спостереження ( $p < 0,05$ ) проти 6 місяця при порівнянні з групами без модифікованої віскопротекції ендотелію.

– Розширено наукові дані про характеристику рогівкових трансплантатів кадаверних очних яблук та визначення їх придатності для проведення операції оптичної НАКП. Встановлено, що лише 13-14% ДТР КОЯ, які надходять для проведення трансплантації; придатні для проведення оптичної НАКП на очах хворих на кератоконус для збереження життєздатності рогівкового трансплантату. Виявляються непридатними через виражений непридатний посмертний набряк рогівки 45,1% КОЯ, 25,6% КОЯ - через серологічні тести зразків крові донорів, 10% – через патологічні зміни структур переднього сегменту ока та недостатню щільність ЕК, 5% – через підвищення вимог до ДТР шляхом застосування розроблених морфометричних критеріїв ЕК та запропонованого коефіцієнта рефлексивності.

**Практична значення отриманих результатів:** на підставі отриманих результатів вперше обґрунтовано, розроблено та впроваджено в практику методику проведення конфокальної мікроскопії рогівки *ex vivo* за допомогою розробленого штативу, який можна розташувати на Гейдельберзькому лазерному скануючому конфокальному ретинотомографі (Heidelberg Retina Tomograph) з рогівковим модулем Rostock Cornea Module (Heidelberg Engineering GmbH, Німеччина), що сприяє підвищенню ефективності діагностики змін рогівкових оболонок кадаверних очних яблук.

Запропонований алгоритм визначення коефіцієнту рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки, котрий включає послідовність етапів дослідження кадаверного очного яблука: 1) конфокальну мікроскопію кадаверного очного яблука *ex vivo*; 2) отримання тонової діаграми монохромного зображення ендотеліального шару рогівки за допомогою вільного програмного забезпечення «ImageJ»; 3) визначення значення моди тонової гістограми рогівки кадаверного очного яблука. Завдяки запропонованому способу досягається підвищення вимог до якості донорського трансплантату, і, таким чином, за рахунок доопераційного відбракування – зменшення втрати ендотеліоцитів на трансплантатах у реципієнта через 6 – 12 місяців після наскрізної аллокератоластики в порівнянні з групою без урахування цих факторів ( $p < 0,05$ ).

Запропонований модифікований спосіб віскопротекції ендотелію кадаверного очного яблука при наскрізній аллокератопластиці у хворих на кератоконус на етапі «back table» подовжує життєздатність рогівкового трансплантату і є суттєвим додатковим фактором, який дозволяє знизити втрату ендотеліоцитів на трансплантаті.

Розроблені пропозиції, які спрямовані на підвищення якості рогівкового трансплантату, дозволили підвищити ефективність лікування хворих на кератоконус, яким була виконана оптична НАКП, а саме: максимальна некоригована гострота зору, в середньому,  $0,42 \pm 0,11$  проти  $0,28 \pm 0,08$  в групі контролю ( $p < 0,05$ ), коригована гострота зору  $0,74 \pm 0,13$  проти  $0,56 \pm 0,16$  в групі контролю ( $p < 0,05$ ), щільність ендотеліальних клітин на трансплантаті, в середньому,  $-2258 \pm 453$  кл/м<sup>2</sup> проти  $1600 \pm 475$  кл/м<sup>2</sup> в групі контролю ( $p < 0,05$ ), показник зниження щільності ендотеліальних клітин на трансплантаті, в середньому, - 16,2 % проти 41,3 % в групі контролю ( $p < 0,05$ ).

**Впровадження результатів дослідження в практику.** Розроблені алгоритм визначення КРЕКР та модифікований спосіб віскопротекції ендотелію при НАКП у хворих на кератоконус включені в Методичні рекомендації 14.16/270.16, Науково-практичне та медико-біологічне нововведення №206/34/11, впроваджені в роботу відділень КМКОЛ «ЦМХО» (м. Київ), в Дніпропетровській обласній клінічній офтальмологічній лікарні (м.Дніпро).

Основні положення роботи включені в програму лекцій, семінарських кафедр офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова та Одеського національного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Ідея дослідження рекомендована доктором медичних наук, професором Ю.М. Кондратенком. Разом з науковим керівником, д.мед.н., професором кафедри офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика І. В. Шаргородською визначені мета, завдання та методологічна основа дисертації.

Здобувачем самостійно проведено аналіз літератури, обґрунтовані методи дослідження, виконані обстеження 2346 кадаверних очних яблук. Автор самостійно провів комплексне клініко-діагностичне офтальмологічне обстеження 129 пацієнтів з кератоконусом, асистував на всіх 129 проведених операціях НАКП, здійснював динамічний моніторинг рогівкових трансплантатів протягом року після оперативного втручання, проводив аналіз інформації за результатами серологічних обстежень всіх 1580 донорів. Дисертант самостійно провів аналіз отриманих результатів, їх узагальнення, порівняння, інтерпретацію та написав всі розділи дисертації. Висновки, наукова новизна та практичне значення отриманих результатів дослідження сформульовані разом з науковим керівником, д.мед.н., професором І.В. Шаргородською. В опублікованих роботах використані матеріали досліджень здобувача.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідались та були обговорені на: XXXVI Європейському конгресі офтальмологів ESCRS (Відень, Австрія, 2018); II Міжнародному науковому з'їзді вчених Європи у рамках II Міжнародного наукового форуму вчених «Схід-Захід» (Відень, Австрія, 2018); V симпозиумі з офтальмохірургії в Україні (Донецьк, Україна, 2007); міжнародній конференції, присвяченій 100-річчю з дня народження академіка Н. О. Пучківської «Сучасні аспекти клініки, діагностики та лікування очних хвороб» (Одеса, Україна, 2008); науково-практичній конференції

за участю молодих спеціалістів «Новітні проблеми в офтальмології» - 6-й Українсько-польський симпозиум (Київ, Україна, 2008); XII з'їзді офтальмологів України (Одеса, Україна, 2010); 64-й міжнародній науково-практичній конференції студентів і молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини» (Київ, Україна, 2010); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення офтальмохірургії» (Київ, Україна, 2010); науково-практична конференція з міжнародною участю «Рефракційний пленер`17» (Київ, Україна, 2017); XV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання вищої медичної освіти України» (Тернопіль, Україна, 2018).

**Публікації.** За матеріалами роботи опубліковано 19 наукових праць, з них 6 статей у фахових виданнях, відповідно до «Переліку наукових видань України», в тому числі 2 - включених до РІНЦ та Index Copernicus, 2 патенти України на корисну модель, 10 публікацій – у матеріалах та тезах науково-практичних конференцій та з'їздів.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертацію викладено на 150 сторінках друкованого тексту. Робота складається зі вступу, огляду літератури, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел та додатків, люстровано 27 таблицями та 31 рисунком. Список літератури містить 247 джерела, з них 127 – латиницею, 120 – кирилицею.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріал і методи дослідження.** В дослідженні приймали участь 116 реципієнтів (129 очей), віком від 14 до 59 років, з них 85 чоловіків та 31 жінка.

Клінічні групи складала пацієнти з діагнозом кератоконус III – IV стадії (за Амслером), яким було показане проведення НАКП через суттєву деформацію рогівки та неможливість подальшої жорсткої контактної корекції зору. Діагноз всім пацієнтам був виставлений не менше, ніж за два роки до НАКП, у всіх пацієнтів були виключені інші захворювання органу зору та інші втручання, в тому числі крос-лінкінг.

I клінічна група – 57 очей з кератоконусом - НАКП з використанням ДТР, які пройшли стандартний відбір за загальноприйнятими критеріями якості. II клінічна група - 29 очей з кератоконусом - НАКП з використанням ДТР, які пройшли відбір за загальноприйнятими критеріями і, додатково, за запропонованими морфометричними критеріями оцінки ендотелію. III клінічна група - 43 ока з кератоконусом - НАКП з використанням ДТР, які пройшли відбір за загальноприйнятими критеріями і за запропонованими морфометричними критеріями оцінки ендотелію та з модифікованою віскопротекцією ендотеліальних клітин ДТР та на етапі «back table». Усім пацієнтам у КМКОЛ «ЦМХО» була проведена НАКП одним хірургом, за єдиним протоколом.

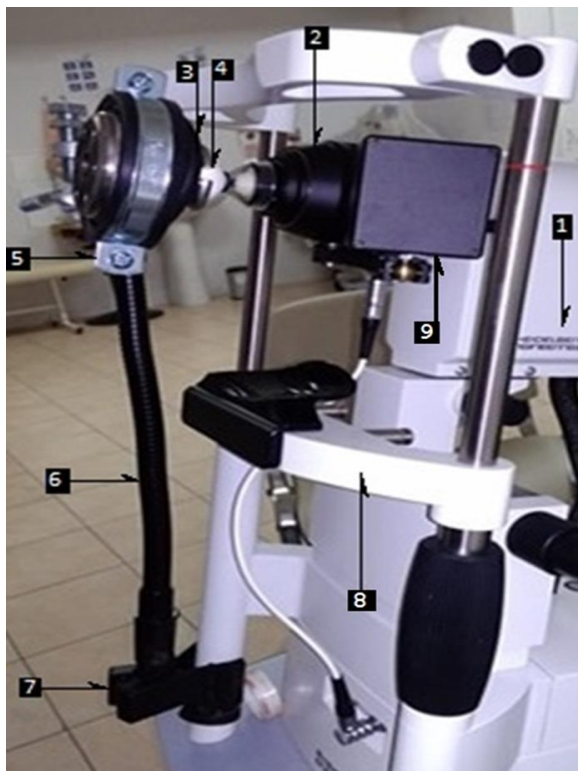
За період проведення роботи (січень 2004р. – лютий 2011 р.) надійшло 3154 КОЯ від 1580 донорів-трупів. Під час забору КОЯ прозекторською службою медичних установ, згідно чинного Наказу МОЗ № 385 від 01.08.2005 р. «Про інфекційну безпеку донорської крові та її компонентів» виконувався також забір



20 мл венозної крові з правого передсердя донора-трупа для подальшого проведення лабораторно-діагностичних тестів (полімеразна ланцюгова реакція, імуноферментний аналіз, реакція хемолюмінесценції) на наявність антитіл до ВІЛ, антитіл до збудника сифілісу та антитіл до вірусів парентеральних гепатитів (ВГВ і ВГС). Серологічні обстеження крові проводились протягом 12 годин після смерті. В подальшому, аналіз «інфекційного» браку донорського матеріалу здійснювався шляхом аналізу медичних документів: “Книга обліку пересадки донорського матеріалу” (ф. 019/о) та “Результати обстежень донорів” (ф. 059/о). Очні яблука від донорів, які мали антитіла до збудників вищевказаних інфекцій або не могли бути обстежені через гемоліз крові чи хільоз, були виключені.

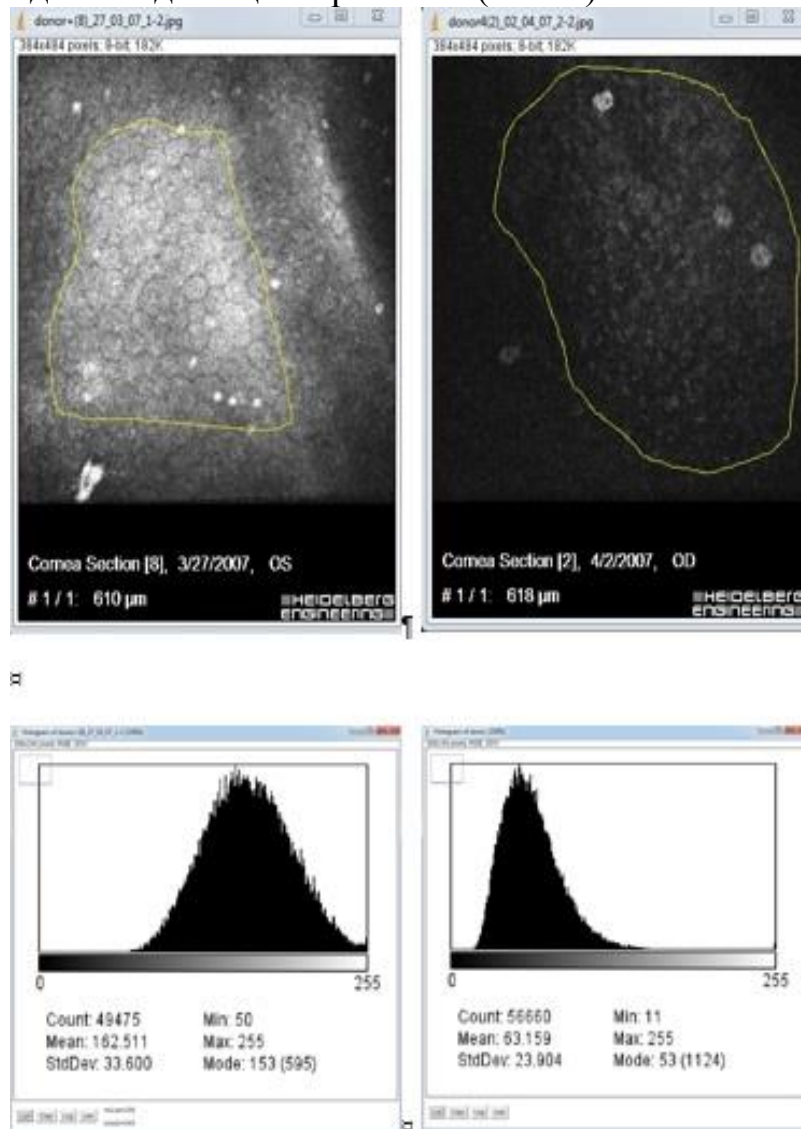
Решту 805 очних яблук, котрі пройшли контроль на серологічну безпеку, оглядали біомікроскопічно, проводили конфокальну мікроскопію рогівок, визначали коефіцієнту рефлексивності. Очні яблука маркувались генціан-віолетним маркером в перилімбальній зоні, що дозволяло в подальшому ідентифікувати кожне КОЯ на етапі всіх обстежень та в операційній.

Для проведення конфокальної мікроскопії *ex vivo* на лазерний скануючий конфокальний ретинотомограф НРТ II з рогівковим модулем Rostock Cornea Module (на об'єктив якого одягається одноразовий захисний ковпачок Tomo-cap®, в який для імерсії вводився очний гель на основі карбомеру) монтувався спеціально розроблений та сконструйований штатив, на якому під потрібним кутом на потрібній висоті розташовується цанговий окотримач з зафіксованим КОЯ (Мал. 1).



Мал.1. Загальний вид положення окотримача з КОЯ при проведенні конфокальної мікроскопії рогівки (1 –НРТ II; 2 –Rostock Cornea Module; 3 - цанговий окотримач; 4 – КОЯ; 5 - пружинний хомут; 6 - телескопічна ніжка штатива; 7 - струбцина-затискач для фіксації штатива; 8 – лицевий установ; 9 – бічна камера).

На під'єднаному до HRT-RCM комп'ютері запускається відповідне програмне забезпечення Heidelberg Eye Explorer – Cornea. Після занесення даних (№ донора та № КОЯ) виконувалась конфокальна мікроскопія ДТР з пахіметрією, підрахуванням ЩЕК та архівацією конфокальної мікрофотограми ендотеліального шару. В процесі накопичення архіву конфокальних мікрофотограм з КОЯ було відмічено, що знімки ендотелію деяких КОЯ мали різну рефлексивність (тобто різні відтінки сірого кольору). Рефлексивність не залежала від візуальної прозорості рогівки, ЩЕК та ЦТР та була приблизно однаковою на обох очах від одного донора. Для уникнення суб'єктивності в оцінці різниці між відтінками було вирішено звернутися до ВПЗ «ImageJ», яке знаходиться у вільному (неліцензованому) доступі на ресурсі розробника. За допомогою даного програмного забезпечення проводився аналіз отриманого зображення, а саме ділянки з найбільш чітким зображенням ендотеліальних клітин, та отримувалась гістограма розподілу пікселів за відтінками інтенсивності забарвлення згідно стандартної монохромної градації «0-255» («0» - чорний, «255» - білий) на виділеній ділянці зображення (Мал.2).



Мал.2. Гістограми зображень ендотелію з різними відтінками інтенсивності забарвлення.

По мірі накопичення інформації, яка виникала при обробці отриманих тонових гістограм ендотелію, основним показником монохроматичної тональності була взята мода гістограми, оскільки саме мода гістограми вказувала на тон пікселів, які зустрічалися найбільш часто на конфокальній мікрофотограмі ендотеліоцитів, тобто відображала основний тон рефлексивності цитоплазми ендотеліоцитів.

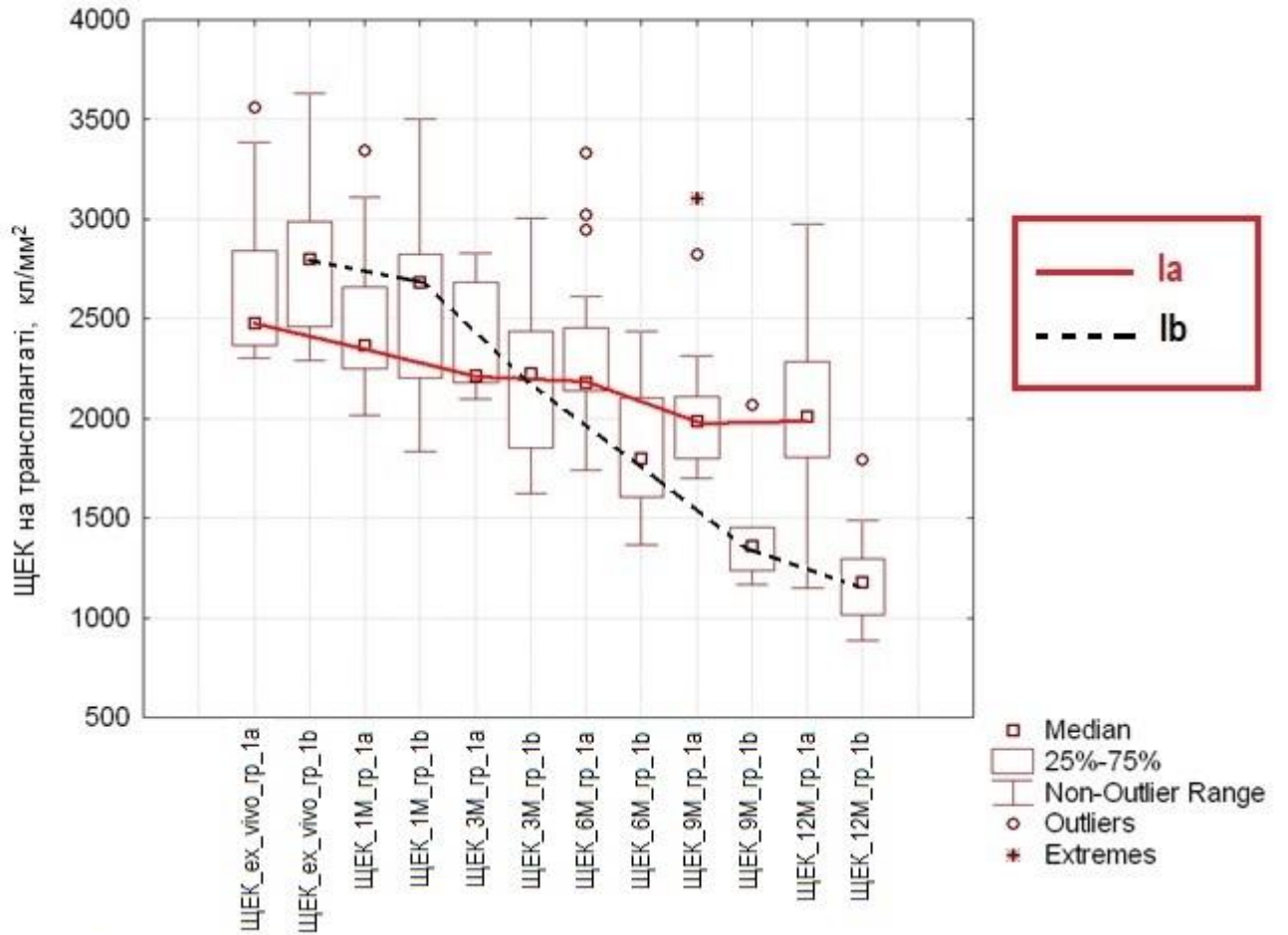
Щодо інтраопераційної ендотеліопротекції на етапі «back table» при проведенні НАКП, то для пацієнтів I та II клінічних груп вона проводилась так: після розташування та фіксації КОЯ в окотримачі та механічної деепітелізації ДТР одноразовим вакуумним трепаном потрібного діаметру виконувалось трепанування ДТР, після чого на ендотеліальну сторону трансплантату наносилась крапля адгезивного віскоеластика для подальшої ендотеліопротекції. Для пацієнтів III клінічної групи на етапі «back table» при проведенні НАКП проводилась модифікована інтраопераційна ендотеліопротекція: перед трепанацією ДТР виконувався лімбальний парацентез передньої камери КОЯ, через який в передню камеру спочатку вводився адгезивний віскоеластик для подальшої ендотеліопротекції, а потім – когезивний віскоеластик для профілактики настання різкої розгерметизація передньої камери в момент прорізання рогівки, яка призводить до швидкого її спорожнення та дислокації внутрішньоочних структур КОЯ (райджукка, кришталік) з подальшою механічною травматизацією незахищеного ендотелію.

**Результати дослідження.** Проаналізовано структуру браку донорських рогівок. Встановлено, що близько чверті (25,62%) всіх КОЯ, які надходили для проведення трансплантацій, виявились непридатними через серологічні тести зразків крові донорів. Близько половини ДТР (45,08%) були непридатними для проведення оптичної НАКП при кератоконусі через виражений посмертний набряк рогівки. Ще близько 10% відбракувались через виявлені патологічні зміни структур переднього сегменту ока при біомікроскопії та КМР та через недостатній рівень ЩЕК. Близько 5% браку склали рогівки, відбраковані за розробленими морфометричними критеріями донорського рогівкового ендотелію. Таким чином, після проведення повного ретельного обстеження залишилось близько 13-14% ДТР, які виявились придатними для проведення оптичної НАКП пацієнтам з кератоконусом.

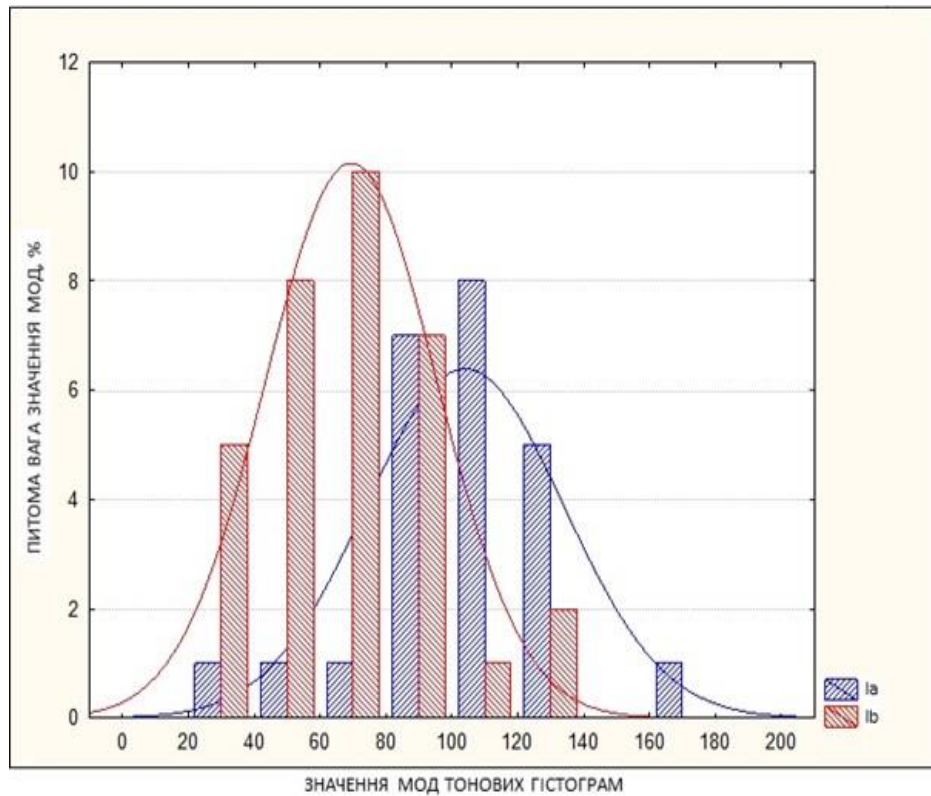
Так, група I була розділена на підгрупи Ia та Ib в залежності від швидкості зниження ЩЕК на трансплантаті через 6 міс. після НАКП (Мал.3). В кожній з підгруп проаналізовані гістограми зображень ендотелію при КМР *ex vivo* (Мал.4).

При визначених межах вибірки в підгрупі Ib ( $n = 23$ ), які потрапляють в 95%-вий довірчий інтервал ( $p = 0,05$ ), була отримана нижня межа для розподілу мод тонових гістограм ендотелію у вибірці реципієнтів з позитивною динамікою втрати ендотелію на трансплантаті і вона була на рівні 50.

Запропоновано моду тонової гістограми ендотелію позначати як «коефіцієнт рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки» (КРЕКР) та використати цей показник як критерій відбору донорської рогівки.

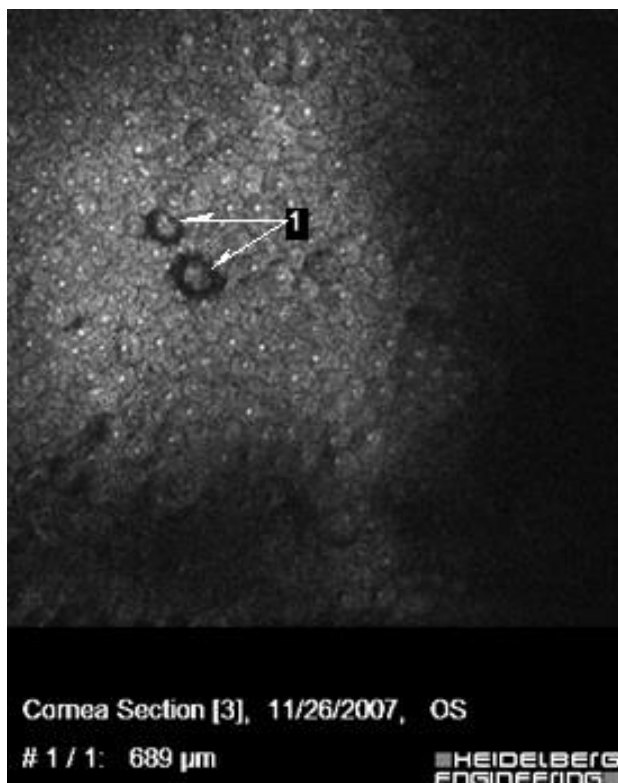


Мал.3.Динаміка втрати ендотелію на трансплантаті в Ia та Ib підгрупах.

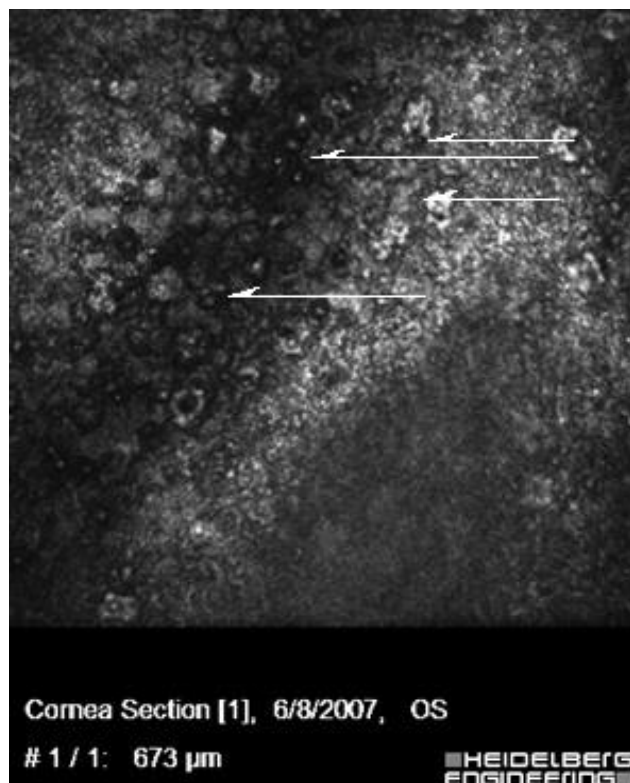


Мал.4.Розподіл мод тонових гістограм по підгрупах Ia та Ib

В процесі подальшої статистичної обробки даних була також виявлена залежність динаміки втрати ендотеліальних клітин на трансплантаті від таких факторів, як наявність органел в ендотеліоцитах (Мал.5) та «об'ємність» ендотеліоцитів (Мал.6) на конфокальних мікрофотограмах ендотелію донорських рогових



Мал.5. Поодинокі «об'ємні» гіпорекфлексивні ендотеліоцити (вказано стрілками).



Мал.6. Органели різного розміру та рефлексивності в цитоплазмі ендотеліоцитів (вказано стрілками).

При порівнянні I та II клінічних груп динаміка зниження ЩЕК після НАКП вказує на зменшення втрати ендотеліоцитів на трансплантаті в II клінічній групі в порівнянні з I, що стає статистично достовірним через 6 місяців ( $t=2,45$ ;  $p<0,05$ ), 9 місяців ( $t=2,11$ ;  $p<0,05$ ) та 12 місяців ( $t=3,16$ ;  $p<0,05$ ) після НАКП.

При порівнянні динаміки втрати ендотеліальних клітин на трансплантатах у реципієнтів I та III клінічних груп отримана статистично значима різниця втрати ендотеліоцитів вже з 3-го місяця післяопераційного спостереження (3 місяці -  $t = 2,24$ ;  $p < 0,05$ ; 6 місяців -  $t = 4,01$ ;  $p < 0,05$ ; 9 місяців -  $t = 2,84$ ;  $p < 0,05$ ; 12 місяців -  $t = 5,39$ ;  $p < 0,05$ ), в той час, як при порівнянні втрати ендотеліальних клітин на трансплантатах серед реципієнтів I та II клінічних груп значиму різницю втрати ендотеліоцитів на трансплантаті отримали лише з 6-го місяці післяопераційного спостереження (6 місяців -  $t=2,45$ ;  $p<0,05$ ; 9 місяців -  $t=2,11$ ;  $p<0,05$ ; та 12 місяців -  $t=3,16$ ;  $p<0,05$ ).

Для визначення ефективності застосування запропонованих методів відбору були обрані основні клінічні критерії для оцінки стану роговкового трансплантату:

зорова реабілітація реципієнта (МНГЗ та МКГЗ) та ЦТРТ. Показники динаміки цих параметрів за період післяопераційного спостереження наведені в табл. 1-3.

Таблиця 1.

**Порівняння динаміки МНГЗ на очах хворих I, II та III клінічних груп**

| Динаміка МНГЗ у реципієнтів |         | Середнє значення МНГЗ по групах |            |              |
|-----------------------------|---------|---------------------------------|------------|--------------|
|                             |         | I (n=57)                        | (n=29)     | III (n=43)   |
| До НАКП                     |         | 0,03±0,02                       | 0,03±0,02  | 0,03±0,01    |
| В післяопераційному періоді | 1 міс.  | 0,07±0,03                       | 0,07±0,03  | 0,08±0,02    |
|                             | 3 міс.  | 0,11±0,04                       | 0,1±0,04   | 0,12±0,04    |
|                             | 6 міс.  | 0,18±0,07                       | 0,22±0,1 * | 0,25±0,09 ** |
|                             | 9 міс.  | 0,22±0,08                       | 0,3±0,12 * | 0,33±0,13 ** |
|                             | 12 міс. | 0,28±0,08                       | 0,4±0,1 *  | 0,42±0,11 ** |

Примітка. \* -достовірне розходження між значеннями показників I та II клінічних груп ( $p < 0,05$ ).\*\* - достовірне розходження між значеннями показників I та III клінічних груп ( $p < 0,05$ )

Таблиця 2.

**Порівняння динаміки МКГЗ на очах хворих I, II та III клінічних груп**

| Динаміка МНГЗ у реципієнтів |         | Середнє значення МНГЗ по групах |             |              |
|-----------------------------|---------|---------------------------------|-------------|--------------|
|                             |         | I (n=57)                        | (n=29)      | III (n=43)   |
| До НАКП                     |         | 0,07±0,04                       | 0,05±0,04   | 0,06±0,04    |
| В післяопераційному періоді | 1 міс.  | 0,12±0,04                       | 0,12±0,05   | 0,13±0,06    |
|                             | 3 міс.  | 0,23±0,1                        | 0,24±0,1    | 0,25±0,1     |
|                             | 6 міс.  | 0,4±0,11                        | 0,51±0,1 *  | 0,49±0,1 **  |
|                             | 9 міс.  | 0,48±0,14                       | 0,64±0,1 *  | 0,65±0,1 **  |
|                             | 12 міс. | 0,56±0,16                       | 0,72±0,12 * | 0,74±0,13 ** |

Примітка. \* -достовірне розходження між значеннями показників I та II клінічних груп ( $p < 0,05$ ).\*\* - достовірне розходження між значеннями показників I та III клінічних груп ( $p < 0,05$ )

Таблиця 3.

**Порівняння динаміки ЦТРТ на очах хворих I, II та III клінічних груп**

| Динаміка ЦТРТ у реципієнтів |         | Середнє значення ЦТРТ по групах |         |            |
|-----------------------------|---------|---------------------------------|---------|------------|
|                             |         | I (n=57)                        | (n=29)  | III (n=43) |
| До НАКП                     |         | 678±72                          | 646±62* | 677±65**   |
| В післяопераційному періоді | 1 міс.  | 682±55                          | 665±56* | 682±516**  |
|                             | 3 міс.  | 661±56                          | 648±48* | 682±51**   |
|                             | 6 міс.  | 620±38                          | 619±45* | 629±36**   |
|                             | 9 міс.  | 597±33                          | 596±36* | 600±27**   |
|                             | 12 міс. | 589±38                          | 582±31* | 580±30**   |

Примітка. \* -достовірне розходження між значеннями показників I та II клінічних груп ( $p < 0,05$ ).\*\* - достовірне розходження між значеннями показників I та III клінічних груп ( $p < 0,05$ )

Таким чином, ефективність хірургічного лікування хворих на кератоконус підвищено за рахунок кращої якості відбору та ендотеліопротекції рогівкового трансплантату, про що свідчать: середній показник зниження щільності ендотеліальних клітин на трансплантаті всередньому 16,2 % проти 41,3 % в групі контролю ( $p < 0,05$ ), щільність ендотеліальних клітин, в середньому, -  $2258 \pm 453$  кл/м<sup>2</sup> проти  $1600 \pm 475$  кл/м<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ), некоригована гострота зору, в середньому, -  $0,42 \pm 0,11$  проти  $0,28 \pm 0,08$  в групі контролю ( $p < 0,05$ ), а коригована гострота зору -  $0,74 \pm 0,13$  проти  $0,56 \pm 0,16$  в групі контролю ( $p < 0,05$ ).

### ВИСНОВКИ

1. Кератоконус – хронічна, незапальна, прогресуюча, первинна кератектазія, яка посідає третє місце серед причин сліпоти та слабкозорості серед осіб працездатного віку в Україні, із кожним роком ситуація з поширеністю на це захворювання незмінно погіршується. Можливості сучасних методів діагностики та лікування цієї патології складні, маловивчені та недосконало використовуються в клініці оскільки обмежено доступні. Пізнє відторгнення рогівкового алотрансплантату є провідним і серйозним післяопераційним ускладненням проведеної наскрізної алокератоластики. Тому підвищення якості рогівкового алотрансплантату при проведенні НАПК залишається важливим науково-прикладним завданням сучасної офтальмології.

2. Проведення конфокальної мікроскопії рогівки *ex vivo* підвищує ефективність діагностики різних станів рогівки, а саме ознак псевдоексфоліативної кератопатії - в 5,22% очей проти 0,98% очей в групі контролю ( $p < 0,05$ ). Вперше визначено, що наявність органел в цитоплазмі ендотеліоцитів їх «об'ємність» є свідченням негативного прогнозу виживання ендотеліоцитів на трансплантаті при наскрізній алокератоластиці ( $p < 0,05$ ); відмічено, що шар ендотеліальних клітин на донорській рогівці, має різну рефлексивність цитоплазми ендотеліоцитів та різну конфігурацію тонових гістограм в градаціях сірих відтінків ( $p < 0,05$ ), яка не залежить від щільності ендотеліальних клітин та центральної товщини рогівки ( $p > 0,05$ ).

3. Запропоновано коефіцієнт рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки (КРЕКР), який являє собою значення моди розподілення сірих пікселів на тоновій гістограмі зображення ендотеліального шару, отриманого при *ex vivo* конфокальній офтальмоскопії, та дозволяє провести кількісну оцінку рефлексивності ендотелію донорської рогівки. Встановлена порогова величина КРЕКР (50), яка корелює з втратою ендотеліальних клітин рогівки ( $r = 0,83$ ;  $p < 0,05$ ). Визначено, що зниження КРЕКР ( $< 50$ ) є свідченням негативного прогнозу виживання ендотеліоцитів на трансплантаті при наскрізній алокератоластиці ( $p < 0,05$ ) у хворих на кератоконус.

4. Шляхом застосування для відбракування донорської рогівки для наскрізної алокератоластики у хворих на кератоконус морфометричних критеріїв при конфокальній мікроскопії встановлено, що наявність органел в цитоплазмі і «об'ємність» ендотеліоцитів дозволяє застосувати трансплантати, на яких відмічена зменшена втрата ендотеліоцитів після НАКП в терміни - 6 місяців ( $t = 2,45$ ;  $p < 0,05$ ), 9 місяців ( $t = 2,11$ ;  $p < 0,05$ ) та 12 місяців ( $t = 3,16$ ;  $p < 0,05$ ), в

порівнянні з очами реципієнтів, для яких донорська рогівка відбиралась без урахування цих факторів.

5. Встановлено, що лише 13-14% рогівок кадаверних очних яблук, які надходять для трансплантації, придатні для проведення оптичної НАКП на очах хворих на кератоконус; 45,1% ДТР- непридатні через виражений посмертний набряк рогівки; 25,6% - через серологічні тести зразків крові донорів, 10% – через патологію структур переднього сегменту ока та недостатню щільність ЕК, 5% – через застосування додаткових запропонованих морфометричних критеріїв стану ендотеліальних клітин рогівки та коефіцієнта рефлексивності КРЕКР.

6. При застосуванні у хворих на кератоконус модифікованого способу віскопротекції ендотелію при НАКП на етапі «back table» в поєднанні з відбором донорської рогівки за морфометричними критеріями відмічено більше збереження ендотеліоцитів на трансплантаті вже на 3 місяці спостереження при порівнянні з групами без модифікованої віскопротекції ендотелію ( $p < 0,05$ ).

7. Ефективність хірургічного лікування хворих на кератоконус підвищено за рахунок кращої якості відбору та ендотеліопротекції рогівкового трансплантату у реципієнтів, про що свідчать: максимальна некоригована гострота зору -  $0,42 \pm 0,11$  проти  $0,28 \pm 0,08$  в групі контролю ( $p < 0,05$ ), максимальна коригована гострота зору -  $0,74 \pm 0,13$  проти  $0,56 \pm 0,16$  ( $p < 0,05$ ), щільність ендотеліальних клітин, в середньому, -  $2258 \pm 453$  кл/м<sup>2</sup> проти  $1600 \pm 475$  кл/м<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ) в групі контролю, середній показник втрати ендотеліальних клітин на трансплантаті всередньому 16,2 % проти 41,3 % в групі контролю ( $p < 0,05$ ).

8. Розроблені алгоритм визначення КРЕКР та модифікований спосіб віскопротекції ендотелію при НАКП включені в Методичні рекомендації 2016, Науково-практичне та медико-біологічне нововведення №206/34/11, та впроваджені роботу відділень КМКОЛ «ЦМХО» (м. Київ), Дніпропетровської обласної клінічної офтальмологічної лікарні, а також включені в учбовий процес кафедр офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова та Одеського національного медичного університету.

### **ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. При планування оптичної наскрізної кератоластики пацієнтам з кератоконусом обов'язково обстежувати кадаверні очні яблука шляхом проведення конфокальної мікроскопії *ex vivo*, що дозволить одним обстеженням відбракувати непридатні донорські трупні рогівки одразу за декількома критеріями: виявлення патологічних станів в передньому сегменті КОЯ, які не візуалізовані при біомікроскопії; визначення щільності ендотеліальних клітин та визначення морфометричних факторів придатності ДТР.

2. У пацієнтів з кератоконусом для оптичної наскрізної кератоластики доцільно використовувати донорські трупні рогівки, які мають КРЕКР не менше 50, без органел та «об'ємності» кератоцитів, що підвищить ефективність лікування, а саме виживання ендотеліоцитів на рогівковому трансплантаті.

3. При проведенні оптичної наскрізної кератоластики у пацієнтів з кератоконусом доцільно застосовувати модифіковану віскопротекцію ендотелію



на етапі «back table», що підвищить динаміку виживання ендотеліоцитів на рогівковому трансплантаті і результати лікування.

### ПЕРЕЛІК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Кондратенко Ю. М. Клінічні результати використання модифікованого методу лікування кератоконусу / Ю. М. Кондратенко, І. В. Шаргородська, Н. С. Лаврик, М. Г. Лисенко // Вісник проблем біології та медицини. — 2018. — Полтава. — Випуск 3 (145). — С. 125-133. *(Дисертантом особисто проведено обстеження пацієнтів, збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання та оформлення статті).*
2. Кондратенко Ю. М. Ефективність модифікованого методу лікування кератоконусу / Ю. М. Кондратенко, І. В. Шаргородська, Н. С. Лаврик, М. Г. Лисенко // Вісник проблем біології та медицини. — 2018. — Полтава. — Випуск 1, Т. 2 (143). — С. 275-286. *(Дисертантом особисто проведено обстеження пацієнтів, збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання та оформлення статті).*
3. Лисенко М. Г. Про відбракування донорського рогівкового матеріалу / М. Г. Лисенко // Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, «Актуальні питання глаукоми і нейроофтальмології». — 2008. — Київ. — №20 (спецвипуск), — С. 118-119.
4. Сергиенко Н. М. Ранние результаты десцеметорексиса с эндотелиокератопластикой / Н. М. Сергиенко, Ю. Н. Кондратенко, А. Н. Новицкий, М. Г. Лысенко // Офтальмологический журнал. — 2009. — Одесса. — №1-2. — С.73-75. *(Дисертантом особисто проведено обстеження пацієнтів, збір та аналіз матеріалу, написання та оформлення статті).*
5. Лисенко М. Г. Про відбракування донорського рогівкового матеріалу / М. Г. Лисенко // Актуальні питання медичної науки та практики: зб. наук. праць. — 2009. — Запоріжжя. — Вип. 75, кн. 2. — С. 268-271.
6. Бездітко П. А. Застосування методу конфокальної мікроскопії у діагностиці діабетичної нейропатії рогівки / П. А. Бездітко, О. В. Заволока, М. Г. Лисенко // Проблеми сучасної медичної науки та освіти. — 2008. — Харків. — № 3. — С. 17-19. *(Дисертантом особисто проведено обстеження пацієнтів, збір матеріалу та аналіз результатів).*
7. Кондратенко Ю. Н. Конфокальная микроскопия роговицы / Ю. Н. Кондратенко, М. Г. Лысенко, А. Н. Новицкий // «Практичні аспекти сучасної діагностики в офтальмології. Збірник лекцій.». — 2009. — С. 71-84. *(Дисертантом особисто проведено обстеження пацієнтів, зборі матеріалу, аналізі результатів).*
8. Патент на корисну модель 41902 Україна, МПК А 61 В 8/10, А 61 В 8/13. Спосіб діагностики діабетичної нейропатії рогівки / Бездітко П. А., Заволока О. В., Лисенко М. Г.; заявник і патентовласник Харківський національний медичний університет. - № u 200901232; заявл. 16.02.2009; опубл. 10.06.2009, Бюл. № 11. *(Дисертант брав участь в розробці методики, обстеженні пацієнтів, зборі матеріалу та аналізі результатів).*
9. Патент на корисну модель 43675 Україна, МПК А 61 В 3/00. Спосіб

діагностики непроліферативної та проліферативної діабетичної ретинопатії у хворих з непрозорими оптичними середовищами ока / Бездітко П. А., Заволока О. В., Лисенко М. Г.; заявник і патентовласник Харківський національний медичний університет. - № u 200903220; заявл. 06.04.09; опубл. 25.08.09, Бюл. № 16. *(Дисертант брав участь в розробці методики, обстеженні пацієнтів, зборі матеріалу та аналізі результатів)*.

10 Кондратенко Ю. М. Про критерії якості донорської рогівки Ю. М. Кондратенко, М. Г. Лисенко // V симпозиум з офтальмохірургії в Україні з практичним семінаром «Жива хірургія» за участю міжнародних спеціалістів, Донецьк, 14-15 червня 2007 р.: тези. — Київ, «Макрос», 2007. — С. 165-166. Тези доповідей, Київ 2007, с.. *(Дисертантом особисто проведено обстеження, збір та аналіз матеріалу, узагальнення матеріалу, написання та оформлення тез)*.

11. Сергієнко М. М. Ранні результати десцеметорексису з ендотеліокератопластиком / М. М. Сергієнко Ю. М. Кондратенко, О. М. Новицький, М. Г. Лисенко // Міжнародна конференція, присвячена 100-річчю з дня народження академіка Н.О.Пучківської «Сучасні аспекти клініки, діагностики та лікування очних хвороб», Україна, Одеса, 29-30 травня 2008. Матеріали конференції. — Одеса, 2008. — С. 50-51. *(Дисертантом особисто проведено обстеження пацієнтів, збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання та оформлення тез)*.

12. Заволока О. Особливості патології ендотелію рогівки у хворих на цукровий діабет / О. Заволока, П. Бездітко, М. Лисенко // Науково-практична конференція за участю молодих спеціалістів «Новітні проблеми в офтальмології». 6-й Українсько-польський симпозиум, Україна, Київ, 9-11 жовтня 2008. Тези. — Київ, 2008. — С.81. *(Дисертантом особисто проведено обстеження пацієнтів, збір матеріалу, аналіз результатів)*.

13. Лисенко М. Г. Результати скринінгу донорських рогівок / М. Г. Лисенко // XII з'їзд офтальмологів України, Україна, Одеса, 26 – 28 травня 2010. Матеріали XII з'їзду офтальмологів України. — Одеса, 2010. — С. 25-26.

14. Кондратенко Ю. М. Про критерії якості донорської рогівки / Ю. М. Кондратенко, М. Г. Лисенко // Міжнародна науково-практична конференція студентів і молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини», 3-4 листопада 2010р., Україна, Київ: матеріали, спецвипуск журналу « Науково-практичне видання «Український науково-медичний молодіжний журнал». Спеціальний випуск №4, 2010 р. — Київ, 2010. — С.318-319. *(Дисертантом особисто проведено обстеження, збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання та оформлення тез)*.

15. Сергієнко М. М. Вживання рогівкових трансплантатів у пацієнтів після десцеметорексису з ендотеліокератопластиком (результати трирічного спостереження) / М. М. Сергієнко, Ю. М. Кондратенко, М. Г. Лисенко // Міжнародна науково-практична конференція студентів і молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини», 3-4 листопада 2010р., Україна, Київ: матеріали, спецвипуск журналу « Науково-практичне видання «Український науково-медичний молодіжний журнал». Спеціальний випуск №4, 2010 р. —

Київ, 2010. — С.321-322. *(Дисертантом особисто проведено обстеження пацієнтів, збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання та оформлення тез).*

16. Сергієнко М. М. Клінічні результати трирічного спостереження за пацієнтами після десцеметорексису з ендотеліокератопластикою / М. М. Сергієнко, Ю. М. Кондратенко, М. Г. Лисенко // Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні досягнення офтальмохірургії». 9-10 листопада 2010 року, Київ, Україна. Тези. — Київ, 2010 р. — С. 114-115. *(Дисертантом особисто проведено обстеження пацієнтів, збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання та оформлення тез).*

17. Шаргородська І. В. Попередні дані про критерії якості донорської рогівки / І. В. Шаргородська, М. Г. Лисенко // «Рефракційний пленер`17»: науково-практична конференція з міжнародною участю 20-21 жовтня 2017 року, збірник праць під редакцією професора С. О. Рикова. — Київ, 2017 р. — С. 161-162. *(Дисертантом особисто проведено збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання та оформлення тез).*

18. Lysenko M. G. Efficiency of modified method treatment of keratoconus / M. G. Lysenko, I. V. Shargorodska, Y. M. Kondratenko, N. S. Lavryk // “The second international scientific congress of scientists of Europe”, Vienna, Austria, 2018. — Vienna, 2018. — P. 456 – 460. *(Дисертантом особисто проведено збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання та оформлення тез).*

19. Shargorodska I. Modified method of assessment of quality criteria of donor's cornea [Електронний ресурс] / I. Shargorodska, S. Rykov, M. Lysenko // XXXVI Congress of the European Society of Cataract & Refractive Surgeons (ESCRS). Vienna, 22-26 September 2018: abstract book. — Vienna, 2018. — Режим доступу: <http://www.es CRS.org/abstracts/details.asp?confid=26&sessid=1175&type=poster&paperid=31078>. *(Дисертантом особисто проведено збір та аналіз матеріалу, узагальнення, написання та оформлення тез).*

## АНОТАЦІЯ

**Лисенко М.Г. Ефективність модифікованого методу лікування кератоконусу.** - На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.18 – «Офтальмологія». Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, МОЗ України, Київ, 2019.

Дисертація присвячена проблемі підвищення ефективності лікування хворих на кератоконус. Вивчено особливості конфокальних мікрофотограм рогівкового ендотелію на кадаверних очах, які використовуються для проведення НАКП при кератоконусі. Розроблені додаткові критерії відбракування донорських рогівок (КРЕКР). Проаналізована динаміка втрати ендотеліальних клітин протягом року спостереження на трансплантатах, відібраних за розробленим КРЕКР. Розроблена методика захисту ендотелію донорських рогівок при НАКП на етапі «back table» та оцінена її ефективність при кератоконусі. Визначена ефективність використання розробленого КРЕКР та модифікованого способу

віскопротекції ендотелію при проведенні операції НАКП у хворих на кератоконус шляхом порівняння клінічних показників очей в досліджуваних групах.

Розроблені пропозиції, які спрямовані на підвищення якості рогівкового трансплантату, дозволили підвищити ефективність лікування хворих на кератоконус, яким була виконана оптична НАКП, а саме: максимальна некоригована гострота зору в середньому  $0,42 \pm 0,11$  проти  $0,28 \pm 0,08$  в групі контролю ( $p < 0,05$ ), коригована гостроту зору  $0,74 \pm 0,13$  проти  $0,56 \pm 0,16$  в групі контролю ( $p < 0,05$ ), щільність ендотеліальних клітин на трансплантаті в середньому  $-2258 \pm 453$  кл/м<sup>2</sup> проти  $1600 \pm 475$  кл/м<sup>2</sup> в групі контролю ( $p < 0,05$ ), показник зниження щільності ендотеліальних клітин на трансплантаті в середньому - 16,2 % проти 41,3 % в групі контролю ( $p < 0,05$ ),

**Ключові слова:** кератоконус, конфокальна мікроскопія, ImageJ, кератопластика, якість донорської рогівки, життєздатність ендотелію рогівки.

## АННОТАЦІЯ

**Лысенко М. Г. Эффективность модифицированного метода лечения кератоконуса.** - На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.18 - «Офтальмология». Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика МЗ Украины, Киев, 2018.

Диссертация посвящена актуальной проблеме офтальмологии - повышению эффективности хирургического лечения больных с кератоконусом путем повышения качества роговичного аллотрансплантата с использованием методик дооперационной оценки морфометрических показателей эндотелиального пласта донорской роговицы и модифицированной интраоперационной эндотелиопротекции.

Изучены особенности конфокальных микрофотограмм роговичного эндотелия на кадаверных глазах, которые используются для проведения сквозной аллокератопластики при кератоконусе. На основании проведенных исследований отмечено, что слой эндотелиальных клеток на донорских трупных роговицах (ДТР), визуализирующийся при *ex vivo* конфокальной микроскопии роговицы (КМР), имеет на различных кадаверных глазах различный тон серого цвета (рефлективность цитоплазмы эндотелиоцитов, не зависящая от плотности эндотелиальных клеток или центральной толщины роговицы). Соответственно, изображения слоя эндотелиальных клеток разных ДТР имеют разные конфигурации тоновых гистограмм в градациях серых оттенков по шкале от «0» (чёрный) до «255» (белый). Для количественной оценки рефлективности эндотелию на ДТР было предложено понятие «КРЭКР» (коэффициент рефлективности эндотелиальных клеток роговицы), являющий собой значение моды распределения серых пикселей на тоновой гистограмме изображения слоя эндотелиальных клеток ДТР, полученного при *ex vivo* КМР.

Разработаны дополнительные критерии отбора донорского роговичного материала для проведения сквозной аллокератопластики (САКП) - коэффициент

рефлективности эндотелиальных клеток роговицы (КРЭКР), наличие видимых органелл и «объемность» эндотелиоцитов при конфокальной микроскопии донорской трупной роговицы. Установлена пороговая величина КРЭКР (50), которая достоверно коррелировала с интенсивным снижением плотности эндотелиальных клеток на роговичном аллотрансплантате через 6 месяцев после САКП ( $r=0,83$ ;  $p<0,05$ ).

Проанализирована динамика потери эндотелиальных клеток на трансплантатах, отобранных за разработанным КРЭКР в течение года наблюдения. При сравнении клинических групп с дополнительным отбором роговичного аллотрансплантата по предложенным морфометрическим критериям установлено, что динамика снижения ПЭК на трансплантате указывает на уменьшение потери эндотелиоцитов на трансплантате, что становится статистически достоверным через 6 месяцев ( $t=2,45$ ;  $p<0,05$ ), 9 месяцев ( $t=2,11$ ;  $p<0,05$ ) и 12 месяцев ( $t=3,16$ ;  $p<0,05$ ) после САКП.

Определена структура брака донорских роговиц, являющихся непригодными для проведения сквозной аллокератопластики при кератоконусе. Установлено, что приблизительно половина ДТР (45,08%) непригодны для проведения оптической САКП из-за выраженного посмертного отека роговицы. Приблизительно четверть (25,62%) всех кадаверных глазных яблок (КГЯ), поступающих для проведения трансплантаций, оказываются непригодными из-за результатов серологических тестов образцов крови доноров. Еще около 10 % отбраковывается из-за выявленных патологических изменений структур переднего сегмента глаза при *ex vivo* биомикроскопии и *ex vivo* КМР и из-за недостаточного уровня плотности эндотелиальных клеток. Около 5% брака дают разработанные морфометрические критерии оценки донорского роговичного материала. После проведения полного тщательного обследования остаётся около 13-14% ДТР, пригодных для проведения оптической САКП пациентам с кератоконусом.

Разработана методика защиты эндотелия донорских роговиц при САКП на этапе «back table». Определена эффективность использования разработанного КРЭКР и модифицированного способа вископротекции эндотелия при проведении САКП у пациентов с кератоконусом путем сравнения клинических показателей глаз в обследуемых группах.

Разработанный алгоритм определения КРЭКР и модифицированный способ вископротекции эндотелия при САКП внедрены в работу учреждений здравоохранения.

Разработанные предложения, направленные на повышение качества роговичного трансплантата, позволили повысить эффективность лечения пациентов с кератоконусом, которым была проведена САКП, а именно: максимальная некоррегированная острота зрения в среднем  $0,42\pm 0,11$  против  $0,28\pm 0,08$  в группе контроля ( $p<0,05$ ), коррегированная острота зрения в среднем  $0,74\pm 0,13$  против  $0,56\pm 0,16$  в группе контроля ( $p<0,05$ ), плотность эндотелиальных клеток на трансплантате в среднем  $2258\pm 453$  кл/м<sup>2</sup> против  $1600\pm 475$  кл/м<sup>2</sup> в группе контроля ( $p<0,05$ ), потеря эндотелиальных клеток на

трансплантате в среднем 16,2 % против 41,3 % в группе контроля ( $p < 0,05$ ) в течение 12 месяцев послеоперационного наблюдения.

**Ключевые слова:** кератоконус, конфокальная микроскопия, ImageJ, кератопластика, качество донорской роговицы, жизнеспособность эндотелия роговицы.

## ANNOTATION

**Lysenko M.G. Efficiency of modified method treatment of keratoconus.** - As a manuscript.

Thesis for the degree of candidate of medical sciences in the specialty 14.01.18 - "Ophthalmology". National Medical Academy of Postgraduate Education named after P. L. Shupyk of the Ministry of Health of Ukraine, Kiev, 2019.

Keratoconus is a chronic non-inflammatory progressive, stage disease which refer to primary keratoectatic disorders of the eye. It leads to early disability and blindness, especially in persons of working age.

Treatment of keratoconus is extremely difficult as there is no evident knowledge about the mechanisms of the progression of the process and the modern diagnostic technologies are imperfectly used. As a rule, the benefits are given to the surgical methods of treatment. In spite of the considerable potential of layered techniques for keratoplasty that have undergone significant development over the past two decades, penetrating keratoplasty (PKP) remains the "gold standard" in the treatment of corneal pathology.

At the same time, issues of donor tissue shortage remain relevant and unresolved.

### **Results of the research**

On the basis of the conducted studies, it was noted that the layer of endothelial cells on the corneal graft, visualized with *ex vivo* confocal microscopy, has a different tone of gray color on the different cadaveric eyes (the reflectivity of the endothelial cell cytoplasm, which is independent of endothelial cells density or central corneal thickness). Accordingly, images of the layer of endothelial cells of different corneal graft have different configurations of tone histograms in grayscale grayscale on a scale from "0" (black) to "255" (white). For the quantitative assessment of the endothelial reflectivity of the corneal graft, the concept of "RCCEC" (reflectivity coefficient of corneal endothelial cells) was suggested, representing the value of the distribution mode of gray pixels on the tonal histogram of the image of the endothelial layer of corneal graft obtained with *ex vivo* confocal microscopy.

**Key words:** keratoconus, confocal microscopy, ImageJ, penetrating keratoplasty, donor corneal tissue quality, viability of donor corneal endothelium.

## СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

|              |   |  |
|--------------|---|--|
| АІС          | - | аспіраційно-іригаційна система   |
| ВГВ          | - | вірус гепатиту В   |
| ВГС          | - | вірус гепатиту С   |
| ВІЛ          | - | вірус імунодефіциту людини   |
| ВООЗ         | - | Всесвітня організація охорони здоров'я   |
| ВІЗ ImageJ   | - | вільне програмне забезпечення «ImageJ»   |
| ГПМК         | - | гостре порушення мозкового кровообігу  |
| ДТР          | - | донорська трупна рогівка   |
| ІХС          | - | ішемічна хвороба серця   |
| КМКОЛ «ЦМХО» | - | Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня «Центр мікрохірургії ока»   |
| КОЯ          | - | кадаверне очне яблуко  |
| КМР          | - | конфокальна мікроскопія рогівки  |
| КРЕКР        | - | коефіцієнт рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки  |
| МКГЗ         | - | максимальна корегована гострота зору   |
| МНГЗ         | - | максимальна некорегована гострота зору   |
| МОЗ          | - | Міністерство охорони здоров'я України  |
| НАКП         | - | наскрізна аллокератопластика   |
| ТЕЛА         | - | тромбоемболія легеневої артерії  |
| ЦТР          | - | центральна товщина рогівки   |
| ЦТРТ         | - | центральна товщина рогівкового трансплантату   |
| ЩЕК          | - | щільність ендотеліальних клітин  |
| ЕВАА         | - | Американська асоціація очних банків  |
| ЕЕВА         | - | Європейська асоціація очних банків   |
| НРТ-RCM      | - | Гейдельберзький лазерний скануючий конфокальний ретинотомограф Heidelberg Retina Tomograph з рогівковим модулем Rostock Cornea Module (Heidelberg Engineering GmbH, Німеччина) |