



Медицински университет Варна

Проф. Д-р „Параскев Стоянов“

Факултет „Медицина“

Катедра „Очни болести и зрителни науки“

Д-р Нели Кръстева Николова

**Биологична терапия на предна очна
повърхност, крачка към
персонализираната офталмология**

АВТОРЕФЕРАТ

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИДОБИВАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА
СТЕПЕН „ДОКТОР НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ „ОФТАЛМОЛОГИЯ“, ШИФЪР 03.01.36

Научен ръководител:

Чл.-кор. проф. д-р Христина Групчева, д.м.н., FEBO, FICO(Hon), FBCLA, FIACLE

Варна, 2024г.

Дисертационният труд съдържа 228 страници, включващи 12 таблици и 52 фигури. Цитирани са 176 литературни източници на латиница. Представени са 5 глави, съответстващи на целта и поставените задачи и отговарящи на изискванията за оформление на дисертационния труд.

Дисертационният труд е обсъден и предложен за защита на катедрен съвет на Катедрата по Очни болести и зрителни науки при МУ „Проф. д-р Параскев Стоянов” – Варна на 14/10/2024 г.

НАУЧНО ЖУРИ

Председател: Проф. д-р Зорница Иванова Златарова – Ангелова, дмн – Медицински университет - Варна

Външни Членове:

Проф. д-р Снежана Веселинова Мургова-Балчева, д.м – Медицински университет – Плевен
Доц. д-р Десислава Николаева Колева-Георгиева, д.м – Медицински университет – Пловдив

Проф. д-р Цветомир Иванов Димитров, дм – Първа МБАЛ - София" ЕАД

Резервен член:

Вътрешни членове:

Проф. д-р Зорница Иванова Златарова – Ангелова, дмн – Медицински университет - Варна

Доц. д-р Яна Манолова Манолова, дм – Медицински университет - Варна

Резервен член:

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на 15.01.2025г. от 8:30ч. на заседание на Научното жури в Катедра „Очни болести и зрителни науки“ на МУ Варна. Материалите по защитата са на разположение в Научния отдел на Медицински университет – Варна и са публикувани в страницата на Медицински университет – Варна.

СЪДЪРЖАНИЕ

Съдържание.....	3
Използвани съкращения.....	4
I. Увод.....	6
II. Цел и задачи.....	8
2.1 Цел.....	8
2.2 Задачи.....	8
III. Методология на дисертационния труд.....	9
3.1 Обект и обхват на изследването.....	9
3.2 Методика на проучването.....	9
3.2.1 Документален метод.....	9
3.2.2 Клинични методи.....	10
3.2.3 Терапевтични методи.....	13
3.2.4 Статистически методи.....	14
IV. Резултати.....	16
4.1 Оценка на субективната симптоматика при пациенти с ПЕД преди и след проведената терапия.....	16
4.2 Оценка на обективните признаци при пациенти с ПЕД.....	27
4.3 Анализ на резултатите за ефективност от проведеното лечение.....	33
4.4 Оценка на данните, получени от проведените високоспециализирани изследвания.....	37
V. Дискусия.....	44
VI. Изводи.....	56
VII. Заключение.....	58
VIII. Приноси.....	60
IX. Публикации във връзка с дисертационния труд.....	61
X. Резюме.....	62
XI. Използвана литература.....	76

Забележка: Номерацията на фигурите и таблиците в автореферата не съответства на номерацията в дисертационния труд.

Забележка: Екипът и главния изследовател декларират, че нямат финансов интерес и обвързаност с никой от споменатите търговски марки на използваните в изследването продукти, устройства или цитирани сайтове.

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АБ	AME Amniotic membrane	COMET Култивирана
Антибиотици	extract/Екстракт от	орално-мукозна епителна
АК	амниотична мембрана	трансплантация
Аминокиселини	AMEED Amniotic	DED Dry eye disease/
АМ	membrane extract eye	Синдром на сухото око
Амниотична мембрана	drops/Капки за очи от	DSEK Descemet's
ACK/ASE/SED	екстракт от амниотична	Stripping Endothelial
Автоложни серумни	мембрана	Keratoplasty
капки	AMUC Amniotic	EGF Епидермален
ДНК	membrane and umbilical	растежен фактор
Дезоксирибонуклеинова	cord eye drops/Капки за	FDA Агенция за
киселина	очи от амниотична	контрол на храните и
КЛ	мембрана и серум от	лекарствата в САЩ
Контактна леща	пъпна връв	GVHD Болест на
ПЕД/ PED	AS-OCT Предно-	присадката срещу
Персистиращи епителни	сегментна оптична	реципиента/Graft vs. Host
дефекти	кохерентна томография	Disease
ПОП Предна	BSS	IVKM In vivo
очна повърхност	Балансиран солеви	конфокална микроскопия
ТКЛ Терапевтична	разтвор	LASIK
контактна леща	CLET Култивирана	Laser assisted in situ
AI Artificial	лимбална епителна	keratomileusis/ Лазер-
Intelligence/ Изкуствен	трансплантация	асистирана ин ситу
интелект		кератомилеза

LSCD

Дефицит на лимбални
стволови клетки

LSCM Лазер

сканиращ конфокален
микроскоп

MAGUK Мембранно-
свързана гуанилат киназа

MSCs Мезенхимни
стволови клетки

NEI

Национален очен
институт

NK

Невротрофичен кератит

OCT Оптична
кохерентна томография

OSDI Ocular
Surface Disease Index/
Индекс на заболяемост
на предната очна
повърхност

PACK-CXL Photo
active chromophore for
Keratitis-Corneal Cross-
linking/ Фотоактивиран
хромофор за

инфекциозен кератит при
крос-линкинг

PK Пенетрираща
кератопластика

PPCD Задна
полиморфна дистрофия
на роговицата

PRGF Плазма
богата на растежни
фактори

PROSE
Протезно заместване на
екосистемата на очната
повърхност

PRP Плазма
богата на тромбоцити

PTK
Фототерапевтична
кератектомия

RCE Recurrent
Corneal Erosion/
Рецидивиращи
корнеални ерозии

RCT
Рандомизирани
клинични проучвания

SICCA OSS Скала за
оценка на очното
оцветяване при
пациентите със синдром
на Sjögren

SMILE Small
Incision Lenticule
Extraction

SSCM Слит
сканиращ конфокален
микроскоп

TBUT Тест
време на разкъсване на
слъзния филм

TNF- α Тумор
некротизиращ фактор α

TSCM Тандем
сканиращ конфокален
микроскоп

UCS/ UCBS Серум от
кръв от пъпна връв

VEGF Съдоендотелен
растежен фактор

VN
Витронектин

ZO
Zonula occludens

I. УВОД

Сетивата са нашият контакт с околната среда, а ние възприемаме до 80% от всяка информация чрез зрението си (1). Благодарение на зрителната сетивна система, човек е в състояние да възприема и да различава форми, цветове, ориентация и движение на предметите в заобикалящия го свят. Сетивният орган на зрителната система, чувствителен към светлината е окото, което има сложно устройство - в морфологията му се включват три слоя: външен, среден и вътрешен. Предната очна повърхност е структура, характеризираща се с голяма динамика и чувствителност, която винаги е в досег с околната среда, а нейната нормална функционалност обуславя осигуряването на зрителен и мигателен комфорт, бариерна функция срещу външни агенти, трофична функция и защитна функция на клетките на очната повърхност. При нарушение на някоя от подлежащите структури, настъпват трудно лечими заболявания, характеризирани се с прогресивни възпалителни процеси, васкуларизация и цикатризация, водещи до намалено зрение и влошено качество на живот. Част от външния слой, който е винаги в досег с околната среда, е роговицата. Тази брадитрофна тъкан, изградена от 5 хистологични слоя поддържа формата на окото, заедно със склерата, има защитна функция, участва в диоптричния апарат на окото като пропуска, пречупва и отразява светлината, осигурявайки около 45 диоптъра пречупвателна сила. Роговичният епител не е в състояние да поддържа своята цялост и е в постоянен процес на обновяване и регенерация. Абнормалното му състояние води до нестабилност и възникване на епителни дефекти. Персистиращите епителни дефекти са резултат от неуспешно повторно епителизиране и пълно заздравяване в рамките на две седмици след увреждане на роговичния епител. Те представляват предизвикателство за офталмолозите, тъй като често са неподатливи на стандартно поддържащо лечение. Пациентите съобщават за силно изразени субективни оплаквания, сред които намалено зрение, болка, зачервяване, сълзене, дразнене, усещане за чуждо тяло, което влияе негативно на качеството им на живот. Нарушенията на предния сегмент са водеща причина за очна заболяемост, като такива състояние обхващат синдром на сухото око, инфекции, травми от различен тип, възпалителни процеси, наследствени заболявания и катаракта. Докато последната е заболяване на възрастното население, слепотата, причинена от непрозрачност на

роговицата се наблюдава при всички възрастови групи. При децата представлява третата най-честа причина за слепота, като намаленото зрение води до забавено моторно, емоционално, социално и когнитивно развитие с последствия за цял живот. При възрастни, с уврежданията на зрението наблюдаваме по-ниски нива на заетост и по-високи – на депресия и тревожност, както и социална изолация. За някои от тези пациенти, състоянията са непрекъснато свързани с прогресия и влошаване на симптомите. Поставянето на диагнозата е предимно клинично - може да бъде допълнена от високоспециализирани изследвания за количествено определяне на зоната на дефекта, морфология, дълбочина и отговор на лечение. Глобалният пазар за справяне и менажиране на персистиращите епителни дефекти се очаква да нарастне с 18% до 2033г (2). Предвижданото увеличение се дължи отчасти на това, че въпреки съществуването на няколко терапии и развитието на все по-голям брой нови подходи, лечението изисква както менажиране на основното причинно състояние, така и справяне с подлежащата субективна симптоматика. Прегледът, поставянето на диагноза, лечението и проследяването на тези пациенти е сложен процес, включващ редица лечебни структури, кабинети, апаратура, звена и кадри. В последните години, с развитието на регенеративната медицина, биологична терапия и индивидуален подход, се откриха много нови възможности за лечение на тежките случаи, неповлияващи се от стандартна медикаментозна и овлажняваща терапия. Автоложните серумни капки, амниотичната мембрана, тъканното инженерство са нови подходи към арсенала за лечение на заболявания на предната очна повърхност (3). Могат да се разглеждат като пети стълб на терапевтичните подходи в допълнение към лубрикиращите средства, локалната и системна имunosупресия, хирургичните техники и терапевтични контактни лещи. Новите подходи за съхранение, разпространение и приложение при този вид терапия се оказват неотменна част в успешното лечение на пациенти, неповлияващи се от стандартна терапия, като безвредно възстановяват анатомичните и зрителна функция, повлияват субективната симптоматика, подобряват качеството на живот и са крачка в персонализираната офталмология – каскада от подходи за приспособяване на възможностите на здравеопазването към индивидуалните нужди на пациента, от оптимизирано генетично консултиране и конвенционални терапии до изпитания на нови ДНК-базирани методи.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

2.1. Цел

Основната цел на настоящия дисертационен труд е да се извърши подробен анализ на широк спектър очни заболявания, характеризиращи се с персистиращи епителни дефекти и да се направи оценка на клиничната ефективност от приложените терапевтични подходи.

2.2. Задачи

1. Да се извърши обзор на публикациите в литературата и оценка на съвременните диагностичните подходи при състояния, свързани с персистиращи епителни дефекти и терапевтичните подходи, приложими за тях.
2. Да се направи оценка на етиологията на заболяванията, характеризиращи се с персистиращи епителни дефекти при пациенти преминали лечение в УСБОБАЛ - Варна.
3. Да се направи анализ на микроструктурните изменения в роговицата, при пациенти с персистиращи епителни дефекти с помощта на *in vivo* конфокална микрокопия (Heidelberg Rerina Tomograph II Rostock Cornea Module (HRT II-RCM) и предно-сегментна оптична кохерентна томография (Cirrus HD-OCT 5000, Carl Zeiss Meditec, Inc).
4. Да се сравнят резултатите от ефективността на проведеното лечение.
5. Да се оцени субективната симптоматика и зрителна функция при пациенти с персистиращи епителни дефекти преди и след проведено лечение.
6. Да се създаде карта за оценка на субективните и обективните признаци на пациентите с персистиращи епителни дефекти, която да оптимизира терапевтичния подход.

III. МЕТОДОЛОГИЯ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

3.1 Обект и обхват на изследването

Настоящото проучване е проведено в Катедра по очни болести и зрителни науки на Медицински университет – Варна на територията на Университетска специализирана болница по очни болести за активно лечение УСБОБАЛ – Варна за период от 4 години - от 01.12.2017 г. до 01.12.2021 г. В проучването са включени общо 102 пациенти, лекувани в болнична и доболнична помощ.

Критерии за подбора на участниците включени в изследването са:

- Пациенти с хронично рецидивиращи заболявания на предна очна повърхност;
- Пациенти на възраст над 18 год.;
- Пациенти от Североизточна България.

Критерии за изключване на участниците от изследването:

- Пациенти под 18 год.;
- Пациенти с нарушения в коагулационния статус;
- Пациенти със системни заболявания;
- Пациенти, неподписали формуляр за информирано съгласие.

Всички участници са подробно запознати с естеството на проучването и са подписали информирано съгласие за своето участие. Всички изследвания са проведени при едни и същи условия от един екзаминатор.

3.2 Методика на проучването

3.2.1 Документален метод

Изследване и анализ на публикуваната научна литература относно:

- Видовете диагностични методи за оценка на персистиращи епителни дефекти;
- Анализ на преден очен сегмент при състояния асоциирани с персистиращи епителни дефекти;

- Начина на производство, механизма на действие, индикациите за приложение и въздействието на автоложните серумни капки при различни нозологични единици;
- Терапевтичните подходи, които се прилагат при пациенти с ПЕД и нови предложения за лечение и диагностика.

3.3.2 Клинични методи

- Определяне на най-добре коригираната зрителна острота с помощта на автоматичен тест проектор;
- Оценка на субективните признаци дразнене, болка, зачервяване и усещане за чуждо тяло – на база въпросник;
- Биомикроскопия на предна очна повърхност и оценка на състоянието на прилежащите структури;

С помощта на биомикроскоп (Carl Zeiss Meditec AG) се направи оценка на предна очна повърхност и структурите ѝ. Внимателното изследване на двете очи, прилежащи структури и системната оценка са от изключително значение за определяне на етиологията на ПЕД. Оцветяването с флуоресцеин се използва за визуализиране на дефекта, за сериен мониторинг и измерване на размера, дълбочината и местоположението на епителния дефект с помощта на шпалт лампа. При по-дълбоките ПЕД отнема повече време, за да абсорбират флуоресцеина в стромата и често имат сиво-бели ръбове. Трябва активно да се търсят свързани признаци на инфекция, като промяна в прозрачността, наличие на инфилтрати и възпалителни клетки в предната камера. Може да има асоциирани дистрофии на базалната мембрана, нодуларна дегенерация, дендрити, дефицит на лимбални стволови клетки, конюнктивална инекция, характеристики на горен лимбален кератоконюнктивит, алергичен конюнктивит и чуждо тяло. От съществено значение е да се оцени сухотата в очите с помощта на теста за време на разкъсване на слъзния филм (TBUT). Багрилото роз бенгал оцветява девитализираните епителни клетки, което предполага нарушена функция на разкъсване, независимо от големината на слъзния клирънс.

От значение е и изследването на прилежащите очни структури. Трябва да се вземат предвид позицията на слъзната пункта, аномалии на клепачите, наличие на трихиаза, блефарит и мейбомит и др. Периорбиталната и лицевата асиметрия трябва да бъдат внимателно оценени, за да се изключи парализа на лицевия нерв, заедно с оценка на роговичната сетивност, за да се изключат невротрофични фактори.

Диагнозата PED е предимно клинична. Тя може да бъде допълнена от изследвания, които помагат да се определи количествено лезията и да се проследи нейното развитие.

- Предно-сегментна оптична кохерентна томография;

AS-OCT е неинвазивна техника за количествено определяне на дебелината на епитела и загубата му с течение на времето, особено в зони на изтъняване на роговицата и цикатризация. За извършването на предно-сегментна оптична томография (AS-OCT) беше използван Фурие-домейн оптичен кохерентен томограф (Cirrus HD-OCT 5000, Carl Zeiss Meditec, Inc.) Скоростта на сканиране на апарата е 27 000-68 000 А-скана в секунда. Сканиращата равнина е 1024 точки по А-скан оста. Аксиалната резолюция е 5 μ m, а латералната - 15 μ m. Апаратът разполага със суперлуминисцентен диоден източник на светлина с дължина на вълната(λ) 750 nm. Пациентът поставя брада върху подбрадника и опира чело в приставката, след което насочва поглед към фиксационна точка в апарата, за да се запази посоката на лъчите и интегритета на изображението. При липса на фиксация, изследваният следва да инструктира правилно пациента. Изследваният следва да избере областта на интерес и мануално да избере местоположението на целевата структура. Заснемането на преден очен сегмент се осъществява с помощта на допълнителна приставки - за визуализация на роговица, в комбинация с пахиметрична карта (приставка HD cornea) или 16mm white-to-white сканиране (Anterior Chamber), предлагащо изображение, на което могат да се визуализират двата ъгъла на предната камера в едно OCT В-сканиране, което улеснява оценката на ъгъла на предната камера. Освен това могат да се използват инструменти за ръчно измерване на параметри от структури, вкл. роговицата, склерата и камерните ъгли. След заснемане, което трае няколко секунди, вграденият софтуер (Windows® 7, 4th generation i7 Intel® processor) показва изображения с висока разделителна

способност на изследваните структури. При всеки един пациент непосредствено след биомикроскопия се извърши предно-сегментна оптична томография.

- In vivo конфокална микроскопия

В настоящето проучване се използва HRTII-RCM (Heidelberg Retina Tomograph II – Rostock Cornea Module, Heidelberg Engineering GmbH, Germany). Апаратът разполага със следните технически спецификации:

- Поле на наблюдение: $15^{\circ} \times 15^{\circ}$ (транзверзално);
- Дълбочина на сканиране: 1.0 до 4.0 mm;
- Оптична резолюция: 10 μm /pixel (транзверзално);
- Дигитална големина на обекта: 2-D образ: 384 x 384 pixels;
- 3-D образ: до 384 x 384 x 64 pixels;
- Време за сканиране: 2-D образ: 24 msec;
- 3-D образ: 2mm дълбочина на скана;
- Обхват на фокуса: -12 до +12 dsph -6 до +6 dcyl;
- Минимален зеничен диаметър: $\geq 1\text{ mm}$;
- Източник на светлина: Диоден лазер $\lambda=670\text{ nm}$;
- Image alignment/artifact rejection: TruTrack™ софтуер;
- Операционна система: Heidelberg Eye Explorer and Windows XP.

Непосредствено преди провеждане на изследването се поставя топикален анестетик proxymetacaine hydrochloride (Alcaine 0.5% collyre, Alcon) в долния конюнктивален сак на пациента. Еднократна стерилна РММА аплантационна шапка (Томо-сар) се изпълва с гел (Corneregel, Bausch & Lomb GmbH, Germany) като свързващ агент между апланационната шапка и лещата на обектива. Пациентът се позиционира на подбрадника и надчелника на апарата, след което апланационната шапка се въвежда към роговицата. Позицията на окото се наблюдава с камера. В конфокалните микроскопи

оптиката за осветяване се фокусира върху едно и също, ограничено от дифракция място в пробата, което е единственото място, изобразено от детектора по време на конфокално сканиране. За да се генерира пълно изображение, петното трябва да се премести върху пробата и данните да се събират точка по точка. Продължителността на една сесия на изследване с конфокална микроскопия беше приблизително 10 минути. Нито един от субектите не се е оплакал от дискомфорт, нито е наблюдаван неблагоприятен ефект след провеждане на изследването.

3.3 Терапевтични методи

След подробно снета анамнеза, попълнени въпросници и провеждане на стандартен офталмологичен преглед, се извършиха високоспециализираните изследвания необходими за целта на дисертационния труд – предно-сегментна оптична кохерентна томография и *in vivo* конфокална микроскопия. На базата на данните се определи етиологията и размера, дълбочината и локализацията на епителния дефект на всеки един от пациентите, които са включени в проучването. В зависимост от етиологията, размера и дълбочината на епителния дефект, наличието/липсата на инфилтрат, пациентите бяха разпределени в четири рандомизирани групи:

- I-ва група - Терапевтична контактна леща(ТКЛ)
- II-ра група - ТКЛ+Автоложни серумни капки(АСК)
- III-та група - Амниотична мембрана(АМ)+ТКЛ+АСК
- IV-та група - АМ+АСК+ТКЛ+Cross-linking - При наличие на инфилтрат

При част от болните се изготвиха автоложни серумни капки по описан стандартен оперативен протокол от Geerling и сътр (4). Пациентите бяха запознати подробно с начина на съхранение и приложение на капките. В две от групите пациенти се проведе хирургично лечение. То бива:

- Трансплантация на криосъхранена амниотична мембрана (АМ) фиксирана върху нитроцелулозна хартия, снабдена от „Центъра за транслационна медицина и клетъчна терапия“ към Медицински Университет град Варна.

- Corneal cross-linking (PAC-K-CXL) - минимално инвазивна интервенция, която използва ултравиолетови А лъчи (UVA) и рибофлавин (витамин В2), за да забави или дори да спре прогресията на ектазията на роговицата и за лечение на някои корнеални патологии.

3.3.1 Алгоритъм за производство и съхранение на автоложни серумни капки

Преди да се предприеме производство на ASE е необходимо получаване на информирано съгласие от пациента и установени негативни серологични резултати: хепатит В, хепатит С, сифилис и HIV. Необходимото количество кръв (10 мл) се аспирира при стерилни условия от кубиталната вена и се съхранява в специлни вакунтейнери. Те се оставят да престоят във вертиална позиция (статив) за 30 мин. на +4 гр температура, за да настъпи пълно утаяване (clotting). Следващата стъпка от процеса на производство е центрофугиране, 3000g за 15 мин., което води до отделяне на серума от останалите кръвни елементи. Кръвният серум се аспирира при стерилни условия в 10 сс спинцовки и се разрежда в съотношение 1:5 с физиологичен разтвор (0.9 % NaCl). Полученият 20 % ASE се разпределя в стерилни 1 мл контейнери, които се съхраняват при -4 гр температура. Пациентът получава пълен инструктаж за начина на съхранение и употреба на ASE.

Параметрите на производство оказат значително влияние върху качеството на кръвния продукт. Установено е, че центрофугиране 3000g за 15 мин води до добро отделяне на кръвния серум, без да индуцира хемолиза.

3.2.4. Статистически методи на изследване

При обработка на данните е използван статистическия софтуерен пакет

- ✓ IBM SPSS for Windows, v.20.0.
- ✓ Дисперсионен анализ (ANOVA) за оценка на статистическата значимост на дадените фактори.
- ✓ Вариационен анализ за изследване на количествените характеристики на показателите.

- ✓ Корелационен анализ за оценка на зависимостта между изследваните показатели. Оценката на силата на зависимостта между променливите се базира на резултатите от коефициента на Пийрсън (r) и на Спирман (ρ):
 - $0 < r(\rho) < 0,3$ – слаба корелация
 - $0,3 < r(\rho) < 0,5$ – умерена корелация
 - $0,5 < r(\rho) < 0,7$ – значителна корелация
 - $0,7 < r(\rho) < 0,9$ – висока корелация
 - $0,9 < r(\rho) < 1$ - много висока корелация
- ✓ Регресионен анализ за оценка на възможните функционални зависимости между изследваните показатели.

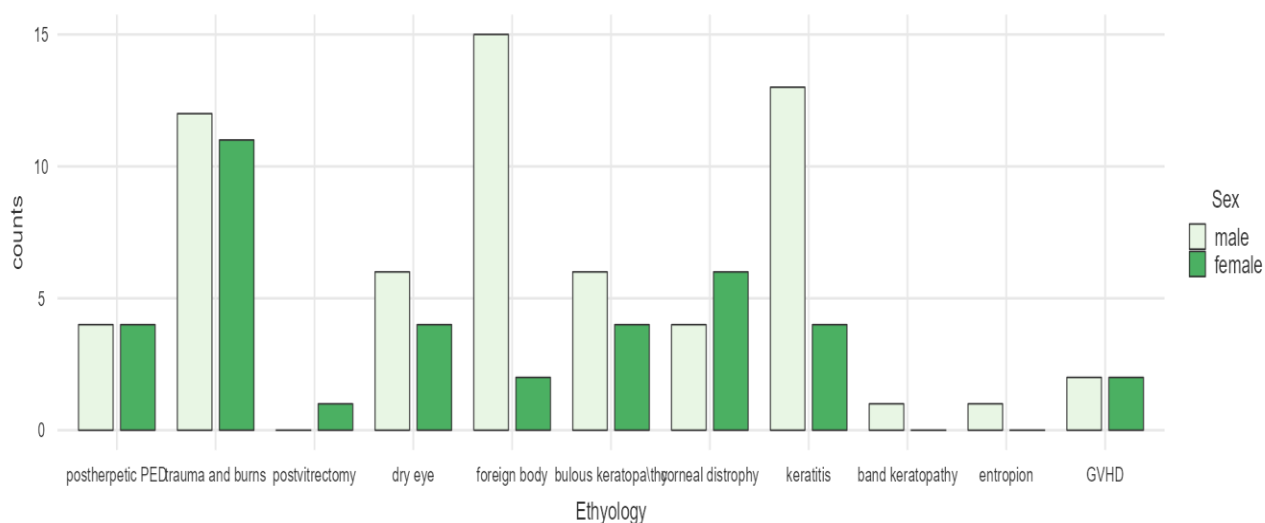
Изследване на причинно-следствените връзки

- ✓ Сравнителен анализ (оценка на хипотези) – χ^2 , t-test Student's за сравняване на количествени и качествени показатели и изследване на разликата между тях;
- ✓ Графичен и табличен метод на изобразяване на получените резултати.

При всички проведени анализи се приема допустимо ниво на значимост $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ при доверителен интервал 95%.

IV. РЕЗУЛТАТИ

За период от 4 години (2017г.-2021г.) през територията на УСБОБАЛ-Варна са преминали 102 пациента с ПЕД. Резултатите показват, че преобладава мъжкият пол (62.7%). Средната възраст на пациентите с ПЕД е 40.5, като най-ниската е 18г., а най-високата е 75г. По отношение на подлежащата етиология, водеща причина за ПЕД сред пациентите преминали през УСБОБАЛ-Варна са травмите и изгарянията, следвани от възпалителните заболявания на роговицата и попадането на чуждо тяло. По-малък е делът на пациентите с булозна кератопатия, корнеална дистрофия и постхерпетична невропатия. При мъжкия пол водещи причини за възникване на ПЕД са наличие на чуждо тяло в роговицата и кератит, следвани от травми и изгаряния. При женския пол водещ етиологичен фактор са травмите и изгарянията, следвани от роговичните дистрофии.

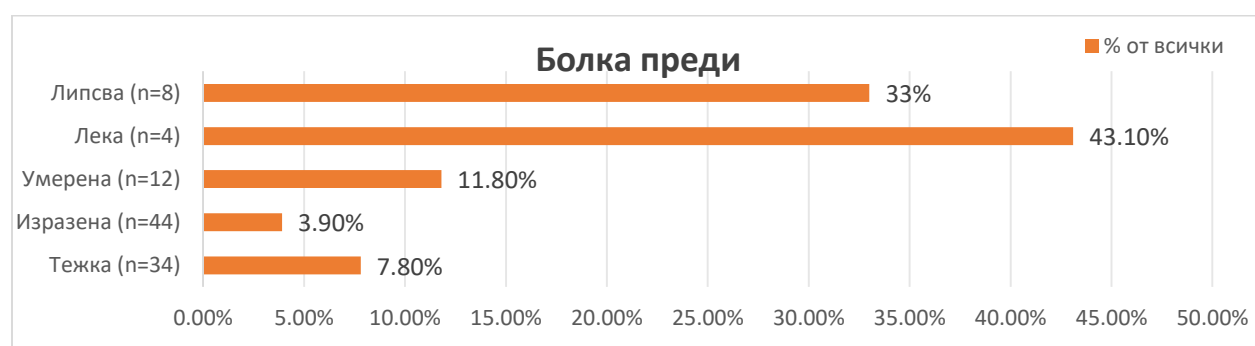


Фигура 1. Разпределение на участниците в проучването според етиология и полов признак.

4.1 Оценка на субективната симптоматика при пациенти с ПЕД преди и след проведената терапия

При изследване на пациентите с ПЕД бяха използвани следните показатели за оценка на субективната симптоматика: болка, зачервяване и усещане за чуждо тяло. Те бяха

проследени преди започване на терапия, на 1вата, на 2рата седмица и 30 дни след провеждане на лечението. Резултатите показват, че 92.2% от пациентите изпитват болка преди започване на лечение. Значително повлияване на болковия синдром се наблюдава още на първата седмица, като при 63.7% от пациентите липсва болков синдром, а на първия месец - при 86.3 % от тях. Установи се статистически значима разлика във възприятията за болка при пациентите с различни заболявания преди лечението и на първата седмица след проведено лечение ($p<0.001$), преди лечението и на първия месец след лечението ($p<0.001$), както и на първата седмица и на първия месец след лечението ($p<0.001$). Анализът на резултатите показва, че преди започване на съответната терапия 33.3% от пациентите съобщават за тежка, а 43.1% за изразена болкова симптоматика. Установено е значително намаляване на болката още на първата седмица, като при само 1% от изследваните пациенти е налице тежка, а при 8.8% - изразена болкова симптоматика.

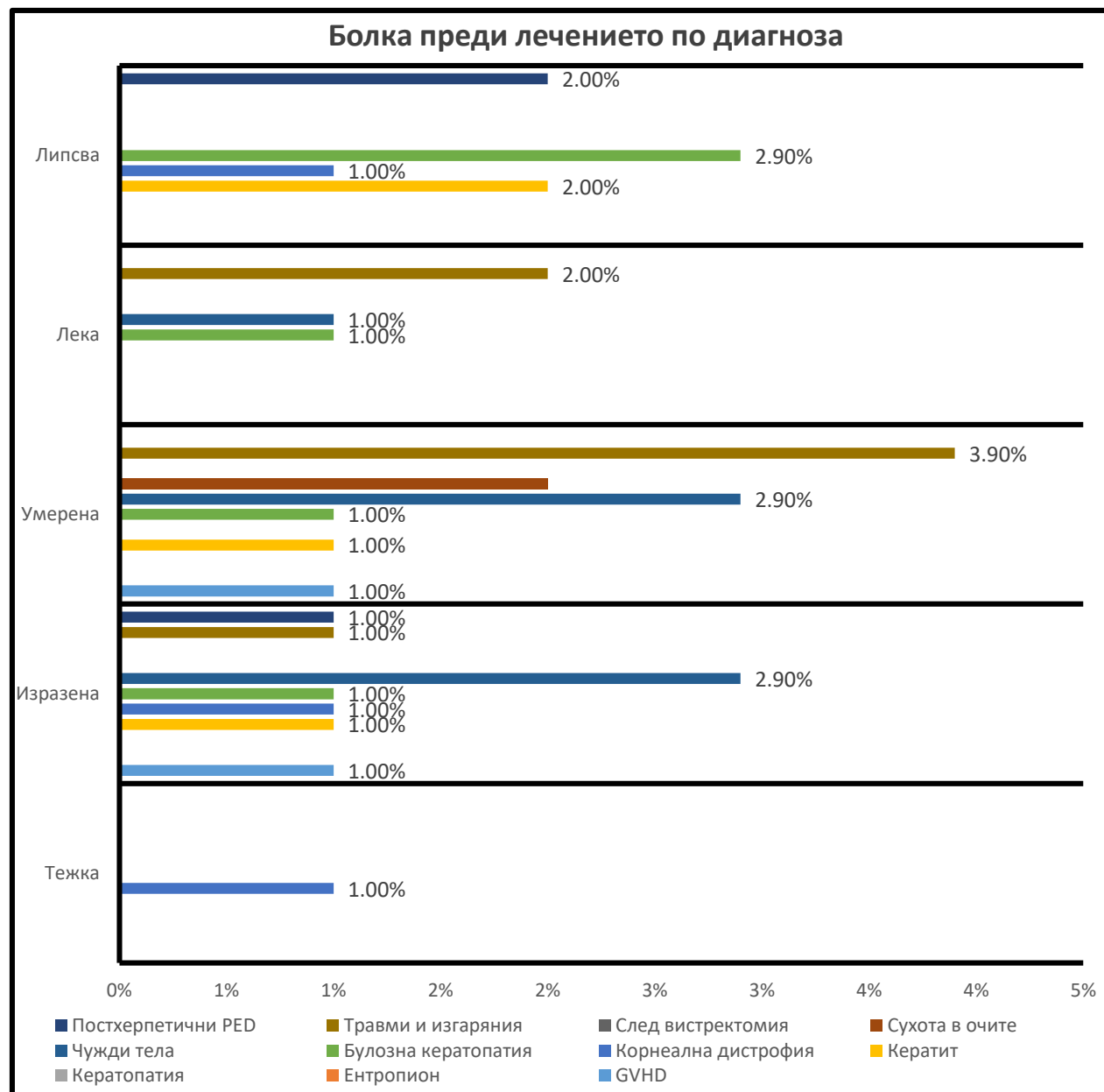


Фигура 2. Субективно усещане за болка преди започване на назначената терапия.



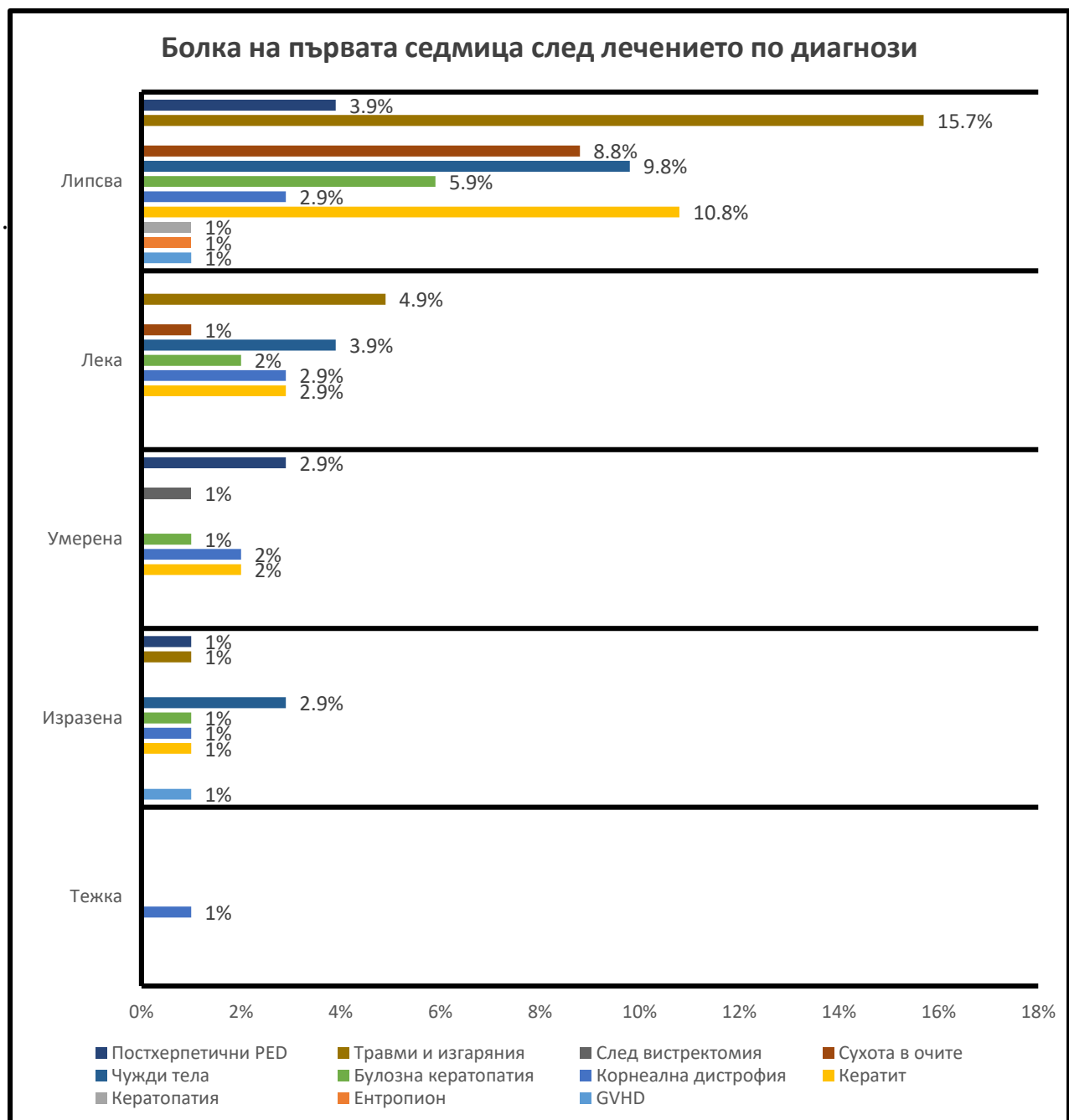
Фигура 3. Субективно усещане за болка на първата седмица от началото на терапията.

Установи се статистически значима разлика във възприятията за болка при пациентите с различна подлежаща етиология водеща до ПЕД.



Фигура 4. Субективно усещане за болка преди лечението по диагноза.

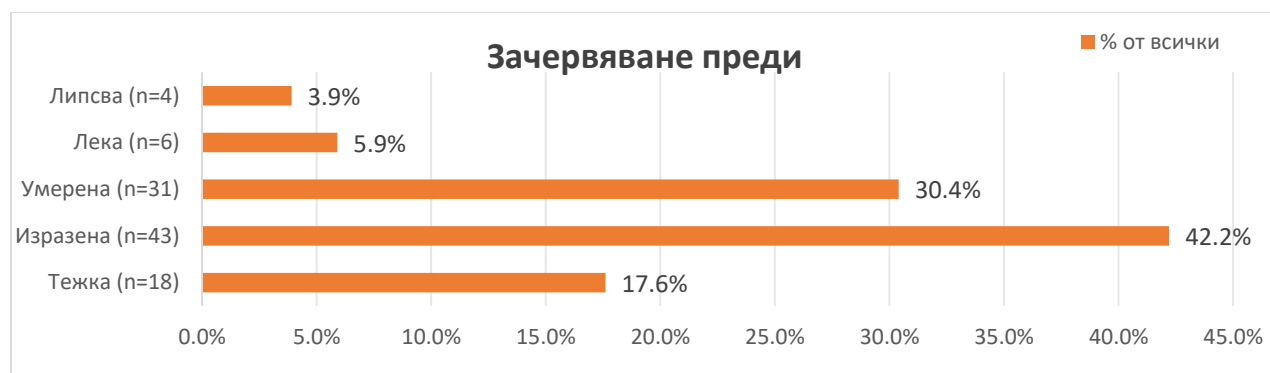
С най-силно изразена болкова симптоматика (тежка и изразена) преди започване на лечението са пациентите с възпалителни заболявания (кератити), травми, изгаряния и наличие на чуждо тяло.



Фигура 5. Субективно усещане за болка на първата седмица от приложената терапия по диагнози.

Резултатите показват значително подобрение на болковия синдром, като при 63.7% от пациентите липсва болка. Най-тежко изразен е болковият синдром при пациентите с възпалителни заболявания на роговицата (кератити), следвани от тези с травми и изгаряния на ПОП.

Зачервяването е друг показател, подлежащ на субективна оценка, който е изследван при пациентите с ПЕД. Резултатите показват, че преди започване на терапията 96.1% от пациентите съобщават за „червено око“. От фиг. 6 става ясно, че преобладава делът пациенти с изразено зачервяване - 42.2%, следвани от тези с умерено - 30.4 %. На фиг. 6 и 7 са представени данните получени при оценка на субективния показател зачервяване преди и след провеждане на лечение. От фигурата се вижда, че най-голям процент от пациентите (42.2%) съобщават за изразено зачервяване, следвани от тези с умерено - 30.4%. От включените в проучването, 17.6% докладват за тежко зачервяване преди започване на лечение.

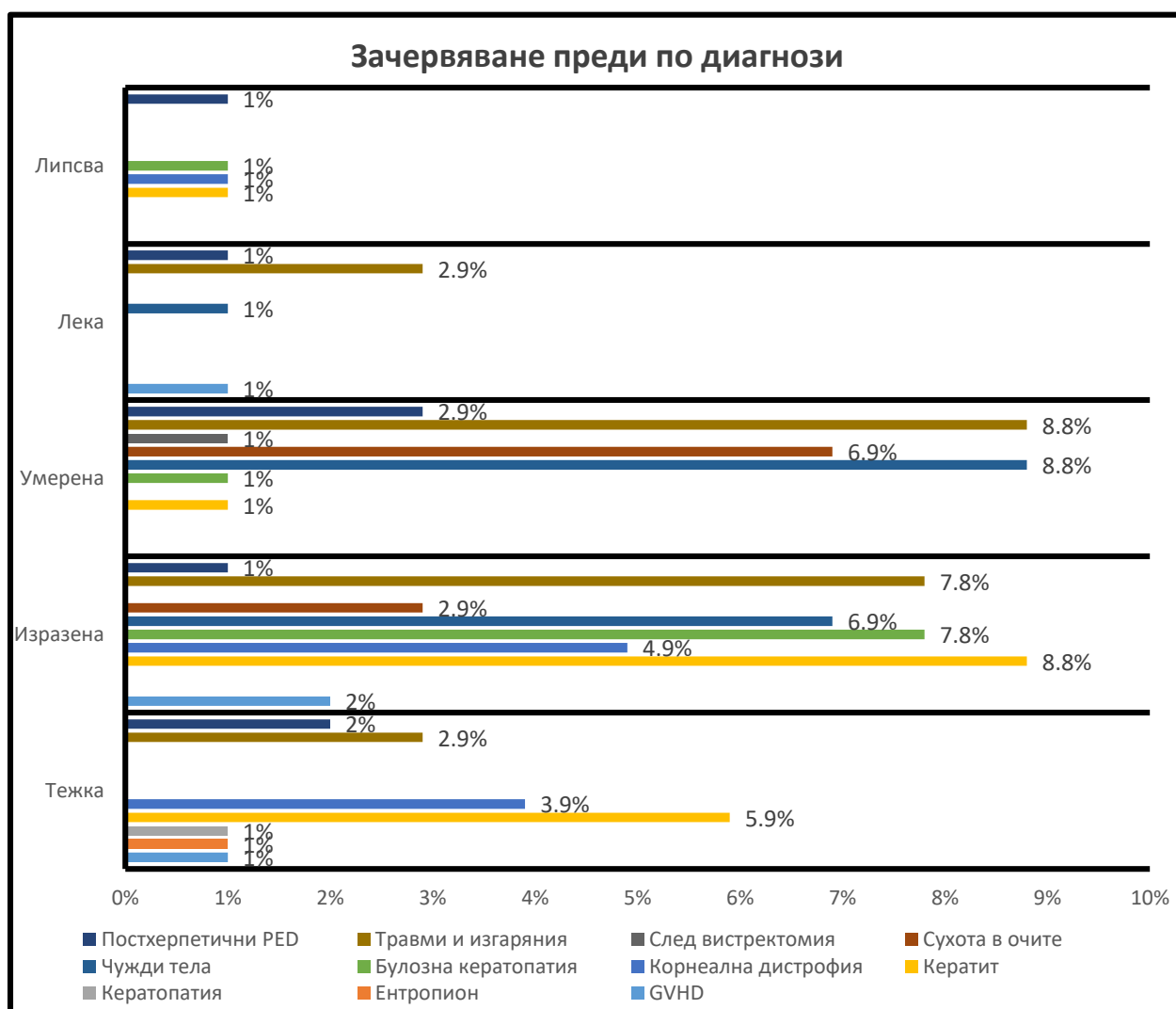


Фигура 6. Субективна оценка на зачервяването преди започване на назначената терапия.

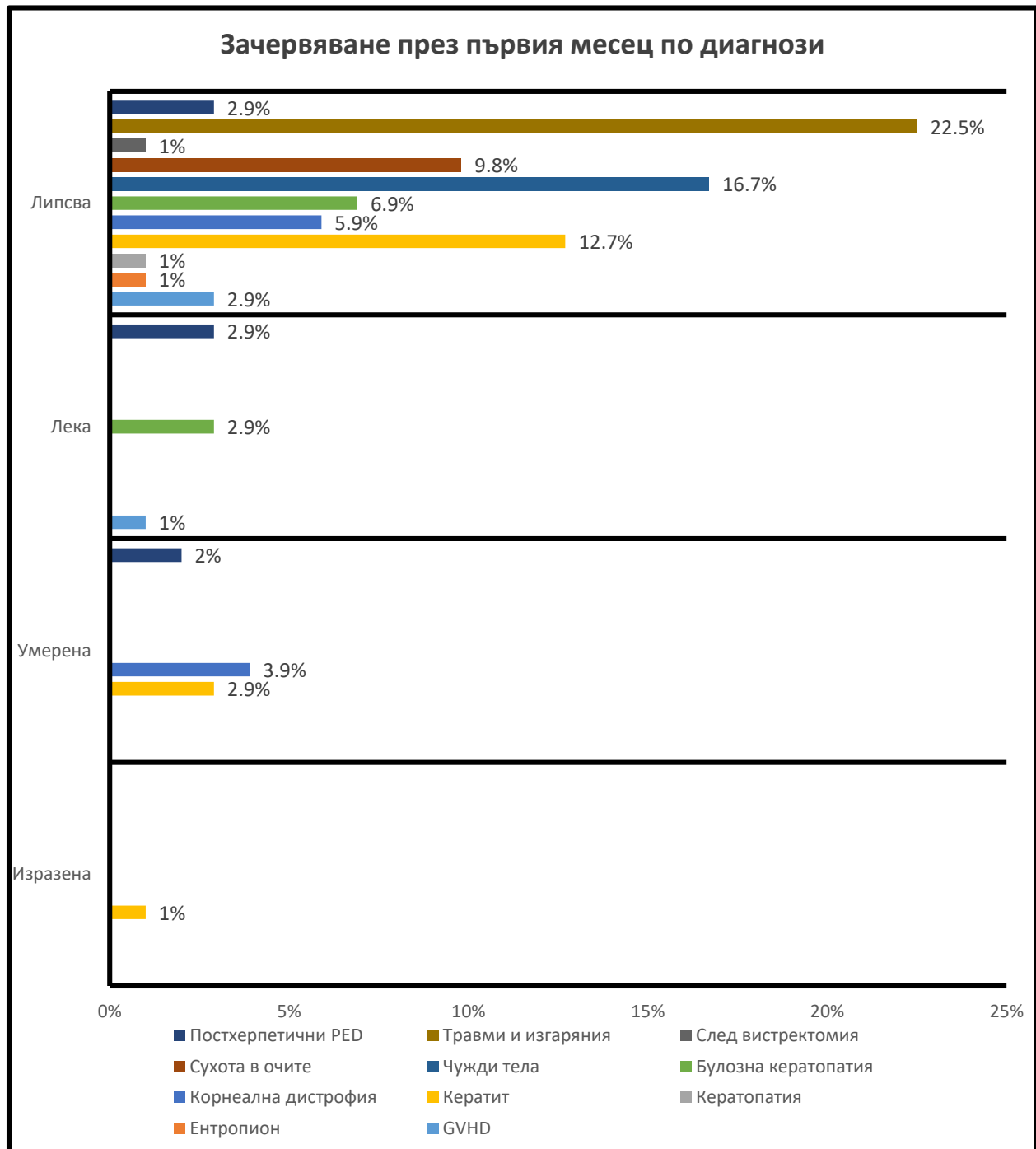


Фигура 7. Субективна оценка на зачервяването през първата седмица след започване на терапия.

Значително повлияване на този субективен показател се наблюдава още на първа седмица. От фигурата се вижда, че при 50% от пациентите липсва зачервяване, при 35.3% е налице леко, при 12.7% - умерено, а едва при 2% - изразено зачервяване. Впечатление прави липсата на пациенти с тежко зачервяване още на 1-вата седмица от началото на терапията. Анализът на данните показва, че най-силно изразено зачервяване преди започване на терапия се наблюдава при пациентите с кератит, следвани от пациентите с травми и изгаряния и наличие на чуждо тяло.



Фигура 8. Субективна оценка на зачервяването преди започване на терапия по етиология.



Фигура 9. Субективна оценка на зачервяването на първи месец от назначената терапия по етиология.

На първия месец след започване на лечение, при 83.3% липсва зачервяване, за наличие на умерено съобщават 8.8%, а за леко - 6.9%.



Фигура 10. Субективна оценка на зачервяването на първия месец от започнатото лечение.

Значително повлияване на този субективен показател се наблюдава още на първата седмица, като при 50% от пациентите зачервяването липсва. Ефектът е още по-силно изразен на първия месец, като 83.3% от пациентите съобщават за „бяло око“. Установи се статистически значима разлика във възприятията за зачервяване при пациентите с различни заболявания преди лечението и на първата седмица след проведено лечение ($p < 0.001$), преди лечението и на първия месец след лечението ($p < 0.001$), както и на първата седмица и на първия месец след лечението ($p < 0.001$). Тежка степен на зачервяване се наблюдава при пациентите с кератити, травми и изгаряния, както и при тези с булозна кератопатия. Впечатление прави, че на първия месец при 80.4% от пациентите липсва зачервяване, докато преди започване на терапията са били едва 4% .

Усещането за чуждо тяло е последният субективен показател, който оценихме в нашата извадка от пациенти с ПЕД. Данните от сравнителния анализ в периода преди започване на лечение и на 1вата седмица показаха наличие на съществена разлика ($p < 0.001$). Най-голям процент от пациентите - 43.1% съобщават за изразено усещане за чуждо тяло, при 27.5% симптоматиката е тежка, а умерено изразена - при 22.5%. Впечатление прави бързото повлияване на пациентите от приложеното лечение.



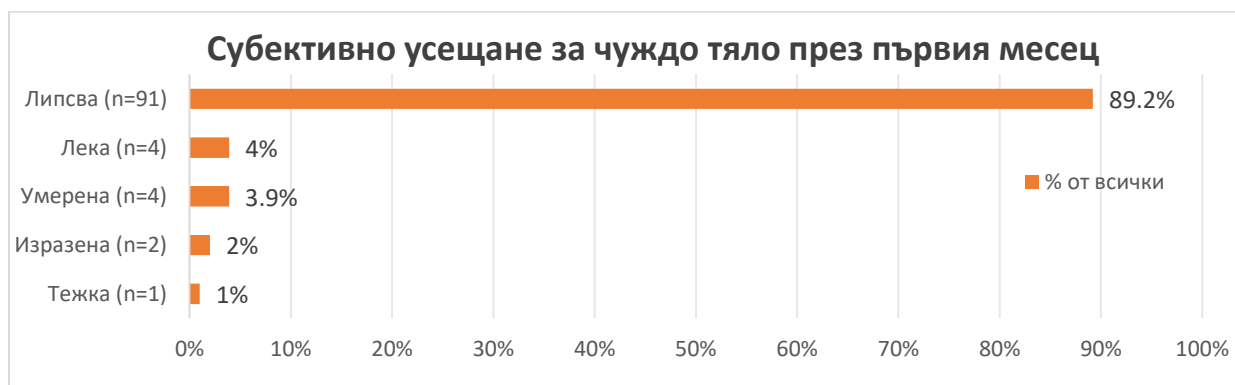
Фигура 11. Субективно усещане за чуждо тяло преди започване на лечение.

От фиг. 12 се вижда, че на 1-вата седмица едва при 5.9% е налице тежко изразено усещане за чуждо тяло, при 8.8% симптоматиката е умерена, а при 18.6% - лека. При 65.7% от изследваните пациенти липсва усещане за чуждо тяло още на 1-вата седмица след започване на терапията.



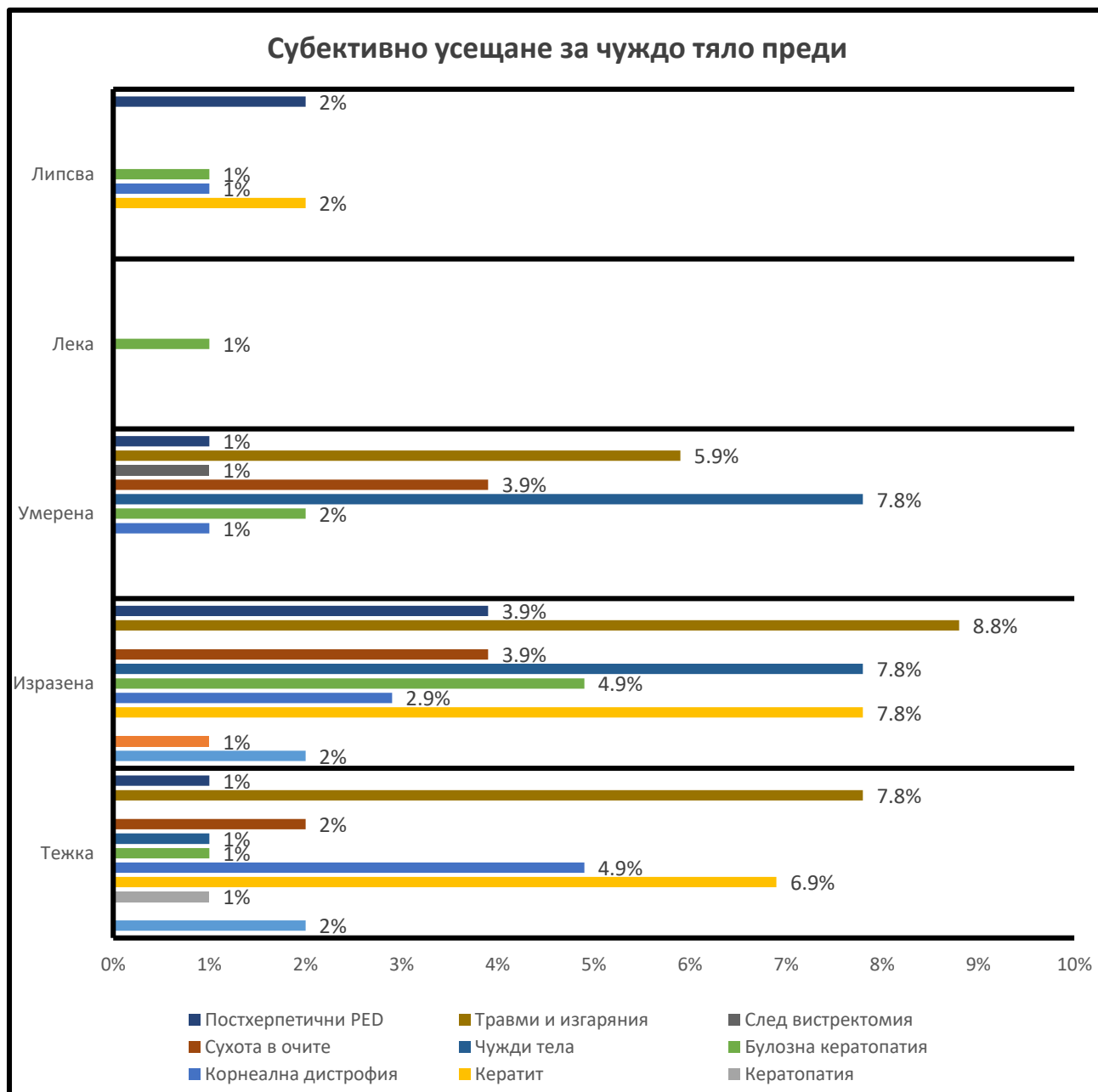
Фигура 12. Субективно усещане за чуждо тяло на първа седмица от проведената терапия.

От фиг. 13 се вижда, че този процент е още по-висок на първия месец, като при 89.2% от пациентите липсва усещане за чуждо тяло.



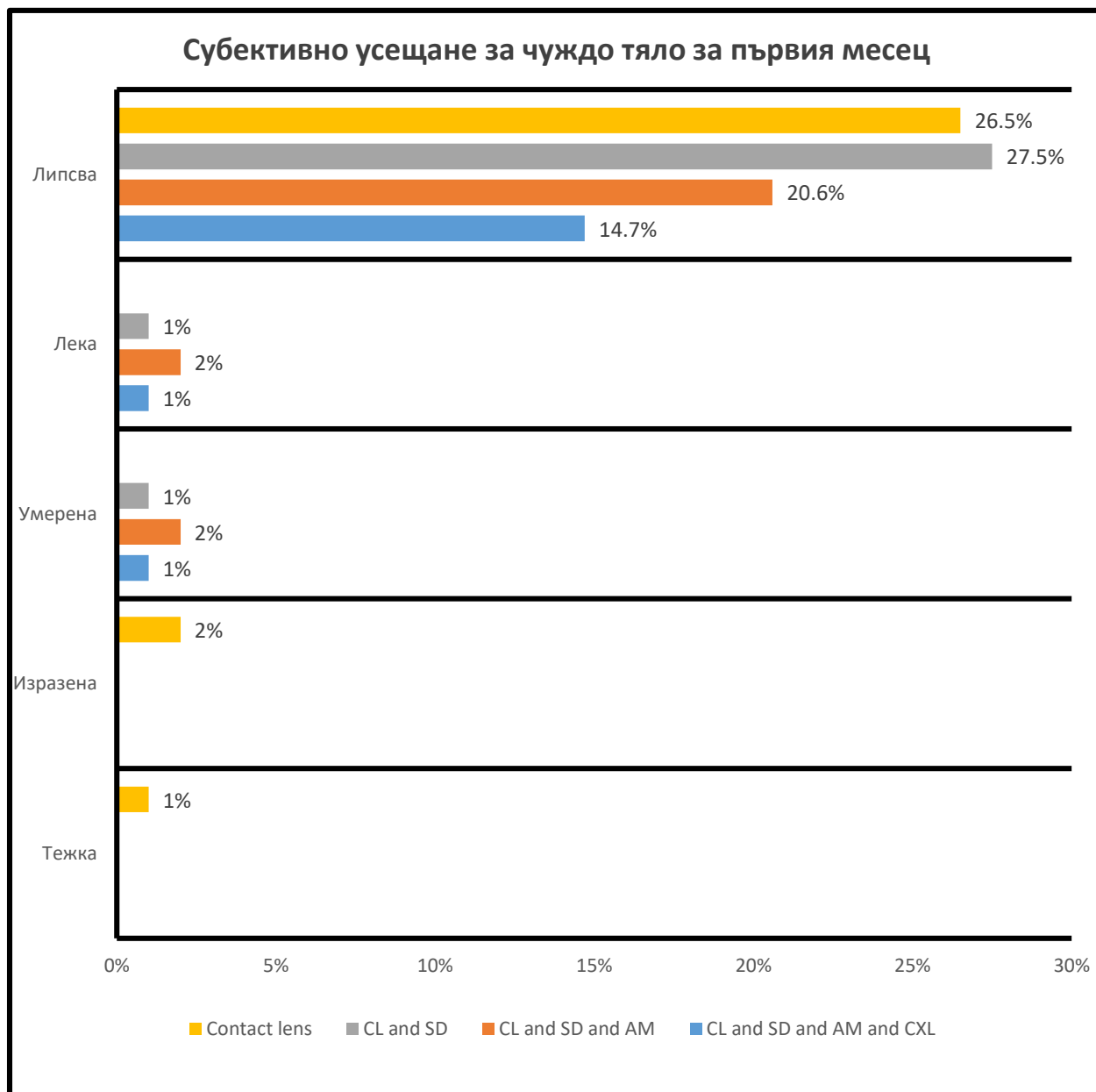
Фигура 13. Субективно усещане за чуждо тяло през първия месец на лечение.

По отношение на подлежащата етиология най-силно изразено усещане за чуждо тяло (тежко) се наблюдава при пациентите с травма и изгаряния, следвани от пациентите с възпалителни заболявания (кератит).



Фигура 14. Субективно усещане за чуждо тяло според етиологията на ПЕД преди започване на терапия.

Резултатите показват значително подобрене на симптоматиката още на 1-ва сед., като при 65.7% от пациентите липсва FBS, а на 1вия мес. резултатите са още по-изразени - при 89.2% липсва FBS.



Фигура 15. Субективно усещане за чуждо тяло според проведена терапия на първи месец от лечението.

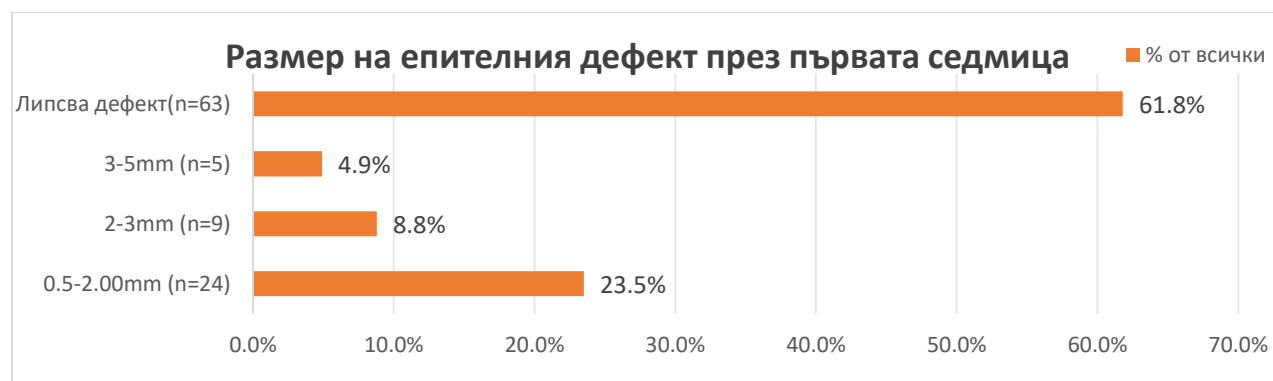
4.2 Оценка на обективните признаци при пациенти с ПЕД

Размерът на епителния дефект е първият обективен признак, който проследихме в нашата извадка от пациенти и също се използва като критерий за ефективността на приложената терапия. Значителна разлика в големината на епителния дефект се наблюдава между отделните групи преди началото на терапията. Най-висок процент на епителен дефект с големина между 3-5 мм се наблюдава в групата с травми и изгаряния - 11.8%, а на епителен дефект с размер < 5 мм - в групата с кератит. На първия месец при 22.5% от пациентите с травми и изгаряния се наблюдава епителизация (липсва епителен дефект), следвани от пациентите с чуждо тяло - 16.7% и кератит - 12.7%. От фиг. 16 се вижда, че преди започване на лечението най-голям процент от пациентите (34.3%) са имали епителен дефект с размер 3-5 мм, следвани от тези с размер 2-3 мм - 26.5% и >5 мм - 24.5%.



Фигура 16. Размер на епителния дефект в четири групи преди започване на лечение.

Впечатление прави бързият процес на епителизация, който установихме на 1вата сед. след включване на съответния терапевтичен план.



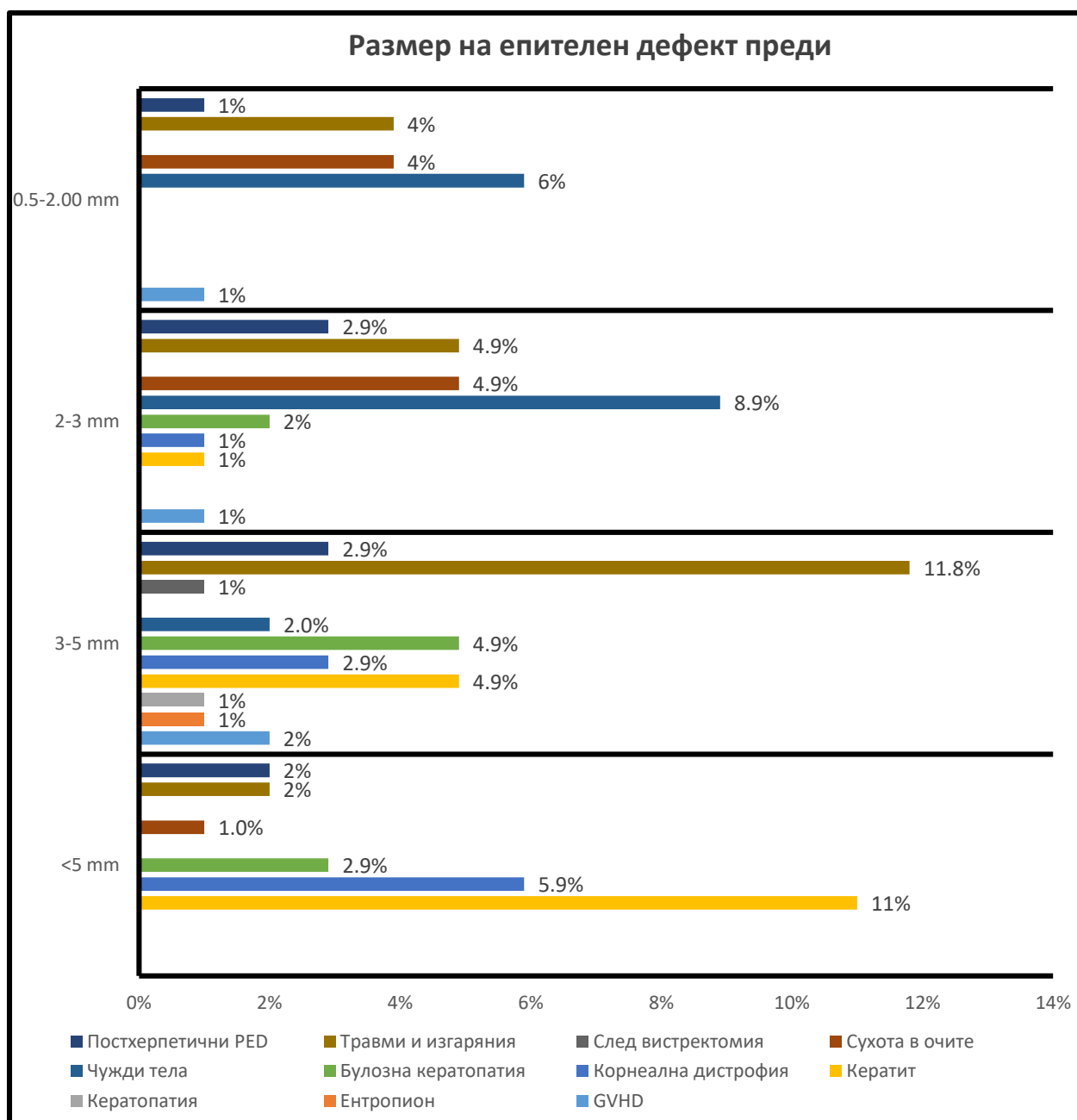
Фигура 17. Размер на епителния дефект в четири групи на първа седмица от започване на лечение.

При 61.8% от пациентите се наблюдава пълно възстановяване на интегритета на корнеалния епител. При по-голяма част от останалите пациенти се установи значително намаляване на размера на ПЕД.



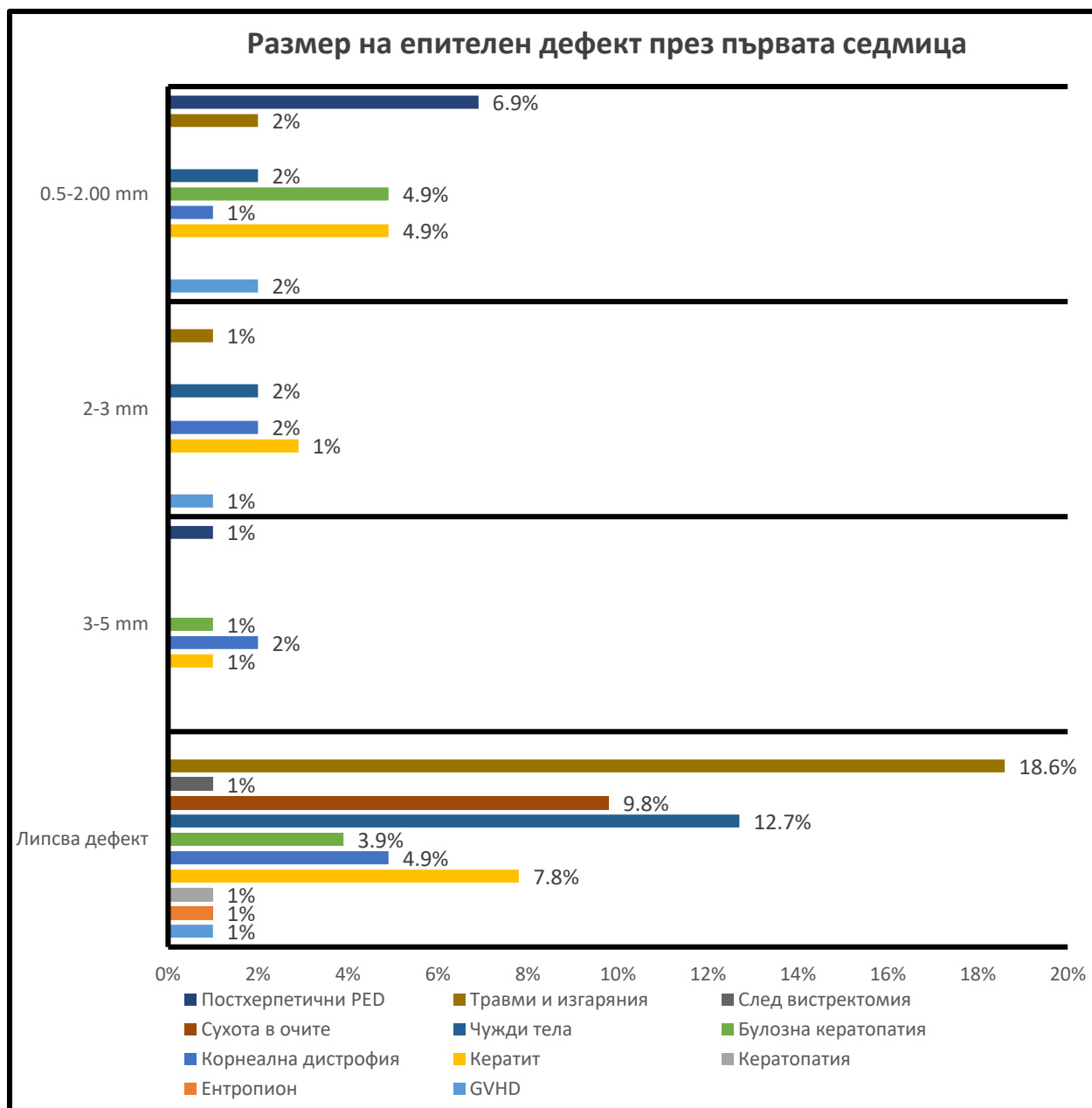
Фигура 18. Размер на епителния дефект в четири групи месец от започване на лечение.

На фиг. 18 са представени данните от оценка на размера на епителния дефект на първия месец от назначената терапия. От фигурата се вижда, че при 84.3 % от пациентите липсва епителен дефект, при 3.9% наблюдавахме персистиране на дефект с размер 2-3 мм, при 2 % с размер 3-5 мм, а при 9.8% размерът е 0.5-2.0 мм. Установи се статистически значима разлика в размера на епителния дефект при пациентите с различна подлежаща етиология. Най-голям размер на епителния дефект > 5мм наблюдавахме в групата пациенти с възпалителни заболявания (кератити) - 11%, следвани от тези с корнеални дистрофии - 5.9 %. Сред пациентите с травми и изгаряния преобладават ПЕД с размер 3-5мм - 11.8%. От фиг. 18 се вижда, че при пациентите след попадане на чуждо тяло в роговицата преобладават дефекти с размер 2-3 мм - 8.9 %, а при тези с тежък сух синдром с размер 2-3 мм - 4.9 %, следвани от тези с размер 0.50-2.00 мм.



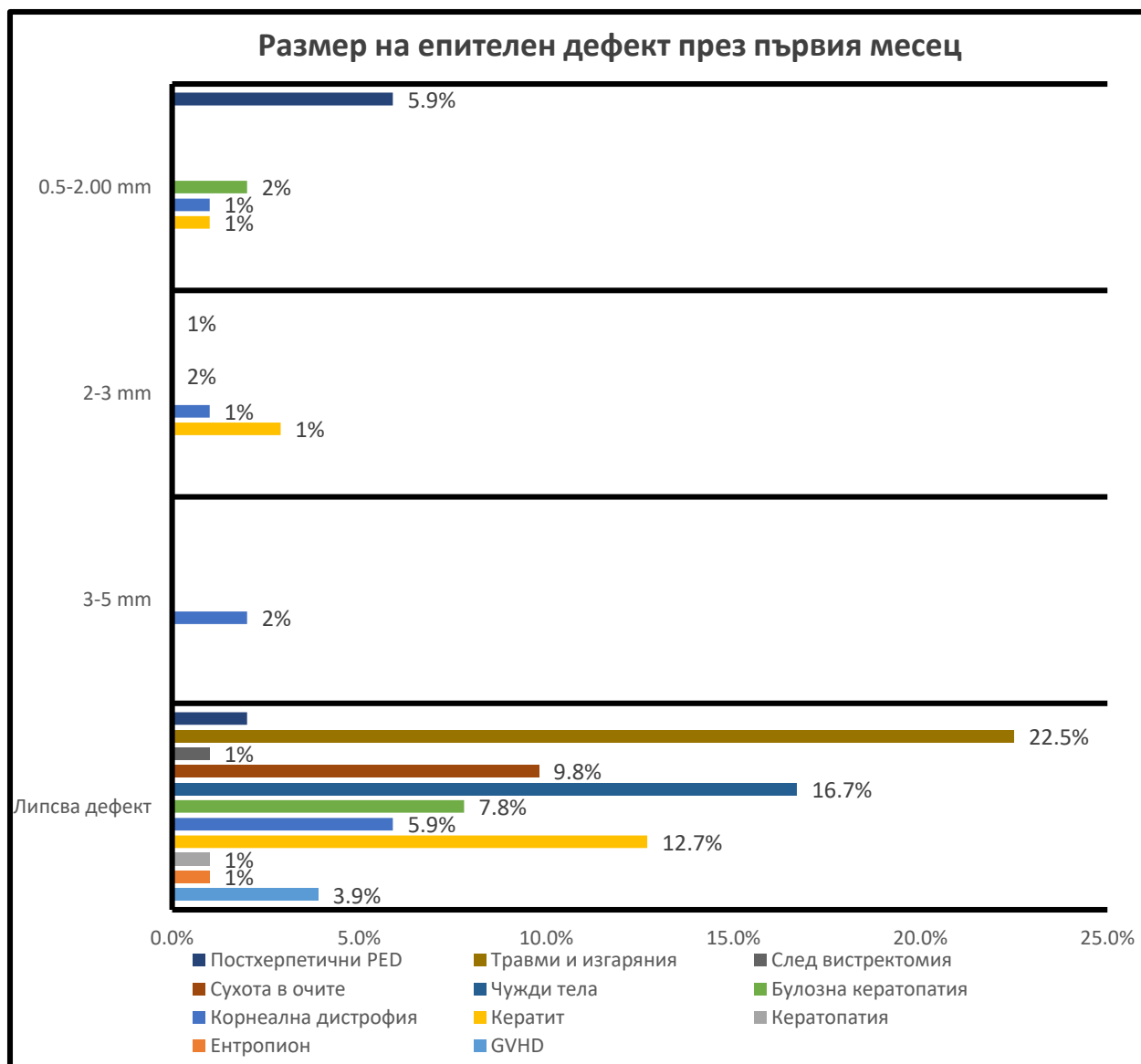
Фигура 19. Размер на епителния дефект в четири групи преди започване на лечение според етиологията.

Анализът на данните получени при проследяване на нашите пациенти на 1-ва сед. показва изключително добро повлияване (липса на епителен дефект) на пациентите с травма и изгаряне (18.6 %), наличие на чуждо тяло в роговицата (12.7%) и тежък сух синдром. (9.8%).



Фигура 20. Размер на епителния дефект в четири групи на първа седмица от лечението според етиологията.

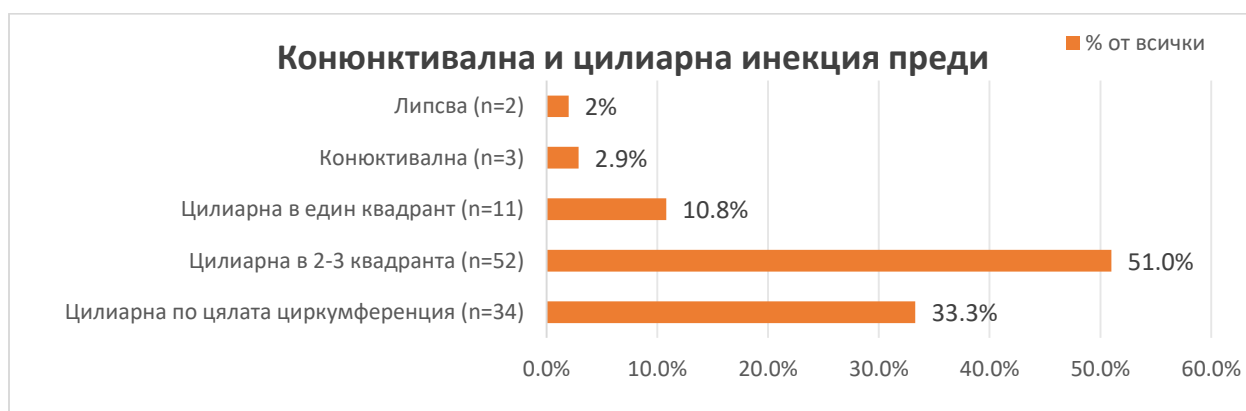
По-слаб ефект наблюдавахме при пациентите с постхерпетични ПЕД, булозна кератопатия и възпалителни заболявания (кератити). При тях установихме персистиране на епителния дефект, но с по-малък размер - 0.50-2.0 мм.



Фигура 21. Размер на епителния дефект в четири групи на първия месец от лечението според етиологията.

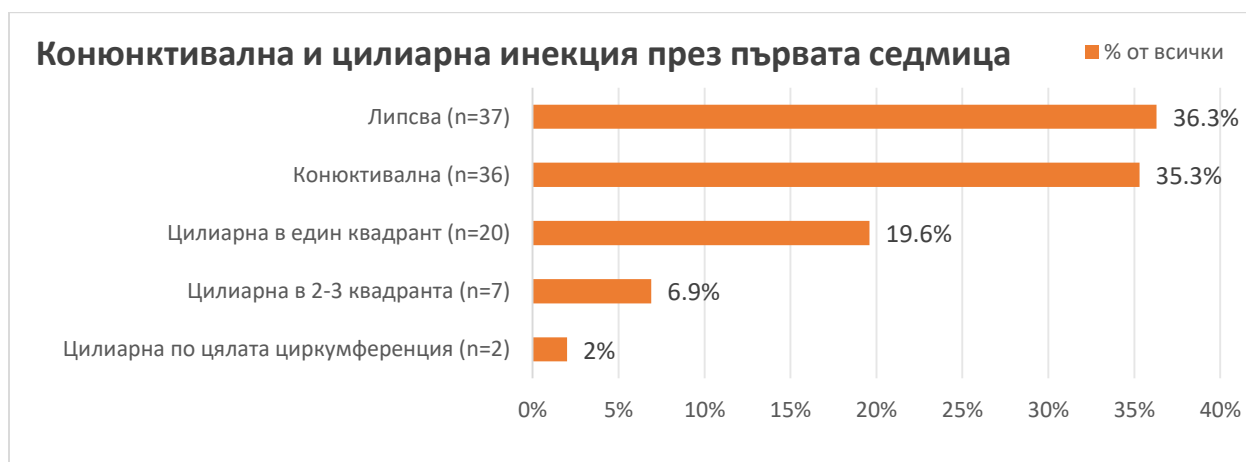
Инекцията е друг обективен показател, който проследихме при нашите пациенти с ПЕД. Резултатите за инекцията в периода преди започване на терапията, представени на фиг. 22, показват, че преобладава делът пациенти с цилиарна инекция в 2 - 3 квадранта - 51%, следвани от тези с инекция по цялата циркумференция - 33.3%. Значително подобрене на този показател се наблюдава още на 1-вата сед., като при 36.3% от пациентите инекция

липсва, докато в периода преди започване на терапия този процент е бил едва 2%. Впечатление прави нарастването на дела на пациентите с конюнктивална инекция на 1-ва сед. - 35.3% (в сравнение - 2.9% преди терапията), което е свързано с инвазивния/оперативния терапевтичен подход (поставяне на АМ) при част от пациентите. На 1-вия месец, делът на пациентите, при които липсва инекция достига 81.4%. Остава по-висок делът на пациентите с конюнктивална инекция – 11.8 %. Този феномен се наблюдава само в групите пациенти подложени на инвазивно лечение.

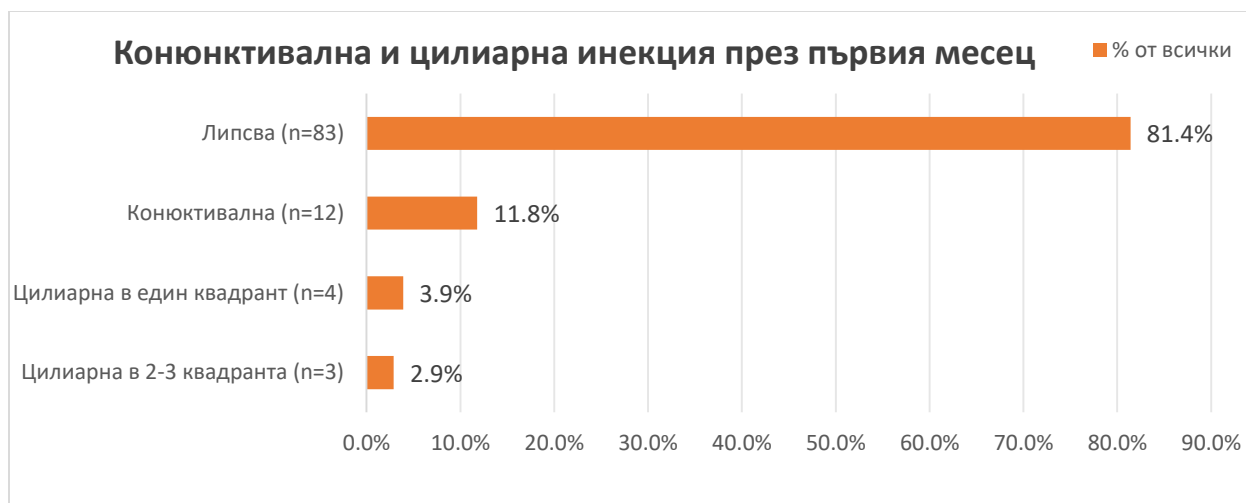


Фигура 22. Конюнктивална и цилиарна инекция преди започване на назначената терапия.

Анализът на данните през 1-вата седмица след започване на лечение показва значително подобрение на този обективен показател.



Фигура 23. Конюнктивална и цилиарна инекция една седмица от започване на назначената терапия.



Фигура 24. Конюнктивална и цилиарна инекция на първи месец от започване на назначената терапия.

Последният обективен признак, който изследвахме и включихме в нашето проучване е зрителна острота. Резултатите показват значително подобрене на този показател при всички групи пациенти. Най-добри резултати бяха отчетени при пациентите с наличие на чуждо тяло в роговицата, с възпалителни заболявания (кератити), включително и при тези с постхерпетични ПЕД. По-слабо повлияване на този показател наблюдавахме при пациентите с GVHD и тези с булозна кератопатия. Добри резултати отчетохме и при пациентите с травми и изгаряния. По-голяма част от включените в настоящия дисертационен труд пациенти бяха с умерена степен на изгаряне, което обяснява и наблюдаваните резултати в тази група.

4.3 Анализ на резултатите за ефективност от проведеното лечение

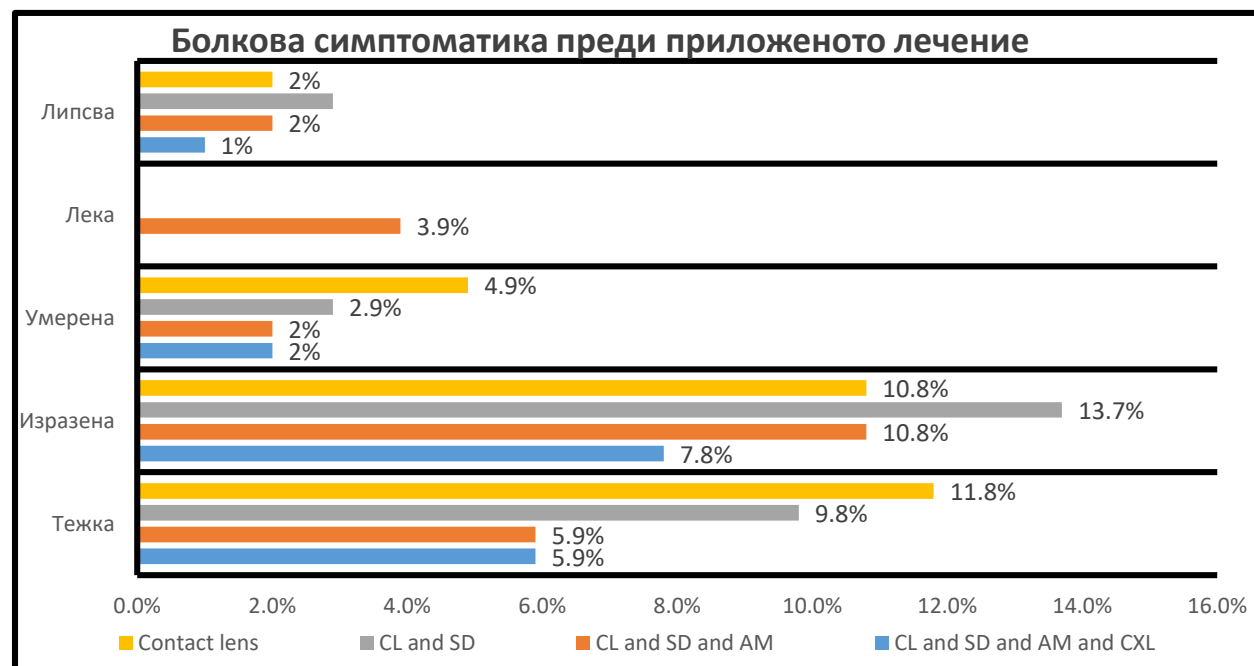
Пациентите бяха рандомизирани в четири групи на база оценка на субективната симптоматика и обективната находка. Пациентите с повърхностни епителни дефекти без ангажиране на роговичната строма бяха подложени на консервативно лечение (58.40%). При пациентите, при които установихме наличие на язва (ангажиране на стромата без наличие на инфилтрат) извършихме АМТ и поставяне на ТКЛ, в комбинация с 20% ASE след 7мия ден. При 16.7% от включените в настоящия дисертационен труд пациенти

установихме наличие на корнеален инфилтрат. При тях извършихме PACK-CXL, след което поставихме АМ и ТКЛ, а след 1 седмица назначихме 20% ASE. От изследваните лица в нашата клинична извадка 58.8% са провели консервативно лечение, а при 42.1% се наложи провеждане на оперативно лечение.

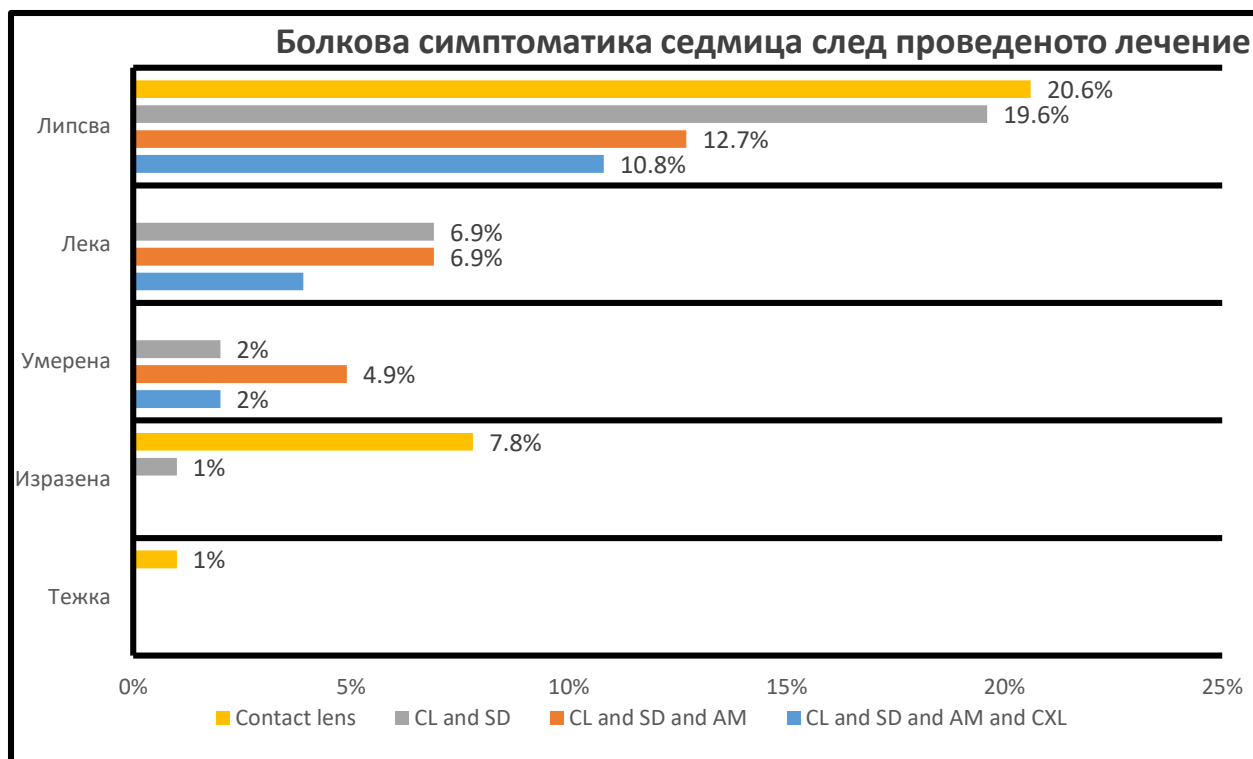


Фигура 25. Допълнително проведено лечение сред пациентите с персистиращи епителни дефекти.

По отношение на болката, субективен симптом, който изследвахме в нашата извадка пациенти с ПЕД, впечатление прави, че още на 1-ва седмица наблюдавахме значително редуциране на симптоматиката, като само при 1% от пациентите установихме тежко изразена болка.

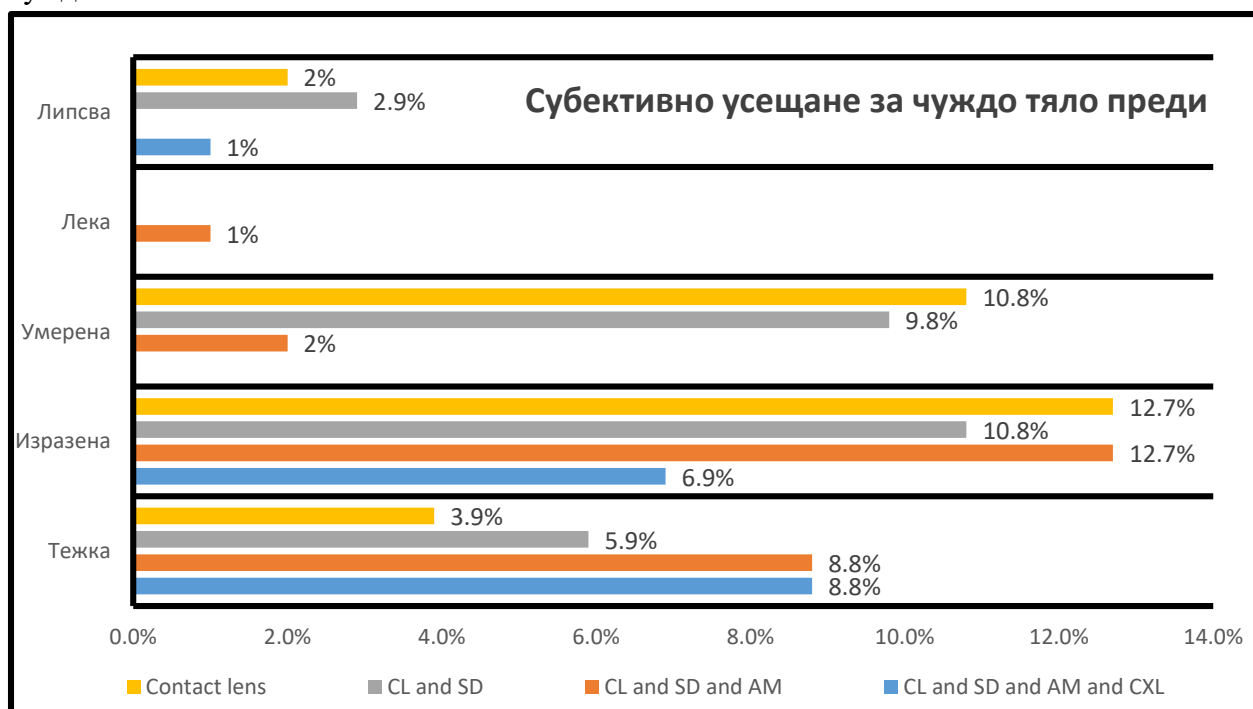


Фигура 26. Болкова симптоматика преди приложеното лечение по групи преди започване на терапия.

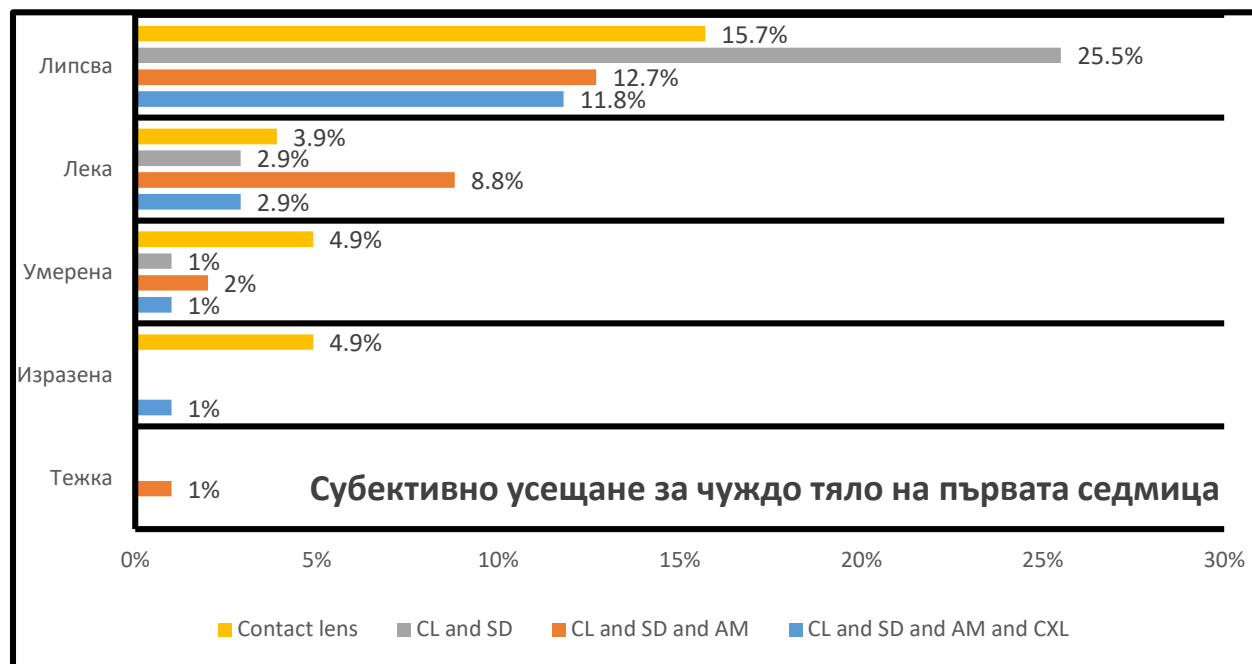


Фигура 27. Болкова симптоматика 1 седмица след приложеното лечение в зависимост от терапията.

Усещането за чуждо тяло е друг субективен симптом, който проследихме. От фиг. 29 се вижда, че отново, още на 1-ва седмица симптоматиката изчезва при голяма част от пациентите от четирите групи, като само при 1% персистираше тежко изразено усещане за чуждо тяло.

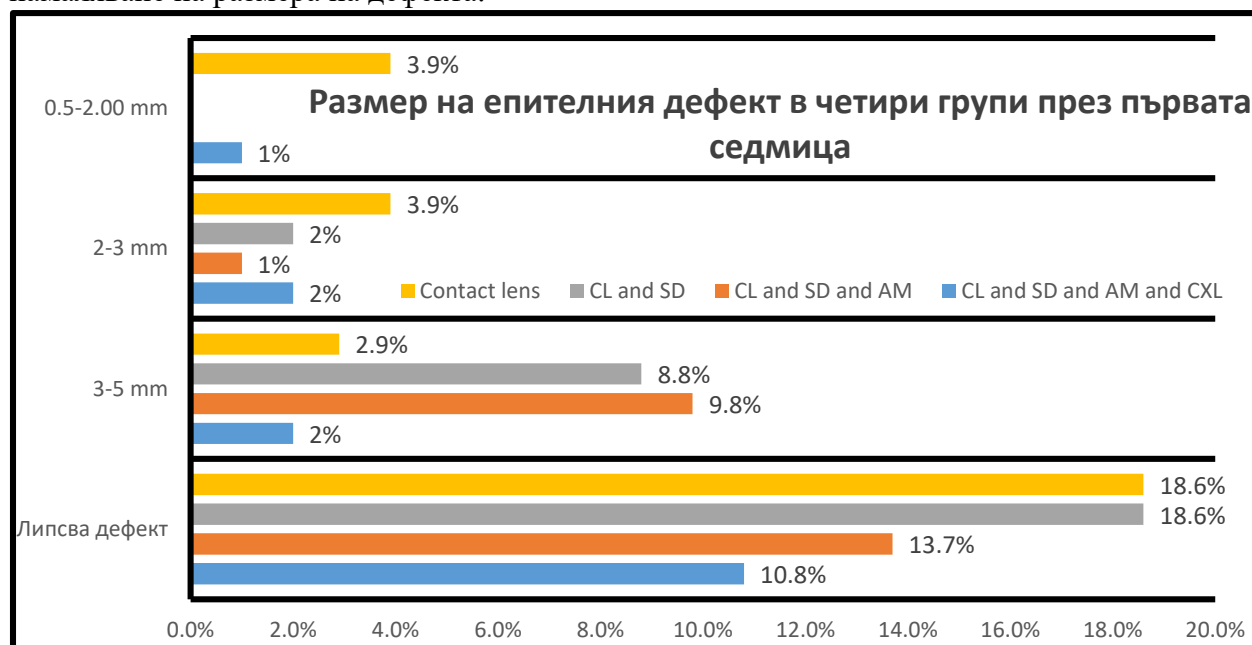


Фигура 28. Субективно усещане за чуждо тяло според вида на приложената терапия преди започване на лечение.



Фигура 29. Субективно усещане за чуждо тяло според вида на приложената терапия на първа седмица от лечението.

Размерът на епителния дефект е основният обективен признак, който проследихме при пациентите включени в настоящия дисертационен труд. На 1-ва седмица установихме липса на дефект при значителна част от пациентите от четирите групи, а при други наблюдавахме намаляване на размера на дефекта.



Фигура 30. Размер на епителния дефект в четири групи според вида на терапията 1 седмица след започване на лечение.

Резултатите от проведеното проучване показват положително повлияване на всички показатели.

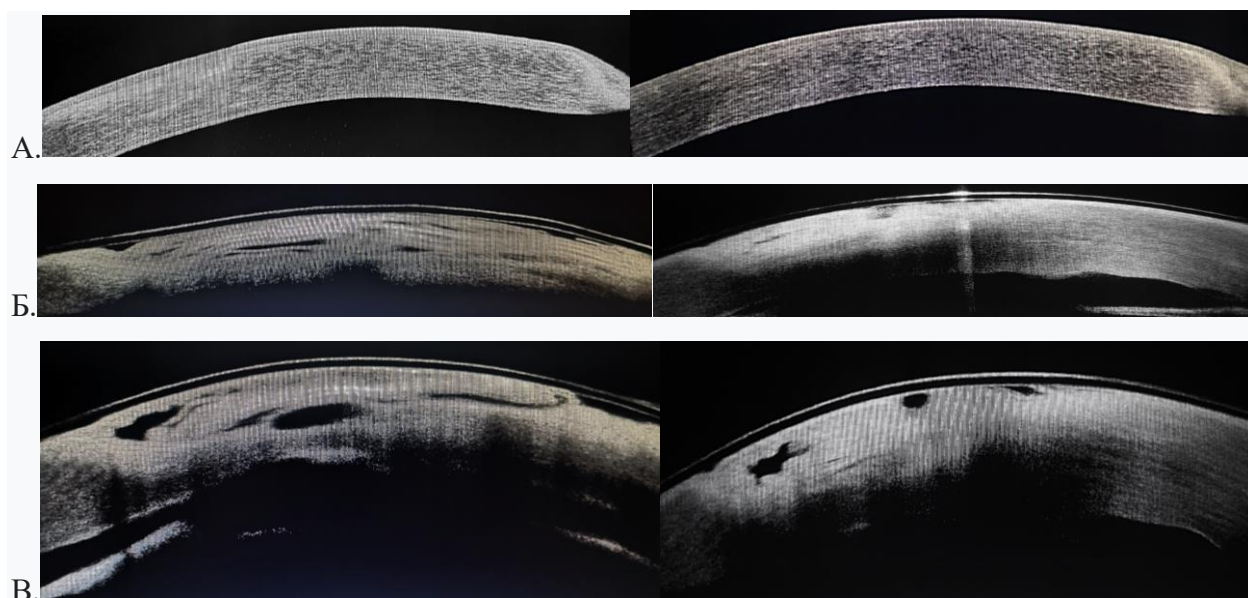
4.4 Оценка на данните, получени от проведените високоспециализирани изследвания

Данните от проведеното проучване са представени на Таблица 1.

Таблица 1. Етиологични характеристики на включените в проучването пациенти по етиология и находките, наблюдавани при AS-OCT сканиране.

Етиология	Брой пациенти	Характеристики, наблюдавани при провеждане на предносегментна оптична кохерентна томография
Постхерпетични персистиращи епителни дефекти	8	Лентиформена/вретеновидна хиперрефлексивна област в стромата, която може да бъде дифузна или локализирана
Травми и изгаряния Изгаряния Травми	23	Епителни були и непрозрачност на роговицата, Десцеметоцеле, възпаление на предната камера, с хипер- и хипорефлексивни стромални кисти, експанзивни отоци. Нарушение в най-горния хиперрефлексивен слой, продължаващ в дълбочина към стромата. Инфилтратът - хиперрефлексивна област с неясно дефинирани граници.
След витректомия	1	Нарушение в най-горния хиперрефлексивен слой.
Синдром на сухото око	10	Нарушение в най-горния хиперрефлексивен слой в нормалните области.
Чуждо тяло	17	Нарушение в най-горния хиперрефлексивен слой, който остава в повърхностната зона или продължава в дълбочина към стромата.
Булозна кератопатия	10	Повишена дебелина на роговицата в някои случаи, лека предна стромална непрозрачност и неравномерност.

Корнеална дистрофия Map-dot-fingerprint dystrophy Salzmann nodular degeneration	10	Мултиламинарни, линейни и криволинейни субепителни хиперрефлексивни линии. Нодулите се визуализират като интраепителна хиперрефлексивна област.
Кератит Dry eye keratitis Herpetic keratitis Filamentary keratitis	17	Интраепителна хиперрефлексивност, а не епителен дефект. Епителни неравности и дефекти. По време на проследяването язвите заздравяват чрез приближаване на краищата си. Интраепителна хиперрефлексивност временно замени язвата преди пълното ѝ възстановяване. Филаментите се появяват като линейни, силно хиперрефлексивни отлагания на повърхността на роговицата със засенчване отзад.
„Band“ кератопатия	1	Бележникави отлагания, съответстващи на интраепителни отлагания със силна хиперрефлексивност и засенчване отзад.
Ентропион	10	Нарушение в най-горния хиперрефлексивен слой на роговицата.
Болест на присадката срещу приемника/ Graft vs Host Disease(GvHD)	4	Оценка на интерфейса присадка-гостоприемник и страничната връзка; нарушения в най-горния хиперрефлексивен слой със или без засенчване.



Фигура 31. Резултати от извършената предно-сегментна оптична кохерентна томография на пациенти с ПЕД преди започване на лечение и 1 седмица след назначената терапия – (А) Терапевтична контактна леща в комбинация със серумни капки; (Б) Терапевтична контактна леща, серумни капки и амниотична мембрана; (В) CXL, AMT и АСК

При изследване на пациентите, включени в проучването, установихме следните резултати, представени на Таблица 2.

Таблица 2. Характеристики на включените пациенти в проучването по етиология и находките, наблюдавани при in vivo конфокална микроскопия.

Етиология	Брой пациенти	Характеристики, наблюдавани при провеждане на in vivo конфокална микроскопия
Постхерпетични персистиращи епителни дефекти	8	Увредени епителните клетки, частична вакуолна дегенерация. Липсва неоваскуларизация или възпалителни клетки в стромата; Няма увреждане на ендотелните клетки
Травми и изгаряния Изгаряния	23	Неправилни характеристики с хиперрефлексивна цитоплазма и хипорефлексивни ядра в епитела;

Травми		Малки хиперрефлексивни възпалителни клетки под повърхностния епител; трудно различима морфологията на стромалните клетки. Нарушение в най-горния хиперрефлексивен слой, продължаващ в дълбочина към стромата Кръгли, хиперрефлексивни ядра на епителните клетки; Възпаление в базалните клетки и мембраната на Bowman; Активирани кератоцити и хиперрефлексивна екстрацелуларна матрица.
След витректомия	1	Намалена клетъчна плътност, полимегатизъм и плеоморфизъм; капчици, прилепнали към ендотела. Хиперрефлексивни отлагания с различни форми в стромата.
Синдром на сухото око	10	Области с частична загуба на повърхостни епителни клетки. Възпалителни клетки - кръгли хиперрефлексивни тела със средна плътност на възпалителните клетки на конюнктивата 421 ± 436 клетки/mm².
Чуждо тяло	17	Базалният епител на роговицата изглежда нормален, липсва суббазален нервен плексус на роговицата, както и стромални нерви; Строма - силно отразяващи кератоцитни ядра и дезорганизирана архитектура. Наблюдава се силно рефлексивен материал около ядрата на кератоцитите.
Буозна кератопатия	10	Характерни изменения на ендотелните клетки с повишен полиморфизъм и плеомегатизъм; Открити са изобилни псевдоексфолиати, отложени върху ендотелните клетки на роговицата
Корнеална дистрофия Map-dot-fingerprint dystrophy Salzmann nodular degeneration	10	Отлагания в базалните епителни клетки, суббазални микрогънки и ивици, увредени суббазални нерви/ променена морфология на предната строма. Различно оформени (линейни, криволинейни, пръстеновидни, географски) силно рефлексивни депозити в основния епителен клетъчен слой; При лезии - множество линейни и криволинейни хипорефлексивни линии; Неправилна мрежа от силно отразяващи структури(кератоцити); Неструктурирани зони с повишена отразяваща способност, свързани с неправилно подредени колагенови влакна и хиалинови отлагания; Епителните клетки изглеждат атипично оформени и удължени.

Кератит		Инфилтрат - хиперрефлексивна област с неясно дефинирани граници.
Dry eye keratitis		Средната плътност на епителните клетки в централната роговица е по-ниска; Изтънена дебелината на периферния епител; Суббазални нерви – намалена плътността и неправилни модели на разклоняване.
Herpetic keratitis	17	Намалена средна плътност на суббазалния нервен плексус ($1,7 \pm 0,8 \text{ mm/mm}^2$); намалена средна плътност на ендотелни клетки ($2577 \pm 576 \text{ клетки/mm}^2$) присъстват хиперрефлексивни десквамиращи повърхностни епителни клетки
Filamentary keratitis		Наблюдават се язви, припокриващи се гъбични нишки в центъра на язвата; кисти във вериги и групи.
„Band“ кератопатия	1	Хиперрефлексивни зони в базалните епителни клетки; Отлагания и стромални микроточки.
Ентропион	10	Множество хипо- и хиперрефлексивни сферични лезии в предната строма на роговицата и слоя на Bowman с размер от $40 \pm 230 \text{ }\mu\text{m}$.
Болест на присадката срещу приемника/ Graft vs Host Disease(GvHD)	4	Намалена плътност на повърхностните епителни клетки – $102 \pm 606 \text{ клетки/mm}^2$; намалена плътност на криловидните клетки $983,2 \pm 4879,3 \text{ клетки/mm}^2$; Видими мрежи от активирани кератоцити се наблюдават в предната строма.

На таблица 3 е представена дебелината на лимбалния епител в четири квадранта според етиологията. Резултати показват, че съществена разлика в изследваните квадранти, сме наблюдавали при травмите, кератити, кератопатии, ентропион и чуждите тела. Най-малка дебелина на лимбалния епител сме измерили при пациентите с корнеални дистрофии, а най-голяма - при пациентите със сухо око.

Таблица 3. Анализ на дебелината на лимбалния епител в четири квадранта според етиологията на персистиращите епителни дефекти. Данни от извършена ин vivo конфокална микроскопия.

Етиология	Горен квадрант	Долен квадрант	Назален квадрант	Темпорален квадрант
Постхерпетични ПЕД (n=8)	65,7 ± 7,2	60,5 ± 7,2	53,4 ± 7,8	56,9 ± 7,8
Травми и изгаряния (n=23)	55,3 ± 6,5	58,1 ± 9,7	50,2 ± 6,8	51,7 ± 7,2
Травми				
Изгаряния	52,6 ± 6,3	52,8 ± 7,2	46,7 ± 8,1	47,9 ± 7,5
След витректомия (n=1)	57,3	56,6	51,9	54,5
Сухо око (n=10)	65,8 ± 5,5	65,2 ± 5,5	58,5 ± 4,8	58,0 ± 4,4
Чуждо тяло (n=17)	61,8 ± 5,8	63,3 ± 7,0	54,5 ± 3,0	55,2 ± 3,5
Булозна кератопатия (n=10)	49,5 ± 4,3	48,3 ± 4,5	46,7 ± 4,8	46,5 ± 4,2
Корнеални дистрофии (n=10)	56,00 ± 2,2	43,00 ± 3,1	53,00 ± 1,5	42,00 ± 2,3
Кератити (n=17)	57,3 ± 5,5	55,0 ± 6,7	50,9 ± 3,9	52,3 ± 4,5
Band кератопатия (n=1)	49,2	48,3	47,7	45,5
Ентропион (n=10)	63,9 ± 2,9	57,1 ± 2,8	49,5 ± 3,3	49,6 ± 3,8
GVHD (n=4)	58,5 ± 9,0	61,8 ± 8,7	56,5 ± 9,2	57,8 ± 8,6

На таблица 4 са представени средната плътност на дългите нерви и на суббазалния нервен плексус според етиологията на ПЕД. Резултатите показват, че с най-ниска плътност на дългите нерви са пациентите с булозна кератопатия, кератит и GVHD. Най-ниска плътност на суббазален нервен плексус сме отчели сред пациентите с чуждо тяло, булозна кератопатия и GVHD. Най-голяма плътност на двата показатели отчитаме сред пациентите с корнеални дистрофии.

Таблица 4. Плътност на дългите нерви и суббазален нервен плексус според етиологията. Данни от извършена ин vivo конфокална микроскопия.

Етиология	Плътност на дълги нерви	Плътност на суббазален нервен плексус
Постхерпетични ПЕД (n=8)	11,79 ± 9,87	35,60 ± 17,80
Травми и изгаряния (n=23)		
Травми	11,73 ± 9,54	40,21 ± 19,78
Изгаряния	7,96 ± 9,33	32,98 ± 20,32
След витректомия (n=1)	6,57	39,87
Сухо око (n=10)	14,70 ± 12,56	50,13 ± 19,78
Чуждо тяло (n=17)	61,8 ± 5,8	28,54 ± 16,98
Булозна кератопатия (n=10)	3,56 ± 4,21	21,90 ± 10,01
Корнеални дистрофии (n=10)	19,10 ± 10,32	55,12 ± 12,32
Кератити (n=17)	3,45 ± 7,45	28,67 ± 18,97
Band кератопатия (n=1)	4,78	28,17
Ентропион (n=10)	13,01 ± 5,95	29,56 ± 22,73
GVDH (n=4)	3,03 ± 1,11	26,45 ± 2,35

V. ДИСКУСИЯ

Персистиращите епителни дефекти (PED) са епителни дефекти на роговицата, които не успяват да се възстановят до 2 седмици. Това е състояние, което носи голяма заболяемост и става все по-разпространено, са необходими повече усилия за установяване на надеждни методи на лечение (5). Въпреки наличието на множество терапии, лечението на заболяванията на ПОП може да бъде голямо предизвикателство, а резултатът - незадоволителен. Целта на настоящия дисертационен труд е да се оцени ефективността на различните видове терапевтични подходи при пациенти с нарушена предна очна повърхност, да се отдели внимание на правилния подбор при избор на терапевтичен подход и да се предложи улеснена карта за снемане на анамнеза на пациентите с ПЕД, както за субективни, така и обективни признаци. Поставената цел е основна движеща сила при поставените задачи, чиито резултати доказват нуждата от провеждане на настоящото проучване и ни ориентират за правилната посока в бъдещето.

Проучването на литературата демонстрира, че като *in vivo* изследване на роговицата slit-lamp биомикроскопията е незаменим инструмент в офталмологичния кабинет. В комбинация с използването на различни багрила, като флуоресцеин и лизаминово зелено, тя може да помогне за оценка на общото здраве и интегритет на ПОП. Въпреки това, основният и недостатък е малкото увеличение, само до 40x или 100x, което не позволява визуализация и изследване на клетъчната архитектура на роговицата и на суббазалния нервен плексус. При провеждане на настоящото проучване е извършена биомикроскопия на всички изследвани пациенти с помощта на биомикроскоп (Carl Zeiss, Meditec AG) за оценка на предна очна повърхност и структурите ѝ, визуализиране на дефекта, измерване на размера, дълбочината и местоположението му. С нарастващия интерес към неинвазивните техники с голяма разделителна способност за изучаване на физиологията на корнеалната тъкан, изобретяването и прилагането на IVKM дава възможност на офталмолозите за изследване на роговицата на клетъчно ниво. Като бърза и неинвазивна техника IVKM има много предимства и може да предостави изображения почти сравними с *in vitro* хистохимичните методи. През годините IVKM се утвърждава като полезен инструмент за оценка на клетъчната архитектура и морфология на нервните влакна, както

при здрави индивиди, така и при редица очни заболявания, като синдром на сухото око, невротрофична кератопатия, кератити и др. Ние използвахме HRTII-RCM за изследване на нашите пациенти с ПЕД и установихме данните, представени на Таблицы 2, 3 и 4. OCT с висока разделителна способност е полезен инструмент за визуализиране на структурите на роговицата. AS-OCT позволява морфологична диференциация на различни дистрофии, подобрена оценка на структурните промени и помага да се оцени дълбочината на стромалната инфилтрация, дебелината на роговицата и голяма част от характеристики на язвата. За извършването на AS-OCT беше използван Фурие-домейн оптичен кохерентен томограф (Cirrus HD-OCT 5000, Carl Zeiss Meditec, Inc.) при проведеното проучване, а резултатите от него са представени на Таблица 1.

Употребата на автоложни серумни капки за очи като лечение на тежки нарушения на очната повърхност е все по-честа в клиничната практика (6). Серумните капки могат да бъдат произведени без консерванти, като биват неалергични и техните биомеханични и биохимични свойства са подобни на нормалните слъзи (6). Въпреки това, протоколите за приготвяне и употреба на автоложни серумни капки варират значително между проучванията. Тъй като това може да доведе до различни биохимични свойства, вариациите на протокола могат също да повлияят на епителотрофния ефект на продукта. Биологичната терапия - серумни капки е крачка към персонализираната офталмология и алтернативен подход при лечение на пациенти, страдащи от заболявания на ПОП. Серумните капки възстановяват баланса, стимулират реепителизацията и подкрепят здравето и хомеостазата на предната очна повърхност. Други кръвни продукти като: алогенен серум, серум от кръв от пъпна връв (UCB) и плазма богата на тромбоцити (PRP) също могат да се използват при лечение на пациенти с ПЕД, които не се повлияват от приложената конвенционална терапия. Публикуваните в научната литература резултати са обнадеждаващи (7) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17). Въпреки това възникването на правни проблеми при изготвянето на тези продукти значително ограничават тяхната употреба, както в нашата страна, така и в световен мащаб. През последните години в научната литература се съобщава за нова стратегия за лечение на PED: комбинация от ТКЛ и ASE. Редица научни публикации доказват, че комбинирането на епителотрофичния ефект на ASE и механичния

протективен ефект на ТКЛ води до положителен синергичен ефект върху процеса на възстановяване на корнеалния епител. В случаите, когато консервативните методи на лечение (интензивна овлажняваща терапия, оклузия на слъзните пункти, поставяне на ТКЛ и ASE) на заболявания на ПОП, в частност PED, са неефективни, трансплантацията на АМ е бърз и ефективен метод, насърчаващ процеса на епителизация. При лечение на заболявания на ПОП, АМ може да се приложи в три различни форми. В случаите на чисти корнеални епителни дефекти АМ се поставя под формата на “patch” и действа като биологична КЛ (18). Обикновено тя се пришива към очната повърхност с 10-0 nylon, а върху нея се поставя ТКЛ (18). В случаите на корнеална улцерация се използва „graft” техника, при която един от няколко слоя АМ се поставят в язвата, а най-повърхностният слой се пришива (18). При тежки дефекти на ПОП двата подхода се комбинират, това е така наречената „sandwich” техника (18). АМЕЕД до днес са били използвани при лечение на пациенти със „сух синдром“, ПЕД, химически изгаряния, парциален LSCD, цикатрициални заболявания на очната повърхност, булозна кератопатия и корнеална язва с докладван положителен резултат (19) (20) (21). Установено е, че те имат същите качества като криосъхранената АМ, с висока концентрация на трофични фактори. В научната литература липсват проучвания сравняващи АМЕЕД и серумните капки. До днес няма стандартизиран протокол за тяхното производство. Антимикробният ефект на фотоактивиране на рибофлавин е изследван за потенциално приложение при инфекциозни заболявания в офталмологията (22). Използването на RACK-CXL може да има изключителни ползи при лечение на пациенти с инфекциозен кератит, дори без необходимост от прилагане на АБ (23) (24). Тъй като резистентността към АБ нараства през последните години, ще са необходими нови методи на лечение и в тази връзка RACK-CXL е надеждна алтернатива за пациентите в бъдеще.

Данните от литературата показват разлики в етиологията на ПЕД, вероятно поради особености на географските райони, достъп до здравни грижи, полов признак, страни от развития или развиващия се свят. По отношение на подлежащата етиология, водеща причина за ПЕД сред пациентите преминали през УСБОБАЛ-Варна са травмите и изгарянията, следвани от възпалителните заболявания на роговицата и попадането на чуждо

тяло. По-малък е дялът на пациентите с булозна кератопатия, корнеална дистрофия и постхерпетична невропатия. Ние установихме, че при мъжкия пол водеща причина за възникване на ПЕД са наличие на чуждо тяло в роговицата и кератит, следвани от травми и изгаряния. При женския пол водещ етиологичен фактор са травмите и изгарянията, следвани от роговичните дистрофии.

В нашата извадка 58.8% от пациентите бяха подложени на консервативно лечение, а при останалите 41.2% бе извършена оперативна интервенция. Терапевтичният подход при всички пациенти бе отстраняване на рисковите фактори, които са довели до развитие на ПЕД, намаляване на механичния стрес породен от мигателните движения чрез поставяне на ТКЛ и оптимизиране на слъзния филм с помощта на овлажняващи капки без консервант при 24.9% от пациентите, в комбинация с ASE при останалите 29.4%. В групата подложена на инвазивно лечение при 24.5% от пациентите бе извършена трансплантация на АМ, след което бе поставена ТКЛ и назначена терапия с ASE, а при 16.7% първоначално бе извършен РАСК-CXL. Познавайки се на данните от научната литература в настоящото клинично проучване ние решихме да използваме 20% ASE разпределени в монодозы по 1мл при 3 от 4 групи наблюдавани от нас пациенти. От пациентите, 14.7% са имали ПЕД с размер между 3-5 мм преди започване на терапия. На 1-ва седмица при 8.8% от тях наблюдавахме пълно възстановяване на епителния дефект, а на 1-ви месец резултатите са още по-впечатляващи - при 14.7% се установи липса на епителен дефект. Още на първа седмица след започване на лечение при 61.80% от всички четири групи пациенти, липсваше епителен дефект. Резултатите бяха още по-впечатляващи на 1-вия месец, като при 84.30% наблюдавахме пълно възстановяване на роговичния интегритет. Получените резултати подкрепят данните от проведените проучвания, налични в литературата. От обективните показатели, които проследихме в нашата извадка от пациенти с ПЕД е и степента на инекция. Преди започване на лечение преобладават пациентите с цилиарна инекция в 2-3 квадранта (51.0%), следвани от тези с инекция по цялата циркумференция (33.3%). Значително подобрене на този обективен показател установихме още на 1-ва седмица, като при 36.3% от пациентите инекция липсва. Впечатление прави увеличаване на броя пациенти с конюктивална инекция - 35.3%, което се дължи на наличието на конюктивален шев при тези, при които е поставена

АМ. Тридесет дни от назначената терапия, при 81.4% от нашите пациенти липсва инекция. Зрителната остро́та е друг обективен показател, който изследвахме и проследихме в настоящия дисертационен труд. Резултатите показват значително подобрене на нейните стойности при всички групи пациенти. Най-добри резултати бяха отчетени при пациентите с наличие на чуждо тяло в роговицата, с възпалителни заболявания (кератити), включително и при тези с постхерпетични ПЕД. По-слабо повлияване наблюдавахме при пациентите с GVHD и тези с булозна кератопатия. Добри резултати отчетохме и при пациентите с травми и изгаряния. По-голяма част от включените в настоящия дисертационен труд пациенти бяха с умерена степен на изгаряне, което обяснява и добрите резултати наблюдавани в тази група. Получените резултати ясно демонстрират положителния ефект на приложеното лечение (консервативно и оперативно/инвазивно) върху правилното възстановяване на ПОП, както и че персонализираният подход и индивидуалният терапевтичен план играят ключова роля за успешното повлияване, както на субективната симптоматика, така и на обективните признаци.

Голяма част от пациентите със заболявания на ПОП имат влошено качество на живот. Болката, дискомфортът, усещането за чуждо тяло и пясък са симптоми, които ограничават ежедневието и намаляват работоспособността на пациентите с ПЕД, което води до значителни социално-икономически загуби (25). Понякога симптоматиката е силно изразена, не се повлиява от приложената ковенционална терапия и значително нарушава качеството на живот на пациентите (26). В научната литература има множество данни доказващи положителния ефект на ASE върху процеса на епителизация, но за съжаление има малко данни относно начина на повлияване на субективната симптоматика от приложението на ASE при пациенти с ПЕД. В настоящия дисертационен труд ние проследихме и оценихме начина на повлияване на субективните симптоми (болка, зачервяване и усещане за чуждо тяло) при пациенти с ПЕД, подложени на различни схеми на лечение. При 100% от включените в настоящия дисертационен труд пациенти бе поставена ТКЛ, което доведе до значително редуциране на болковия синдром и подобряване на комфорта. По отношение на болковата симптоматика, в нашата извадка пациенти, установихме значително редуциране на болката още на първата седмица от

назначеното лечение, като при 63.70% от наблюдаваните пациенти болка липсва, а при 17.60% е налице лека болка. На първия месец след започване на терапия резултатите са още по-впечатляващи, като при 88.0% от пациентите болка липсва, само при 3.0% е изразена, а едва при 1.0% симптоматиката е тежка. От наблюдаваните от нас пациенти, 92.2% изпитват болка преди започване на съответната терапия. Поставянето на ТКЛ значително редуцира болковия синдром и подобрява очния комфорт. В научната литература има множество данни подкрепящи получените от нас резултати. При наблюдаваните от нас пациенти не бяха установени усложнения свързани с носенето на КЛ. Зачервяването е друг субективен показател, който от козметична гледна точка, притеснява пациентите и техните близки. Преди започване на терапия, при 42.20% от наблюдаваните от нас пациенти бе установено изразено зачервяване, а при 17.60% - тежко. Значително подобрение установихме още на първа седмица, като при 50.0% от пациентите липсваше зачервяване, а при 35,30% зачервяването беше леко. Едва при 2.0% от наблюдаваните пациенти установихме тежко зачервяване. Резултатите са още по-добри 1 месец от терапията, като при 83.30% от пациентите липсва зачервяване, а леко зачервяване установихме при 6.90%. Въпреки приложената терапия, при 8.80% от пациентите отчетохме умерено зачервяване, а при 1.0% - изразено. Усещането за чуждо тяло е третият субективен симптом, който проследихме сред нашите пациенти с ПЕД. Преди започване на лечение изразено усещане за чуждо тяло установихме при 43.1% от тях, а тежко - при 27.5%. Този субективен симптом значително нарушава очния комфорт, стимулира пациента да търка своите клепачи, което от своя страна поражда допълнителен механичен стрес (травма) върху компроментираната ПОП. Това води до задълбочаване на проблема и влошаване на процесите на възстановяване на епителния дефект. Значително намаляване на усещането за чуждо тяло установихме през 1-ва седмица, като при 65.70% то липсва, а при 18.0% е налице лека симптоматика. Едва при 1.0% от наблюдаваните от нас пациенти персистираще тежко изразено усещане за чуждо тяло.

На база на проведеното проучване, резултатите показват, че въпреки съществуването на различни терапевтични подходи, лечението изисква както справяне с основното причинно състояние, така и с подлежащата субективна симптоматика. Сложният цикъл от обстоен

преглед, поставяне на етиологична диагноза, лечение и проследяване включва редица лечебни структури, кабинети, апаратура, звена и кадри. С цел оптимизиране на терапевтичния подход, ние създадохме карта за оценка на субективните и обективните признаци на пациентите с персистиращи епителни дефекти.

Ocular Surface Disease Index (OSDI)

Задайте на пациента следните 12 въпроса и оградете числото в полето, което най-добре представя всеки отговор. След това попълнете полета A, B, C, D и E според инструкциите до всяко.

ПРЕЖИВЯЛИ ЛИ СТЕ НЯКОЕ ОТ СЛЕДНИТЕ ТВЪРДЕНИЯ ПРЕЗ ПОСЛЕДНАТА СЕДМИЦА:

	През цялото време	През повечето време	Половината от времето	Част от времето	Нито един път
1. Повишена чувствителност към светлина?	4	3	2	1	0
2. Чувство за пясък в очите?	4	3	2	1	0
3. Болезнени или възпалени очи?	4	3	2	1	0
4. Замъглено зрение?	4	3	2	1	0
5. Намалено/влошено зрение?	4	3	2	1	0

Междинен сбор за отговори от 1 до 5 (A)

ПРОБЛЕМИТЕ, КОИТО ИМАТЕ С ОЧИТЕ ОГРАНИЧИХА ЛИ ВИ В ИЗПЪЛНЕНИЕТО НА НЯКОЕ ОТ СЛЕДНИТЕ ПРЕЗ ПОСЛЕДНАТА СЕДМИЦА:

	През цялото време	През повечето време	Половината от времето	Част от времето	Нито един път	
6. Четене?	4	3	2	1	0	N/A
7. Шофиране вечер?	4	3	2	1	0	N/A
8. Докато използвате компютър или работите с банкомат?	4	3	2	1	0	N/A
9. Гледане на телевизия?	4	3	2	1	0	N/A

Междинен сбор за отговори от 6 до 9 (B)

ЧУВСТВАЛИ ЛИ СТЕ ДИСКОМФОРТ В ОЧИТЕ В НЯКОЯ ОТ СЛЕДНИТЕ СИТУАЦИИ ПРЕЗ ПОСЛЕДНАТА СЕДМИЦА:

	През цялото време	През повечето време	Половината от времето	Част от времето	Нито един път	
10. При ветровити условия?	4	3	2	1	0	N/A
11. На места с ниска влажност /много сухи/?	4	3	2	1	0	N/A
12. На места с климатик?	4	3	2	1	0	N/A

Междинен сбор за отговори от 10 до 12 (C)

ДОБАВЕТЕ МЕЖДИННИТЕ СБОРОВЕ A, B И C, ЗА ДА ПОЛУЧИТЕ D (D = СУМА ОТ ОТГОВОРИТЕ НА ВСИЧКИ ОТГОВОРЕНИ ВЪПРОСИ) (D)

ОБЩ БРОЙ ОТГОВОРЕНИ ВЪПРОСИ (НЕ ВКЛЮЧВАЙТЕ ОТГОВОРЕНИ ВЪПРОСИ N/A) (E)

КАРТА НА ПАЦИЕНТА

1. Име, презиме, фамилия					
2. Пол					
3. Местоживеене					
4. Възраст					
5. Кратка анамнеза					
6. Диагноза					
7. Проведено лечение					
8. Зрителна острота					
- Преди започване на лечение	VOD=	VOS=			
- 1 седмица след започване на лечението	VOD=	VOS=			
- 2 седмици след начало на лечението	VOD=	VOS=			
- 30 дни след начало на лечението	VOD=	VOS=			
9. Болка	Липсва Лека Умерена Тежка				
- Преди започване на лечение	ДО-ЛО-				
- 1 седмица след започване на лечението	ДО-ЛО-				
- 2 седмици след начало на лечението	ДО-ЛО-				
- 30 дни след начало на лечението	ДО-ЛО-				
10. Зачервяване	Липсва Леко Умерено Тежко				
- Преди започване на лечение	ДО-ЛО-				
- 1 седмица след започване на лечението	ДО-ЛО-				
- 2 седмици след начало на лечението	ДО-ЛО-				
- 30 дни след начало на лечението	ДО-ЛО-				
11. Усещане за чуждо тяло	Липсва Леко Умерено Тежко				
- Преди започване на лечение	ДО-ЛО-				
- 1 седмица след започване на лечението	ДО-ЛО-				
- 2 седмици след начало на лечението	ДО-ЛО-				
- 30 дни след начало на лечението	ДО-ЛО-				

БЕЛЕЖКИ

12. Инекция		Липсва	Лека	Умерена	Тежка
- Преди започване на лечение	ДО-ЛО-				
- 1 седмица след започване на лечението	ДО-ЛО-				
- 2 седмици след начало на лечението	ДО-ЛО-				
- 30 дни след начало на лечението	ДО-ЛО-				
13. Хиперемия		Липсва	Лека	Умерена	Тежка
- Преди започване на лечение	ДО-ЛО-				
- 1 седмица след започване на лечението	ДО-ЛО-				
- 2 седмици след начало на лечението	ДО-ЛО-				
- 30 дни след начало на лечението	ДО-ЛО-				
14. Размер на епителния дефект		Липсва дефект	0.5-2.00мм	2.00-3.00мм	3.00-5.00мм
- Преди започване на лечение	ДО-ЛО-				
- 1 седмица след започване на лечението	ДО-ЛО-				
- 2 седмици след начало на лечението	ДО-ЛО-				
- 30 дни след начало на лечението	ДО-ЛО-				
15. Биомикроскопия					
- Преди започване на лечение					
- 1 седмица след започване на лечението					
- 2 седмици след начало на лечението					
- 30 дни след начало на лечението					
16. Предно-сегментна оптична кохерентна томография					
- Преди започване на лечение					
- 1 седмица след започване на лечението					
- 2 седмици след начало на лечението					
- 30 дни след начало на лечението					
17. Ин виво конфокална биомикроскопия					
- Преди започване на лечение					
- 1 седмица след започване на лечението					
- 2 седмици след начало на лечението					
- 30 дни след начало на лечението					

Сред новите направления в терапевтичните подходи за лечение на ПЕД е трансплантацията на култивирани епителни клетки. Най-често срещаната техника, наречена култивирана лимбална епителна трансплантация (CLET), включва експанзия на епителните клетки от лимбалните експланти върху човешка амниотична мембрана (27). Резултатите след извършване на CLET са изключително добри, като пациентите показват значително подобрене на състоянието на техните роговици в следващите 1-2 г (27). Друг метод с обнадеждаващи резултати е култивираната орално-мукозна епителна трансплантация (COMET) (28). Клетките на устната лигавица са подходящи, защото са относително недиференцирани и не кератинизират бързо, което ги прави сравнително лесни за култивиране (28). Освен това те експресират маркери за диференциация като протеина К3, който е индикатор за корнеална епителна диференциация (28). В клинични проучвания включващи пациенти с LSCD в резултат на химическо изгаряне, COMET има успех в 75.0% от случаите (28). Принципите на мултипотентна диференциация на стволови клетки могат да бъдат използвани при лечение на пациенти с ПЕД (19). Регенеративната терапия включва мезенхимни стволови клетки (MSCs), често получени от костен мозък. Стволови клетки получени от пъпна връв са друга алтернатива за лечение на ПЕД (28). Друга терапевтична опция стимулираща възстановяването на тежки, неповлияващи се на терапия ПЕД е изкуствена решетка създадена с помощта на тъканно инженерство, която може да бъде поставена директно в самия дефект. Група изследователи са създали стромален роговичен еквивалент с помощта на (SMILE)-derived lenticules в комбинация с фибриново лепило. Като се има въпредвид, че SMILE става все по-популярен и атрактивен за лечение на миопия в наше време, се очаква лентикулите да стават все по-достъпни. Остава неясно дали тази стратегия ще бъде ефективна при реципиент със значително роговично възпаление, а не само механична протекция при епителни и стромални дефекти. Протеогликаните на ЕСМ имат важна роля в процеса на възстановяване на роговичния интегритет. При ПЕД и корнеални травми, тяхното ниво е абнормално и това води до забавяне на реепителизацията. Това е довело до идеята за включването им в терапията на ПЕД, с цел подобряване на ЕСТ и насърчаване на клетъчната миграция и адхезия. Витронектинът (VN) е един от основните протеини стимулиращ клетъчната адхезия, който присъства в ЕСТ (29).

Установено е, че поставянето на VN върху механично или химически наранени заешки очи ускорява епителизацията (29). Научната база данни показва обнадеждаващи проучвания и редица клинични изследвания, работещи в насока оптимизиране на терапевтичния подход и осигуряване на безвреден, безопасен и ефикасен лечебен процес за пациентите.

Напредъкът на технологиите и развитието на системите с изкуствен интелект се наблюдава и в сферите на офталмологията, в частност разглеждаме приложението им в сферата на патологичните състояния, характеризиращи се с персистиращи епителни дефекти. В сравнение с изображенията, получени от фундус камерите и оптичната кохерентна томография, които са популярен избор в изследванията на изкуствения интелект (AI) през последното десетилетие, по-малко унифицираната модалност на изображенията от биомикроскоп ограничава приложението му в модели на AI (30). В проучване от Weinjia и сътрудници, EyeHealer е създаден като широкомащабен набор данни от сегментиране на очни лезии (31). Проведеното проучване установява необходимостта от по-нататъшно развитие в областта на невронните мрежи, приложението на обучение на изображения със син филтър, и на по-тясно поле на биомикроскопа, но поставя начало на възможност за разработване на мобилни приложения за диагностика, препоръки и предложения за лечение (31). Съгласно разнообразните приложения на AI при диагностициране на заболявания на ПОП, AI е показал значителни предимства чрез анализ на данни и изображения (31). Въпреки това, много проучвания за прилагането на AI за диагностика на заболявания на очната повърхност и задоволителните резултати от тях, те все още имат множество ограничения и предизвикателства (31). AI може да класифицира изображения в различни типове според характеристиките на заболяването, като класификация и стадий. Освен това AI може също да открие и сегментира анатомичната структура в изображението, като формата на лезията, за да реализира автоматичното квантуване на биомаркери на изображението и да извърши спомагателна диагностика. Следователно, въз основа на тези предимства, приложението на AI технологията в клиничната диагностика и лечение предлага безкраен потенциал и значителни перспективи. С непрекъснатия напредък на науката и технологиите, текущите подобрения в AI и установяването и подобряването на съответните правни системи, AI ще се прилага по-добре за клиничната диагностика и

лечение в офталмологията, особено в икономически затруднени области и такива, които нямат медицински ресурси в близко бъдеще. Освен това, ако клиничната диагноза и курсът на лечение могат да бъдат изцяло установени чрез AI, работният стрес на клиничния медицински персонал ще бъде значително намален и тяхната работна ефективност ще се подобри, което ще им позволи да извършват най-адекватна и пълна диагностика и да предлагат най-добрия план за лечение на пациентите. Пълното прилагане на AI ще доведе до фундаментални промени в клиничните офталмологични диагностика и лечение.

ИЗВОДИ

1. Очните заболявания, водещи до персистиращи епителни дефекти, изискват извършването на прецизна диагностика и избор на подходящ, индивидуален терапевтичен подход. Съвременната медицина предлага различни алтернативи в тази област.
2. В съвременната литература има ограничени данни относно проучвания, изследващи зрителната острота на пациенти с персистиращи епителни дефекти, а проучвания за оценка на субективната симптоматика липсват.
3. Извършеният анализ на литературата показва липса на единност при протоколите за приготвяне и употреба на автоложни серумни капки. Преди окончателната роля на серумните капки при лечение на патологии на предна очна повърхност да може да бъде установена в голямо рандомизирано контролирано проучване, това трябва да бъде оценено по-подробно.
4. В световен мащаб не се откриват данни за единна карта за снемане на анамнеза на субективната и обективната симптоматика на пациенти, страдащи от заболявания, свързани с персистиращи епителни дефекти.
5. При проведеното проучване и направената оценка на етиологията на заболяванията характеризиращи се с персистиращи епителни дефекти установихме, че с най-голяма честота са пациентите с очни патологии като състояния след механична или химическа травма, следвани от тези с чуждо тяло и кератити.
6. Извършеният анализ на роговичните структури, посредством високоспециализираните изследване, доказва че резултатите от нашето проучване не се различават съществено от тези на другите автори, като находките при извършване на предно-сегментна оптична кохерентна томография и *in vivo* конфокална микроскопия преди започване на терапия са идентични.
7. Анализът на проведените терапевтични подходи показва, че индивидуалният подход при лечение на пациенти с ПЕД, с изявена субективна и клинична симптоматика, води до значително по-бързо време на възстановяване и положителни клинични резултати.

Правилният метод за лечение показва липса на рецидиви и пълна епителизация при нашите пациенти.

8. Оценката на субективната симптоматика при пациентите с персистиращи епителни дефекти показва, че в най-голяма степен влияние върху зрителната функция и качеството на живот оказва болката, следвана от усещането за чуждо тяло, които след провеждането на лечението с индивидуален подход, намаляват значително, като симптоматиката е останала само при 1% от участниците.

9. Резултатите от проведеното проучване показват значително подобрение на зрителната острота при всички групи пациенти като най-добри резултати бяха отчетени при пациентите с наличие на чуждо тяло в роговицата. Голяма част от включените в настоящия дисертационен труд пациенти бяха с умерена степен на изгаряне, което обяснява и добрите резултати наблюдавани в тази група

10. Данните от проведеното лечение по отношение на етиологията затвърждават ефикасността на крослинкинга при пациенти с корнеални инфилтрати поради бактерицидното си действие.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушенията на предната очна повърхност могат да повлияят негативно на качеството на живот, като причиняват болка, дразнене, зачервяване и намалено зрение. Чести причинители на персистиращи епителни дефекти се явяват няколко състояния, сред които синдром на сухото око, травми и изгаряния, синдром на Sjögren, кератити и кератопатии, роговични дегенерации и дистрофии, болест на присадката сред у реципиента и дефицит на лимбални стволови клетки. Видът на нарушението на очната повърхност, а също и тежестта определят режима на лечение. ПЕД се диагностицират по вида им и снетата анамнеза – невъзможността на епителната адхезия е отговорна за характерните находки, сред които повърхностна язва, неприлепнала епителна граница, с или без засягане на стромата и подлежащи структури. Находките, характерни за ПЕД могат да бъдат установени чрез наблюдение на биомикроскоп или високоспециализирани изследвания – IVKM за детайлно клетъчно изследване на морфологичните промени и AS-OCT за полезно, бързо и безконтактно визуализиране на роговичните дефекти и проследяване на отговора към лечението. Бързото развитие на изкуствения интелект, концепции за дълбоко машинно обучение, преносими устройства за количествен анализ води до нови обещаващи методи за реализиране в персонализираната офталмология. Възможностите за лечение могат да включват изкуствени слъзи, лубрициращи гелове, витамини, автоложни серумни капки, терапевтични контактни лещи и различни хирургични методи. Използването на автоложни серумни капки като метод за лечение на сухота в очите и нарушения на предната очна повърхност е застъпено в практиката, поради съдържанието им на растежни фактори, насърчаващи заздравяването на епитела и уникалните им състав и антибактериални и противовъзпалителни свойства. Продължителността на употреба е не повече от няколко седмици поради логистични причини, а приготвянето им и дозирането изискват специални съоръжения за поддържане на стерилност и специално оборудване. Те водят до значително по-бързо подобрене на признаците и симптомите и не съдържат консерванти. Хомоложен серум, серум от кръв от пъпна връв и автоложен серум от кръв от пръста са алтернативни възможности за лечение. Трансплантацията на амниотична мембрана може да се приеме за алтернативен метод за лечение на персистиращи епителни дефекти и стерилни язви, които

са неподатливи на конвенционално лечение, тъй като дебелият базален мембран и аваскуларна стромална матрица насърчават заздравяването на епитела (32). Тя е доказана като безопасен и ефективен метод за лечение на ПЕД. В заключение, перспективите на персонализираната офталмология изглеждат обещаващи. Напредъкът в новите технологии за подобряване на молекулярната диагностика, изследванията за разработване на нови терапии, свежите подходи към вече познати патологии, AI софтуерите за телемедицина и скрининг и системите за споделяне на данни придават на индивидуалната офталмология потенциала да революционизира специалността такава, каквато я познаваме.

ПРИНОСИ

Приноси с познавателен характер

1. Направен е подробен обзор на научната литература за анатомията, етиологията, механизмите на възникване, методите за диагностика и лечение и възможностите, които съвременната медицина предоставя и разработва за пациенти с персистиращи епителни дефекти.
2. Направен е обстоен анализ на научни данни относно системите с изкуствен интелект, напредъка в новите технологии, AI софтуерите за телемедицина и скрининг и системите за споделяне на данни, които предоставят множество възможности с диагностична, информативна и терапевтична цел.

Приноси с научно-приложен характер

1. Направен е анализ на субективните и обективните признаци на пациенти с персистиращи епителни дефекти и отговора към назначената терапия, преминали лечение в УСБОБАЛ-Варна.
2. Извършен е анализ на етиологията, субективната симптоматика и зрителната острота, както и микроструктурен анализ на роговичните изменения чрез съвременни методи за диагностика преди и след проведеното лечение.
3. Въз основа на задълбочения анализ на проведените терапевтични подходи се установи, че индивидуалният подход при лечение на пациенти с персистиращи епителни дефекти е от съществено значение за възстановяването на зрителната им функция и подобряване качеството им на живот.
4. Изготвена е карта за оценка на субективни и обективни признаци на пациенти с персистиращи епителни дефекти. Нейното приложение в проведеното проучване съкрати времето за събиране на данни и предостави възможност за оценка на няколко клинични фактори.

Приноси с практически характер

1. За първи път у нас е направен подробен анализ и оценка на етиологията, методите за лечение и диагностика на пациенти с персистиращи епителни дефекти.
2. Установени са предимствата на лечението чрез биологична терапия и индивидуален подход към пациента като по-надежден метод за лечение на пациенти с персистиращи епителни дефекти от конвенционалните овлажняващи средства.
3. При хирургично лечение на рефрактерни случаи, трансплантацията на амниотична мембрана е икономически изгодна и лесно достъпна алтернатива на съвременната офталмология за лечение на пациенти с персистиращи епителни дефекти.

ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Nikolova, N., & Grupcheva, C. (2022). Serum drops—the last resort for topical treatment after refractive surgery and laser in situ keratomileusis-induced neuropathic epitheliopathy (LINE). *Scripta Scientifica Medica*, 54(2), 25-29.
2. Nikolova-Petkova, N., & Hristova, E. (2021). Modern approaches in the biological therapy of the anterior ocular surface. *Journal of the Union of Scientists-Varna. Medicine and Ecology Series*, 26(1), 10-14.

РЕЗЮМЕ

Цел

Основната цел на настоящия дисертационен труд е да се извърши подробен анализ на широк спектър очни заболявания, характеризиращи се с персистиращи епителни дефекти и да се направи оценка на клиничната ефективност от приложените терапевтични подходи.

Материали и методи

Настоящото проучване е проведено в Катедра по очни болести и зрителни науки на Медицински университет – Варна на територията на Университетска специализана болница по очни болести за активно лечение УСБОБАЛ – Варна за период от 4 години - от 01.12.2017 г. до 01.12.2021 г. В проучването са включени общо 102 пациенти, лекувани в болнична и доболнична помощ. Подборът на пациентите, включени в проучването, се базира на следните дефинирани критерии – пациенти с хронично рецидивиращи заболявания на предна очна повърхност, на възраст над 18г. и от Североизточна България. Критерии за изключване от изследването са пациентите да бъдат под 18 годишна възраст, да имат нарушения в коагулационния статус и системни заболявания или в случай, че не са подписали формуляр за информирано съгласие. Методиката на проучването включва документален метод, клинични методи – биомикроскопия (Carl Zeiss, Meditec AG), предно-сегментна оптична кохерентна томография (Cirrus HD-OCT 5000, Carl Zeiss Meditec, Inc.) и ин vivo конфокална биомикроскопия (Heidelberg Retina Tomograph II – Rostock Cornea Module, Heidelberg Engineering GmbH, Germany), определяне на най-добре коригирана зрителна острота, снемане на анамнеза и оценка на субективните признаци дразнене, болка, зачервяване и усещане за чуждо тяло. На базата на данните от проведените изследвания се определи етиологията и размера, дълбочината и локализацията на епителния дефект на всеки един от пациентите, които са включени в проучването. В зависимост от етиологията, размера и дълбочината на епителния дефект, наличието/липсата на инфилтрат, пациентите бяха разпределени в четири рандомизирани групи. При част от болните се изготвиха автоложни серумни капки по описан стандартен оперативен протокол от Geerling и сътрудници. Пациентите бяха запознати подробно с начина на съхранение и приложение на

капките. В две от групите пациенти се проведе хирургично лечение. То бива трансплантация на криосъхранена амниотична мембрана фиксирана върху нитроцелулозна хартия, снабдена от „Центъра за транслационна медицина и клетъчна терапия“ към Медицински Университет - Варна и corneal cross-linking (PACK-CXL) - минимално инвазивна интервенция, която използва ултравиолетови А лъчи (UVA) и рибофлавин (витамин В2), за да забави или дори да спре прогресията на ектазията на роговицата и за лечение на някои корнеални патологии. Събраните данни са обработени чрез следните статистически методи – дисперсионен анализ (ANOVA), вариационен, корелационен и регресионен анализ. За изследване на причинно-следствените връзки е използван сравнителен анализ, а получените резултати са представени в графичен и табличен метод. При всички проведени анализи се приема допустимо ниво на значимост $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ при доверителен интервал 95%. Данните са обработени статистически чрез SPSS v.20, като са използвани описателни показатели за количествени и качествени променливи и са представени в табличен и графичен вид.

Резултати

За период от 4 години (2017г.-2021г.) през територията на УСБОБАЛ-Варна са преминали 102 пациента с ПЕД. Резултатите показват, че преобладава мъжкият пол (62.7%). Средната възраст на пациентите с ПЕД е 40.5 г. По отношение на подлежащата етиология, водеща причина за ПЕД сред пациентите преминали през УСБОБАЛ-Варна са травмите и изгарянията, следвани от възпалителните заболявания на роговицата и попадането на чуждо тяло. При изследване на пациентите с ПЕД бяха използвани следните показатели за оценка на субективната симптоматика: болка, зачервяване и усещане за чуждо тяло. Те бяха проследени преди започване на терапия, на 1вата, на 2рата седмица и 30 дни след провеждане на лечението. Резултатите показват, че 92.2% от пациентите изпитват болка преди започване на лечение. Значително повлияване на болковия синдром се наблюдава още на първата седмица, като при 63.7% от пациентите липсва болков синдром, а на първия месец - при 86.3 % от тях. Установи се статистически значима разлика във възприятията за болка при пациентите с различни заболявания преди лечението и на първата седмица след проведено лечение ($p < 0.001$), преди лечението и на първия месец след лечението ($p < 0.001$),

както и на първата седмица и на първия месец след лечението ($p < 0.001$). С най-силно изразена болкова симптоматика (тежка и изразена) преди започване на лечението са пациентите с възпалителни заболявания (кератити), травми, изгаряния и наличие на чуждо тяло. Преди започване на терапията 96.1% от пациентите съобщават за „червено око“. Преобладава делът пациенти с изразено зачервяване - 42.2%, следвани от тези с умерено - 30.4 %. Значително повлияване на този субективен показател се наблюдава още на първа седмица. При 50% от пациентите липсва зачервяване, при 35.3% е налице леко, при 12.7% - умерено, а едва при 2% - изразено зачервяване. Впечатление прави липсата на пациенти с тежко зачервяване още на 1-вата седмица от началото на терапията. Анализът на данните показва, че най-силно изразено зачервяване преди започване на терапия се наблюдава при пациентите с кератит, следвани от пациентите с травми и изгаряния и наличие на чуждо тяло. На първия месец след започване на лечение, при 83.3% липсва зачервяване, за наличие на умерено съобщават 8.8%, а за леко - 6.9%. Тежка степен на зачервяване се наблюдава при пациентите с кератити, травми и изгаряния, както и при тези с булозна кератопатия. Впечатление прави, че на първия месец при 80.4% от пациентите липсва зачервяване, докато преди започване на терапията са били едва 4%. Най-голям процент от пациентите - 43.1% съобщават за изразено усещане за чуждо тяло, при 27.5% симптоматиката е тежка, а умерено изразена - при 22.5%. Впечатление прави бързото повлияване на пациентите от приложеното лечение. На 1-вата седмица едва при 5.9% е налице тежко изразено усещане за чуждо тяло, при 8.8% симптоматиката е умерена, а при 18.6% - лека. При 65.7% от изследваните пациенти липсва усещане за чуждо тяло още на 1-вата седмица след започване на терапията. Този процент е още по-висок на първия месец, като при 89.2% от пациентите то липсва. По отношение на подлежащата етиология най-силно изразено усещане за чуждо тяло (тежко) се наблюдава при пациентите с травма и изгаряния, следвани от пациентите с възпалителни заболявания (кератит).

Размерът на епителния дефект е първият обективен признак, който проследихме в нашата извадка от пациенти и също се използва като критерий за ефективността на приложената терапия. Значителна разлика в големината на епителния дефект се наблюдава между отделните групи преди началото на терапията. Най-висок процент на епителен дефект с

големина между 3-5 мм се наблюдава в групата с травми и изгаряния - 11.8%, а на епителен дефект с размер < 5 мм - в групата с кератит. На първия месец при 22.5% от пациентите с травми и изгаряния се наблюдава епителизация, следвани от пациентите с чуждо тяло - 16.7% и кератит - 12.7%. Впечатление прави бързият процес на епителизация, който установихме на 1-вата сед. след включване на съответния терапевтичен план. При 61.8% от пациентите се наблюдава пълно възстановяване на интегритета на корнеалния епител. При по-голяма част от останалите пациенти се установи значително намаляване на размера на ПЕД. При 84.3 % от пациентите липсва епителен дефект, при 3.9% наблюдавахме персистиране на дефект с размер 2-3 мм, при 2 % с размер 3-5 мм, а при 9.8% размерът е 0.5-2.0 мм на първия месец след лечение. Инекцията е друг обективен показател, който проследихме при нашите пациенти с ПЕД. Резултатите за инекцията в периода преди започване на терапията показват, че преобладава делът пациенти с цилиарна инекция в 2 - 3 квадранта - 51%, следвани от тези с инекция по цялата циркумференция - 33.3%. Значително подобрене на този показател се наблюдава още на 1-вата сед., като при 36.3% от пациентите инекция липсва, докато в периода преди започване на терапия този процент е бил едва 2%. Впечатление прави нарастването на дела на пациентите с конюнктивална инекция на 1-ва сед. - 35.3% (в сравнение - 2.9% преди терапията), което е свързано с инвазивния/ оперативния терапевтичен подход (поставяне на АМ) при част от пациентите. На 1-вия месец, делът на пациентите, при които липсва инекция достига 81.4%. Остава висок делът на пациентите с конюнктивална инекция – 11.8 %. Този феномен се наблюдава само в групите пациенти подложени на инвазивно лечение. Последният обективен признак, който изследвахме и включихме в нашето проучване е зрителна острота. Резултатите показват значително подобрене на този показател при всички групи пациенти. Най-добри резултати бяха отчетени при пациентите с наличие на чуждо тяло в роговицата, с възпалителни заболявания (кератити), включително и при тези с постхерпетични ПЕД. По-слабо повлияване на този показател наблюдавахме при пациентите с GVHD и тези с булозна кератопатия. Добри резултати отчетохме и при пациентите с травми и изгаряния. По-голяма част от включените в настоящия дисертационен труд пациенти бяха с умерена степен на изгаряне, което обяснява и наблюдаваните резултати в тази група.

Пациентите бяха рандомизирани в четири групи на база оценка на субективната симптоматика и обективната находка. Пациентите с повърхностни епителни дефекти без ангажиране на роговичната строма бяха подложени на консервативно лечение (58.40%). При пациентите, при които установихме наличие на язва (ангажиране на стромата без наличие на инфилтрат) извършихме АМТ и поставяне на ТКЛ, в комбинация с 20% ASE след 7мия ден. При 16.7% от включените в настоящия дисертационен труд пациенти установихме наличие на корнеален инфилтрат. При тях извършихме РАСК-СХЛ, след което поставихме АМ и ТКЛ, а след 1 седмица назначихме 20% ASE. От изследваните лица в нашата клинична извадка 58.8% са провели консервативно лечение, а при 42.1% се наложи провеждане на оперативно лечение. Резултатите от проведеното проучване показват положително повлияване на всички показатели след провеждане на упоменатото лечение.

Извършеният анализ на роговичните структури, посредством високоспециализираните изследване, доказва че резултатите от нашето проучване не се различават съществено от тези на другите автори, като находките при извършване на предно-сегментна оптична кохерентна томография и *in vivo* конфокална микроскопия преди започване на терапия са идентични. Резултати показват, че съществена разлика в изследваните квадранти, сме наблюдавали при травмите, кератити, кератопатии, ентропион и чуждите тела. Най-малка дебелина на лимбалния епител сме измерили при пациентите с корнеални дистрофии, а най-голяма - при пациентите със сухо око. Резултатите сочат, че с най-ниска плътност на дългите нерви са пациентите с булозна кератопатия, кератит и GVHD. Най-ниска плътност на суббазален нервен плексус сме отчели сред пациентите с чуждо тяло, булозна кератопатия и GVHD. Най-голяма плътност на двата показатели отчитаме сред пациентите с корнеални дистрофии.

Заклучение

Нарушенията на предната очна повърхност могат да повлияят негативно на качеството на живот, като причиняват болка, дразнене, зачервяване и намалено зрение. Чести причинители на персистиращи епителни дефекти се явяват няколко състояния, сред които синдром на сухото око, травми и изгаряния, синдром на Sjögren, кератити и кератопатии, роговични дегенерации и дистрофии, болест на присадката среду реципиента и дефицит на

лимбални стволови клетки. Видът на нарушението на очната повърхност, а също и тежестта определят режима на лечение. Находите, характерни за ПЕД могат да бъдат установени чрез наблюдение на биомикроскоп или високоспециализирани изследвания – IVKM за детайлно клетъчно изследване на морфологичните промени и AS-OCT за полезно, бързо и безконтактно визуализиране на роговичните дефекти и проследяване на отговора към лечението. Бързото развитие на изкуствения интелект, концепции за дълбоко машинно обучение, преносими устройства за количествен анализ води до нови обещаващи методи за реализиране в персонализираната офталмология. Възможностите за лечение могат да включват изкуствени слъзи, лубрициращи гелове, витамини, автоложни серумни капки, терапевтични контактни лещи и различни хирургични методи. Използването на автоложни серумни капки като метод за лечение на сухота в очите и нарушения на предната очна повърхност е застъпено в практиката, поради съдържанието им на растежни фактори, насърчаващи заздравяването на епитела и уникалните им състав и антибактериални и противовъзпалителни свойства. Те водят до значително по-бързо подобрене на признаците и симптомите и не съдържат консерванти. Хомоложен серум, серум от кръв от пъпна връв и автоложен серум от кръв от пръста са алтернативни възможности за лечение. Трансплантацията на амниотична мембрана може да се приеме за алтернативен метод за лечение на персистиращи епителни дефекти и стерилни язви, които са неподатливи на конвенционално лечение, тъй като дебелината базална мембрана и аваскуларна стромална матрица насърчават заздравяването на епитела. Тя е доказана като безопасен и ефективен метод за лечение на ПЕД. В заключение, перспективите на персонализираната офталмология изглеждат обещаващи. Напредъкът в новите технологии за подобряване на молекулярната диагностика, изследванията за разработване на нови терапии, свежите подходи към вече познати патологии, AI софтуерите за телемедицина и скрининг и системите за споделяне на данни придават на индивидуалната офталмология потенциала да революционизира специалността такава, каквато я познаваме.

Ключови думи персистиращи епителни дефекти, епидемиология, изкуствен интелект, биологична терапия, индивидуален подход

ABSTRACT

Aim

The aim of this dissertation is to perform a detailed analysis of a wide range of eye diseases characterized by persistent epithelial defects and to assess the clinical effectiveness of the applied therapeutic approaches.

Materials and methods

The present study was conducted at the Department of Eye Diseases and Visual Sciences of the Medical University - Varna on the territory of the University Specialized Hospital for Eye Diseases for Active Treatment USBOBAL - Varna for a period of 4 years - from 01.12.2017 to 01.12.2021. A total of 102 patients treated in hospital and prehospital care were included in the study. The selection of patients included in the study was based on the following defined criteria - patients with chronic recurrent diseases of the anterior ocular surface, aged over 18 years and from Northeastern Bulgaria. Exclusion criteria from the study were patients under 18 years of age, having coagulation status disorders and systemic diseases or in case they did not sign an informed consent form. The study methodology included a documentary method, clinical methods – biomicroscopy (Carl Zeiss, Meditec AG), anterior segment optical coherence tomography (Cirrus HD-OCT 5000, Carl Zeiss Meditec, Inc.) and in vivo confocal biomicroscopy (Heidelberg Retina Tomograph II – Rostock Cornea Module, Heidelberg Engineering GmbH, Germany), determination of best-corrected visual acuity, taking anamnesis and assessing subjective signs of irritation, pain, redness and foreign body sensation. Based on the data from the conducted studies, the etiology and size, depth and localization of the epithelial defect of each of the patients included in the study were determined. Depending on the etiology, size and depth of the epithelial defect, the presence/absence of infiltrate, the patients were divided into four randomized groups. In some of the patients, autologous serum drops were prepared according to a standard operating protocol described by Geerling and associates. The patients were informed in detail about the method of storage and administration of the drops. Surgical treatment was performed in two of the patient groups. This was a transplantation of cryopreserved amniotic membrane fixed on nitrocellulose paper, supplied by the "Center for Translational Medicine and Cell Therapy" at the Medical

University - Varna and corneal cross-linking (PACK-CXL) - a minimally invasive intervention that uses ultraviolet A rays (UVA) and riboflavin (vitamin B2) to slow down or even stop the progression of corneal ectasia and to treat some corneal pathologies. The collected data was processed using the following statistical methods - analysis of variance (ANOVA), variance, correlation and regression analysis. Comparative analysis was used to study cause-and-effect relationships, and the results obtained are presented in graphical and tabular form. In all analyses, an acceptable level of significance of $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ at a confidence interval of 95% was assumed. The data was statistically processed using SPSS v.20, using descriptive indicators for quantitative and qualitative variables and are presented in tabular and graphical form.

Results

Over a period of 4 years (2017-2021), 102 patients with PED were treated at USBOBAL-Varna. The results show that the male gender predominates (62.7%). The average age of patients with PED is 40.5 years. In terms of the underlying etiology, the leading causes of PED among patients are trauma and burns, followed by inflammatory diseases of the cornea and foreign body ingress. When examining patients with PED, the following indicators were used to assess subjective symptoms: pain, redness and foreign body sensation. They were monitored before starting therapy, at the 1st, 2nd week and 30 days after treatment. The results show that 92.2% of patients experience pain before starting treatment. A significant improvement in the pain syndrome is observed already in the first week, with 63.7% of patients having no pain syndrome, and in the first month - in 86.3% of them. A statistically significant difference was found in the perception of pain in patients with various diseases before treatment and in the first week after treatment ($p < 0.001$), before treatment and in the first month after treatment ($p < 0.001$), as well as in the first week and in the first month after treatment ($p < 0.001$). The most prominent pain symptoms (severe and pronounced) before the start of treatment were those of patients with inflammatory diseases (keratitis), trauma, burns and the presence of a foreign body. Before the start of therapy, 96.1% of patients reported a "red eye". The proportion of patients with notable redness prevailed - 42.2%, followed by those with moderate - 30.4%. A significant impact on this subjective indicator was observed already in the first week. In 50% of patients there was no redness, in 35.3% there was mild, in 12.7% - moderate, and only in 2% - pronounced redness. The absence of patients with severe redness already in the

1st week of the start of therapy is impressive. The analysis of the data shows that the most pronounced redness before the start of therapy is observed in patients with keratitis, followed by patients with injuries and burns and the presence of a foreign body. In the first month after the start of treatment, 83.3% have no redness, 8.8% report moderate, and 6.9% have mild redness. Severe redness is observed in patients with keratitis, injuries and burns, as well as in those with bullous keratopathy. It is impressive that in the first month, 80.4% of patients have no redness, while before the start of therapy there were only 4%. The largest percentage of patients - 43.1% reported a pronounced foreign body sensation, in 27.5% the symptoms were severe, and in 22.5% they were moderately pronounced. The rapid response of the patients to the applied treatment is impressive. At the 1st week, only 5.9% had a severe foreign body sensation, in 8.8% the symptoms were moderate, and in 18.6% - mild. In 65.7% of the studied patients, there was no foreign body sensation already at the 1st week after the start of the therapy. This percentage was even higher in the first month, as it was absent in 89.2% of the patients. In terms of the underlying etiology, the most pronounced foreign body sensation (severe) was observed in patients with trauma and burns, followed by patients with inflammatory diseases (keratitis).

The size of the epithelial defect is the first objective sign that we monitored in our sample of patients and is also used as a criterion for the effectiveness of the applied therapy. A significant difference in the size of the epithelial defect was observed between the individual groups before the start of therapy. The highest percentage of epithelial defects with a size between 3-5 mm was observed in the group with injuries and burns - 11.8%, and of epithelial defects with a size < 5 mm - in the group with keratitis. In the first month, 22.5% of patients with injuries and burns observed epithelialization, followed by patients with a foreign body - 16.7% and keratitis - 12.7%. The rapid process of epithelialization, which we established in the 1st week after the inclusion of the respective therapeutic plan, is impressive. In 61.8% of patients, complete restoration of the integrity of the corneal epithelium was observed. In most of the remaining patients, a significant reduction in the size of the PED was found. In 84.3% of patients there was no epithelial defect, in 3.9% we observed persistence of a defect with a size of 2-3 mm, in 2% with a size of 3-5 mm, and in 9.8% the size was 0.5-2.0 mm in the first month after treatment. Injection is another objective indicator that we monitored in our patients with PED. The results for the injection in the period

before the start of therapy show that the proportion of patients with ciliary injection in 2-3 quadrants prevails - 51%, followed by those with injection along the entire circumference - 33.3%. A significant improvement in this indicator was observed already in the 1st week, as in 36.3% of patients there was no injection, while in the period before the start of therapy this percentage was only 2%. The increase in the proportion of patients with conjunctival injection in the 1st week is impressive. - 35.3% (compared to - 2.9% before therapy), which is associated with the invasive/operative therapeutic approach (placement of AM) in some patients. At the 1st month, the proportion of patients lacking an injection reached 81.4%. The proportion of patients with conjunctival injection remained higher – 11.8%. This phenomenon was observed only in the groups of patients undergoing invasive treatment. The last objective sign that we examined and included in our study was visual acuity. The results show a significant improvement in this indicator in all groups of patients. The best results were reported in patients with a foreign body in the cornea, with inflammatory diseases (keratitis), including those with postherpetic retinopathy. We observed a weaker response to this indicator in patients with GVHD and those with bullous keratopathy. We also reported good results in patients with trauma and burns. Most of the patients included in this dissertation had moderate degree of burn, which explains the observed results in this group.

Patients were randomized into four groups based on the assessment of subjective symptoms and objective findings. Patients with superficial epithelial defects without involvement of the corneal stroma were subjected to conservative treatment (58.40%). In patients in whom we found the presence of an ulcer (involvement of the stroma without the presence of infiltrate), we performed AMT and placement of TCL, in combination with 20% ASE after the 7th day. In 16.7% of the patients included in this dissertation, we found the presence of corneal infiltrate. In them, we performed PACK-CXL, then placed AM and TCL, and after 1 week we assigned 20% ASE. Of the subjects in our clinical sample, 58.8% had undergone conservative treatment, and in 42.1% it was necessary to carry out surgical treatment. The results of the conducted study show a positive impact on all indicators after carrying out the mentioned treatment.

The analysis of the corneal structures, through highly specialized tests, proved that the results of our study do not differ significantly from those of other authors, as the findings when performing

anterior segment optical coherence tomography and in vivo confocal microscopy before starting therapy are identical. Results display that a significant difference in the studied quadrants, we observed in traumas, keratitis, keratopathies, entropion and foreign bodies. We measured the smallest thickness of the limbal epithelium in patients with corneal dystrophies and the largest - in patients with dry eye. The results show that the lowest density of long nerves are in patients with bullous keratopathy, keratitis and GVHD. The lowest density of subbasal nerve plexus was observed among patients with foreign body, bullous keratopathy and GVHD. The highest density of both indicators was observed among patients with corneal dystrophies.

Conclusion

Disorders of the anterior ocular surface can negatively affect the quality of life by causing pain, irritation, redness and reduced vision. Several conditions are common causes of persistent epithelial defects, including dry eye syndrome, trauma and burns, Sjögren's syndrome, keratitis and keratopathies, corneal degenerations and dystrophies, graft-versus-host disease and limbal stem cell deficiency. The type of ocular surface disorder and its severity determine the treatment regimen. The findings characteristic of PED can be identified by observation under a biomicroscope or by highly specialized studies – IVCN for detailed cellular examination of morphological changes and AS-OCT for useful, rapid and non-contact visualization of corneal defects and monitoring of the response to treatment. The rapid development of artificial intelligence, concepts for deep machine learning, portable devices for quantitative analysis leads to new promising methods for implementation in personalized ophthalmology. Treatment options may include artificial tears, lubricating gels, vitamins, autologous serum drops, therapeutic contact lenses and various surgical methods. The use of autologous serum drops as a method for treating dry eyes and anterior ocular surface disorders is widespread in practice, due to their content of growth factors that promote epithelial healing and their unique composition and antibacterial and anti-inflammatory properties. They lead to a significantly faster improvement in signs and symptoms and do not contain preservatives. Homologous serum, cord blood serum, and autologous fingerstick serum are alternative treatment options. Amniotic membrane transplantation may be considered as an alternative method for the treatment of persistent epithelial defects and sterile ulcers that are refractory to conventional treatment, as the thick basement membrane and avascular

stromal matrix promote epithelial healing. It has been proven to be a safe and effective method for the treatment of PED. In conclusion, the prospects for personalized ophthalmology appear promising. Advances in new technologies to improve molecular diagnostics, research to develop new therapies, fresh approaches to already known pathologies, AI software for telemedicine and screening, and data sharing systems give personalized ophthalmology the potential to revolutionize the specialty as we know it.

Keywords persistent epithelial defects, epidemiology, artificial intelligence, biological therapy, personalized approach

ИСПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

1. Man, D., & Olchawa, R. (2018). The possibilities of using BCI technology in biomedical engineering. In Biomedical Engineering and Neuroscience: Proceedings of the 3rd International Scientific Conference on Brain-Computer Interfaces, BCI 2018, March 13-14, Opole, Poland (pp. 30-37). Springer International Publishing.
2. Ghosh, S. (2023). Persistent Epithelial Defect Management Market Snapshot (2023 to 2033), available at: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/persistent-epithelial-defect-management-market>
3. Thia, Z. Z., Ho, Y. T., Shih, K. C., & Tong, L. (2023). New developments in the management of persistent corneal epithelial defects. Survey of ophthalmology.
4. Geerling, G., MacLennan, S., & Hartwig, D. (2004). Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. British Journal of Ophthalmology, 88(11), 1467-1474.
5. Jeng, B. H. (2011). Treating the nonhealing epithelial defect. Cataract Refract Surg Today Europe, 6, 25-8.
6. Poon AC, Geerling G, Dart JK, et al. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. Br J Ophthalmol 2001; 85: 1188–1197.
7. Sharma, N., Goel, M., Velpandian, T., Titiyal, J. S., Tandon, R., & Vajpayee, R. B. (2011). Evaluation of umbilical cord serum therapy in acute ocular chemical burns. Investigative ophthalmology & visual science, 52(2), 1087-1092.

8. Freire, V., Andollo, N., Etxebarria, J., Hernáez-Moya, R., Durán, J. A., & Morales, M. C. (2014). Corneal wound healing promoted by 3 blood derivatives: an in vitro and in vivo comparative study. *Cornea*, 33(6), 614-620.
9. Giannaccare, G., Versura, P., Buzzi, M., Primavera, L., Pellegrini, M., & Campos, E. C. (2017). Blood derived eye drops for the treatment of cornea and ocular surface diseases. *Transfusion and Apheresis Science*, 56(4), 595-604.
10. Tighe, S., Moein, H. R., Chua, L., Cheng, A., Hamrah, P., & Tseng, S. C. (2017). Topical cryopreserved amniotic membrane and umbilical cord eye drops promote re-epithelialization in a murine corneal abrasion model. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 58(3), 1586-1593.
11. Yoon, K. C., Oh, H. J., Park, J. W., & Choi, J. (2013). Application of umbilical cord serum eyedrops after laser epithelial keratomileusis. *Acta ophthalmologica*, 91(1), e22-e28.
12. Yoon, K. C., Jeong, I. Y., Im, S. K., Park, Y. G., Kim, H. J., & Choi, J. (2007). Therapeutic effect of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of dry eye associated with graft-versus-host disease. *Bone marrow transplantation*, 39(4), 231-235.
13. Harritshøj, L. H., Nielsen, C., Ullum, H., Hansen, M. B., & Julian, H. O. (2014). Ready-made allogeneic ABO-specific serum eye drops: production from regular male blood donors, clinical routine, safety and efficacy. *Acta ophthalmologica*, 92(8), 783-786.
14. Yoon, K. C., Heo, H., Im, S. K., You, I. C., Kim, Y. H., & Park, Y. G. (2007). Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *American journal of ophthalmology*, 144(1), 86-92.
15. Yoon, K. C., You, I. C., Im, S. K., Jeong, T. S., Park, Y. G., & Choi, J. (2007). Application of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of neurotrophic keratitis. *Ophthalmology*, 114(9), 1637-1642.
16. Sharma, N., Singh, D., Maharana, P. K., Kriplani, A., Velpandian, T., Pandey, R. M., & Vajpayee, R. B. (2016). Comparison of amniotic membrane transplantation and umbilical cord serum in acute ocular chemical burns: a randomized controlled trial. *American journal of ophthalmology*, 168, 157-163.

17. Erdem E, Yagmur M, Harbiyeli I, et al. Umbilical cord blood serum therapy for the management of persistent corneal epithelial defects. *Int J Ophthalmol* 2014; 7(5): 807–810.
18. Seitz, B., Das, S., Sauer, R., Hofmann-Rummelt, C., Beckmann, M. W., & Kruse, F. E. (2011). Simultaneous amniotic membrane patch in high-risk keratoplasty. *Cornea*, 30(3), 269-272.
19. Sabater, A. L., & Perez, V. L. (2017). Amniotic membrane use for management of corneal limbal stem cell deficiency. *Current opinion in ophthalmology*, 28(4), 363-369.
20. Baradaran-Rafii, A. R., Hasani, H. R., Eslani, M., Karimian, F., Jabbarpoor-Bonyadi, M. H., & Shamsoddini-Motlagh, R. The Role of Amniotic Membrane Transplantation in Severe Ocular Chemical Burns.
21. Sabater-Cruz, N., Figueras-Roca, M., Ferrán-Fuertes, M., Agustí, E., Martínez-Conesa, E. M., Pérez-Rodríguez, M. L., ... & Casaroli-Marano, R. P. (2021). Amniotic membrane extract eye drops for ocular surface diseases: use and clinical outcome in real-world practice. *International Ophthalmology*, 41, 2973-2979.
22. Meek, K. M., & Hayes, S. (2013). Corneal cross-linking—a review. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 33(2), 78-93.
23. Idrus, E. A., Utti, E. M., Mattila, J. S., & Krootila, K. (2019). Photoactivated chromophore corneal cross-linking (PACK-CXL) for treatment of severe keratitis. *Acta Ophthalmologica*, 97(7), 721-726.
24. Tabibian, D., Mazzotta, C., & Hafezi, F. (2016). PACK-CXL: Corneal cross-linking in infectious keratitis. *Eye and Vision*, 3, 1-5.
25. Dahlgren MA, Dhaliwal A, Huang AJ. Persistent epithelial defects. In: Albert D, Miller J, Azar D, et al. (eds) *Albert & Jakobiec's principles and practice of ophthalmology*. 3rd ed. Philadelphia, PA: Elsevier, 2008, pp.749–759.
26. Golhait, P., & Peseyie, R. (2021). Persistent epithelial defect.
27. Sacchetti, M., Rama, P., Bruscolini, A., & Lambiase, A. (2018). Limbal stem cell transplantation: clinical results, limits, and perspectives. *Stem cells international*, 2018(1), 8086269.

28. Sugiyama, H., Yamato, M., Nishida, K., & Okano, T. (2014). Evidence of the survival of ectopically transplanted oral mucosal epithelial stem cells after repeated wounding of cornea. *Molecular Therapy*, 22(8), 1544-1555.
29. Echevarria, T. J., Chow, S., Watson, S., Wakefield, D., & Di Girolamo, N. (2011). Vitronectin: a matrix support factor for human limbal epithelial progenitor cells. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(11), 8138-8147.
30. Asam, J. S., Polzer, M., Tafreshi, A., Hirnschall, N., & Findl, O. (2019). Anterior segment OCT. High resolution imaging in microscopy and ophthalmology: new frontiers in biomedical optics, 285-299.
31. Cai, W., Xu, J., Wang, K., Liu, X., Xu, W., Cai, H., ... & Zheng, Y. (2021). EyeHealer: A large-scale anterior eye segment dataset with eye structure and lesion annotations. *Precision Clinical Medicine*, 4(2), 85-92.
32. Tamhane, M., Cabrera-Ghayouri, S., Abelian, G., & Viswanath, V. (2019). Review of biomarkers in ocular matrices: challenges and opportunities. *Pharmaceutical research*, 36(3), 40.