



Медицински университет - Варна

“Проф. Д-р Параскев Стоянов”

Факултет „Медицина”

Катедра “Очни болести и зрителни науки”

Д-р Евгени Валентинов Нешкински, FEBO

**СКРИНИНГ НА УЛТРАВИОЛЕТОВИ
УВРЕЖДАНЯ С ФОТОГРАФИЯ НА
ПРИНЦИПА НА АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ:
ТЕХНОЛОГИЯ, ПОДХОД И РЕЗУЛТАТИ**

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

Официални рецензенти:

Проф. Д-р Лъчезар Войнов, д.м. , ВМА – София

Проф. Д-р Мариета Конарева-Костянева, д.м. , МУ- Пловдив

Варна, 2019г



Медицински университет - Варна

“Проф. Д-р Параскев Стоянов”

Факултет „Медицина”

Катедра “Очни болести и зрителни науки”

Д-р Евгени Валентинов Нешкински, FEBO

**СКРИНИНГ НА УЛТРАВИОЛЕТОВИ
УВРЕЖДЕНИЯ С ФОТОГРАФИЯ НА
ПРИНЦИПА НА АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ:
ТЕХНОЛОГИЯ, ПОДХОД И РЕЗУЛТАТИ**

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

Научен ръководител:
Проф. д-р Христина Николова Групчева, д.м.н, FEBO, FICO,
FBCLA, FIACLE

Варна, 2019г

Дисертационният труд съдържа 117 страници и е онагледен с 8 таблици и 46 фигури. Цитирани са 172 литературни източника, от които 8 са на кирилица, а 164 на латиница. Проучването е извършено на територията на СБОБАЛ – Варна.

Дисертационният труд е обсъден и предложен за защита на катедрен съвет на Катедрата по Очни болести и зрителни науки при Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов” – Варна.

Научно жури:

1. Проф. Д-р Лъчезар Войнов, д.м. , ВМА – София
2. Проф. Д-р Мариета Конарева-Костянева, д.м. , МУ- Пловдив
3. Доц. Д-р Христина Видинова, д.м. , ВМА – София
4. Доц. Д-р Бинна Ненчева, д.м. МУ – Варна
5. Проф. Д-р Христина Групчева, д.м.н. МУ – Варна

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 25.06.2019 от 10:00 часа в Медицински Колеж , зала 106, на открито заседание на Научното жури. Материалите по защитата са на разположение в библиотеката на Медицински университет – Варна.

СЪДЪРЖАНИЕ:

1. ВЪВЕДЕНИЕ.....	5
2. ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ.....	7
3. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	9
4. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ.....	10
5. РЕЗУЛТАТИ.....	28
6. ДИСКУСИЯ.....	44
7. ИЗВОДИ	51
8. ПРИНОСИ НА ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	53
9. РЕЗЮМЕ	55
10. ABSTRACT	57
11. НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	59

Въведение

Човешкият организъм е една сложно устроена система изградена от трилиони отделни клетки. Те не функционират независимо, а са организирани в отделни тъкани, органи и системи. Между различните системи съществуват многообразни връзки, което допринася за нормалното функциониране на тялото.

Подобно на нашите клетки, тялото ни не съществува самостоятелно в околната среда, като нашето съществуване до голяма степен се определя от околните фактори на средата с която непрекъснато взаимодействаме. Част от заобикалящата ни среда е енергията, която достига до земната повърхност от слънцето и прави възможен целия живот на земята. Неизброими са положителните ефекти, които електромагнитния спектър оказва както на природата, така и на нашия организъм като цяло.

Прекомерната експозиция и повишеното количество радиация обаче може да предизвика промени и да увреди редица органи и системи. Докато хората са наясно с ефектите от слънчевата светлина върху кожата и я асоциират с риска от меланом, в голямата си част те не се замислят за вредата, която може да окаже върху окото. Допълнително усложнение е факта, че нашият зрителен анализатор не възприема ултравиолетовата високоенергийна светлина, като това я превръща в постоянна невидима заплаха.

В литературата също липсват достатъчно съвременни данни, като този аспект може да се каже че изостава от напредъка в останала част на медицината. Класически метод за детекция и ранна диагностика на УВ увреждания на окото също не съществува в по-старите проучвания.

През 2014г. катедрата по Очни болести и зрителни науки към Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ Варна, имаше възможност да работи с един от най-иновативните методи в сферата на УВ детекция, УВ камера за визуализация на изменения по предната очна повърхност на принципа на УВ автофлуоресценция. Същата камера е използвана в мащабно проучване на остров Норфолк, целящо да опише разпределението на ултравиолетовата автофлуоресценция на местните жители.

След като се запознахме с литературата по темата и с принципите на работа на камерата, нашият екип успя да окомплектова аналогична камера,

работеща на същия принцип, но с много по-модерни и прецизни компоненти, подобрявайки значително резолюцията и улавяйки дори най-малките по размер изменения по ПОП.

Разбира се, като всяко ново начинание процесът не минаваше винаги гладко, като неведнъж стигахме до задънена улица. Именно в тези моменти въодушевлението от иновативния метод и амбицията да бъде направено едно наистина уникално за страната ни проучване даваше резултат, като за всяка пречка с екипа намирахме решение.

Докато в дерматологията лампата на Woods се използва от повече век, за офталмологията това е сравнително неизследвана територия и съм горд, че под ръководството на Проф. д-р Христина Групчева представям настоящото проучване.

Използвани съкращения

ВОТ – вътреочна течност

ДНК – Дезоксирибонуклеинова киселина

МДСВ – макулна дегенерация свързана с възрастта

МКЛ – меки контактни лещи

НСПВС – нестероидни противовъзпалителни средства

ПОП – предна очна повърхност

РНК – Рибонуклеинова киселина

СБОБАЛ – Специализирана болница по Очни болести за активно лечение

СЗО – Световна Здравна Организация

т.к. – тъй като

УВ (UV) – ултравиолетов/а

УВ-А – ултравиолетови лъчи с дължина на вълната от 320nm до 400nm

УВ-В – ултравиолетови лъчи с дължина на вълната от 320 до 380nm

УВ-С – ултравиолетови лъчи с дължина на вълната от 100 до 280nm

УВАФ – ултравиолетова автофлуоресценция

8- OHdG - 8-hydroxy-2' -deoxyguanosine

АРО – апохроматичен

АТР – Аденозин трифосфат (АТФ)

ВСС - базално клетъчен карцином

cDNA – комплементарна ДНК

cm – сантиметра

CPDs – циклобутан пиримидинови димери

DSLR – digital single lens reflex- огледално – рефлексна система за фотография

Hz – мерната единица херц

IVCM - In vivo конфокалната микроскопия

IR- инфрачервен

J – джаул

J/cm² – джаул на квадратен сантиметър

kW – киловат

LED - Light Emitting Diode

Macro – макрообектив с минимално фокусно разстояние

mDNA – митохондриална ДНК

mJ / cm² – милиджаул на квадратен сантиметър

MMC – митомицин С

mW – миливат

MW – мегават

mW / cm² – миливат на квадратен сантиметър

NIH – Национален здравен институт

nm – нанометър

ns – наносекунда

PUVA – псорален + УВА лъчение

SCC - сквамозно клетъчен карцином

SCN – suprachiasmatic nucleus of hypothalamus (супрахиазмално ядро на хипоталамуса)

SH групи– сулфхидрилни групи

W / cm² – ват на квадратен сантиметър

Цел и задачи

I. Цел:

Целта на настоящия дисертационен труд е да бъде да бъде описан и оптимизиран метода на УВАФ, да бъде окомплектована камера за обективна оценка на промените предизвикани по преден очен сегмент от UV радиация чрез детекция на конюнктивална автофлуоресценция, както и да бъдат представени резултатите от изследването с нея. Този обективен метод може да бъде използван за скрининг и преди увреждането да бъде клинично изразено. Друга цел е да се направи анализ на познанията на населението относно начините за протекция от UV и да се направи статистически значима корелация със засечените изменения по ПОП.

II. Задачи

1. Да се направи обзор на публикациите, свързани с темата
2. Да се установи нивото на познания на хората относно методите за протекция на очите и да се направи анализ.
3. Като бъдеща задача може да бъде поставена информационна кампания за вредите от UV върху окото, скрининг за промени по ПОП и проследяване на резултатите след определен период от време.
4. Да се окомплектова камера с която обективно да бъдат документирани промените по предна очна повърхност и да се направи анализ.
5. Да се намери корелация между навиците за защита и измененията, които са налични в участниците в проучването.
6. Да бъде направено сравнение и с резултатите, получени с помощта на *in vivo* конфоклана микроскопия - Heidelberg Retina Tomograph II Rostock Cornea Module (HRT II-RCM)
7. Да се направи анализ на CUVAF при различни професионални групи подложени на интензивно UV натоварване – хора, занимаващи се със заваряване, спасители на плажа или открити басейни и др.

Материали и методи

Обект и обхват на проучването

Проучването беше проведено в Катедрата по Очни болести и зрителни науки към Медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ гр. Варна, както и в Специализирана очна болница за активно лечение – Варна. Част от участниците бяха анкетирани и изследвани с камерата за детекция на ултравиолетова автофлуоресценция в Медицински колеж – гр. Варна

Общо бяха изследвани, документирани и анализирани 320 човека, като проучването обхваща близо 4 годишен период – от м.Февруари 2015г до м.октомври 2018г, включително.

За да бъде включен всеки един участник в изследването му беше предоставено информирано съгласие, което надлежно беше обяснено, както и беше предоставено самостоятелно време за запознаване и разбиране. Самият метод за изследване на конюнктивална автофлуоресценция е приет в клиничната практика, не е инвазивен, и тъй като се базира на наблюдение се смята за абсолютно безвреден. Данните и всяка информация за субектите бяха стриктно съхранени в съответствие със закона за личните данни.

За да бъде проучването максимално обективно и да се елимира възможността за пропускане на определени стъпки беше разработен алгоритъм, по който се изследваше всеки от участниците.

Основните стъпки на този алгоритъм включваха:

- Запознаване с анамнезата на пациента – оплаквания, причина за настоящото посещение, минали заболявания, общи заболявания, прекарани общи и очни оперативни интервенции, професионална заетост (което фигурира и във анкетата за познаване на вредите от УВ лъчението) с цел да се направи корелация между намерените находки с камерата и навиците на хората.
- Обстоен очен преглед, документирани отклонения от нормалния очен статус

- Вербална комуникация с участниците, разясняване на метода за детекция с ултравиолетова автофлуоресценция и покана за участие в проучването.
- След одобрение от страна на пациента, даване на информирано съгласие, обяснения по него, като при пациентите с по-ниска зрителна острота и прочитането му на глас, както и осигуряване на самостоятелно време за запознаване с него (където беше необходимо).
- Попълване на анкета за навиците за протекция на хората, която включва и снимки за по нагледно представяне и лесно ориентиране.
- Документиране с камерата за CUVAF на ПОП, като подробно алгоритъма е описан в частта за окомплектоване на камерата и резултати
- Всеки участник беше уведомен, че може да прекрати участието си в изследването по всяко едно време.

В първата част от проучването участниците попълваха анкета, включваща 16 въпроса за ежедневните си навици за защита, както и анамнестични данни за слънчеви изгаряния през последните години. Тази разработена от нас анкета е първата по рода си, защото макар да има множество анкети за оценка на кожните изменения и протекцията на кожата, малка част от хората се замислят за очното увреждане, което може да настъпи. В литературата липсват примери за аналогични анкети, насочени към очното здраве. Броят въпроси беше неслучайно подбран, от една страна да даде пълна информация за степента на информираност и протективни навици на участниците, от друга да не съдържа прекалено много въпроси, които биха ги объркали и разсеяли. Резултатите от анкетата и връзката с документираните промени с камерата за детекция на конюнктивална автофлуоресценция са представени в раздел резултати и дискусия.

Пол:
 м
 ж

Възраст:
 до 25г.
 от 25г. до 40г.
 от 40г. до 60г.
 над 60г.

Професия: _____

1. Работно място
 На открито
 Смесено
 На закрито

2. Колко часа през деня прекарвате на открито?
 до 3
 от 3 до 8
 над 8

3. Смятате ли, че УВ лъчите имат вредно въздействие върху очите?
 Да
 Не
 Не знам

4. Кога според вас УВ лъчението е по-голямо?
 През лятото
 През зимата
 През есента
 През пролетта
 Еднакво е
 Не знам


5. Използвате ли средства за предпазване от УВ лъчи?
 Да
 Не


6. Ако да, какви?

	Никога	Понякога	Винаги
<input type="checkbox"/> Очила	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Шапка	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> (МКЛ) Меки контактни лещи	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Калки	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> Специални храни	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

7. Кой начин според вас е най-ефективен за предпазване от УВ лъчи?
 Очила
 Шапка
 (МКЛ) Меки контактни лещи
 Калки
 Специални храни

8. Носите ли редовно слънчеви очила?
 Да
 Не

9. Ако да, какъв тип?


10. Според вас кой тип очила предпазват в най-голяма степен вашите очи от слънчевата светлина?


Фиг. 1 Анкетна карта за познанията на участниците за уврежданията от УВ светлина и най-често използваните методи на защита, стр.1

11. Колко пъти годишно ходите на плаж?
 под 5
 от 5 до 15
 над 15
 не ходя

12. По кое време на деня ходите на плаж?
 сутрин
 по обяд
 следобед
 не ходя на плаж

13. Колко часа прекарвате на плажа?
 до 2
 от 2 до 4
 над 4 часа
 не ходя на плаж

14. Търсите ли сянка по време на плаж?
 Да, използвам чадър / тента
 Да, търся сенчести места (под дърво и др.)
 Не, стоя на открито
 Не ходя на плаж

15. Използвате ли козметика за кожа със УВ защита?
 Да, специално търся такава
 Да, но само през лятото
 Не знаех, че има такава
 Не

16. Колко често сте получавали слънчево изгаряне?

	Никога	Понякога	Често
<input type="checkbox"/> През предишни години	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/> През последната година	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

АНКЕТА

Фиг. 2 Анкетна карта за познанията на участниците за уврежданията от УВ светлина и най-често използваните методи на защита, стр.2

След попълването на анкетата участниците бяха документирани с разработената от нас камера за детекция на увреждания по ПОП на принципа на автофлуоресценцията. Използваната установка беше сходна, но подобрена и модернизирана спрямо тези, използвани при цитираните аналогични проучвания.

Следва описание на устройството на камерата, разработена от нашия екип.

Окомплектоване на камера за детекция на промени по предна очна повърхност, използвайки метода на конюнктивална автофлуоресценция

В настоящия научен труд използвахме камера за ранна детекция на конюнктивална автофлуоресценция. Нашата установката беше внимателно разработена, гарантирайки снимки с високо качество и по-малко паразитни образи. Характеристиките на камерата са описани по-долу.

1. Тяло на камерата

Една от най-важните части във всяка фотографска система е именно тялото на апарата. Към настоящия момент най-разпространени са т.н. огледално-рефлексни системи (DSLR – digital single lens reflex). Имат редица предимства, например възможността за промяна на диафрагмата и затвора, дълбочината на точката на фокусиране. Контраста и баланса на цветовете са много по-добри при DSLR телата ¹. Едно от основните преимущества, което използвахме в нашето проучване беше и възможността за синхронизация със специални модифицирани от нас външни светкавици. DSLR системите имат голям сензор, който осигурява нисък „цифров шум“ и много добро предаване на цветовете – нещо важно, когато търсим субклинични изменения по предна очна повърхност. Не на последно място е възможността за избор на обектив, който е друг основен елемент от камерата за детекция на автофлуоресценция ².

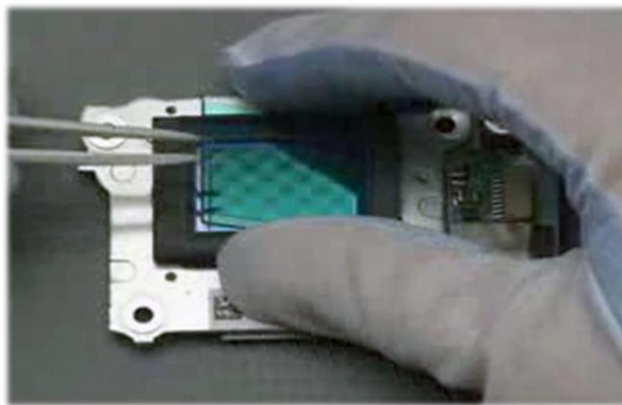
Когато се говори за стандартна цифрова фотография има изобилие от марки, модели и модификации. Не така стоят нещата когато говорим за UV фотография. Тъй като повечето съвременни тела са настроени да работят предимно във видимия спектър и да елиминират „паразитните“ фотони светлина във UV и ИЧ спектър, намирането на подходящо за целта тяло не беше лесно. В литературата са описани най-добрите тела за UV фотография, напр. Nikon D70, D40. Тези два варианта са популярни, поради липсата на качествени филтри пред матрицата, елиминиращи UV и ИЧ светлина. По тази причина дори без преработка тялото пропуска достатъчно UV светлина, за да освети матрицата. Макар да са морално остарели за нормална

фотография, все още биват използвани за УВ и астрофотография³. Някои модели на Canon също са подходящи, но след предварителна подготовка. След проучване на предимствата и недостатъците на различните тела, ние се спряхме на Nikon D100 в нашата камера поради няколко причини – добра разделителна способност, възможност за пряка визуализация след направата на снимки (така некачествените бяха отстранени и документирани наново) и широкото налагане точно на този модел в УВ и астрофотографията като един от най-добрите.



Фиг. 3 Тяло на камерата, използвана в проучването

Като недостатък на този модел за нашите цели може да се счита вградения филтър пред матрицата, блокиращ УВ и ИЧ трансмисия (т.н. горещо огледало). Това наложи премахването му, с цел по-голямо количество отразена УВ автофлуоресценция да попадне върху матрицата (фиг.4)



Фиг. 4 Премахване на вградения UV филтър пред матрицата на тялото, позволявайки повече отразена UV светлина да бъде регистрирана.

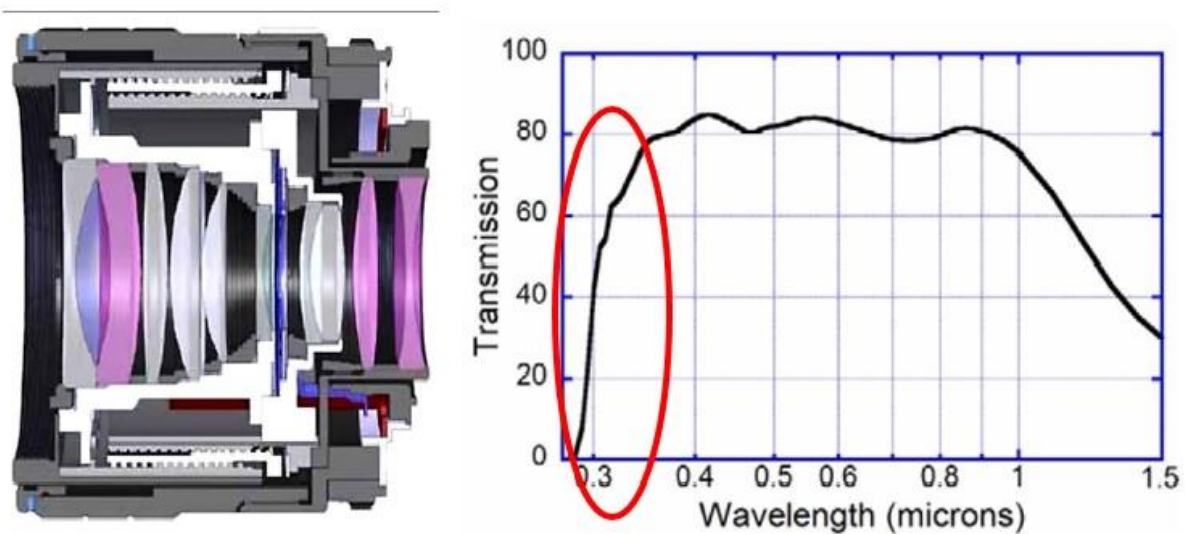
2. Обектив

Повечето съвременни обективи имат лещи, чийто материал не позволява преминаването на ултравиолетовата светлина, като производителите нанасят и допълнителни покрития. В резултат повечето обективи пропускат светлина с дължини над 400nm и в много малък процент между 350 и 400 nm⁴. За качествени снимки на UV афтофлуоресценция от предна очна повърхност това не е достатъчно, ето защо за нашата цел беше използван специализиран обектив с кварцово – флуоритни лещи. Обективът, използван в аналогичното проучване на остров Норфолк за дистрибуция на конюнктивална автофлуоресценция е бил именно такъв, модел Nikon UV-105, 105mm f/4.5 Multispectral Imaging Lens със общо 6 лещи, първите три от които са изработени от кварцово стъкло, с останалите от синтетичен калциев флуорид (CaF₂)^{5, 6}.

Целта на нашето проучване беше да се регистрира и най-малкото количество UV автофлуоресценция, ето защо ние работихме с обектив от изцяло кварцови лещи. Един от най-модерните такива е използвания в настоящия труд UV-VIS-IR 60 mm 1:4 APO Macro на Coastal Optics. Специализиран за UV и астрофотография, същия пропуска светлина с дължина под 350nm до около 290nm, правейки го идеален за целите на проучването⁷.



Фиг. 5 Използван обектив в проучването UV-VIS-IR 60 mm 1:4 APO Macro на Coastal Optics



Фиг. 6 схематично представяне на кварцовите леци на обектива в проучването UV-VIS-IR 60 mm 1:4 APO Macro на Coastal Optics и съответната трансмисия при различна дължина на вълната. Впечатление прави високата пропускливост в късовълновия спектър

Останалите по-важни характеристики на използвания от нас филтър са представени в табл.1

Фокусно разстояние :	60 mm
Диапазон :	f/4 - f/45
Брой елементи / групи :	10/9
Формат на изображението:	24 mm x 36 mm
Трасмисия в диапазон :	290 nm- 1500 nm
Максимално увеличение:	1 : 1.5
Тип монтаж:	Nikon F-Mount
Филтри:	52 mm thread (M 52 x 0.75)

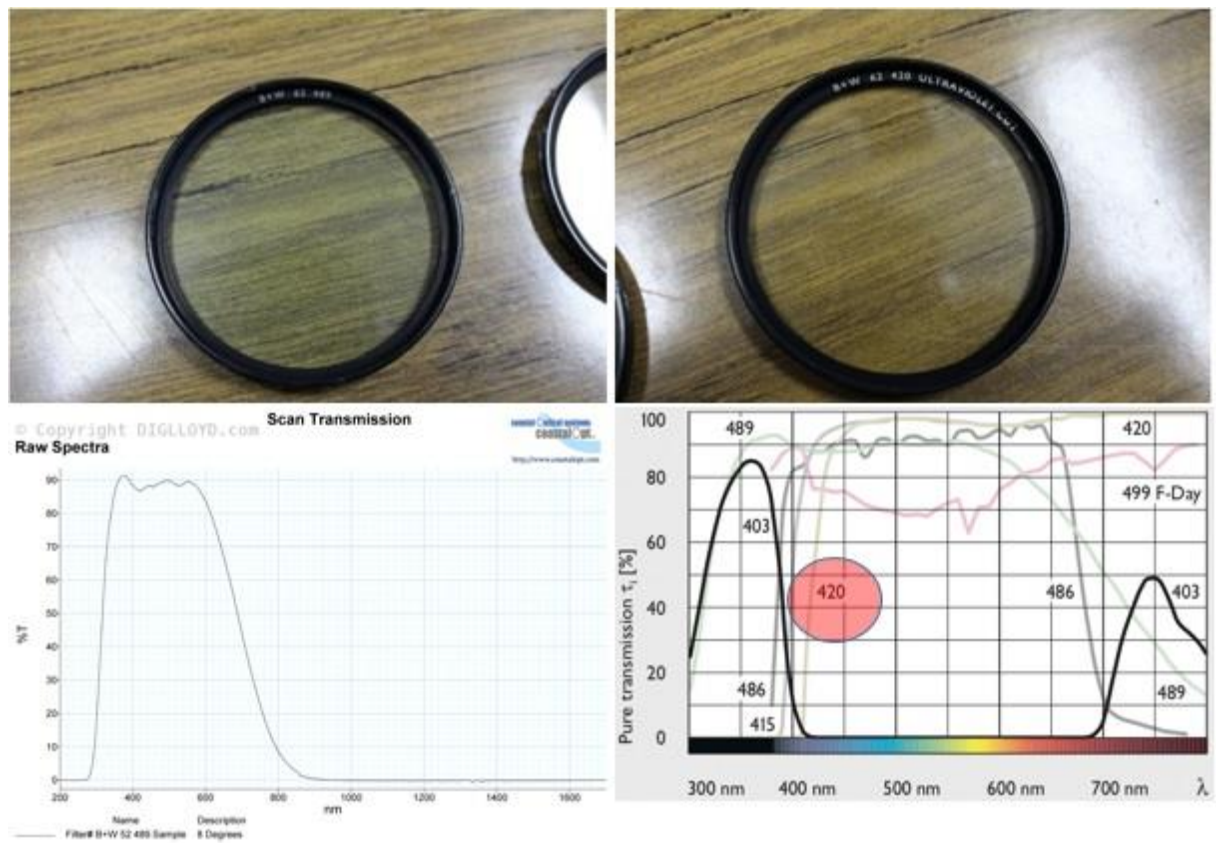
Табл.1 Основни характеристики на UV-VIS-IR 60 mm 1:4 APO Macro на Coastal Optics

Автоматичната бленда позволява максимално количество отразена светлина да попадне върху матрицата. При УВ фотографията едно от предизвикателствата е промяната във фокусното разстояние между видимия и късовълнов спектър ⁸. С използвания от нас обектив този проблем е елиминиран, поради ниските стойности на фокусно изместване, правейки го практически пренебрежимо ⁹. Беше използван и ринг за екстензия между тялото на камерата и обектива за да се получи желаното фокусно разстояние, като същевременно се запазят детайлите и документираната площ.

Едно от предизвикателствата при документиране на лъчение с различни дължини на вълните е, че за всяка дължина фокусното разстояние е леко различно. Това може да породи хроматична аберация, влошаващи образа и добавяща цветно хало около него¹⁰. Обективите тип АРО (апохроматичен) имат група от три лещи, комбинирани заедно в сравнение с традиционните и по-евтини варианти на ахроматичен дизайн (с две лещи), елиминирайки напълно дори малките хроматични аберации ¹¹. Чрез точно фокусиране този апохроматичен обектив е в състояние да възпроизведе най-ясните широкоформатни астроснимки , респективно отразена УВ автофлуоресценция от окото ¹².

3. Допълнителни филтри

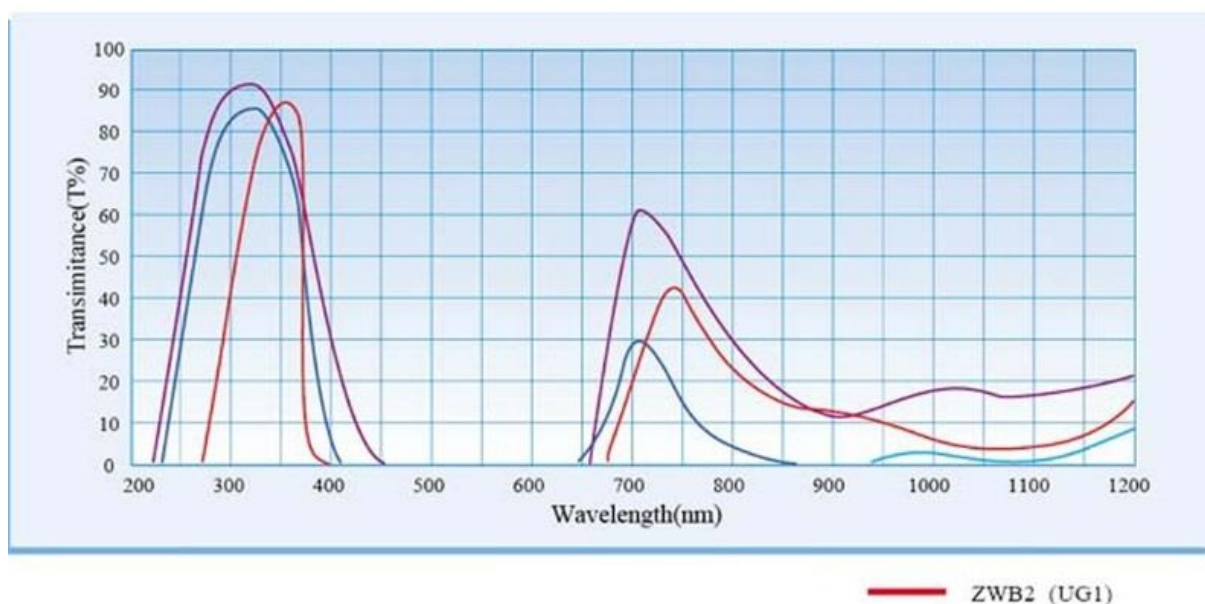
С цел да бъде документирана само автофлуоресценцията от предна очна повърхност бяха монтирани допълнително два филтъра пред обектива (сходни с използваните в аналогичните проучвания). Единият от тях елимира инфрачервената светлина – B+W 62 489, като блокира вълните постепенно над 600 nm и напълно след 780nm¹³. Другият филтър беше B + W 320 420 Ultraviolet Cut, с блокиране на късовълновия УВ спектър¹⁴.



Фиг. 7 Допълнителни използвани филтри пред обектива на камерата, пропускащи само автофлуоресценция (горе) и съответните им спектрални криви (долу)

4. Осветителна система и филтри

Ултравиолет – индуцираната флуоресценция се основава на стандартни принципи, използвайки специално адаптирани светкавици на камерата със филтри за УВ трансмисия. В нашето проучване използвахме специално изработени такива, с трансмисия между 300nm и 400nm, с пик в областта 365nm. Тъй като повечето съвременни светкавици са оборудвани с многослойно покритие на капачето, с трансмисия само във видимия спектър, същото беше премахнато и на негово място монтиран УВ пропускащия филтър ZWB-2 (фиг8).



Фиг. 8 Спектър на УВ пропускащия филтър ZWB2 пред светкавицата

С цел по-хомогенно осветяване бяха използвани две идентични светкавици от двете страни на пациента, монтирани под постоянен ъгъл спрямо обектива и окото, гарантирайки повторемост на резултатите. Самите светкавици бяха подбрани като модел, освен по спектъра си на емисия така и по възможност да бъде регулирано количеството емитирана светлина. Тъй като бяха цифрово синхронизирани с тялото на камерата посредством безжичен синхронизатор и двете работеха заедно с точност до 1/320 сек (3,12 милисекунди)¹⁵.



Фиг. 9 Използвана осветителна система с монтиран ZWB2 филтър

5. Други части на камерата за детекция на увреждания на принципа на автофлуоресценцията

Цялата установка беше монтирана на специализирана и поръчково изградена поставка за камерата и светкавиците. Този тип монтаж позволи свободно движение на апарата по трите оси (X, Y, Z) и ясен фокус при всеки пациент. Подбрадник в предната част позволи адекватното позициониране на пациентите по височина (и удобство). Беше монтиран фиксационна марка, с цел документиране под постоянен ъгъл. Като допълнителен елемент на установката може да се смятат и синхронизаторите на светкавиците и тялото (PIXEL Soldier (TF-372) For Nikon), осигуряващи едновременно осветяване на окото със работата на затвора на камерата (както беше споменато евентуалното закъснение от 1/320 сек е пренебрежимо малко). В завършен вид, камерата за детекция на увреждания на предна очна повърхност, която използвахме в настоящия труд е представена на Фиг. 10 и Фиг 11.



Фиг. 10 Използвана установка на камерата за детекция на увреждания по ПОП, тяло и светкавици



Фиг. 11 Използвана установка на камерата за детекция на увреждания по ПОП – страна на изследващия, стойка и подбражник

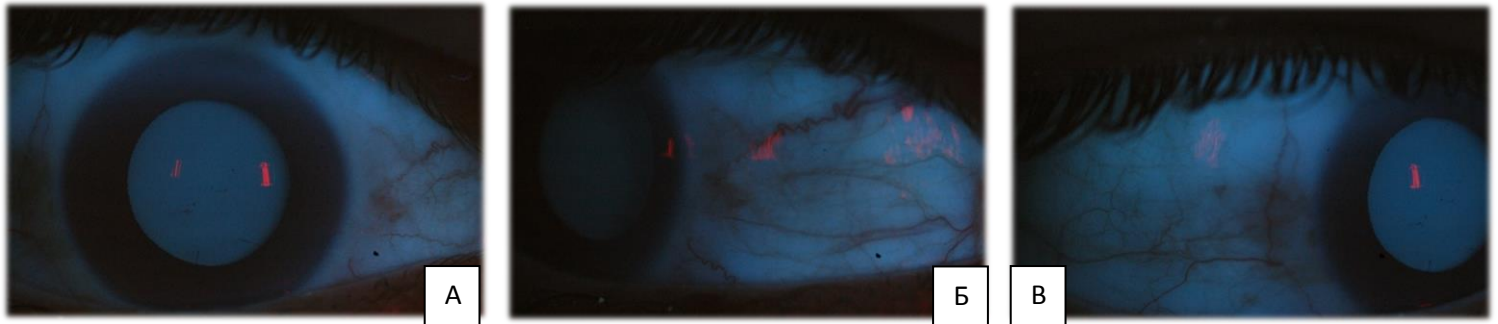
Самата камера беше поставена при специални условия в затъмнена стая, като след фокусиране на ПОП фоновото осветление беше спирано с цел документиране само и единствено на получената от УВ светлината автофлуоресценция. За целта беше използван допълнителен дистанционен спусък.

Всеки участник в проучването беше попълнил предварително информирано съгласие, което му беше разяснено и анкетна карта със данни за вида на професионална заетост (особено важно за професиите на открито и хората работещи с машини за заваряване). При пристъпване към заснемането им беше обяснен алгоритъмът, както беше предоставено време за допълнителни въпроси. На всеки пациент бяха направени нативни снимки, след което снимки на двете очи с камерата за автофлуоресценция, като за всяко око се документираха по три позиции (общо 6 на пациент. Първо бяха направени снимки на дясно око при поглед напред (I ва позиция), след което участника се инструктиреше да погледне темпорално (снимка на назалната конюнктива) и след това назално (снимка на темпоралната част на конюнктивата).



Фиг. 12 Позиция на пациента по време на заснемането

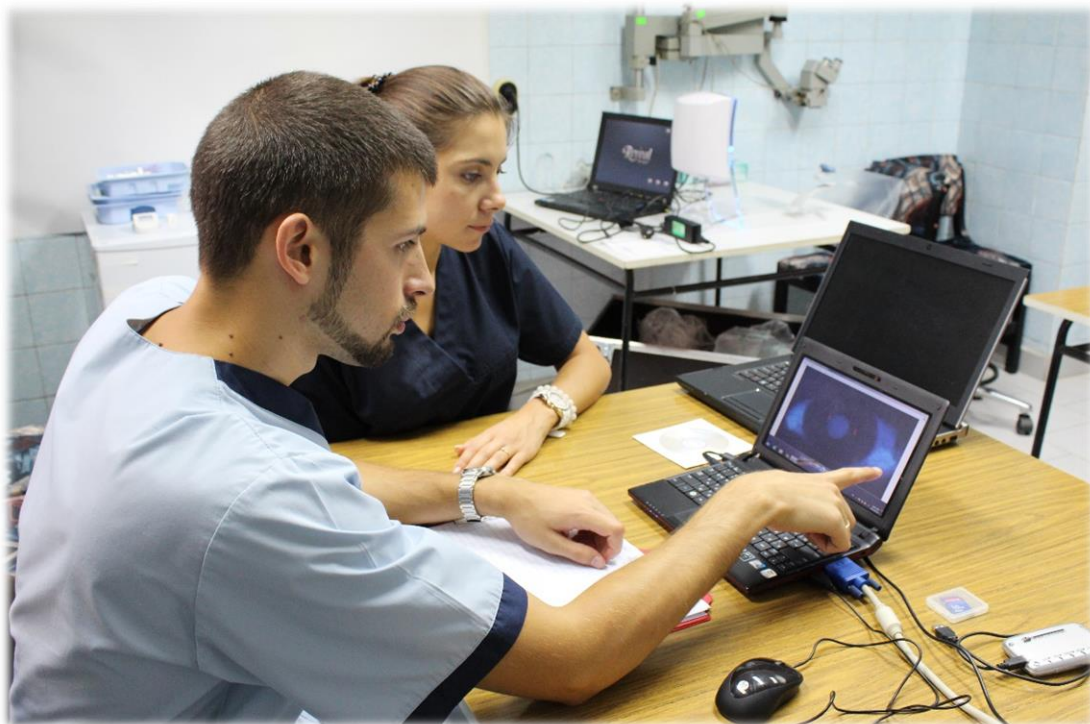
Същия алгоритъм се повтаряше и за другото око. Директната визуализация на направените снимки даде възможност да бъде направена проверка за качество, като тези с липса на фокус бяха изтрити и документирано наново (Фиг. 13).



Фиг. 13 Документирани погледни позиции – поглед централно (А), темпорално (Б) и назално (В)

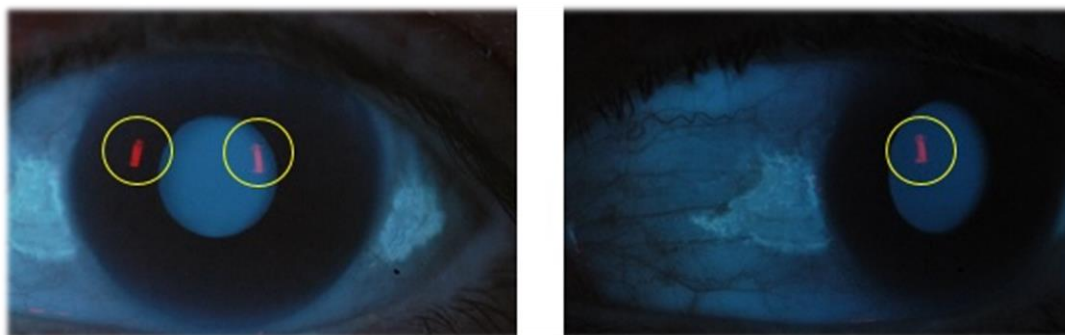
Така получените резултати бяха подложени на статистическа обработка, както и бяха съпоставени с други аналогични проучвания (макар при някои от тях да липсват погледни позиции назално и темпорално). Като допълнителна погледни позиции при част от пациентите включихме и поглед нагоре за документиране на конюнктивата под лимба на 6 часа, като накрая пациентите бяха помолени да погледнат надолу и след ретракция на горен клепач беше документирана конюнктивата на 12 часа. Резултатите от тези допълнителни погледни позиции са представени по-долу.

След документиране на 3-те позиции на всяко око на участниците в проучването, беше създадена база данни където снимките бяха експортирани и съхранявани. Софтуерът позволява образите да бъдат както лесно категоризирани, така и обработени. Допълнително беше използван софтуер Image J за да се измери зоната на автофлуоресценция при всеки пациент с налична такава (Фиг. 14).



Фиг. 14. Софтуер използван за съхранение и обработка на данните

При обработването на снимките, при някои от тях се забелязва паразитен червен отблясък – Фиг 15. Теоретично този червен рефлекс може да бъде премахнат чрез цифрова обработка на снимката с премахване на червения канал. Аналогичен би бил резултата и с използването на CYAN Filter (напр. Vaader Planetarium IR cut filter), блокиращ електромагнитния спектър над 680 nm ¹⁶. Тъй като на практика червения нежелан рефлекс нямаше никакво отношение към качеството, обработката и последващия статистически анализ на резултатите, не беше премахнат по нито един от двата начина.

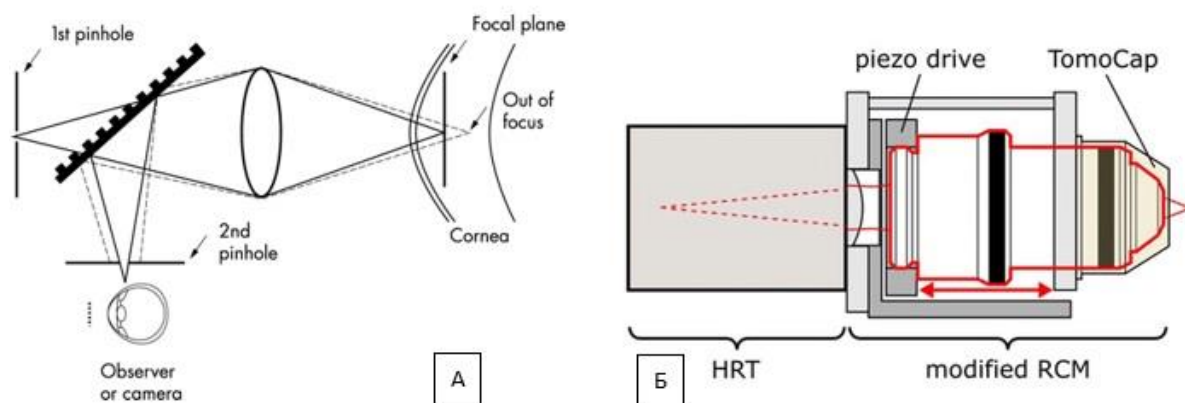


Фиг. 15. Нежелан червен рефлекс при някои от снимките. Отблясъкът не повлиява по никакъв начин интерпретацията на уврежданията, измерването на зоната и статистическите резултати.

На участниците в проучването, които бяха подходящи и с анамнеза за дълго време прекарано на открито бяха документирани и снимки на кожна автофлуоресценция. Като последен етап от проучването беше направена корелация с данните за увреждания по предна очна повърхност, получени чрез конфокална микроскопия на живо.

Конфокалната микроскопия на живо позволява детайлен анализ на слоевете на роговицата. Един от основните ограничаващи фактори при стандартна светлинна микроскопия е отразената светлина от околните тъкани, която предизвиква заслепяване и намалява контраста на получения образ. Ето защо увеличението при стандартни офталмологични инструменти (напр.биомикроскоп) е максимум до около 40 пъти, с резолюция от около $20\ \mu\text{m}$ ¹⁷. При по-нататъшно увеличение се получават само по-големи, но размазани образи.

Чрез използване на конфокална система, при която осветлението (кондензатор) и наблюдението (обект) се фокусират в една точка ¹⁸ многократно се увеличава аксиалната (Z) и латералната (X,Y) резолюция. Това става посредством елиминиране на светлината, идваща от точки извън фокус, като по този начин латералната резолюция се повишава до 1-2 μm , а аксиалната – 5-10 μm . Методът позволява възможно увеличение до 600 пъти, според апертурата на обектива (фиг 16).

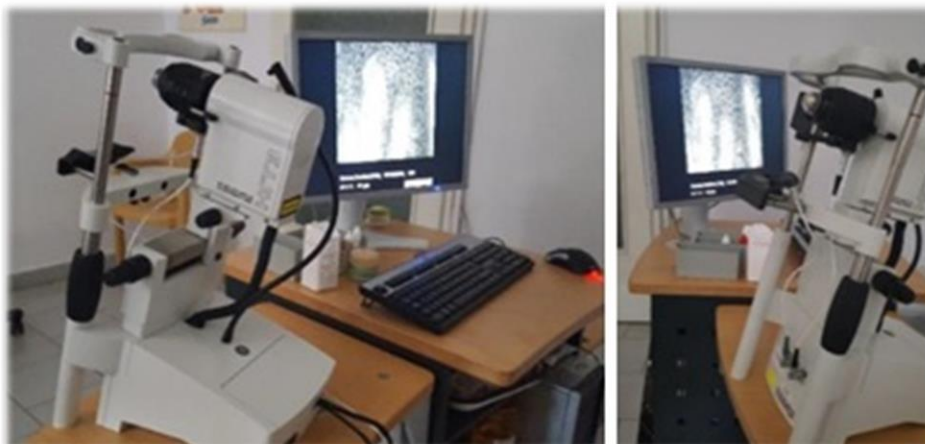


Фиг. 16 Схематично представяне на оптичните принципи на използваната конфокална микроскопия (А) и използван накрайник с Rostock Cornea Module и TomoCap (Б)

В нашето проучване използвахме Heidelberg Retina Tomograph (HRT) сканиращ лазерен микроскоп с HRT Rostock Cornea Module (Heidelberg Engineering GmbH, Germany). Едно от предимствата на уреда е възможността за документиране и биомикроскопия на роговицата, лимба и конюнктивата в реално време. Резолюцията от един микрон дава изключително висока детайност на изображенията, като в настоящото проучване беше използвана за да се отдиференцират промените по предна очна повърхност, вследствие на късовълново електромагнитно лъчение (респ.увеличена УВ експозиция). Допълнително можеха да бъдат направени корнеална пахиметрия и да се оцени състоянието на ендотела ^{19,20}.

Наличието на роговичен анализиращ софтуер позволи визуализация на клетките и различните корнеални слоеве. Лещата, която се използва е с увеличение 63 пъти, имерсионна леща. Като източник на осветление се използва диоден лазер клас I. Обективът на микроскопа се покрива със еднократна, стерилна чашка, изработена от PMMA материал (ТОМОСАР)- Фиг.16 Б. Чашката се изпълва с контактен гел – в случая е използван очен гел – Corneregel (Vausch and Lomb) за да се получи имерсия. Тъй като изследването е контактно, пациентът се подготвя преди изследването с топикална анестезия с ALCaine 0,5% (Alcon) в конюнктивалния сак. След подготовка на софтуера (въвеждане на данни на участника в проучването) и позициониране на необходимата височина се пристъпва към изследването – апланиране на роговицата с подготвената леща върху изследваната зона. С цел да се мониторира постоянно позицията на Томосар, роговицата се наблюдава с вградената в апарата камера.

Апаратът сканира роговицата, като създава образ от 384x384 точкова резолюция в квадрат с размер 400 микрометра. Чрез фокусиране на различна дълбочина се елиминира главният недостатък на стандартната рефлексна микроскопия – ефект на заслепяване от отразени съседни структури (фиг. 17) ²¹.



Фиг. 17 Използван лазер сканиращ конфокален микроскоп в проучването

Резултати

Проучването се проведе за период от около 5г (2014г – 2018г). За този период бяха събрани данни за общо 320 участника. Те бяха избирани на случаен принцип, като най-младия участник беше на 5години, а най-възрастния – 83г. Средната възраст на участниците в изследването беше 44,5 години. Всички данни бяха събрани, съхранени по описания метод и обработени статистически (SPSS Statistics v19). Пациентите бяха проследени през годините, като бяха информирани предварително за контролните посещения, като имаха и възможност за междинни посещения. Бяха документирани общо 640 очи на всички участници.

В проведеното проспективно проучване броят мъже (64.06%) беше процентно повече отколкото жените (35.94 %). До някъде това беше свързано и професионално с по-големия брой заварчици и спасители мъже, посетили клиниката.

1. Разпределение на участниците по пол

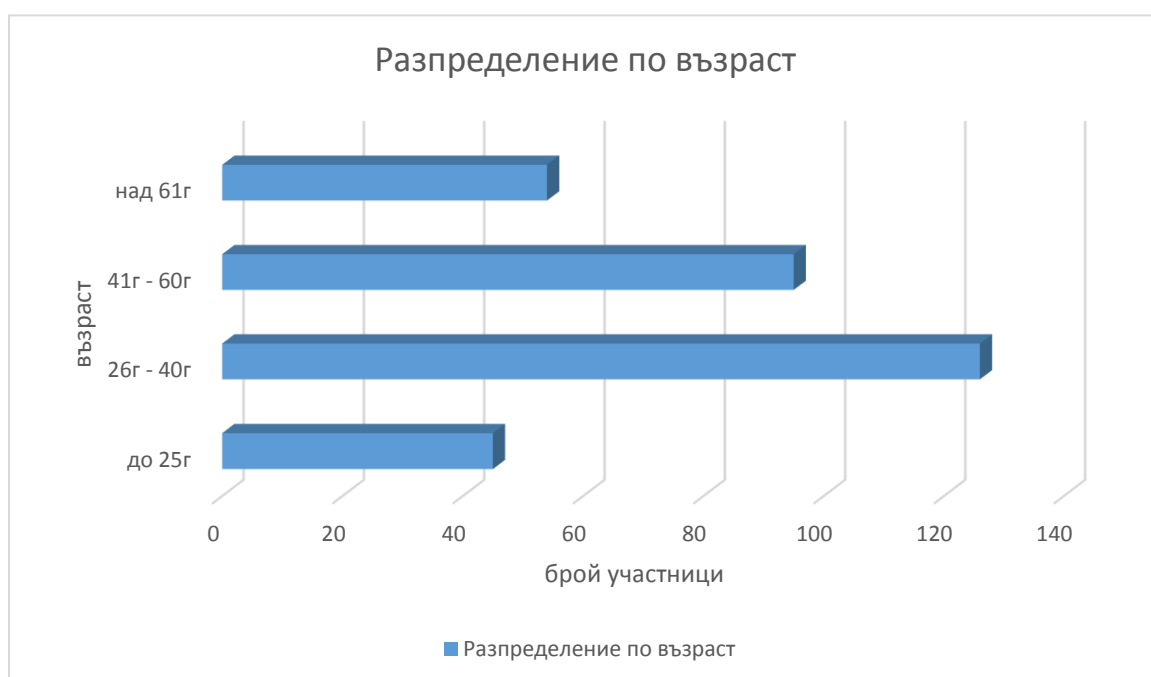
- Мъже - 64.0625 % - 205 участника (410 очи)
- Жени - 35.9375 % - 115 участника (230 очи)



Фиг. 18 Разпределение на участниците по пол

2. Разпределение на участниците по възраст

Повечето от участниците в изследването ни бяха хора на възраст 26 – 60 години. Това са млади хора в трудоспособна възраст и наличието на УВ увреди по предна очна повърхност в някои случаи може да влияе на качеството на живот. Ето защо в световен мащаб се набляга все повече на превенцията и използването както на слънцезащитни продукти за кожа, така и за протекция на очите и лицето (шапки, очила, контактни лещи с UV защита и др.)



Фиг. 19 Разпределение на участниците в четири възрастови групи

Възрастова категория	Брой участници
До 25г	45
26г до 40г	126
41г до 60г	95
Над 60г	54

Табл.2 Брой участници по демографска характеристика

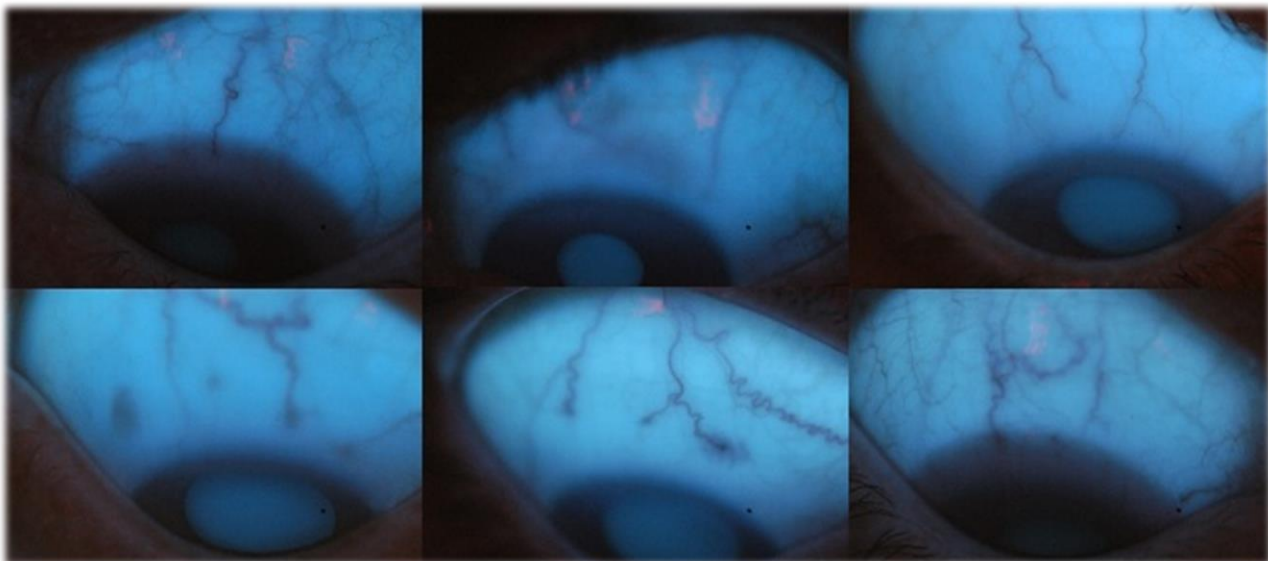
3. Документиране на различните погледни позиции

Всеки участник в проучването мина предварително очен преглед, следващ стандартна практика - авторефрактокератометрия; пневмотонопахиметрия, зрителна острота с и без корекция за далеч и за близо; биомикроскопия; фундусбиомикроскопия и при нужда допълнителни такива. На всеки пациент беше направена нативна снимка, като след това се пристъпи към заснемането на предна очна повърхност с разработената камера за детекция на УВ увреждания на принципа на автофлуоресценцията. Нашият протокол следваше три основни погледни позиции – око в първа позиция, око при поглед темпорално, като се документираше назалната част от конюнктивата и лимб, и поглед назално, при което се документираше лимба и конюнктивата темпорално.



Фиг.20 Основни погледни позиции без наличие на изменения по ПОП

Така получените погледни позиции са достатъчно информативни т.к.повечето изменения по ПОП се получават именно в интерпалпебралното пространство, което спрямо зоните под и над лимба е подложено от една страна на по-интензивна УВ експозиция, от друга на атмосферните влияния, резки температурни промени, прах и др²². От друга страна това са и погледните позиции в аналогични проучвания (Norfolk Island Eye Study), което дава база за директно сравнение между двете кохорти – жители на умерени климатични условия, в каквито се намира нашата страна, и генетичните изолати на острова със субтропически океански климат ²³. На определен брой участници бяха заснети допълнително и погледни позиции нагоре и надолу след ретракция на клепача – Фиг 21. Резултатите показват че при нито един от тези участници няма данни за конюнктивална автофлуоресценция, което съвпада с данните от други проучвания.



Фиг.21 Липса на конюнктивална автофлуоресценция във всички документирани участници при поглед надолу. Липсата на промени в тази област могат да се обяснят с протективното действие на клепачите.

4. Наличие и разпределение на CUVAF

От всички 320 участника в изследването общо при 207 (64,69%) бяха регистрирани зони на автофлуоресценция. Промените, които регистрирахме бяха разпределение според локацията, като обособихме три групи :

- Участници със наличие на зона на автофлуоресценция предимно назално от лимба (фиг 22)
- Участници със наличие на зона на автофлуоресценция предимно темпорално (фиг 23)
- Участници със наличие на зона назално и темпорално , при които площта на измененията е сходна (фиг 24)



Фиг.22 Наличие на зона на автофлуоресценция предимно назално от лимба; Фиг. 23 Наличие на зона на автофлуоресценция предимно темпорално; Фиг.24 Наличие на изменения темпорално и назално от лимба

В хода на изследването, наличие на CUVAF при мъжете и жените беше изчислено процентно. Макар общия брой на мъжете със зони на конюнктивална автофлуоресценция да са повече – мъже n=92, жени n=76, това се дължи на по-големия им брой в проучването. Ако се анализират данните за процентното съотношение жени без CUVAF / жени със CUVAF, и мъже без CUVAF / мъже с CUVAF, става видно, че при жените зоните на светене се срещат много по-често 66,09% (при 76 от участничките) срещу 33,91% (n=39) жени без данни за УВАФ. При мъжете процентното съотношение е съответно 55,12% без и 44,88% с данни за УВАФ – табл.3 и фиг 25.

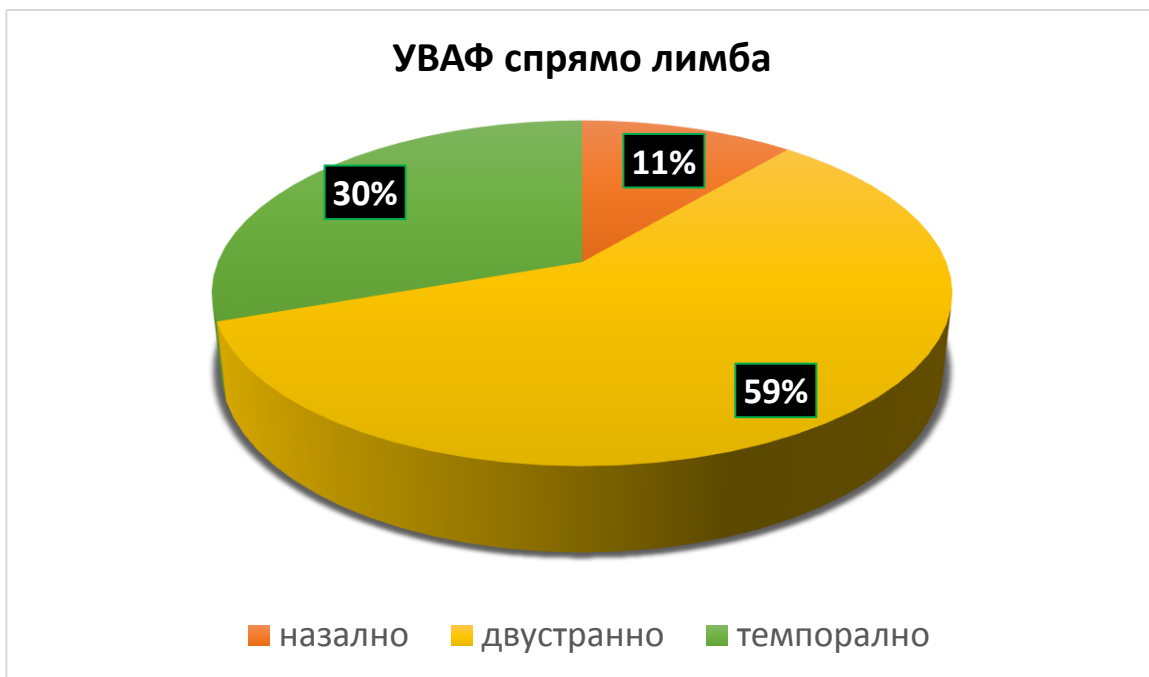
	Без данни за УВАФ	С данни за УВАФ
Жени	39 (33,91%)	76 (66,09%)
Мъже	113 (55,12%)	92 (44,88%)



Табл. 3 Разпределение по пол на УВАФ

Фиг. 25 Графично представяне на разпределението на УВАФ по пол

Беше направен анализ на локацията на зоните на увреждане спрямо лимба на хората със УВАФ. Резултатите относно големината и интензивността на зоните между двете очи не показаха съществена разлика. Установено беше, че при най-голям брой участници има зони на автофлуоресценция и от двете страни на лимба. Общият брой на тези участници беше 121, като почти два пъти по-малко бяха тези със УВАФ темпорално. Най-малка беше групата на пациенти със УВАФ назално от лимба. Данните са представени графично във фиг. 26



Фиг.26 Процентно съотношение спрямо локацията на зоните с конюнктивална автофлуоресценция

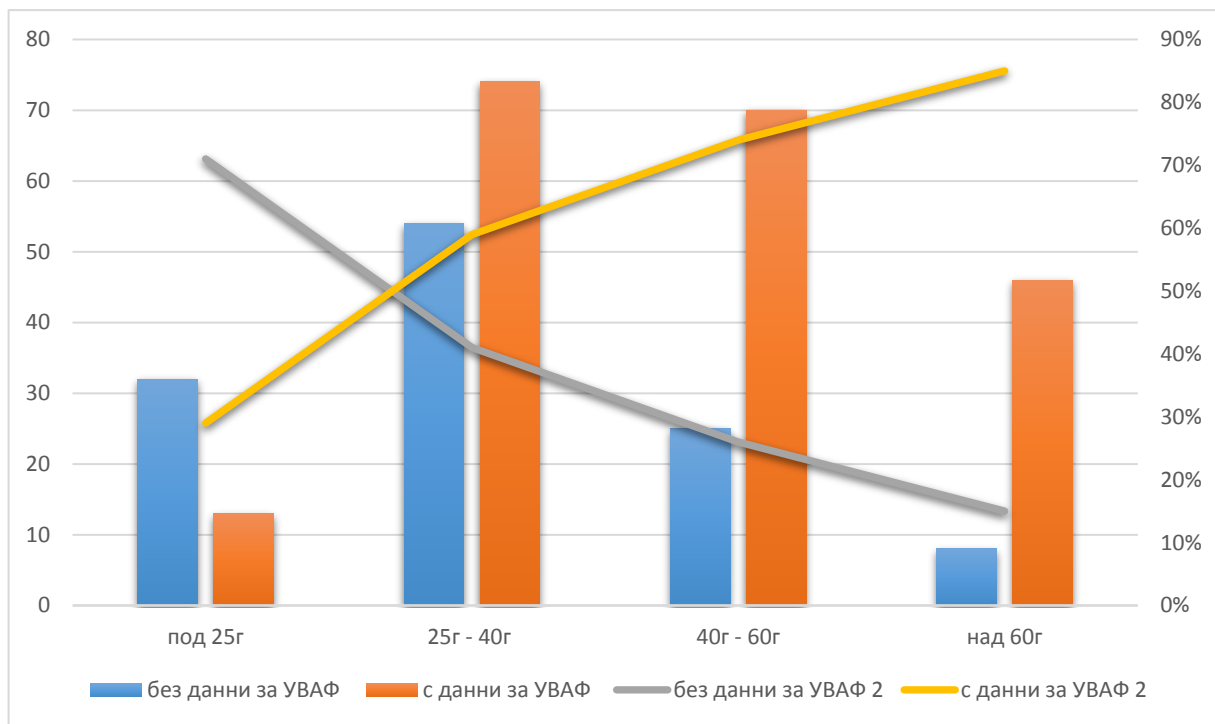
Беше направен анализ на честотата на зони с UV увреждания спрямо разпределението на участниците по възраст. Тези данни бяха сравнени с данните от аналогични проучвания – табл. 4

Разпределение по възраст	Общо участници	Без данни за УВАФ	С данни за УВАФ
До 25г	n=45	n=32 (71,11%)	n=13(28,89%)
26г – 40г	n=126	n=54(41.27%)	n=74 (58.73%)
41г – 60г	n=95	n=25(26.32%)	n=70 (73.68%)
Над 60г	n=54	n=8 (14.82%)	n=46(85.18%)

Табл. 4 Наличие на зони с UV изменения спрямо разпределението на участниците по възраст

Впечатление прави зависимостта, че с напредване на възрастта се увеличава процентно броя участници с наличие на зони на конюнктивална автофлуоресценция. Тези данни предполагат хроничен процес с натрупване,

както и корелация със общото време на експозиция. Получените данни са в тясна връзка с хипотезата, че наличието на УВ индуцирана конюнктивална автофлуоресценция е обективен маркер за промени по ПОП. Нашите данни не съвпадат с получените от аналогично проучване на УВАФ в генетично изолираната популация на остров Норфолк. Според него зоната би трябвало да е по-интензивна при млади хора и деца. Скорошни аналогични проучвания обаче потвърждават ефекта на натрупване, като и при тях по-възрастната част от популацията е била почти винаги със зони на УВАФ.



Фиг.27 Графично представяне на зависимостта възраст – наличие на УВАФ. Добре се вижда намаляването на броя хора без увреждания (сива линия), на фона на увеличаващото се процент със (жълта линия) с нарастване на възрастта

Получените данни бяха сравнени и с резултатите от анкетните карти. Повечето от хората не обръщат достатъчно внимание на протекцията на очите, като малка част от тях осъзнават риска от УВ експозицията. Голяма част от тях са наясно с връзката и вредите на късовълновия спектър върху кожата (86,4%). Над 72% от анкетиранияте асоциират ултравиолетовата светлина и продължителната експозиция на слънце с потенциална поява на кожен меланом. В същото време едва 6,5625% (21 участника от всичките

общо 320) правят асоциация между ултравиолетовите лъчи и потенциалното увреждане на очите.

Тази незавидна информираност сред проучените участници се потвърждава и след анализ на друг въпрос – този за вида на защитните средства. Почти една трета от анкетираните не използват никакви (31,56% или 101 участника). Останалите 219 човека все пак използват някаква защита (очила, шапки, чадър, контактни лещи). Ниската степен на информираност сред участниците се потвърждава от факта , че макар голям процент от тези 219 човека да използват именно очила, в голяма степен те го правят от модна гледна точка, като самите модели слънчеви очила се избират по външен вид, а не с оглед максимално предпазване на окото от електромагнитния спектър (директна и отразена светлина).

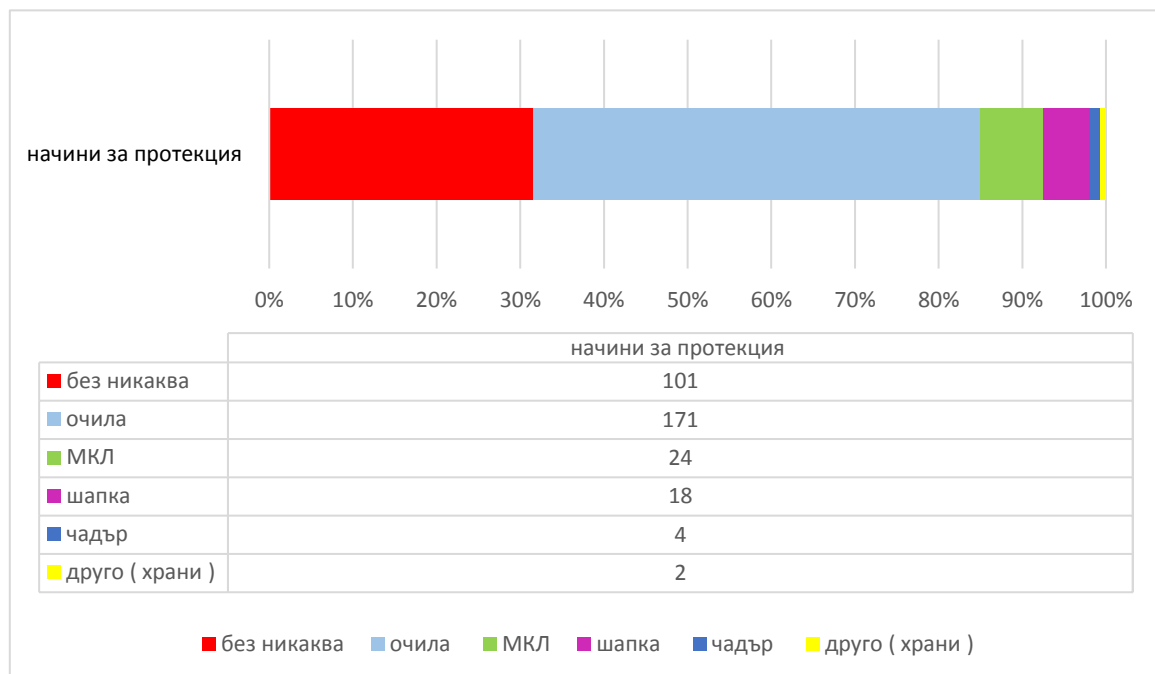
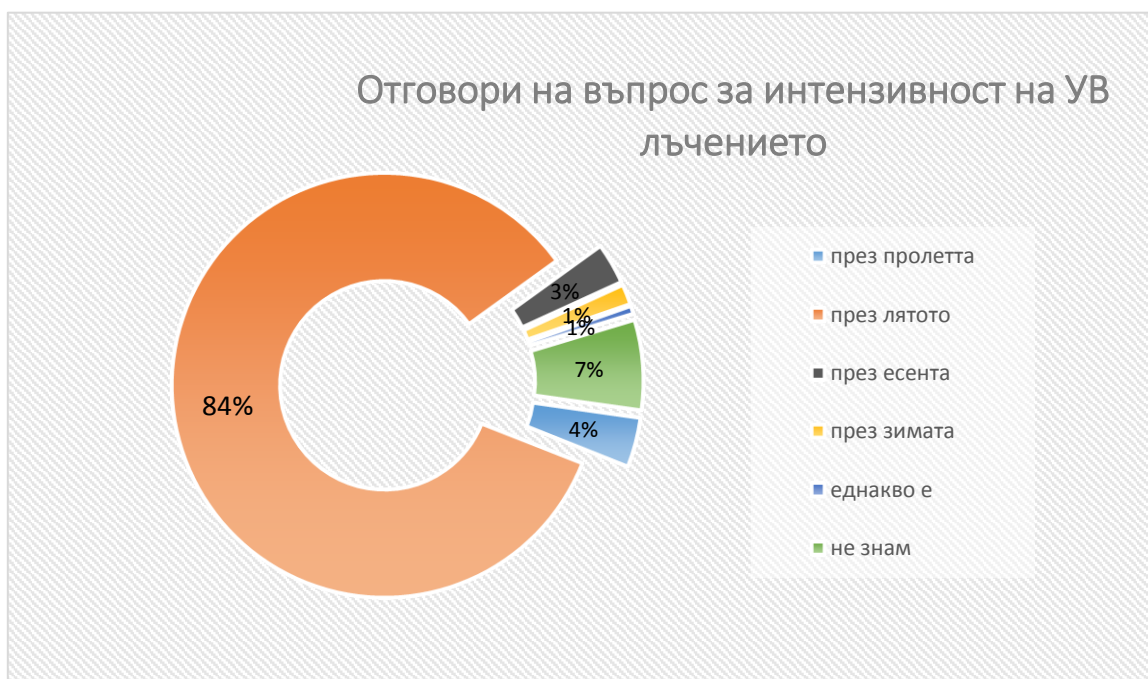


Табл. 5 Графично представяне и таблица относно използваните методи за протекция

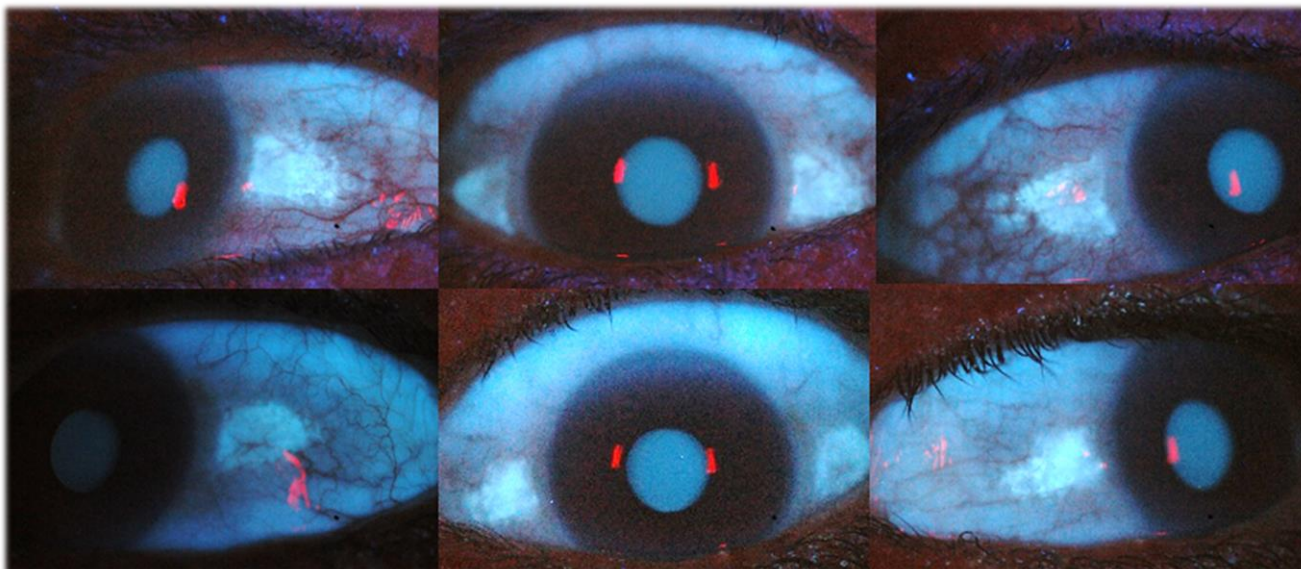
Тези данни донякъде са свързани и с получените отговори на друг въпрос – този за интензитета на УВ радиацията през различните сезони. Масово хората подценяват всички годишни времена освен лятото, като правят предимно връзка околна температура – сила на УВ радиация. Над 84% от анкетираните отговарят, че повишени нива на ултравиолетова радиация има само през лятото, като част от отговорилите положително на въпроса дали ползват защитни средства (очила, шапки, МКЛ и др) ги използват само през лятото – фиг 28



Фиг.28 Мнение на участниците за интензивността на УВ радиацията.

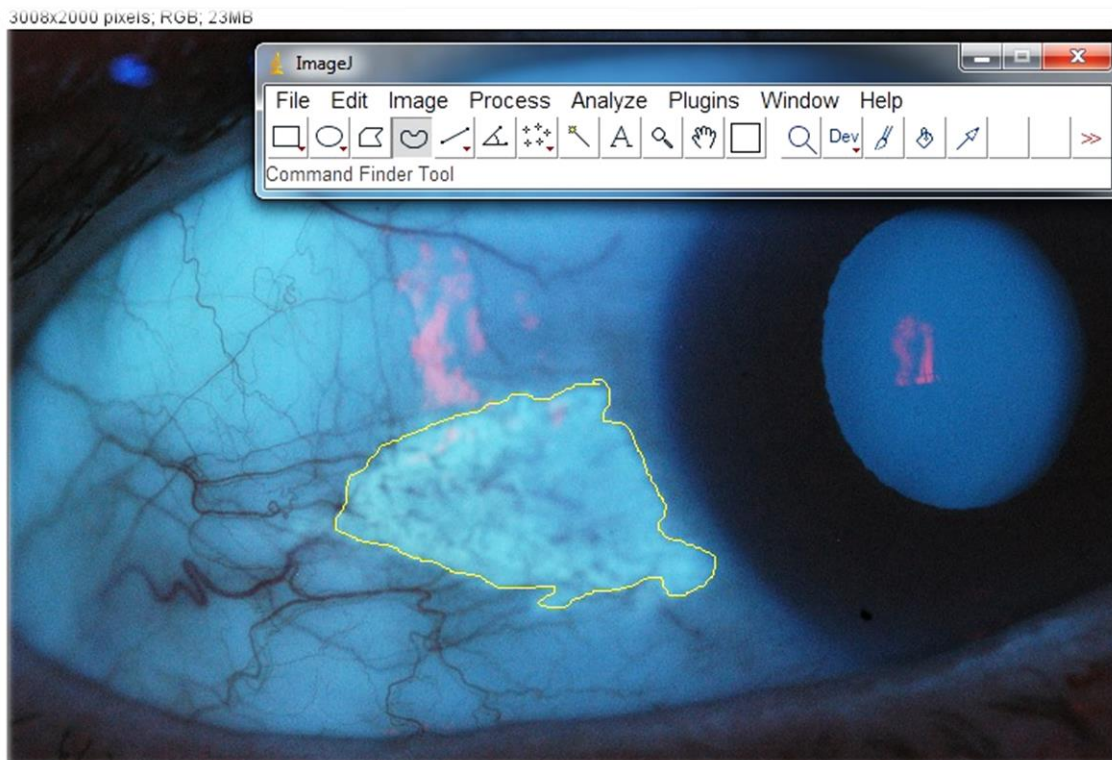
Във анкетната карта имаше и въпроси, касаещи професионалната заетост на хората (на открито или закрито), посещенията на плаж и солариуми, както и анамнеза за кожно изгаряне, за да бъде направена съпоставка с резултатите, получени от камерата за конюнктивална автофлуоресценция. Наличието на зони на УВАФ е по-често и с по-голяма площ и интензивност при професии като спасители на плажа и работници на открито.

На фиг.29 е представен пациент, участник в проучването, на 35г, строител на открито по професия, занимаващ се често и със заваряване по време на работа. Тези два фактора допринасят за интензивните промени по ПОП и обясняват обширните, интензивни зони на конюнктивална автофлуоресценция. При другите изследвани участници със сходна професия промените са идентични, макар и понякога с по-слабо светене.



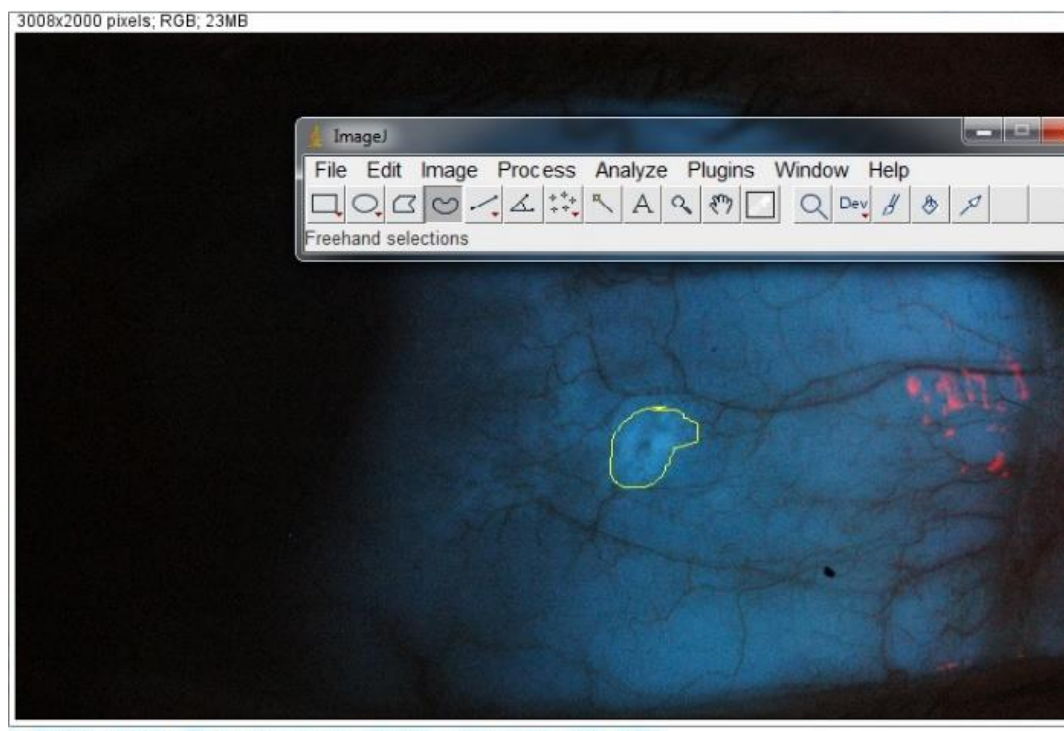
Фиг.29 Наличие на интензивни зони на УВАФ – ДО (горе) и ЛО (долу) при строител на открито, 35г, занимаващ се и със заваряване.

За да бъдат оценени обективно промените и да бъдат количествено изразени, площта на зоните с конюнктивална автофлуоресценция беше изчислена при всеки пациент. За целта беше използван софтуер ImageJ. Тази програма е разработена от Национални здравен институт в САЩ (NIH) и лабораторията за оптика и изчислителни инструменти в университета в Уисконсин и дава множество възможности за обработка, изчисляване на площ и анализиране на образи, от триизмерно представяне на клетки, до радиологични образи²⁴. Това я прави подходяща за настоящия труд, като беше използвана функцията за изчисляване на площ след ограждане на зоните на УВАФ с цел обективното им измерване и сравнение – фиг. 30.



Фиг.30 Обработена снимка със софтуер ImageJ за изчисляване на площта на УВАФ

Средната площ на зоните с автофлуоресценция (при участниците с налична такава) беше 168764 пиксела със средна ширина 124.745, минимална ширина 67 пиксела и максимална – 190 пиксела. Разбира се тези стойности варираха в широки граници, като при участникът с най-интензивни зони на CUVAF същите бяха съответно : площ – 370380 пиксела, средна ширина 137.539 пиксела, минимална ширина – 71 и максимална такава – 196 пиксела. Най – малката регистрирана зона беше при участник на 32г със липса на клинично проявен птериgium или пингвекула, но ясно наличие на малка зона на УВАФ с площ 14520 пиксела, средна ширина 10,307, минимална такава – 7,6 и максимална – 12,9 пиксела – фиг. 31. Част от останалите резултати са представени в таблица 6.



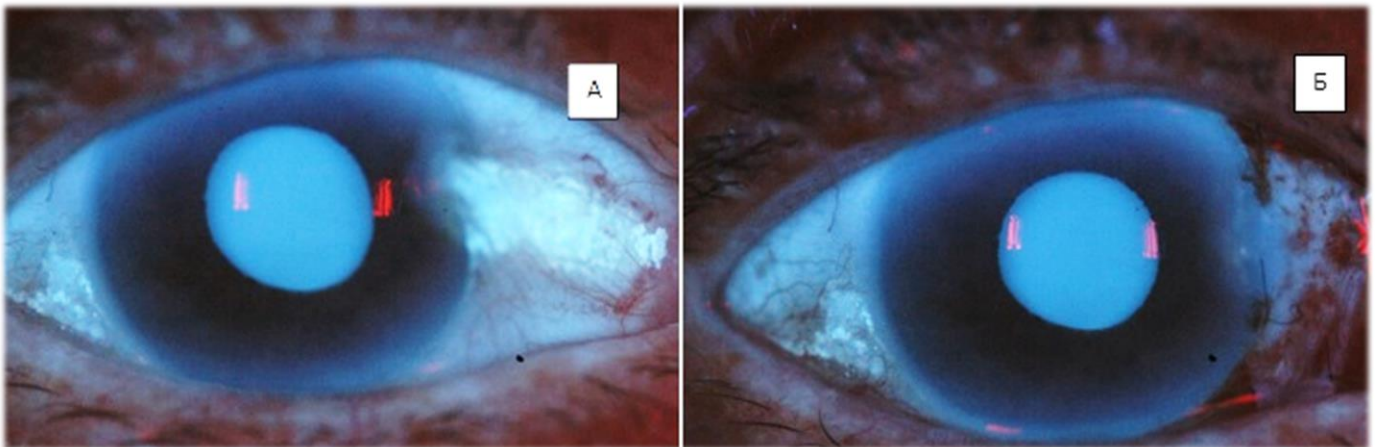
Фиг.31 Една от най-малките регистрирани зони на УВАФ, при пациент с липса на клинична находка и видими изменения по ПОП на нативна снимка.

	Area	Mean	Min	Max		Area	Mean	Min	Max
1	263450	139.318	49	179	16	193749	86.224	34	135
2	226678	110.328	57	152	17	9250	46.017	24	98
3	318135	136.537	77	193	18	251243	142.534	77	213
4	81100	139.296	67	181	19	94177	128.721	84	172
5	75211	72.259	32	116	20	133557	105.817	57	213
6	159996	125.500	26	169	21	225867	144.353	98	213
7	183572	100.214	35	140	22	57193	136.118	83	195
8	155869	60.015	10	126	23	23391	120.698	85	157
9	180042	79.210	26	140	24	174255	67.166	17	180
10	97686	98.325	52	158	25	238641	69.359	20	163
11	131670	115.900	44	166	26	153084	79.325	34	132
12	67775	125.936	84	157	27	13548	60.816	39	81
13	464451	119.609	23	204	28	67432	78.505	34	109
14	134011	85.710	27	135	29	116499	126.593	69	180
15	20701	48.358	29	71	30	226900	109.213	15	175

Табл. 6 Извадка от получените данни за площ на УВАФ при участниците с наличие на такава

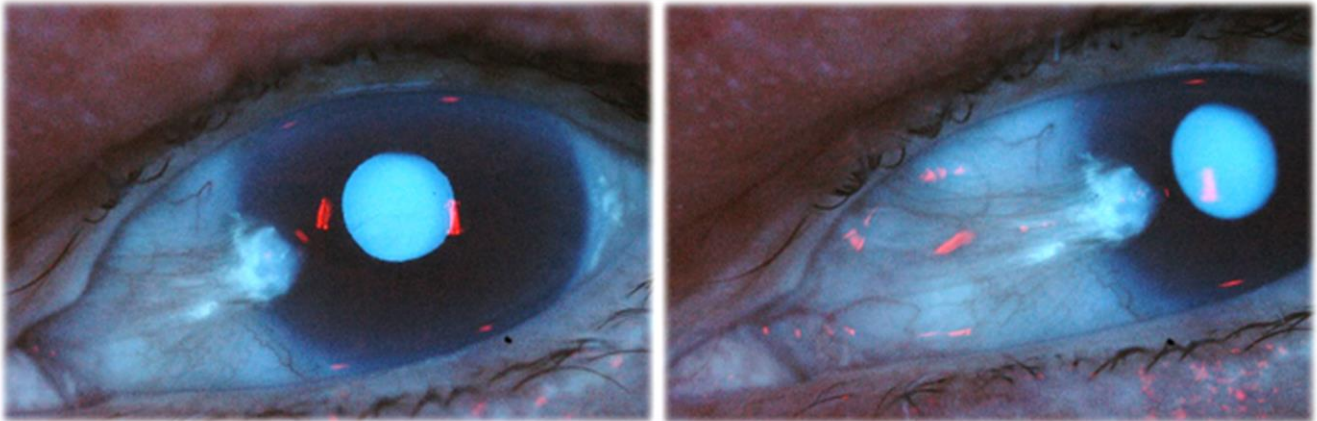
Получените резултати от обективното измерване на площта на зоните с автофлуоресценция потвърждават тезата, че с напредване на възрастта се увеличава както честотата, така и площта и интензивността на измененията по ПОП.

Някои от участниците в проучването имаха предишни документирани заболявания като пингвекула или птериgium. При тези пациенти беше проследено състоянието и документирани промените преди и след оперативно лечение. Впечатление прави интензивната конюнктивална автофлуоресценция преди оперативното отстраняване на птериgiuma. Зоната се простира и извън видимите граници на образуването - фиг.32. Постоперативното заснемане показва пълна ексцизия и липса на CUVAF.



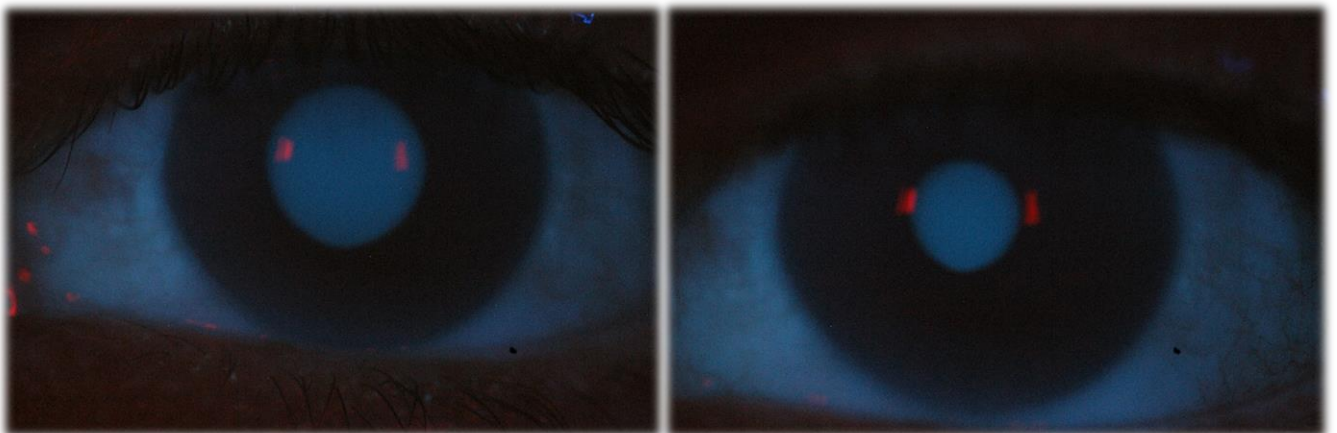
Фиг.32 Пациент с напреднал птериgium с интензивна УВАФ предоперативно (А) и постоперативно (Б)

При други пациенти с птериgium резултатите бяха аналогични, като проследяването на тези от тях, които отказаха оперативно лечение показва по- интензивно светене в областта на главата на птериgiuma с увеличение на размерите му (Фиг. 33).

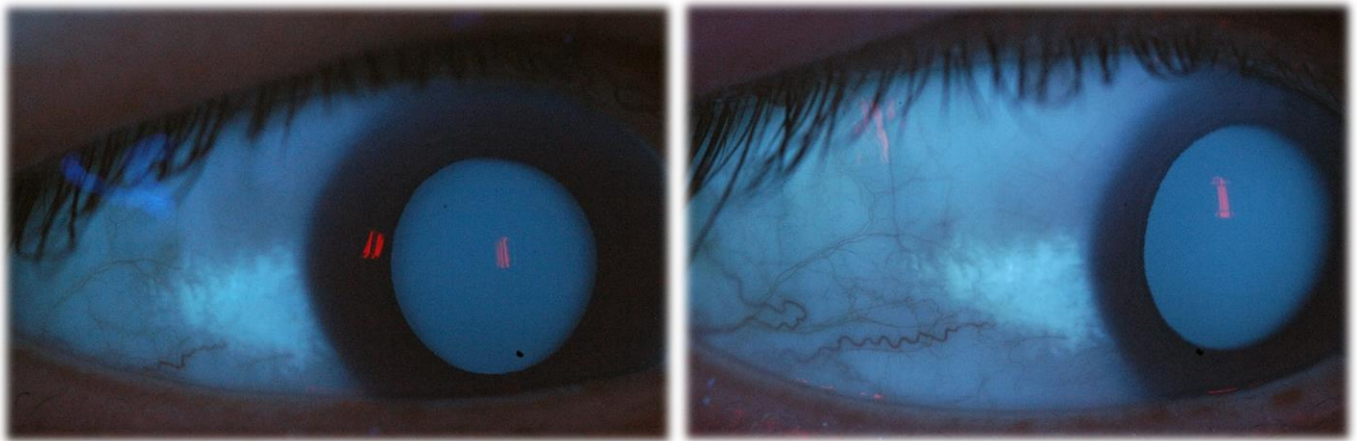


Фиг.33 Птериgium с видима УВАФ в областта на главата,

Някои от участниците бяха документирани преди и след посещение на плаж, като при част от тях фокусът беше липсата на протекция по време на интензивното УВ натоварване. Като изходно ниво бяха направени снимки, непосредствено след плаж без очила и шапка за слънце, както и на първа седмица след прекомерната експозиция. Установи се, че няма статистически значима разлика в зоната и интензитета на конюнктивална автофлуоресценция, което е в полза на тезата, че документираните изменения са по-скоро резултат от хронична УВ експозиция, а не толкова от еднократно натоварване на очите с УВ радиация.

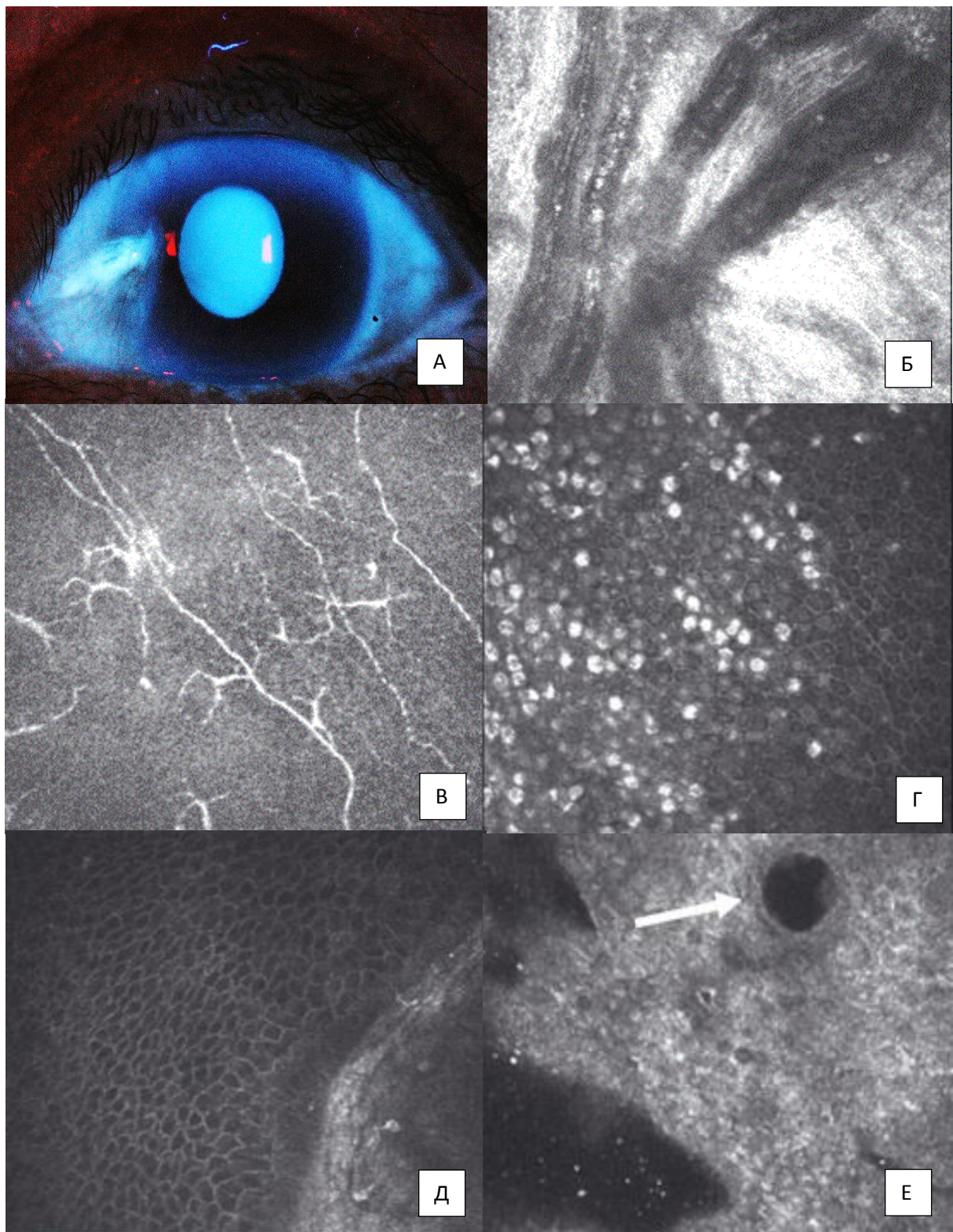


Фиг.34 Директно сравнение на резултатите преди и след интензивна експозиция (посещение на плаж без никакви защитни средства) при пациент без предшестващи зони на УВАФ



Фиг.35 Директно сравнение на резултатите преди и след интензивна експозиция (посещение на плаж без никакви защитни средства) при пациент с налични зони на УВАФ

Като част от проучването беше направена корелация на микроструктурно ниво на участниците с птериgium и пингвекула с конфокална микроскопия на живо. За целта беше използван Heidelberg Retina Tomograph (HRT) сканиращ лазерен микроскоп с HRT Rostock Cornea Module. При участниците с птериgium добре се визуализираха повърхностните хиперрефлексивни клетки с видимо ядро. В по-дълбоките слоеве като находка имаше малки капиляри и микрокисти. В роговицата се откриха повишен брой Лангерхансови клетки. Най-голямата им концентрация беше субепителен нервен плексус (фиг. 36). Тези данни потвърждават находката от предишни аналогични проучвания за микроструктурната характеристика на тези дегенеративните заболявания на конюнктивата ^{25, 26}.



Фиг.36 Пациент с напреднал птеригиум – снимка с камерата за ултравиолетова автофлуоресценция (А) и конфокална микроскопия на живо демонстрираща кръвоносни съдове(Б), клетъчна инфилтрация на ниво субепителен плексус (В), хиперрефлексивни елементи (Г), граница на птеригиума (Д) и централна част на главата на птеригиума с микрокисти (Е)

Дискусия

Ултравioletовото лъчение е незаменимо за живота на земята. Слънцето като най-мощен източник на енергия съдържа в състава си голямо количество къси вълни. Освен неоспорими ползи за организма като синтез на витамин D, регулиране на циркадния ритъм и нивата на серотинин, в прекомерно количество екпозицията на ултравioletова светлина може да бъде опасна за човек.

Кожата като най-голям орган е най-често уврежданата структура. Тъй като много често остро излагане на късовълново лъчение е свързано и със субективни оплаквания като болка, сърбеж и дразнене хората отдавна са запознати със влиянието на тази част от спектъра върху организма. Освен като остро въздействие, прекомерната екпозиция на ултравioletова радиация в дългосрочен аспект се асоциира с перманентни изменения, като най-честите варират от пигментни промени, атрофия, набръчкване и други, до трите най-чести вида рак на кожата – базалноклетъчен, плоскоклетъчен карцином и злокачествен меланом.

Тъй като до голяма степен хората са запознати със този ефект на слънчевите лъчи, повечето полагат грижа за защитата на кожата си и използват различни кремове и шапки. Това става ясно и от резултатите в нашата анкета, която затвърждава информираността им, като почти всички отговориха положително за връзка УВ експозиция – кожни увреди и риск от злокачествени новообразувания.

Не така стои въпроса, когато става дума за влиянието на ултравioletовите лъчи върху окото. Тъй като зрителния орган възприема електромагнитния спектър само в диапазона от 380-400nm до около 760nm, то голяма част от заобикалящото ни лъчение остава скрито за нас. Ултравioletовите лъчи са с дължина между 10nm и 380nm и тази им характеристика ги прави невидими за нас, съответно потенциално опасни. Като нашия „прозорец към света“ окото е подложено непрекъснато на високоенергийния им състав.

В резултат могат да се обособят две големи групи увреждания, които могат да настъпят от прекомерна експозиция на ултравioletова радиация: остри (остър фотокератит, конюнктивит, остра слънчева ретинопатия и други) и хронични (катаракта, птеригиум, пингвекула, меланом на ириса, макулна дегенерация и др.)

Това говори за комплексното въздействие на електромагнитния спектър върху нашия организъм и финия баланс между ползи и вреди.

В нашето проучване голяма част от хората не бяха запознати със опасностите, които крие тази прекомерна експозиция за окото. Тъй като в литературата липсват подобни анкети не можахме да направим сравнение с други проучвания за информираността на други популации. Впечатление прави и факта че над 84% от участниците асоциират ултравиолетовото лъчение със лятото, като напълно пренебрегват експозицията през другите сезони.

За да се изучат подробно ефектите на тази част от спектъра са предложени редица животински модели, някои от които се доближават до структурата и анатомията на човешкото око, но в същото време имайки фундаментални различия. Ето защо в литературата още е напълно дефинирана точната причина за част от тези заболявания.

Едни от заболяванията с доказана епидемиологична връзка с повишена дългогодишна експозиция на ултравиолетова светлина са дегенеративните промени на конюнктивата – пингвекула и птериgium. В литературата има подробно описание на клиниката и лечението на тези състояния. Не са много обаче описаните методи за ранен скрининг и превенция на тези заболявания.

През последните години е разработен метода за детекция на увреждания на преден очен сегмент на принципа на автофлуоресценция. Методът използва специализирана УВ камера, като позволява ранната диагностика на заболяванията преди да има изразена клинична картина. Съществува изявена връзка между зоните на конюнктивална ултравиолетова автофлуоресценция и очното увреждане, предизвикано от слънцето.

Проучване проведено в Тасмания и Брисбейн показва строга корелация между експозиция на ултравиолетова светлина и поява на зони с УВАФ, превръщайки метода в потенциален обективен маркер за ранен скрининг на офталмохелиози. Сравнявайки резултатите с нашето проучване се откриват разлики, като ние ги отдаваме предимно на различията в генофонда, географската ширина и различни социални фактори.

В едно от проучванията си, проф. Минас Коронео обяснява по-честото развитие на птериgium и зони с УВАФ назално от лимба в резултат на пълното вътрешно отражение на роговицата и фокусирането на ултравиолетовите лъчи предимно в тази област. Това не кореспондира

напълно с получените данни от други проучвания в литературата, в това число и нашето проучване, тъй като макар назално наистина да има зони на УВАФ, процентното разпределение, което ние получихме беше в най-голям процент за еднакво засягане назално и темпорално от лимба. При пациентите със засягане предимно от едната страна, уврежданията бяха предимно темпорално от лимба.

Според проучването на проф. Минас Коронео в назалната част на лимба се получава зона на фокусиране на лъчите, идващи от темпоралната страна, като това е причината за по-голямата честота и плътност на мътнините при кортикална катаракта в назалните квадранти на лещата. При нуклеарна катаракта проучванията не показват корелация с експозицията на УВ светлина.

Редица експерименти върху животински модели демонстрират индуциране на катаракта при експозиция на интензивна късовълнова радиация. Значение имат както дозата, така и дължината на вълната.

В проучване проведено на остров Норфолк са представени данни от детекция на конюнктивална автофлуоресценция, като резултатите показват по-изразени зони с по-голяма площ в по-млада възраст. Изследването включва популация от генетични изолати на остров, като резултатите се различават от получените от нас. При нашето проучване с напредване на възрастта се увеличаваше както броя на участниците със зони на УВАФ, така и площта и интензитета на светенето при тях. Ние свързваме това с разликата в географската ширина при двете проучвания, различните климатични условия, различния генетичен фонд, както и някои второстепенни фактори (като хранене, социални условия и други). С въвеждане на технологията за скрининг и ранна детекция на конюнктивална автофлуоресценция като ранен маркер за увреждания по ПОП се надяваме да получим допълнителни данни.

Подобно на резултатите от аналогичните проучвания се установи статистически достоверна зависимост между клинично видимите увреждания от УВ радиация (в частност пингвекула и птеригиум) и наличието на конюнктивална автофлуоресценция. Най-интензивните зони на светене са в областта на главата на птеригиума, като с напредване на заболяването интензитета в общия случай нараства. Тези резултати са сходни с получените при аналогични проучвания, показвайки потенциална на метода и за обективно документиране на прогресията на заболяването.

След ексцизия на птеригиума чрез стандартна техника се документира зоната постоперативно и на първи месец, като и в двата случая се доказва

пълна липса на конюнктивална автофлуоресценция (като контраст на явната такава предоперативно). Липсват данни за подобно проследяване от други проучвания. Това е причината, като бъдеща цел да се постави проследяването на световната литература за аналогични изследвания.

Като резултат от нашето проучване се заключи, че зоните на УВАФ нарастват по интензитет с напредване на възрастта. Едни от засегнатите участниците с най-изявени промени са с професии, предполагащи голямо УВ натоварване – спасители, строители на открито, заварчици. При тях типичното време на поява на зоните е изместено към по-млада възраст. Макар в литературата да липсва абсолютно аналогично проучване, други автори посочват също професионалната характеристика като рисков фактор.

В нашето изследване бяха оценени промените по предна очна повърхност преди и след увеличена експозиция на УВ светлина (в състава на слънчевите лъчи преди и след плаж), като особен интерес бяха тези участници, които не са използвали абсолютно никаква протекция. Липсата на промени преди/след е в полза на тезата, че наличието на зони УВАФ е резултат от хронично натоварване с УВ. С интерес очакваме други аналогични разработки по темата, тъй като досега няма подобно описано никъде в литературата.

Методът за детекция на изменения по предна очна повърхност на принципа на автофлуоресценция е сравнително нов и използва специализирана камера. Един от основните елементи е тялото (огледално – рефлексна дигитална система система), пропускащо ултравиолетова светлина до матрицата. Съществуват различни видове, фабрично пропускат УВ, поради некачествени филтри, например Nikon D70 и Nikon D40. Тъй като обаче в стандартната фотография това е нежелателно, по-новите и прецизни модели имат подобрени филтри, които трябва да бъдат предварително премахнати, както в използваното в настоящото проучване тяло Nikon D 100.

Другият основен елемент от камерата е обектива, като за настоящия труд беше използван специализиран филтър на UV-VIS-IR 60mm 1:4 APO MACRO на Coastal optics. Този обектив е различен модел от използваните при предишни проучвания (включително и на остров Норфолк). По-стари проучвания използват Nikkor 105mm f/4.5 UV. Недостатък при този модел са общо 6-те лещи, първите три от които са изработени от кварцово стъкло, а останалите три от калциев флуорид. Обективът на Coastal optics, използван в нашето проучване използва изцяло кварцови лещи, позволявайки

максимално количество УВ светлина да попадне върху матрицата на тялото. Тъй като е специализирана за УВ и астрофотография, същият пропуска електромагнитни вълни в спектъра под 350nm, до около 290nm, правейки го подходящ и за бъдещи проучвания.

Използваните допълнителни филтри пред обектива осигуряват попадане само на автофлуоресценция от предна очна повърхност. За осветителна система се използват две електронни светкавици, снабдени с УВ пропускащ филтър, който блокира видимата светлина. Увеличението и качеството на получените снимки са съпоставими с тези от аналогични проучвания.

Сравнението на микроструктурно ниво, използвайки конфокална микроскопия на живо даде резултати, които до голяма степен съвпадат с получените от сходни микроструктурни проучвания на пациенти с пингвекула и птериgium.

В публикувани други наши проучвания се измерва обективно количеството ултравиолетова радиация достигаща окото, което показва значителна експозиция по време на обедните часове, както и през летния сезон, когато пътя на слънцето над земята е по-кратък. Въпреки това кумулативната енергия е индивидуална и зависи от редица фактори.

Катарактата е социално значимо заболяване, което е водеща причина за слепота в световен мащаб. Това заболяване има комплексна етиология, като не на последно място се посочва ултравиолетовата радиация. Мътнини в лещата могат да бъдат индуцирани и *in vitro* след прекомерна УВ експозиция. В литературата липсват преки доказателства за възникването на нуклеарна катаракта изцяло вследствие на ултравиолетови лъчи, но има проучвания, че повишеното натоварване с късовълново лъчение в млада възраст ускорява катарактогенезата в напреднала възраст.

Интересни резултати за честотата на катаракта в световен мащаб и връзката с ултравиолетовата радиация дава проучването *Global Burden of Disease*²⁷ и *Global data on blindness*²⁸. Според тях за заболяването (особено при кортикалната форма – до 25%) един от предразполагащите фактори е именно ултравиолетовата експозиция. Ако приемем, че под различна форма УВ лъчението влияе върху катарактогенезата, то този процент нараства. Авторите на труда заключават, че за появата на заболяването може да бъде намалена с близо 5% след използване на протекция под различна форма. Тъй като лещените мътнини имат не само здравословно, но и социално влияние темата с изключително голямо значение.

Тъй като ултравиолетовото натоварване не е еднакво навсякъде по земята повърхност е създадена унифицирана система под формата на UV-индекс. UV-индексът не е само метеорологично понятие, тъй като връзката между кожни заболявания (в частност злокачествени като меланом) и прекомерното излагане на вредни лъчи е отдавна известно. В последните години използването на изкуствени източници (напр. солариуми) се засилва, което изисква специално внимание и информационни кампании за последиците и потенциалните вреди, тъй като до голяма степен хората не са запознати с тях.

В последните години се обръща все по-голямо внимание на проблема с дългосрочното влияние на ултравиолетовата светлина върху организма. Ето защо световната здравна организация провежда кампания Intersun, целяща информиране на населението за опасностите и защитаване на децата, като най-уязвима група от UV-лъчите. Според Австралийско проучване 4 от 5 случая с кожно злокачествено новообразование могат да бъдат предотвратени чрез промяна в навиците за експозиция на слънчева светлина. Набляга се на средства като шапки, слънцезащитни кремове, очила, специални тъкани за абсорбция на UV. Именно по тази причина, създавайки анкетата за настоящото проучване бяха включени аналогични въпроси.

Нашето проучване показва задоволителни познания относно зависимостта UV - кожни промени, като в световната литература има проучвания и анкетни карти по темата. След анализиране се оказва, че няма съществена разлика между нашите резултати и получените от други автори.

Това което липва в литературата обаче е анкета за познанията на хората относно очните увреди от липса на протекция на очите. Създадената от нас е първата по рода си, като за жалост показва шокиращо незнание по темата и подценяване на опасността от хронична ултравиолетова експозиция. Голяма част от участниците не използват никаква протекция, а тези от тях, защитаващи очите си (в най-голям процент със слънчеви очила) ги избират по модни подбуди, като често формата им не осигурява оптималната за окото протекция.

Наша бъдеща цел е да се повиши информираността на хората за потенциалните рискове, както и да се подобрят навиците за защита на очите. С интерес очакваме резултатите от други аналогични проучвания на световно ниво.

Повишаването на знанията ще намали времето на експозиция, ще повиши процента хора, използващи кожна и очна протекция от UV лъчение

и като дългосрочен ефект може да намали заболеваемостта от определени заболявания. Това след себе си неминуемо води и до понижаване на разходите за лечение и повишава качеството на живот на нашите пациенти. В съвременната медицина именно качеството на живот е във фокус и повишването му е усилие на всички нас ²⁹.

Разработената камера за детекция на увреждания на ПОП на принципа на автофлуоресценцията може да е стъпка в тази посока и да бъде използвана за детекция на промени, преди те да бъдат клинично видими.

Световния UV индекс поставя нашата страна в зоната на прехода между южната част на умерения климатичен пояс с влияние на субтропика. Цветовната карта следва тенденцията за максимално интензивно UV облъчване в екваториалната област с постепенно намаляне към полюсите. Впечатление прави остров с екстремно UV натоварване в Южна Америка, като тази зона на интензивно облъчване отговаря на участък от озоновия слой с намалена плътност. Стойностите на UV индекса в региона на южна Аржентина и Чили достигат до над 10.0, при очаквана норма около 4-5. Озоновия слой функционира като бариера, спираща всички UVC лъчи и голяма част от UVB, но намаляването на дебелината и плътността му в определени зони определя по-голям риск за населението, което ги обитава. Динамичността на процеса крие риска и в други зони UV натоварването да се увеличи с годините.

Катедрата по очни болести и зрителни науки към медицински университет „Проф. Д-р Параскев Стоянов“ - Варна беше първата в страната, която имаше възможност да работи с конструираната от Проф. Минас Коронео камера за детекция на изменения по ПОП на принципа на конюнктивална автофлуоресценция. Под ръководството на Проф. Д-р Христина Групчева и неуморна работа ние създадохме аналогична, но по-добра система, улавяща и най-фините зони на УВАФ, с която изследвахме българската популация. Вярваме, че това отваря нови възможности за диагностика и отговаря на нуждата на съвременната медицина от ранна диагностика и превенция на социално значими заболявания.

Изводи

1. Проведеното проучване потвърди потенциално негативното въздействие на ултравиолетовите лъчи върху окото
2. Ефектите зависят от редица фактори като дължина на вълната време на експозиция и интензитет на облъчването, като повечето изменения, които се наблюдават са концентрирани върху предна очна повърхност.
3. Освен остро увреждане на окото при прекомерна експозиция е налице кумулативен дългогодишен ефект, който е в основата на редица очни заболявания (като пингвекула, птериgium и катаракта)
4. Анализирането на резултатите от създадената от нас анкета показва задоволителни познания на хората относно вредите, които ултравиолетовото лъчение може да предизвика в кожата, както и за различните методи за защита на кожата.
5. Резултатите, касаещи информираността на участниците относно влиянието на UV върху окото и методите за протекция показват изненадващо голям процент на хора, подценяващи късовълновото лъчение като фактор за очна заболеваемост, като голям процент от участниците не използват никакви средства за протекция.
6. Повечето (близо 84%) от анкетираните смятат, че ултравиолетова радиация има само през лятото (свързвайки я с температурните особености на сезона), като тотално подценяват останалите сезони.
7. Направения анализ на литературата показва добро ниво на информираност относно кожните увреждания в световен мащаб. Липсват обаче анкети, аналогични на създадената от нас за връзката ултравиолетово лъчение – око, което прави сравнението невъзможно.
8. Подобно на използваната от десетилетия и призната в дерматологията лампа на Woods за диагностика на кожни заболявания е създадена камерата за детекция на промени по ПОП, използвайки метода на конюнктивална автофлуоресценция. Това е сравнително нов и обективен метод за ранна детекция на увреждания на предната очна повърхност.
9. Документирането и анализирането на всички участници показва, че при общо 207 (64,69%) от тях е налице зона на УВАФ. Зоните се различават по своето разположение (предимно назално, темпорално или двустранно на лимба), големина и интензитет. Направен е анализ и съпоставка между размера на зоните и защитните навици .

10. Установено е, че с нарастване на средната възраст на участниците се увеличават както процентът с наличие на CUVAF, така и интензитета на променените зони.
11. Най-изразени промени се наблюдават при хора, занимаващи се с работа на открито (спасители на плажа, строители на открито), както и при тези, чиято работа е свързана с изкуствени източници на УВ (заварчици).
12. Установи се липса на УВАФ промени след еднократно интензивно натоварване с УВ лъчение, като това потвърждава тезата за кумулативния ефект върху окото дълготрайните промени, които то може да предизвика.
13. Доказа се пряка зависимост между навиците за протекция на очите на участниците и обективно документираните промени в преден очен сегмент.

Приноси на дисертационния труд

Приноси с познавателен характер:

1. Направен е анализ на публикуваната литература, касаещ рисковете, които ултравиолетовите лъчи носят за окото, както и ефектите на дългосрочната експозиция.
2. Направен е задълбочен анализ на наличната литература и са анализирани заболяванията, предизвикани от УВ, засягащи преден очен сегмент, като детайлно са разгледани етиологията, патогенезата, рисковите фактори и честотата им
3. Направен е физичен анализ на естествените и изкуствени потенциални източници на увреда, както в домашни, така и в професионални условия.
4. Направено е задълбочено проучване за наличните и експериментални методи за ранна диагностика и скрининг, използвани в дерматологията и офталмологията след ултравиолетова експозиция.
5. Обстойно е проучена цялата налична литература към момента относно използвания метод на конюнктивална УВАФ, и получените данни са взети под внимание в настоящия труд.

Приноси с научно-приложен характер:

1. Създадена е специализирана камера за детекция на ултравиолетови увреждания с фотография на принципа на автофлуоресценцията, базирана на прототип на Проф. Минас Коронео.

2. Проведено е проспективно проучване, което се основава на конюнктивалната автофлуоресценция, метод за обективна детекция и количествена оценка на промените по ПОП.
3. За пръв път е създадена база данни с резултатите на всеки участник, като всички погледни позиции са стандартизирани с цел по-точен анализ и бъдещи проучвания.
4. Разработена е анкетна карта, която интегрира въпроси за информираността на пациентите относно кожни и очни заболявания, както и такива, свързани с личните начини на защита на всеки един участник.
5. Направен е микроструктурен анализ на автофлуоресциращите зони.

Приноси с потвърдителен характер

1. Доказано е, че част от промените по предна очна повърхност са резултат от кумулативна дълготрайна УВ експозиция.
2. Доказано е, че камерата за детекция на конюнктивална автофлуоресценция може да бъде използвана като метод за ранна диагностика, както и за обективно дългосрочно проследяване на промените по ПОП, свързани с късовълново лъчение.
3. Установена е пряка зависимост между резултатите от нативните снимки при участници с клинично видими заболявания и находката от камерата за детекция на УВАФ.
4. Установено е, че с напредване на възрастта се увеличават процентно хората със зони на CUVAF, като при възрастовата група над 60г този процент достига до над 85%. В същото време се наблюдава и увеличение по площ и интензитет на находките.
5. Установено е, че камерата за детекция на УВ увреждания може да бъде използвана като метод за обективна оценка на състоянието на ПОП след ултравиолетова експозиция, в някои случаи преди клинично видими изменения.

Резюме

Благотворното влияние на слънчевата енергия за живота на земята е безспорно. Повечето жизнени процеси са немислими без енергията, която ежедневно достига земната повърхност. Тъй като е в тясна връзка с околната среда, човешкият организъм непрекъснато е изложен на част от електромагнитния спектър. Прекомерната експозиция обаче може да бъде опасна за редица системи и познаването на адекватните методи за протекция е от съществено значение за предпазването от редица заболявания.

Повечето от нас са наясно с част от ефектите на слънчевата светлина, но ги асоциират предимно с кожни увредания, като подценяват ефектите на ултравиолетовата радиация върху окото. Допълнително затруднение е дължината на този спектър, който не попада в обхвата на видимите лъчи и го превръща в потенциална невидима заплаха.

В литературата има малко съвременни данни за увреждането на окото от УВ светлина. Едва наскоро е описан метод за обективна оценка на УВ измененията на ПОП, като се използва иновативен метод за детекция на конюнктивална автофлуоресценция.

Цел:

Целта на настоящия дисертационен труд е да се окомплектова подобрена камера за детекция на измененията по предна очна повърхност от ултравиолетова светлина за да се приложи като обективен метод за диагностика и профилактика на уврежданията и заболяванията на окото, предизвикани от УВ въздействие. Допълнително е създадена специална анкетна карта относно познанията на хората за УВ светлина, за опасностите, която крие тя за организма и за различните начини за протекция, които се използват.

Материали и методи:

Настоящото проучване е проведено в катедрата по Очни болести и зрителни науки на Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна и в Специализирана болница по очни болести за активно лечение – Варна. Периодът който обхвана е 5г (2014г – 2018г вкл.). За този период бяха събрани данни за общо 320 участника. След предварително попълване на анкетна карта и пълен офталмологичен преглед беше документирана предната им очна повърхност с камерата за УВ детекция. С цел повторяемост бяха направени по 6 снимки на всеки участник в по три погледни позиции на всяко око, под постоянен ъгъл.

Резултати:

В настоящия дисертационен труд са представени резултатите от проучване, обхващащо 320 участника (640 очи) за период от около 5г (2014г – 2018г вкл.). Те бяха избрани на случаен принцип, като най-младия участник беше на 5години, а най-възрастния – 83г. Средната възраст на участниците в изследването беше 44,5 години. Всички данни бяха събрани, съхранени и обработени статистически (SPSS Statistics v19). Участниците бяха предимно мъже - 64,06% (205 участника, 410 очи), жени 35,94% (115 жени, 230 очи). При 207 от участниците имаше налична зона на УВАФ (64,69%), с преобладаване на мъжкия пол (мъже n=92, жени n=76). Преобладаването на мъжкия пол се дължи на по-големия брой участници, т.к. анализът показва че при жени конюнктивална ултравиолетова автофлуоресценция (УВАФ) се среща по-често- при 66,09% от жените са налични зони на автофлуоресценция, докато при мъжете този процент е 44,88%. При анализ на разпределението на участъците с автофлуоресценция спрямо лимба преобладават участниците със засягане двустранно от лимба-59%, следвани от темпорално засягане 30% и назално-11%. Възрастовия профил на участниците с промени показва, че с напредване на възрастта се увеличава честотата на CUVAF, като нараства и по големина и интензивност. В групата над 60г при 85,18% от участниците има данни за конюнктивална автофлуоресценция. Анализът на анкетните карти показва сравнително добра информираност за връзка между UV и кожно засягане (86,4%), с над 72% от анкетирания асоцииращи ултравиолетовата светлина и продължителната експозиция на слънце с потенциална поява на кожен меланом. В същото време едва 6,5625% (21 участника) асоциират излагането на слънце с очни увреждания.

Голям процент не използват никаква защита на очите от UV - 31,56% или 101 участника. Анализа на зоните на УВАФ при тези учасници показва особено висока честота на измененията, като най-тежки са те при работници на открито.

Заклучение:

Тенденцията за увеличена продължителност на живота и стремеж към повишено качество на живот издигат на преден план методите за ранна диагностика и профилактика в медицината. Камерата за UV детекция позволява навременно установяване на промените и потенциално намаляване на свързаните с UV лъчението заболявания на окото.

Abstract

The beneficial influence of solar energy on earth's life is indisputable. Most of the life processes are unthinkable without the energy that reaches the earth's surface daily. Since it is in tight relationship with the surrounding environment, the human organism is continuously exposed to a portion of the electromagnetic spectrum. Excessive exposure may, however, be dangerous for a number of the organism's systems and the knowledge for adequate methods of protection is essential to prevent number of diseases.

While most of us are aware of the sunlight effects, the knowledge is associated mostly with skin damage, underestimating the effects of ultraviolet radiation on the eye. An additional difficulty is the wavelength of this spectrum, which does not fall within the visible rays and makes it a potential invisible threat.

In the literature, there is little current evidence of damage to the eye from UV light. A method of objectively assessing UV variations of the anterior eye segment using an innovative method of detection of conjunctival autofluorescence is only recently described.

Aim:

The purpose of this dissertation is to provide the results from an improved camera for detection of ultraviolet changes of the anterior eye segment as an objective method for diagnosis and prophylaxis. In addition, a special questionnaire on people's knowledge for UV light, hazards for the body and for different protection habits that are being used is created.

Materials and methods:

This study was conducted in the Department of eye diseases and visual sciences at the medical university "Prof. Dr. Paraskev Stoyanov" - Varna and Specialized hospital for ophthalmic diseases and active treatment - Varna. The period covered is 5 years (2014-2018 inclusive). For this period, data was collected for a total of 320 participants. After preliminary filling in a questionnaire and full ophthalmologic examination, their anterior surface was documented with the UV detection camera. For the purpose of repeatability, 6 photos were taken of each participant in three views of each eye, at a constant angle.

Results:

This dissertation presents the results of a study involving 320 participants (640 eyes) over a period of 5 years (2014-2020 inclusive). They were randomly selected, the youngest participant being 5 years old, and the oldest - 83 years old. The mean age of the study participants was 44.5 years. All data was collected, stored and processed statistically (SPSS Statistics v19). The participants were mostly men - 64.06% (205 participants, 410 hours), women 35.94% (115 women, 230 eyes). In 207 of the participants there was CUVAF (64.69%) area with male prevalence (men n = 92, women n = 76). The predominance of male gender is due to the larger number of participants, because the analysis shows that women with CUVAF are more common - 66.09% of women have UVAF zones, while for men this percentage is 44.88%). In the analysis of the distribution of the auto fluorescence sections regarding the limbus, the participants with involvement of both sides of the limbus were most -59% predominate, followed by temporal involvement of 30% and nasal-11%. The age profile of participants with changes suggests that as age increases, the incidence of CUVAF increases as well as in size and intensity. In the group over 60 years 85.18% of participants had evidence of conjunctival auto fluorescence. Analysis of the questionnaire shows relatively good awareness of the link between UV exposure and skin involvement (86.4%), with over 72% of the respondents associating ultraviolet light and prolonged sun exposure with potential skin melanoma. At the same time, only 6,56% (21 people out of 320) link it to eye damage.

A large percentage does not use any eye protection from UV light - 31.56% or 101 participants. An analysis of the CUVAF zones in these subjects shows a particularly high frequency of damage, the worst being in outdoor workers.

Conclusion:

The trend of increased life expectancy and the pursuit for improved quality of life highlight the methods of early diagnosis and prophylaxis in medicine. The UV detection camera allows early detection of changes and potential reduction of UV-related eye diseases.

Публикации свързани с дисертационния труд

1. Neshkinski E., Boyadzhiev D., Grupcheva Ch. Sun protection habits and ocular UV damage of the Bulgarian population, first results using the method of conjunctival ultraviolet fluorescence, Scripta Scientifica Medica, Volume 45, №4:42-47
2. Photodamage of the anterior eye surface from UV radiation. Adequate methods of protection, D Boyadzhiev, E Neshkinski, H Grupcheva, Варненски медицински форум (Varna Medical Forum) 5, 64-67
3. UV profiling in the area of the eyes, MG Marinov, SD Marinova, DH Boyadzhiev, DI Grupchev, EV Neshkinski, ...Bulgarian Review of Ophthalmology, 9-17
4. Бояджиев Д., Нешкински Е., Маринов М., Бояджиева М., Групчева Хр., Конюнктивална автофлуоресценция – иновативна технология за ранна диагностика на уврежданията на предната очна повърхност от въздействието на околната среда, Български офталмологичен преглед, бр.4/2017

Благодаря на семейството и приятелите, които през годините ми помагаха със съвети и неспирна подкрепа. Вие бяхте неотлъчно до мен, като в трудните моменти ми вдъхвахте нови сили и желание да продължа.

Специални благодарности към Проф. Д-р Христина Групчева за това, че запали искрата на офталмологичната ми кариера както клинично, така и научно. Вашите иновативни идеи, нестихваща енергия и морална подкрепа ме правят благодарен и горд, че именно Вие сте моят научен ръководител.

БИБЛИОГРАФИЯ

Използвана чуждестранна литература:

-
- ¹ ‘What Is a DSLR (Digital SLR) Camera?’, *Photography Life* <<https://photographylife.com/what-is-a-dslr>> [accessed 2 February 2019].
- ² Sumeet Khanduja and others, ‘Use and Validation of Mirrorless Digital Single Light Reflex Camera for Recording of Vitreoretinal Surgeries in High Definition’, *Indian Journal of Ophthalmology*, 66.1 (2018), 106–9 <https://doi.org/10.4103/ijo.IJO_511_17>.
- ³ ‘Cameras for UV: Pros & Cons of Various Choices’, *UltravioletPhotography* <<http://www.ultravioletphotography.com/content/index.php/topic/1009-cameras-for-uv-pros-cons-of-various-choices/>> [accessed 2 February 2019].
- ⁴ ‘All About Digital UV and IR. Page 7: Which Lenses?’ <http://www.naturfotograf.com/UV_IR_rev05.html> [accessed 2 February 2019].
- ⁵ ‘Company Seven | Nikon UV-Nikkor 105 / Rayfact PF10545MF-UV Lens Description Page’ <<http://www.company7.com/nikon/lens/0105f4.5uv.html>> [accessed 2 February 2019].
- ⁶ Justin C. Sherwin and others, ‘The Association between Pterygium and Conjunctival Ultraviolet Autofluorescence: The Norfolk Island Eye Study’, *Acta Ophthalmologica*, 91.4 (2013), 363–70 <<https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2011.02314.x>>.
- ⁷ ‘The Macrolens Collection Database’ <http://www.macrolenses.de/ml_detail_sl.php?ObjektiveNr=344> [accessed 2 February 2019].
- ⁸ nfoto, ‘How to Make a UV Photograph’, *UltravioletPhotography* <<http://www.ultravioletphotography.com/content/index.php/topic/80-how-to-make-a-uv-photograph/>> [accessed 2 February 2019].
- ⁹ ‘UV-VIS-IR 60 Mm 1:4 APO Macro’ <https://www.photonics.com/Buyers_Guide/ProdSpec/Optics/UV-VIS-IR_60_mm_14_APO_Macro/psp6246> [accessed 4 February 2019].

-
- ¹⁰ David H. Marimont and Brian A. Wandell, ‘Matching Color Images: The Effects of Axial Chromatic Aberration’, *Journal of the Optical Society of America A*, 11 (1994), 3113–22 <<https://doi.org/10.1364/JOSAA.11.003113>>.
- ¹¹ What Digital Camera, ‘APO Lens: What Is It and How Does It Work?’, 2015 <https://www.whatdigitalcamera.com/technology_guides/apo-lens-what-is-it-and-how-does-it-work-63346> [accessed 4 February 2019].
- ¹² ‘Achromat and Apochromat – What Is the Difference?’, @zeisscameralenses, 2000 </photo/en/article/achromat-and-apochromat-what-is-the-difference/> [accessed 4 February 2019].
- ¹³ ‘B+W77mm 489 Infrared Glass Filter’ <https://www.bhphotovideo.com/c/product/8386-REG/B_W_65019107_77mm_489_Infrared_Glass.html> [accessed 4 February 2019].
- ¹⁴ ‘B+W28mm 420 UV-Blocking Glass Filter’ <https://www.bhphotovideo.com/c/product/234866-REG/B_W_BW42028_28mm_420_UV_Blocking_Glass.html> [accessed 4 February 2019].
- ¹⁵ ‘Battery Grip, Wireless Flash Trigger, Wireless Flash Transceiver, TTL Flash Trigger, Wireless Remote Control, Battery Shaft, Connecting Cable --PIXEL ENTERPRISE LIMITED’ <<http://www.pixelhk.com/products/show/20>> [accessed 4 February 2019].
- ¹⁶ ‘Baader UV/IR Cut / L-Filter - Filters’ <<https://www.baader-planetarium.com/en/baader-uvir-cut--l-filter.html>> [accessed 4 February 2019].
- ¹⁷ I. Jalbert and others, ‘In Vivo Confocal Microscopy of the Human Cornea’, *British Journal of Ophthalmology*, 87.2 (2003), 225–36 <<https://doi.org/10.1136/bjo.87.2.225>>.
- ¹⁸ ‘Memoir on Inventing the Confocal Scanning Microscope - Minsky - 1988 - Scanning - Wiley Online Library’ <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/sca.4950100403>> [accessed 5 February 2019].
- ¹⁹ Lyndell L. Lim and others, ‘In Vivo Laser Confocal Microscopy Using the HRT-Rostock Cornea Module: Diversity and Diagnostic Implications in Patients with Uveitis’, *Ocular Immunology and Inflammation*, 26.6 (2018), 900–909 <<https://doi.org/10.1080/09273948.2017.1298818>>.
- ²⁰ <<http://www.metamedika.com/h-HRT.php>> [Accessed 6 February 2019].

²¹ ‘In Vivo Confocal Microscopy of the Cornea: New Developments in Image Acquisition, Reconstruction, and Analysis Using the HRT-Rostock Corneal Module - ScienceDirect’

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1542012415000518>> [accessed 6 February 2019].

²² J F Olivier and MB ChB, ‘Common Conjunctival Lesions’, 4.

²³ ‘Norfolk Island Climate: Average Weather, Temperature, Precipitation, Best Time’ <<https://www.climatestotravel.com/climate/norfolk-island>> [accessed 6 February 2019].

²⁴ Caroline A. Schneider, Wayne S. Rasband, and Kevin W. Eliceiri, ‘NIH Image to ImageJ: 25 Years of Image Analysis’, *Nature Methods*, 9.7 (2012), 671–75.

²⁵ Antoine Labbé and others, ‘An In Vivo Confocal Microscopy and Impression Cytology Evaluation of Pterygium Activity’, *Cornea*, 29.4 (2010), 392 <<https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e3181bd44ce>>.

²⁶ Yan Wang and others, ‘In Vivo Confocal Microscopic Evaluation of Morphologic Changes and Dendritic Cell Distribution in Pterygium’, *American Journal of Ophthalmology*, 150.5 (2010), 650-655.e1 <<https://doi.org/10.1016/j.ajo.2010.05.025>>.

²⁷ *The Global Burden of Disease: 2004 Update*, ed. by Weltgesundheitsorganisation (Geneva, 2008).

²⁸ B. Thylefors and others, ‘Global Data on Blindness.’, *Bulletin of the World Health Organization*, 73.1 (1995), 115–21.

²⁹ Clare Bradley, ‘Importance of Differentiating Health Status from Quality of Life’, *The Lancet*, 357.9249 (2001), 7–8 <[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)03562-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)03562-5)>.

Използвани източници на български език:

- I. Андреев. Синдром на сухо око (keratoconjunctivitis sicca); Мединфо, 2010 г., брой 6;
- II. Войнов Л., Цветков В, Генов К. Диференциална диагноза и поведение при синдрома “червено око”. Мединфо 2004, бр.1,
- III. Групчева Хр. Учебник по очни болести за студенти по медицина и дентална медицина, издателска къща Стено, 2010г.
- IV. Дъбов, Ст. Спешна офталмология, издателска къща Медицина и физкултура 1980
- V. Иванова Ц., Войнов Л. Сухо око, Мединфо, 2008 г., брой 3;
- VI. Марков, Цв, Лъчеви увреждания на очите, издателска къща Медицина и физкултура, 1990
- VII. Маждракова-Чалманова И., Учебник по очни болести, издателство Болид, 2008г
- VIII. Шандурков И., Василева П. Синдром на сухото око – етиология, диагностика, нови тенденции на лечение, Мединфо, 2007 г., бр. 3;