



**Медицински университет
“Проф. Д-р Параскев Стоянов” - Варна
Факултет „Медицина”
Катедра “Очни болести и зрителни науки”**

Д-р Младена Николаева Радева

**Възможности за микроструктурен
анализ и оценка на уврежданията на
предната очна повърхност от
ултравиолетови лъчи с естествен и
изкуствен произход**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за придобиване на
образователна и научна степен „Доктор”,
научна специалност „Офталмология”,
шифър 03.01.36

Варна, 2021



**Медицински университет
“Проф. Д-р Параскев Стоянов” - Варна
Факултет „Медицина”
Катедра “Очни болести и зрителни науки”**

Д-р Младена Николаева Радева

ДИСЕРТАЦИЯ

за присъждане на образователна и научна степен „ДОКТОР”
по научна специалност „Офталмология”,
шифър 03.01.36

на тема

**Възможности за микроструктурен анализ и оценка на
уврежданията на предната очна повърхност от
ултравиолетови лъчи с естествен и изкуствен произход**

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

Варна, 2021

Дисертационният труд съдържа 153 страници и е онагледен с 21 таблици и 38 фигури. Цитирани са 400 литературни източници, от които 2 са на кирилица, а 398 на латиница.

Дисертационния 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:

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

Външни членове:

Проф. д-р Цветомир Иванов Димитров, д.м

Доц. д-р Весела Иванчева Любенова, д.м

Доц. д-р. Марин Ангелов Атанасов, д.м

Вътрешни членове:

Проф. д-р Христина Николова Групчева, д.м.н

Доц. д-р Бинна Николаева Ненчева, д.м

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 05.03.2021г. от 08:30 часа в зала 214, Специализирана Болница по Очни Болести за Активно Лечение - Варна, на открито заседание на Научното жури. Материалите по защитата са на разположение в библиотеката на Медицински Университет – Варна.

Съдържание

Съдържание	4
Използвани съкращения	6
Въведение.....	8
Цел и задачи.....	10
Цел на изследването.....	10
Задачи.....	10
Материали и методи	11
1. Обща част	11
2. Въпросници	12
3. Методология.....	16
<i>Конюнктивална автофлуоресценция</i>	<i>16</i>
<i>In vivo конфокална микроскопия.....</i>	<i>18</i>
<i>Протокол за извършване на in vivo сканираща конфокална микроскопия в настоящото проучване.....</i>	<i>20</i>
<i>Клиничен преглед и клинична фотография с помощта на биомикроскоп</i>	<i>21</i>
4. Група с излагане на естествени UV лъчи.....	21
5. Група с излагане на изкуствени UV лъчи	22
<i>Соларни сесии.....</i>	<i>22</i>
<i>Контролна група</i>	<i>23</i>
6. Анализ.....	23
<i>Анализ на изображенията.....</i>	<i>23</i>
<i>Статистически анализ</i>	<i>24</i>
<i>Анализ на демографски данни</i>	<i>24</i>
<i>Анализ на клинични данни</i>	<i>24</i>
<i>Анализ на микроструктурни данни.....</i>	<i>24</i>
Резултати.....	25
I. Демография на участниците и въпросник	25
1. Група с излагане на естествени UV лъчи.....	25
2. Група с излагане на изкуствени UV лъчи.....	26
II. Микроструктурни промени.....	30
1. Група с излагане на UV лъчи от естествен източник.....	30
2. Група с излагане на UV лъчи от изкуствен източник.....	45
III. Хипотези за офталмохелиози	54
Дискусия	57
Профилактика на очния анализатор срещу слънчевото ултравиолетово въздействие	57

<i>Слънчеви очила</i>	57
<i>Контактни леци</i>	61
<i>Очни колири</i>	62
<i>Шапки</i>	64
Профилактика при изкуствени източници на ултравиолетова светлина	65
<i>Превенция</i>	65
<i>Данъчно облагане на сесиите за придобиване на изкуствен тен</i>	69
Социални, клинични и микроструктурни аспекти на ултравиолетовото облъчване и защита на очните структури	69
Заключение	73
Обобщение	74
Изводи	75
Приноси.....	76
Резюме.....	77
Abstract	79
Списък с публикациите, свързани с темата на дисертационния труд.....	81
Участия в международни и национални научни форуми.....	81

Използвани съкращения

БКК - БазалноКлетъчен Карцином

ВОТ – ВътреОчна Течност

Г.Ш. – Географска Ширина

ДНК - ДезоксирибоНуклеинова Киселина

ЕЦМ – ЕкстраЦелуларен Матрикс

ИВКМ – Ин Виво Конфокална Микроскопия

ЛСК - Лимбални Стволови Клетки

ЛСКМ – Лазер-Сканиращ Конфокален Микроскоп

МЕД – Минимална Еритемна Доза

МДСВ – Макулна Дегенерация Свързана с Възрастта

ММП – Матриксна Металопротеаза

НМРК - НеМеланомен Рак На Кожата

НПП - Незабавно Потъмняване На Пигмента

ОСТ – Оптична Кохерентна Томография

ПАМ - Първично Придобита Меланоза

ПКК - ПлоскоКлетъчен Карцином

ПКЦ – Протеин Киназа Ц

ПСФ - ПолиСулфонов Филм

ПФС – Периферна Фокусация На Светлина

СДР - Сфероидната Дегенерация на Роговицата

СЕД – Стандартна Еритемна Доза

СЗО – Световна Здравна Организация

ССКМ - Слит Сканиращ Конфокален Микроскоп

ТИМП – Тъканин Инхибитор На Металопротеази

ТСКМ - Тандем Сканиращ Конфокален Микроскоп

УВЛ – УлтраВиолетови Лъчи

УВГО - УлтраВиолетовото Гермицидно Облъчване

μm - микрометър

b-FGF - Фибробластен Растежен Фактор

CENELEC - Европейския комитет по електротехническа стандартизация

CUVAF Конюнктивалната Ултравioletова Автофлуоресцентна Фотография

HCEC-12 Човешки Роговични Епителни Клетки

IARC - Международната агенция за изследвания на рака

ICE синдром – IridoCorneal Endothelial syndrome

IEC - Международната електротехническа комисия

LASEK - Laser Assisted Sub-Epithelial Keratectomy

LASIK - Laser-Assisted In Situ Keratomileusis

mJ/cm^2 - милиджаул на квадратен сантиметър

mm - милиметър

mW/m^2 - миливат на квадратен метър

nm - нанометър

PRK - PhotoRefractive Keratectomy

SD – стандартно отклонение

SCCP - Scientific Committee on Consumer Products

TGF- β - Трансформиращ Растежен Фактор- β

UV – Ултравioletов/а/о/и

UVL – Ултравioletова светлина

UVR – Ултравioletово лъчение

Въведение

Увреждането на кожата в резултат на въздействието на ултравиолетовите (УВ) лъчи е добре известен факт¹²³. Промените възникващи при такова увреждане са подробно изучени и описани на микроструктурно ниво в научната литература⁴⁵⁶⁷.

Тъй като клепачите и очната повърхност, като части от лицето, са изложени на по-често и продължително слънчево облъчване от другите области на тялото, е от особена важност да се установи какви микроструктурни промени настъпват при експозиция на УВ лъчи в тази зона.

Понастоящем повечето публикации са базирани на конюнктивална автофлуоресценция и осигуряват солидни доказателства, че съществува значително УВ засягане на междупалпебралната конюнктива⁸⁹¹⁰. Офталмохелиозите (очни увреждания, предизвикани от въздействието на УВ светлина) са добре познат хроничен проблем и защитата на очната повърхност чрез очила и контактни лещи е широко приета превантивна мярка¹¹. Пингвекулата и птериgiumът, като едни от най-разпространените повърхностни заболявания, също са свързвани със слънчево увреждане, но е интересен фактът, че птериgiumът е по-често назален (преобладаване около 7,3%), а пингвекулата засяга почти еднакво назалната и темпоралната конюнктива с преобладаване (независимо в кое око или локация) до 69,5%¹²¹³. Въпреки това в научната литература се откриват ограничени публикации за ефектите на количествено измеримото УВ излагане на очната повърхност, особено на микроструктурно ниво. Освен това първоначалните промени на очната повърхност в резултат на излагане на УВ лъчи са трудни за оценка в клинични условия поради множеството външни фактори.

В контекста на клиничните изследвания, солариумите, освен популярен начин за придобиване на тен в изкуствени условия, представляват подходящ, контролиран метод за изследване на ефектите на ултравиолетовото лъчение върху очната повърхност, особено през зимните месеци.

In vivo конфокалната микроскопия е утвърден неинвазивен метод за оценка на предната очна повърхност в реално време на клетъчно ниво. Това е полезен метод с широко поле на приложение, както в научните изследвания, така и в ежедневната клинична практика. *In vivo* конфокалната микроскопия осигурява достоверни данни за състоянието на нормалната микроструктура, както и за различни патологични състояния, като техниката позволява количествен и качествен анализ на структурите. Огромно предимство на методиката е способността за оценка на динамиката на промените във времето.

Като се има предвид липсата на информация относно *in vivo* микроструктурните промени, възникващи в очната повърхност след излагане на УВ светлина, ние създадохме хипотеза относно съществуването на изменения на клетъчно ниво, резултат от УВ експозиция, които да бъдат откриваеми чрез *in vivo* конфокална микроскопия.

Ето защо бе разработено проспективно проучване, в което да се проследят подбрани на случаен принцип млади, здрави лица, които доброволно се излагат на слънце в район, намиращ се на нивото на морското равнище (43⁰ северна ширина) през летния период.

С цел доказване на ултравиолетовата етиология на наличните промени, открити чрез лазер сканиращата *in vivo* конфокална микроскопия, се планира и осъществи изследване и на субекти, излагащи се доброволно на контролирано количество УВ лъчи с изкуствен произход за даден период от време и различни защитни навици, като се извърши оценка на очната повърхност клинично и на микроструктурно ниво.

Цел и задачи

Цел на изследването

Да се анализират в динамика микроструктурните промени на очната повърхност, предизвикани от УВ лъчи с естествен и изкуствен произход чрез *in vivo* конфокална микроскопия. Да се оценят навиците за защита и тяхната корелация с установените изменения на микроструктурно ниво.

Задачи

За постигането на посочената цел са поставени следните задачи:

1. Да се направи оценка на здравните и слънцезащитни навици на целевите и контролните групи чрез въпросници.
2. Да се извърши *in vivo* конфокална микроскопия на клинично здрави субекти (доброволци, които по време на летния сезон пребивават изключително във Варненския регион) преди началото на сезона, след края му и една година по-късно.
3. Да се извърши *in vivo* конфокална микроскопия на клинично здрави субекти (доброволци, които се излагат на УВ светлина от изкуствен източник преди и след стандартизирани соларни сесии) като получените резултати се съпоставят с такива на контролна група.
4. Да се анализират получените резултати като се извърши качествен и количествен микроструктурен анализ.
5. Получените микроструктурни резултати да се анализират в контекста на известната очна патология и да се направи предвиждане на кумулативния ефект в перспектива.

Материали и методи

1. Обща част

Промените, възникващи в кожата под въздействието на УВЛ, са обстойно описани в научната литература като информацията относно рисковете, усложненията и превенцията на кожната УВ патология се отличава с висока обществена популярност и достъпност. Клепачите и очната повърхност, като части от лицето, са изложени на по-често и по-продължително слънчево облъчване от другите области на тялото. Липсват данни, обаче, относно микроструктурните промени, които настъпват при експозиция на УВ лъчи в тази зона. Към настоящия момент публикуваните научни трудове са базирани на конюнктивална автофлуоресценция и осигуряват убедителни доказателства за съществуването на значително УВ засягане в зоната на междупалпебралната конюнктива. Очните увреждания, предизвикани от въздействието на УВ светлината като пингвекула и птериgium, са добре познат хроничен проблем и представляват интерес за множество изследвания. Въпреки това в научната литература се открива минимален брой публикации относно ефектите на количествено измеримото УВ излагане на очната повърхност, особено на микроструктурно ниво. Като се вземе предвид липсата на данни относно *in vivo* микроструктурните промени, възникващи в очната повърхност след излагане на УВ светлина, ние създадохме хипотеза относно съществуването на изменения на клетъчно ниво, резултат от УВ експозиция, които да бъдат откриваеми чрез *in vivo* конфокална микроскопия.

Промените на очната повърхност, възникващи в резултат на излагане на УВ лъчи в естествени условия са трудни за оценка поради множеството външни фактори и се характеризират с липса на стандартизация. Това съображение доведе до оформяне на две работни групи.

При първата група се изследва въздействието на УВ лъчи от естествен произход, а при втората, с цел елиминиране на нежеланите външни въздействия, се проследи ефектът на УВ лъчите върху очната повърхност от изкуствен източник. Единственият достъпен, популярен и безопасен източник на УВ лъчи в съвременното са апаратите за придобиване на тен в изкуствени условия и представляват подходящ, контролиран метод за изследване на ефектите на УВ лъчението върху очната повърхност особено през зимните месеци.

Проучването е проведено в катедра "Очни болести и зрителни науки", Медицински университет - Варна и неговата клинична база "Център за зрение", гр. Варна. Изследването спазва принципите на Декларацията от Хелзинки и има одобрение от етична комисия (2014г).

2. Въпросници

Въпросник „УВ навици за слънцезащита“

1. Имена

2. Възраст

3. Биологичен пол

- Женски
- Мъжки

4. Работно място

- На открито
- Смесено
- На закрито

5. Колко часа на ден прекарвате на открито?

- До 3 часа
- 3-8 часа
- Над 8 часа

6. Смятате ли, че УВ лъчението има вредно въздействие върху очите?

- Да
- Не
- Не знам

7. Кога според Вас кога УВ лъчението е по-голямо?

- | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------|
| <input type="radio"/> През лятото | <input type="radio"/> През пролетта |
| <input type="radio"/> През есента | <input type="radio"/> Еднакво е |
| <input type="radio"/> През зимата | <input type="radio"/> Не знам |

8. Използвате ли средства за предпазване от УВ лъчи?

- Да
- Не

9. Ако Да, какви?

- Очила
- Шапка
- Меки контактни лещи
- Капки
- Специални храни

10. Кой начин според Вас е най-ефективен за предпазване от УВ лъчи?

- | | |
|-----------------------------|---|
| <input type="radio"/> Очила | <input type="radio"/> Меки контактни лещи |
| <input type="radio"/> Шапка | <input type="radio"/> Капки |
| <input type="radio"/> Чадър | <input type="radio"/> Специални храни |

11. Носите ли редовно слънчеви очила?

- Да
- Не

12. Ако Да, какви? (посочете модел от изображението)

- А
- Б
- В
- Г
- Д
- Е

13. Според Вас кой тип очила предпазват в най-голяма степен Вашите очи?

- А
- Б
- В
- Г
- Д
- Е

14. Колко пъти годишно ходите на плаж?

- Под 5
- 5-15 пъти
- Над 15
- Не ходя

15. По кое време на деня ходите на плаж?

- Сутрин
- По обяд
- Следобед
- Не ходя

16. Колко часа прекарвате на плажа?

- До 2
- 2-4 часа
- Над 4
- Не ходя

17. Търсите ли сянка по време на плаж?

- Да, използвам чадър
- Да, дърво или склон
- Не, стоя на открито
- Не

18. Използвате ли козметика за кожа с UV защита?

- Да, специално търся такава
- Да, само през лятото
- Не знаех, че има такава
- Не

19. Колко често сте получавали слънчево изгаряне през предишни години?

- Никога
- Понякога
- Често

20. Колко често сте получавали слънчево изгаряне през последната година?

- Никога
- Понякога
- Често



Въпросник „Здравни навици“

1. **Имена**
2. **Възраст**
3. **Биологичен пол**
 - Женски
 - Мъжки
4. **Работно място**
 - На открито
 - Смесено
 - На закрито
5. **Колко часа на ден прекарвате на открито?**
 - До 3 часа
 - 3-8 часа
 - Над 8 часа
6. **Смятате ли, че УВ лъчението има вредно въздействие върху очите?**
 - Да
 - Не
 - Не знам
7. **Използвате ли средства за предпазване от УВ лъчи?**
 - Да
 - Не
8. **Ако Да, какви?**
 - Очила
 - Шапка
 - Меки контактни лещи
 - Капки
 - Специални храни
9. **Кой начин според Вас е най-ефективен за предпазване от УВ лъчи?**
 - Очила
 - Шапка
 - Чадър
 - Меки контактни лещи
 - Капки
 - Специални храни
10. **Носите ли редовно слънчеви очила?**
 - Да
 - Не
 - Не винаги

11. Ако Да, какви? (посочете модел от изображението)

- А
- Б
- В
- Г
- Д
- Е

12. Според Вас кой тип очила предпазват в най-голяма степен Вашите очи?

- А
- Б
- В
- Г
- Д
- Е

13. Какви средства за защита използвате рутинно по време на соларните сесии?

- Рутинна за употреба на собствени предпазни очила
- Рутинна за употреба на предпазни очила, осигурени от соларното студио
- Рутинна употреба на кърпа
- Липса на протекция

14. Важи ли за Вас твърдението, че сте пушач (20+ цигари на седмица)?

- Да
- Не

15. Употребявате ли алкохол повече от 2 пъти седмично?

- Да
- Не

16. Ако да, употребявате ли алкохол и тютюневи изделия едновременно?

- Да
- Не

17. Храните ли се здравословно?

- Да
- Не



3. Методология

Конюнктивална автофлуоресценция

Точното оценяване на индивидуалната очна експозиция на УВЛ е трудно, но от първостепенно значение за точното определяне на връзката между УВЛ и развитието на различни очни заболявания. Предизвикателството при изучаването на офталмохелиози е именно трудността при оценяване на очната слънчева УВ експозиция. Биофизичните, физиологичните и поведенческите фактори, както и отразяването от земната повърхност са от решаващо значение при определянето на очната експозиция на УВЛ. Несъобразяването с тези фактори може да доведе до неточни резултати относно експозицията през целия живот⁹. Обичайният метод за определяне на слънчевата експозиция на даден индивид е чрез попълване на въпросник, който не е обективен източник на информация и носи висок риск от допускане на грешки. Освен това често въпросите са предназначени към оценка на излагането на слънце на цялото тяло, а не конкретно към очната област, поради което точността на тези методи за оценка при очни заболявания е спорна¹⁴.

Клетките съдържат молекули, които флуоресцират, когато се възбудят от УВЛ с подходяща дължина на вълната. Когато излъчването на светлина се получава в резултат на стимулиране на ендогенни клетъчни компоненти, то се нарича автофлуоресценция¹⁵.

Предложени са множество биологични механизми, които обясняват причината за описана автофлуоресценция в други тъкани. Те включват промени в кръстосаното свързване на колагена или в натрупване на клетъчни метаболити като редуциран никотинамид аденин динуклеотид или аминокиселинни производни, например триптофан¹⁶.

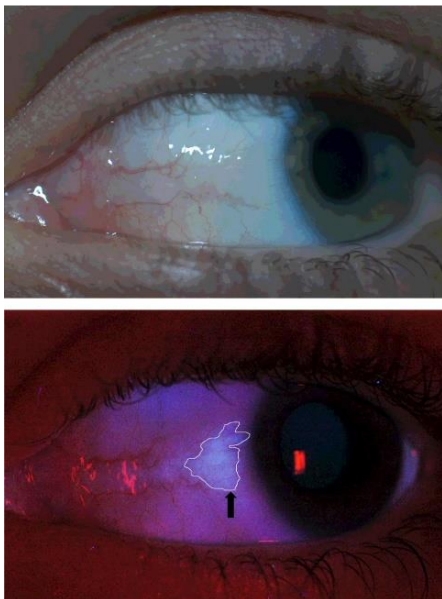
Конюнктивалната ултравиолетова автофлуоресцентна фотография (CUVAF) е разработена с цел откриване на прекурсори на очно увреждане в резултат на слънчево въздействие с помощта на техника, подобна на тази, отчитаща предизвиканите от УВ светлина дерматологични заболявания¹⁷. Състои се от цифров фотоапарат и специален обектив, снабден с инфрачервени и УВ бариерни филтри, и въртящ се поляризатор (с диапазон на пропускане 300–400 nm и пик 365 nm) като източник на възбуждане. УВ автофлуоресценцията се заснема от сензор на камерата. Светкавицата е покрита със специфични УВ филтри⁹.

Показано е, че автофлуоресценцията в резултат на УВ облъчване се проявява в локализираните области на булбарната конюнктива. Открива се при деца и възрастни, като подчертава клинично видимите лезии, но също се наблюдава при някои индивиди без клинични промени в конюнктивата при биомикроскопия¹⁸. Местоположението на УВ автофлуоресценцията се обяснява с наличието на активни клетъчни промени в конюнктивата, в области, за които се знае, че са податливи на въздействието на УВ

светлина и други фактори на околната среда като излагане на вятър и прах (които от своя страна водят до развитие на птеригии и пингвекули)¹⁹.

Автофлуоресценцията е по-изявена назално, отколкото темпорално, което може да се обясни с периферния ефект на фокусиране на светлината, като при само около 3% от населението не се наблюдава откриваема автофлуоресценция²⁰. Както вече бе описано, ефектът на периферно фокусиране на светлината се асоциира с развитие на птеригий⁸. Предишни проучвания съобщават за връзка на CUVAF и развитието на птеригии²¹ като се демонстрира увеличена обща площ на CUVAF асоциирана с повишаване на честотата на заболяването. Времето, прекарано на открито, корелира силно с повишаване на нивото на CUVAF. Това предполага, че CUVAF може да се разглежда като обективна мярка за слънчево увреждане, съответстваща на времето, прекарано на открито, и представлява полезен метод за характеризиране локалното излагане на слънце. Като се има предвид обаче, че излагането на слънце е силно зависимо от географското местоположение, трябва да се обърне внимание на ефекта на географските различия върху разпределението на CUVAF²². Друго проучване също доказва ролята на периферното фокусиране на светлината в патогенезата на уврежданията, предизвикващи УВ флуоресценция⁹. Съобщава се за установяване на УВ предизвикани увреждания на конюнктивна при голяма част от възрастната популация, дори в климатични условия с по-слабо интензивно слънчево греене. Това може да се дължи отчасти на по-ниския слънчев ъгъл, както и преодоляването на естествената защита на веждите и клепачите⁹. Показано е, че автофлуоресценцията става видима при деца на около деветгодишна възраст¹⁸.

Както вече беше споменато, съществуват редица публикувани клинични проучвания, демонстриращи увреждане на очната повърхност от естествено излагане на УВ лъчи, като методът, предложен за биомаркер за времето, прекарано на открито, е конюнктивалната УВ автофлуоресценция^{23,24,25}.



Фигура 1 Конюнктивална автофлуоресцентна фотография (CUVAF).

***In vivo* конфокална микроскопия**

Микроскопската оценка на очните структури винаги е била предизвикателство за офталмологичните клиницисти и изследователи. Въпреки че прозрачността на роговицата е предимство, използвано при развитието на технологията на биомикроскопия и офталмоскопия, подробните *in vivo* очни изследвания с голямо увеличение все още представляват трудност. Клиничната конфокална микроскопия е разработена за преодоляване на някои от ограниченията на конвенционалната светлинна и електронна микроскопия. В края на 80-те години технологичният напредък довежда до създаването на мощни клинични конфокални микроскопи, които позволяват изследване на живото човешко око *in situ* на клетъчно ниво.

История

През 1940 г. швейцарският офталмолог Hans Goldmann разработва системата със слит лампа, която някои учени признават като първото конфокално оптично устройство²⁶. Три години по-късно Коана публикува труд, описващ конфокална система²⁷. През 1951 г. в сп. Science for spectrophotometry Hiroto Naora публикува описание на конфокален микроскоп²⁸. През 1955 г. Marvin Minsky сглобява първото конфокално сканиращо устройство за микроскопия в Харвардския университет²⁹. През 60-те години на миналия век чехословакът Petra работи върху тандем сканиращия микроскоп - първият комерсиализиран конфокален микроскоп³⁰. През 1969 и 1971 г. David Eager и Pol Davidovic от Йейлския университет съобщават в 2 публикации за първия лазерно базиран конфокален сканиращ микроскоп³¹. Между 1977 и 1985 г. съществуват много публикации на лазер сканиращи устройства с точковиден източник.

През 80-те години John Gream Bradshaw и колегите им създават първия сканиращ микроскоп с конфокален лъч³². развитието на технологиите в следващите десетилетия довежда до създаване на *in vivo* конфокална микроскопия, подобрявайки ефективността на изследването, качеството, разделителната способност и зрителното поле на изображенията. През последните 20 години много изследователи и компании създадоха над 200 прототипа на *in vivo* конфокална микроскопия (ИВКМ).

ИВКМ е неинвазивна техника, позволяваща *in vivo* изобразяване на предната очна повърхност на микроструктурно (клетъчно) ниво. Това е полезен метод с широко поле на приложение, както в научните изследвания, така и в ежедневната клинична практика. ИВКМ осигурява достоверни данни за нормалната микроструктура, както и за различни патологични състояния на очната повърхност. Важно уточнение е, че техниката позволява количествен и качествен анализ. Огромно предимство на системата е способността за оценка на динамиката на промените във времето.

Най-използваният офталмологичен конфокален микроскоп в клиничната практика е модулът на Хайделберг II (HRT-II) / Rostock Cornea Module (RCM), (Heidelberg Engineering GmbH, Хайделберг, Германия), представен на Фигура 2.



Фигура 2 HRT-II Rostock Cornea Module (RCM), Heidelberg Engineering GmbH.

ИВКМ може ефективно да демонстрира нормалната структура на здрава предна очна повърхност, а именно различните слоеве на роговицата, лимб, конюнктивна, Мейбомиеви жлези.

Методът представлява утвърден инструмент за диагностика и менажиране на различни състояния на предната повърхност като синдром на сухото око, ектатични разстройства на роговицата, дистрофии, дегенерации, иридокорнеален ендотелен синдром (ICE), кератит (микробен, гъбичков, паразитен, вирусен), постхирургична оценка на роговицата (хирургия на катаракта, LASIK, LASEK, PRK, кератопластика), роговични отлагания (псевдоексфолиации), оценка на конюнктивата (конюнктивити, неоплазии), лимбална стволова недостатъчност (като химическо или термично увреждане, синдром на Стивънс-Джонсън).

In vivo конфокалната микроскопия е потенциален метод за оценка на промените на очната повърхност, предизвикани от въздействието на УВ лъчи.

Протокол за извършване на *in vivo* сканираща конфокална микроскопия в настоящото проучване

Лазер-сканираща *in vivo* конфокална микроскопия се извършва с HRT II Rostock роговичен модул, използвайки леща с увеличение 63x (Heidelberg Engineering GmbH, Dossenheim, Германия). Процедурата отнема до 60 минути на участник. След подробно разяснение относно процедурата са приложени 2 капки 0,5% проксиметакаин хидрохлорид (Alcain, Alcon Inc) с интервал от 5 минути като изследването започва от дясното око по определен модел за основните работни групи:

Група с излагане на естествени УВ лъчи

За всяко око са изследвани 5 области в роговицата, 4 в конюнктивата и една в горен клепач, в последователност централна роговица, назална, темпорална, горна и долна области в роговицата и булбарната конюнктива; горен клепач след обръщане (от конюнктивалната страна). Поставянето на анестетичните капки е повторено преди изследване на конюнктивата и впоследствие преди изследване на клепачите.

Група с излагане на изкуствени УВ лъчи

За всяко око са изследвани 1 област в роговицата и 4 зони в конюнктивата, а именно централна роговица (на зрителната ос), назална конюнктива (9 или 3 часа), темпорална конюнктива (3 или 9 часа), горна конюнктива (12 часа) и долна конюнктива (6 часа).

И при двете групи конюнктивалното изследване започва с проксималния ръб на томокапа, разположен в лимба. За всички изследвания в проучването е използвана леща с увеличение 63x. Размерът на изображенията е 400 на 400 μm , с латерална резолюция от 2 μm и дебелина на слоя от 5 μm . Изображенията са съхранени в собствена база данни.



Фигура 3 Изследване чрез *in vivo* конфокален микроскоп.

Клиничен преглед и клинична фотография с помощта на биомикроскоп

Клиничният преглед включи максимално коригираната зрителна острота (BCVA) (по десетична скала) и стандартизирана фотография с биомикроскоп (SL9900 и софтуер Phoenix, CSO - Италия) в напълно тъмна стая. Три снимки на око са направени в първа позиция, поглед надясно и наляво. Приложи се една капка 2% натриева сол на флуоресцеин (minims Thea) и се измери времето за разкъсване на слъзния филм (TBUT). След 5 минути бяха направени допълнителни снимки в първа позиция, поглед надясно и наляво (с максимално осветление и използване на вградените сини и жълти филтри) за оценка на багрено на роговицата и конюнктивата. Скалата за степенуване на Efron е използвана за количествено определяне на конюнктивалната хиперемия, оцветяване на роговицата и конюнктивата³³.

4. Група с излагане на естествени УВ лъчи

Всички кандидати в проучването са набрани проспективно, с помощта на социални медии (Facebook, Twitter) и със съдействието на локалната студентска организация на Медицински университет - Варна. Критериите за включване бяха европейски етнически произход, постоянно местожителство във Варненска област (43⁰ географска ширина), липса на очна патология и рефрактивна грешка (употреба на оптична корекция и контактни лещи), липса на анамнеза за системно заболяване и липса на установена чрез биомикроскопия патология (включително пингвекула или конюнктивални кисти).

За период от 4 месеца бяха изследвани 225 субекти (450 очи) с уточнението, че по време на летния сезон доброволците ще бъдат изключително във Варненския регион (на крайбрежието на Черно море, 43⁰ географска ширина). На участниците бе разяснено, че ще бъдат подложени на изследване преди и след летния сезон, както и година по-късно.

След подробно обяснение относно ползите и потенциалните рискове, всички участници подписаха писмени формуляри за информирано съгласие. Доброволците попълниха анкетни карти, включващи демографска информация и въпроси относно техните слънцезащитни навици, преминаха цялостен задълбочен очен преглед и след съобразяване с гореспоменатите критерии в проучването бяха включени 200 лица.

Всички одобрени субекти са изследвани чрез *in vivo* конфокална микроскопия между 1-30 април, когато все още дейностите на открито и експозицията на слънце са ограничени поради студеното време. Впоследствие е извършен контролен преглед след летния сезон - между 1-30 октомври. Всички участници са инструктирани относно нуждата от докладване на евентуално слънчево изгаряне през летния период, свързано със зачервяване и болка, тъй като тези пациенти следва да се изключат от настоящото проучване и да бъдат изследвани отделно. Всички участници (400 очи) са прегледани отново в рамките на една година (между 1-30 април на следващата година).

5. Група с излагане на изкуствени УВ лъчи

Като се имат предвид установените микроструктурни промени, наблюдавани в конюнктивата след летния сезон, чрез последващи изследвания се защити хипотезата, че лазер сканиращата *in vivo* конфокална микроскопия може да открива микроструктурни очни повърхностни промени резултат от излагане на УВ лъчи. Следователно, се изследваха субекти, излагащи се на УВ лъчи с изкуствен произход и различни защитни навици и се направи оценка на очната повърхност на клинично и микроструктурно ниво, като се използва *in vivo* конфокална микроскопия.

За да се сведе до минимум потенциалното влияние на сезона, проучването беше проведено между месец ноември и февруари, когато във Варна, България, УВ индексът обикновено е под 2. Всички участници бяха подбрани отново чрез социални мрежи (Facebook и Twitter) с помощта на местна студентска организация на Медицински университет - Варна. Критериите за включване на участниците в изследваната група бяха европейски произход, анамнеза за посещение на солариум (минимум 20 сесии годишно), липса на употреба на контактни лещи и липса на анамнеза за системно заболяване или очна патология, открити при клинично биомикроскопско изследване (включително пингвекули или конюнктивални кисти). Всички участници попълниха въпросник относно техните здравни навици (включително такива отнасящи се до защита на очите). Участниците бяха подложени на цялостен очен преглед. След потвърждение, че отговарят на критериите, те бяха включени в проучването. Всички субекти в изследваната група бяха подложени на *in vivo* конфокално микроскопско изследване 3 пъти, а именно:

1. Преди планираните соларни сесии, но минимум 8 седмици след последното им обичайно излагане на слънце/ изкуствен източник на УВ лъчи;
2. В рамките на 3 дни след завършване на цикъла соларни процедури (общо 10 сесии)
3. Четири седмици след последната соларна процедура.

Соларни сесии

Соларните сеанси бяха проведени със стандартно оборудване (Ergoline 58 Plus 100 лампи, по 160 W всяка) в 5 различни центъра от една и съща верига, следвайки стандартен протокол. Всеки участник премина 10 сесии, всяка с продължителност 10 минути, за период от 15 дни. Този протокол се нарича „стандартизирана сесия за придобиване на тен“ (ССПТ). По време на ССПТ участниците поддържаха обичайната си рутина за защита на очите, както следва: лични очила за защита; очила за защита, предоставени от студиото; покриване на лицето със студена кърпа или затваряне на очите (липса на защита).

Контролна група

Критериите за включване за контролната група бяха същите като за изследваната, с изключение на това, че тези участници демонстрираха добри до отлични навици за защита от слънчеви лъчи без анамнеза на придобиване на изкуствен тен. Участниците в контролната група също попълниха въпросник относно здравната им рутина (включително навици за слънцезащита на очите) и преминаха цялостен очен преглед с цел потвърждаване, че отговарят на критериите за включване в проучването. Участниците в контролната група бяха подложени на *in vivo* конфокално микроскопско изследване на изходно ниво и отново 8 седмици по-късно.

6. Анализ

Анализ на изображенията

Избраният размер на изображенията е 400 на 400 μm , с разделителна способност 2 μm и дебелина на среза 5 μm . Бяха подбрани 9 (3x3) съседни изображения, които не се припокриват (площ от 1.44 mm^2) за регион, както следва: базални епителни клетки, предни стромални кератоцити в рамките на 50 μm под слоя на Bowman, задни стромални кератоцити в рамките на 50 μm над мембраната на Descemet, ендотелни клетки и базален конюнктивален епител. След това клетките бяха преброени и измерени с помощта на специален софтуер 3.1 (Soft Imaging System, Мюнстер, Германия). Данните бяха подготвени за статистически анализ. Плътността на роговичните клетки се измери на квадратен милиметър и се осредни за регион. Специално внимание бе отделено на описаните по-рано кистични лезии на конюнктивата с тъмни центрове и ярки граници. Тези лезии бяха преброени и осреднени по същия начин за горна, долна, назална и темпорална конюнктива (9 кадъра на зона с обща площ от 1,44 μm^2). За всяка киста се измерва най-дългият и най-късият диаметър с линейния инструмент на софтуера. Площта на кистите е апроксимирана с помощта на формулата $A = D \times l$, където A е площта, D е средният диаметър на кистата (изчислен чрез усредняване на най-дългия и най-късия измерени диаметри).

Статистически анализ

Събраните данни бяха кодирани и изведени в таблица, използвайки статистически пакет за социални науки (IBM SPSS за Windows v.23).

За извличане на основните характеристики на данните от проучването е използван дескриптивен статистически анализ (средна стойност \pm SD). Резултатите се считат за статистически значими при $p < 0.05$.

Анализ на демографски данни

Съчетанието между слънцезащитни навици и микроструктурни увреждания е извършено с помощта корелационен анализ на Spearman. Абсолютното (n) и пропорционалното (%) разпределение на честотата бяха използвани за анализ на начина на живот и навиците за слънцезащита на участниците, използвайки тест Chi-square. Приложи се несдвоен пробен t-тест за тестване на разликите в средната възраст между участниците в изследването и контролните групи.

Анализ на клинични данни

За изследваната група бяха извършени многократни измервания ANOVA за изследване на промяната в клиничните данни през целия период на наблюдение (т.е. на изходно ниво, в рамките на 3 дни след посещенията на солариум и 4 седмици след последната сесия). За контролната група беше използван сдвоен t-тест за сравняване на клиничните данни между двете посещения.

Анализ на микроструктурни данни

За изследваната група бяха извършени многократни измервания ANOVA за изследване на изменението в клетъчната плътност (епител, строма и ендотел), броя на кистите и размера на кистите през целия период на наблюдение (т.е. в началото, в рамките на 3 дни след ССПТ, и 4 седмици след последната сесия). Включен е и факторът за защита на очите, използван по време на соларните сесии (очила, кърпа или затваряне на очите). За контролната група беше използван сдвоен t-тест за сравняване на микроструктурните данни между двете посещения.

И накрая, повторно измерване ANOVA тества разликите в броя на кистите през трите периода на изследване в дясното и лявото око на участниците в двете групи в следните 4 области: горна (Суп), долна (Инф), темпорална (Темп), назална (Наз) конюнктива. Резултатите с $p \leq 0,05$ се считат за статистически значими в проучването.

Резултати

I. Демография на участниците и въпросник

1. Група с излагане на естествени UV лъчи

Проучването включва 200 субекти (400 очи), на възраст 28 ± 7.3 години, с леко превъзходство на женския пол от 57%. Петдесетте изследвани отново, контролни субекти (100 очи) са със средна възраст 27 ± 6.5 години и 30 от тях (60%) са жени. Двадесет и пет от участниците са изключени от проучването поради непокриване на критериите за включване, основно защото не са прекарвали лятото на плажа или са страдали от ексцесивно слънчево изгаряне (5 души).

От специално подготвените въпросници е публикувана само информацията, свързана с предмета на изследването. Резултатите от анкетата показват, че 83.5% (167 участници) смятат, че слънцето е опасно за очите им, но 78% (156 участници) посочват, че опасността е основно през летния период. Въпреки че 65% (130 лица) биха използвали очила за защита на очите, 112 (89% от потребителите) избират най-актуалния модел, а не този, осигуряващ пълна защита. Останалите, 35% никога не използват защита дори на плажа. Все пак, нито един от участниците, включени в настоящото проучване, не е имал сериозно (свързано с болка) изгаряне на кожата по лицето или тялото, в периода на проучването. Демографските и анкетните данни са представени в Таблица 1.

Таблица 1 Демографски и извлечени от въпросници данни на 200 субекти, взели участие в проучването, и 50 субекти, повторно изследвани като тестова група след период от една година. Проучването включва 200 субекти (400 очи) на възраст 28 ± 7.3 години с леко превъзходство на женския пол 58%. Основната част от анкетираните определят лятното слънце като опасно за очите им и въпреки че 65% употребяват редовно слънчеви очила, 89% избират най-актуалния модел, а не този, осигуряващ пълна защита.

Групи	Основна група (N=200 субекти, n=400 очи)	Тестова група (N=50 случайни субекти от изследваната група, n=100 очи)
Възраст	28 ± 7.3 години	27 ± 6.5 години
Пол	114 женски пол 86 мъжки пол	30 женски пол 20 мъжки пол
Предпазливи относно вредността на слънчевите лъчи за очите (основано на въпросници)	167 субекти 83.5%	46 субекти * 92%
Рутинна употреба на слънчеви очила	130 субекти 65%	41 субекти * 82%
Избор на слънчеви очила с най-добра протекция	18 субекти 11% (от употребяващите слънчеви очила)	15 субекти * 30% (от употребяващите слънчеви очила)
*Данни, извлечени от изходните въпросници		

2. Група с излагане на изкуствени УВ лъчи

Демографските данни на участниците и отговорите на въпросника при базовото посещение са обобщени в Таблица 3. Изследваната група включва 75 жени участници (150 очи) на възраст $25 \pm 4,3$ години. Само 10 участници в изследваната група (13,5%) съобщават, че използват индивидуални защитни очила по време на соларните сесии. Други 10 (13,5%) използват очила, предоставени от соларното студио. Най-големият дял от участниците в изследваната група (50%) покриват лицето си със студена кърпа по време на сеансите, а останалите 23% просто затварят очи с цел защита. Контролната група включва 75 участнички (150 очи) на възраст $24 \pm 3,7$ години. По-голямата част от участниците в контролната група (92%) съобщават за рутинно използване на слънчеви очила като ежедневна слънцезащита. Наблюдават се редица силно статистически значими разлики между отговорите на въпросника изследваната и контролната групи. Рутинна употреба на собствени и предоставени от соларното студио предпазни очила е съобщена от едва от 13.5% от субектите, докато използването на студена кърпа за защита се практикува от над 50% от изследваните лица. Липсата на протекция по време на соларните сеанси е предпочитана практика от 23% от изследваната група. Докато едва 20% от субектите от същата група използват рутинно слънчеви очила, то този дял достига до 92% за контролната група, чиито представители не посещават соларни студия. Същата зависимост се отчита и при практикуване на вредни навици като тютюнопушене и употреба на алкохол, съответно 57% и 44% за изследваната спрямо 4% и 3% за контролната група. Почти една трета от посещаващите соларни сеанси се оприличават като хранещи се нездравословно, докато това е характеристика при едва 5% от контролните субекти. Резултатите са представени схематично в Таблица 2.

Таблица 2 Демографски данни на участниците и отговори на въпросник при базовото посещение. Всички участници в проучването са представители на женския пол, на средна възраст 25 години за изследваната и 24 за контролната група. Рутинната употреба на собствени и предоставени от соларното студио предпазни очила се посочва едва от 13.5% от субектите, докато употребата на кърпа за защита се практикува от над 50%. Липсата на протекция при соларните сеанси се посочва от 23% от изследваната група. Докато едва 20% от субектите от изследваната група употребяват рутинно слънчеви очила, то този процент достига до 92% за контролната група, непосещаващи соларни студия. Същата зависимост се отчита и при вредните навици като тютюнопушене и употреба на алкохол, съответно 57% и 44% за изследваната спрямо 4% и 3% за контролната група. Почти една трета от посещаващите соларни сеанси посочват нездравословна рутина на хранене, докато това е характеристика при едва 5% от контролните субекти.

	Изследвана група (N=75 субекти, n=150 очи)	Контролна група (N=75 субекти, n=150 очи)	р-стойност
Възраст (години)	25 ± 4.3	24 ± 3.7	> 0.05*
Пол	100% женски пол	100% женски пол	> 0.05^
В1 Рутинна употреба на собствени предпазни очила	13.5%	NA	NA
В2 Рутинна употреба на предпазни очила, осигурени от соларното студио	13.5%	NA	NA
В3 Рутинна употреба на кърпа	50%	NA	NA
В4 Липса на протекция	23%	NA	NA
В5 Рутинна слънцезащита със слънчеви очила	Да (20%) Не винаги (19%) Не (51%)	Да (92%) Не винаги (8%) Не (0%)	< 0.001^
В6 Рутинно тютюнопушене (20+ цигари на седмица)	57%	4%	< 0.001^
В7 (1) Употреба на алкохол повече от 2 пъти седмично	44%	3%	< 0.001^
В7 (2) Употреба на алкохол и тютюнопушене	39%	1 %	< 0.001^
В8 Самооценка за нездравословно хранене	29%	5%	< 0.001^
*несдвоен t-тест, ^ Chi square test			

Резултатите, извлечени от въпросниците са нагледно демонстрирани на Фигура 4 и Фигура 5.



Фигура 4 Графично представяне на процентното разпределение на отговорите, извлечени от въпросниците относно навиците за защита по време на ССПТ на изследваната група.



Фигура 5 Графично сравняване на вредните навици на изследваната и контролна групи.

Връзка между танорексия и вредни навици

По принцип субектите с танорексия водят по-нездравословен начин на живот и дори се характеризират с по-кратка продължителност на живота³⁴³⁵³⁶. Представителите на тази група се асоциират с високорисково поведение като консумация на алкохол, наркотици, нездравословна храна и повишено излагане на слънце³⁷³⁸³⁹. Освен това любителите на соларни студия съобщават за поведение, насърчаващо излагането на слънце, особено в пиковите часове, нудизъм, хобита на открито, както и множество слънчеви изгаряния през целия живот⁴⁰³⁹. Откриват се спорни данни относно връзката между използването на соларни легла и семейното положение. Например, италианско проучване демонстрира, че придобиването на тен в изкуствени условия е по-често сред самотни, отколкото обвързани индивиди,⁴¹ докато германско проучване съобщава обратното⁴². Скорошно американско изследване установи, че хомосексуалните и бисексуални мъже практикуват значително повече придобиването на тен на закрито, отколкото хетеросексуалните и демонстрират честота на употреба на солариуми, сравнима с тази при представители на женския пол⁴³. Интересен е фактът, че проучване, проведено в 8 европейски държави, доказва, че здравната грамотност (дефинирана като способност за получаване/обработка/разбиране на основна здравна информация, необходима за вземане на адекватни здравни решения) е по-висока при потребителите на солариуми, отколкото при неупотребяващите⁴⁴. Добре известно е, че знанието относно риска от развитие на неоплазми е необходимо, но не е достатъчно, за да повлияе на поведението на хората по отношение на излагането на УВ лъчи⁴⁵. Въпреки това осъзнаването на риска от развитие на злокачествени образувания е свързано с по-малко на брой и по-кратки сеанси⁴⁶. Множество проучвания описват тенденция спрямо използване на соларни легла от възрастни индивиди с по-висок социално-икономически статус в Европа⁴⁷. Интересно е, че при европейските тийнейджъри се наблюдава противоположна тенденция: придобиването на тен на закрито е често срещано сред датски момичета с нисък родителски социално-икономически статус и сред британски непълнолетни субекти от ниски социални слоеве⁴⁸. Резултатите от настоящото проучване подкрепят връзката между танорексията и високорисковия начин на живот. Всички изяви желание да участват в проучването са от женски пол на средна възраст 25 години. Притеснителен е фактът, че 50% от анкетираните използват кърпа за протекция на очите по време на соларните сеанси, а цели 23% съобщават за липса на каквато и да било защита. Относно очната слънцезащита, рисковото поведение на тези субекти се подкрепя и от факта, че едва 20% от анкетираните съобщават за рутинна употреба на слънчеви очила, като този процент при контролната група достига цели 90%. Относно тютюнопушенето и редовната употреба на спиртни напитки отново се открива статистически значима връзка между танорексията и тези вредни навици. Нездравословното хранене се посочва като характеристика от 29% от изследваната група, което се съобщава от едва 5% от контролната група. Всички тези резултати подкрепят теорията за вредните навици на танорексиците, но и поставят акцент върху очното здраве.

II. Микроструктурни промени

1. Група с излагане на УВ лъчи от естествен източник

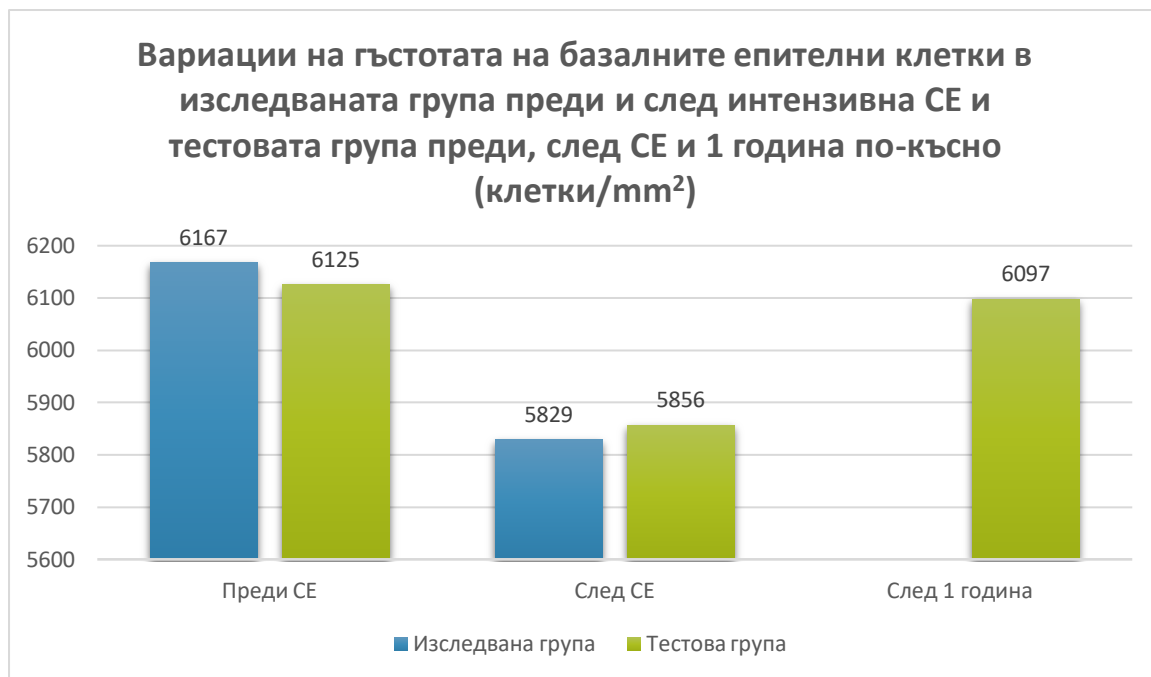
1.1. Микроструктурни промени на роговицата

Микроструктурният анализ на роговицата показва статистически значима редукция на базалната епителна плътност - от 6167 ± 151 клетки/ mm^2 до 5829 ± 168 клетки/ mm^2 . Резултатите от изследването една година по-късно демонстрират възстановяване на епителната плътност близо до изходното ниво в рамките на една година 6097 ± 147 клетки/ mm^2 . Резултатите относно епителната плътност са представени в Таблица 3. Броят на кератоцитите (от повърхностна, средна и дълбока строма) за периода на проследяване остава цифрово и статистически непроменен. Такъв е и случаят с плътността на ендотелните клетки.

Таблица 3 Вариации на гъстотата на базалните епителни клетки в изследваната група ($N = 200$ субекти, $n=400$ очи) преди и след интензивна слънчева експозиция (СЕ) при 43° г.ш., и резултати на тестовата група ($N=50$ случайно подбрани субекти, $n=100$ очи) при проследяване след 1 година. Отчита се статистически значима редукция на броя на базалните епителни клетки след СЕ от средно 6167 до 5829 клетки/ mm^2 . Резултатите от изследването 1 година по-късно демонстрират възстановяване на епителната плътност близо до изходното ниво от 6097 клетки/ mm^2 . Броят на кератоцитите (от повърхностна, средна и дълбока строма) за периода на проследяване остава цифрово и статистически непроменен. Такъв е и случаят с плътността на ендотелните клетки.

Група	Преди СЕ (клетки/ mm^2)			След СЕ (клетки/ mm^2)			След една година (клетки/ mm^2)		
	ЛО средно \pm SD	ЛО средно \pm SD	БО средно \pm SD	ЛО средно \pm SD	ЛО средно \pm SD	БО средно \pm SD	ЛО средно \pm SD	ЛО средно \pm SD	БО средно \pm SD
Око (О) Д (дясно) Л (ляво) Б (две)									
Изследвана група ($n=400$)	6158 ± 148	6175 ± 153	6167 ± 151	5776 ± 157	5882 ± 179	5829 ± 168	NA		
Статистика	NA			Промяната е сигнификантна спрямо изходното ниво P = 0.011			NA		
Тестова група ($n=100$)	6191 ± 152	6058 ± 158	6125 ± 155	5859 ± 159	5853 ± 163	5856 ± 161	6002 ± 142	6192 ± 151	6097 ± 147
Статистика	NA			Промяната е сигнификантна спрямо изходното ниво P = 0.021			Промяната НЕ е сигнификантна спрямо изходното ниво P = 0.33 Промяната е сигнификантна след СИ P = 0.039		

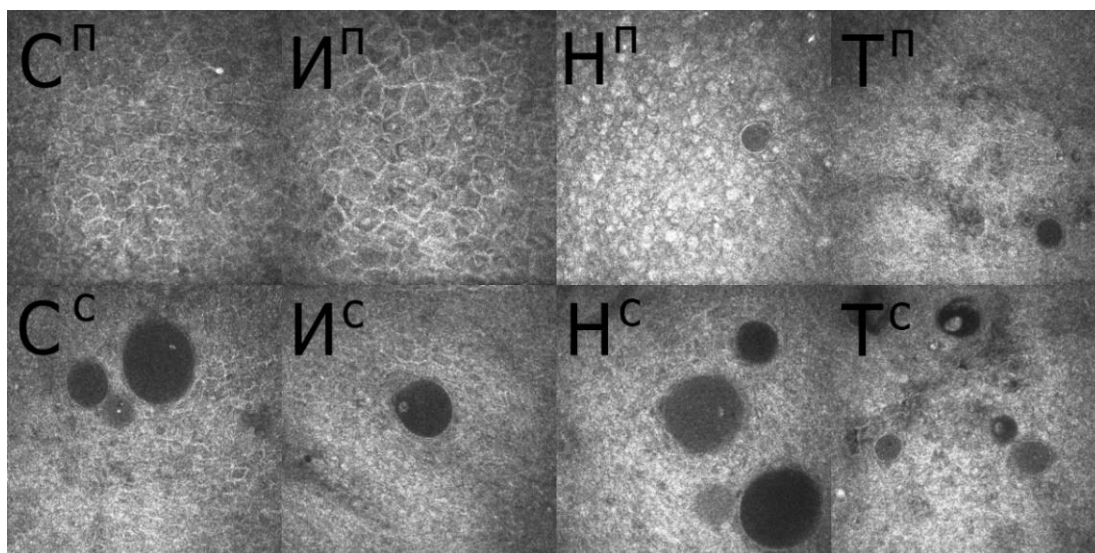
Резултатите от Таблица 3 са нагледно демонстрирани във Фигура 6.



Фигура 6 Графично представяне на промяната в гъстотата на базалните епителни преди и след СЕ за изследваната група и преди, след СЕ и 1 година по-късно за тестовата група.

1.2. Микроструктурни промени на конюнктивата

Анализът на конюнктивата показва характерни кистовидни лезии с тъмен център и ярки граници, срещани само при 25 очи (6%) преди и засягащи 118 очи (29.5%) след летния сезон (Фигура 7).



Фигура 7 Кистични лезии на конюнктивата, изобразени чрез *in vivo* конфокална микроскопия (HRT II роговичен модул) от супериорна (С), инфериорна (И), назална (Н) и темпорална (Т) област, преди (П) и след (С) експозиция на слънце на 43° г.ш.

От „засегнатите през лятото“ очи 64 са десни (ДО) и 54 леви (ЛО) като броят на откритите кисти е сходен за двете очи (149 ДО и 151 ЛО). Размерът на кистите също се увеличен от 12-78 μm на 14-174 μm след излагане на лятното слънце. Резултатите относно броя на кистите, средния диаметър и общата засегната площ са представени в Таблицы 4, 5 и 6.

Таблица 4 Обобщение на параметрите на конюнктивалните кисти (брой и среден диаметър), получени чрез *in vivo* конфокална микроскопия преди и след експозиция на слънце (СЕ) през летния сезон при 43° г.ш. за изследваната група от 200 субекти (400 очи). Резултатите са представени по конюнктивален регион съответно супериорен (Суп), инфериорен (Инф), темпорален (Темп), назален (Наз), средно за око и като общи стойности. Отчита се многократно увеличаване на броя на кистите след СЕ като най-голям брой се откриват в темпоралния регион. Общият им брой демонстрира почти деветкратно увеличение. Броят на очите, в които се откриват такива кистозни лезии, се е увеличил 10 пъти. При повторно тестване на субектите една година по-късно резултатите са сходни с изходните.

Параметри	Дясно око (n=200)				Ляво око (n=200)				Общо	Статистика
	Суп	Инф	Темп	Наз	Суп	Инф	Темп	Наз		
Брой кисти преди СЕ	0	2	7	8	1	1	7	5	31 (Засегнати 25 от 400 очи)	NA
Общ брой за око преди СЕ	17 (Засегнати 13 от 200 очи)				14 (Засегнати 12 от 200 очи)					
Брой кисти след СЕ	33	9	56	51	19	3	56	73	300 (Засегнати 118 от 400 очи)	Сигнификантна промяна спрямо преди СЕ P = 0.043
Общ брой на кисти за око след СЕ	149 (Засегнати 64 от 200 очи)				151 (Засегнати 54 от 200 очи)					

Резултатите от Таблица 4 относно общия брой кисти преди и след СЕ за изследваната група са демонстрирани нагледно във Фигура 8.

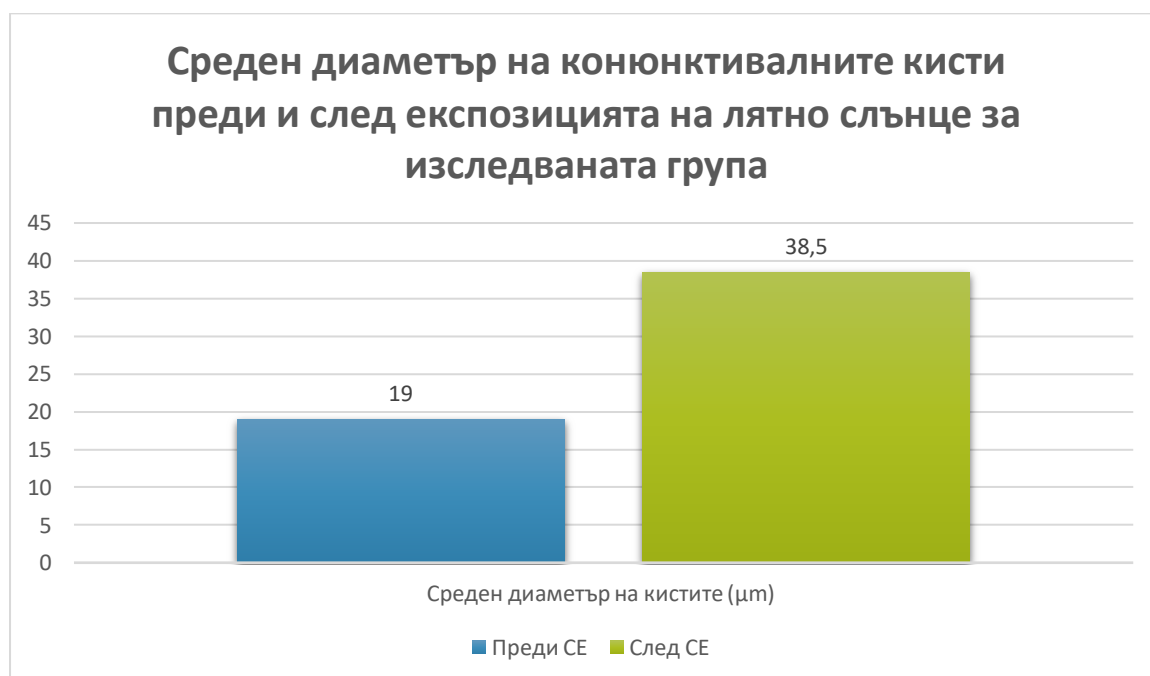


Фигура 8 Графично представяне на промяната в общия брой на кистичните лезии преди и след СЕ за изследваната група.

Таблица 5 Обобщение на средния диаметър на конюнктивалните кисти, получени чрез *in vivo* конфокална микроскопия преди и след експозиция на слънце (СЕ) през летния сезон при 43° г.ш. за изследваната група от 200 субекти (400 очи). Резултатите са представени по конюнктивален регион съответно супериорен (Суп), инфериорен (Инф), темпорален (Темп), назален (Наз), средно за око и като общи стойности. Наблюдава се двукратно увеличение на средния диаметър на лезиите след СЕ. При повторно тестване на субектите една година по-късно резултатите са сходни с изходните.

Параметри	Дясно око (n=200)				Ляво око (n=200)				Общо	Статистика
	Суп	Инф	Темп	Наз	Суп	Инф	Темп	Наз		
Среден диаметър на кистите (µm) преди СЕ	32	14	18	12	34	15	16	11	19 ± 9.5 µm	NA
Среден диаметър на кистите (µm) преди СЕ	19 ± 9 µm				19 ± 10 µm					
Среден диаметър на кистите (µm) след СЕ	43	46	24	31	43	41	41	40	38.5 ± 5.5 µm	Сигнификантна промяна спрямо преди СЕ P = 0.022
Среден диаметър на кистите (µm) след СЕ	36 ± 9 µm				41 ± 2 µm					

Резултатите от Таблица 5 относно средния диаметър на конюнктивалните кисти преди и след СЕ са представени нагледно във Фигура 9.



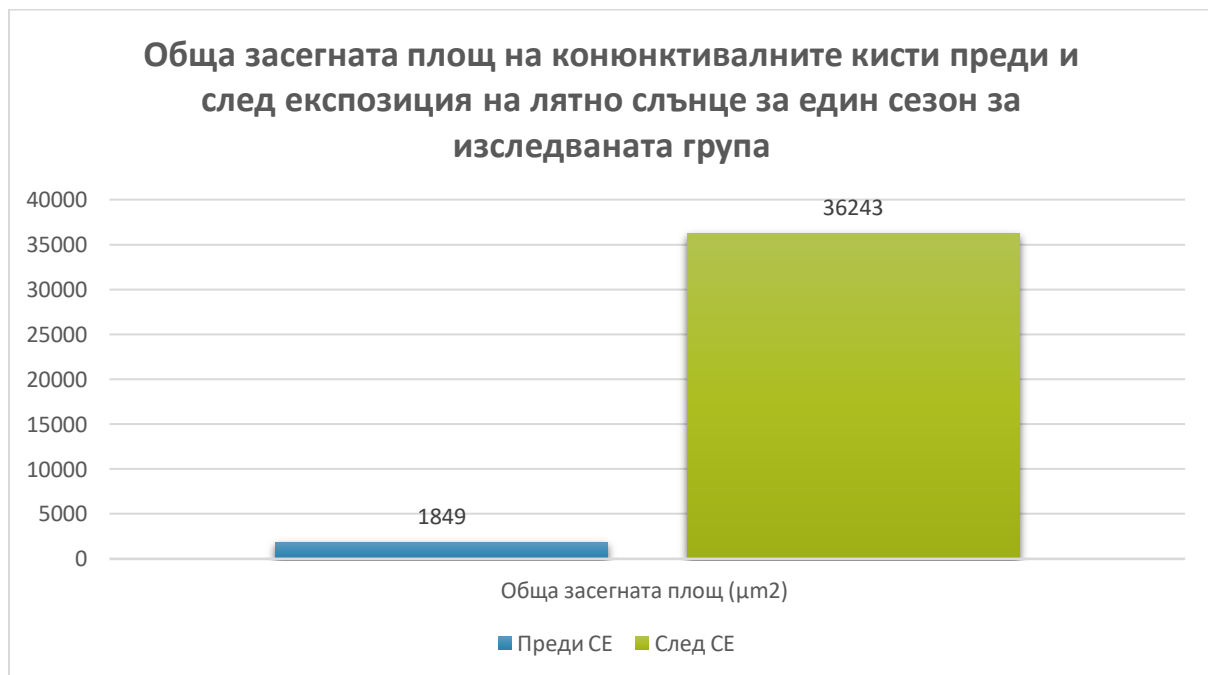
Фигура 9 Графично представяне на промяната на средния диаметър на конюнктивалните кисти преди и след експозиция на лятно слънце за изследваната група.

Общата засегната площ на кистичните лезии демонстрира увеличаване 20 пъти след излагане на лятно слънце за един сезон.

Таблица 6 Обобщение на общата засегната площ на конюнктивалните кисти, получени чрез *in vivo* конфокална микроскопия преди и след експозиция на слънце (СЕ) през летния сезон при 43° г.ш. за изследваната група от 200 субекти (400 очи). Общата площ на лезиите, изчислена преди и след излагане на лятно слънце, демонстрира 20кратно увеличаване. При повторно тестване на субектите една година по-късно резултатите са сходни с изходните.

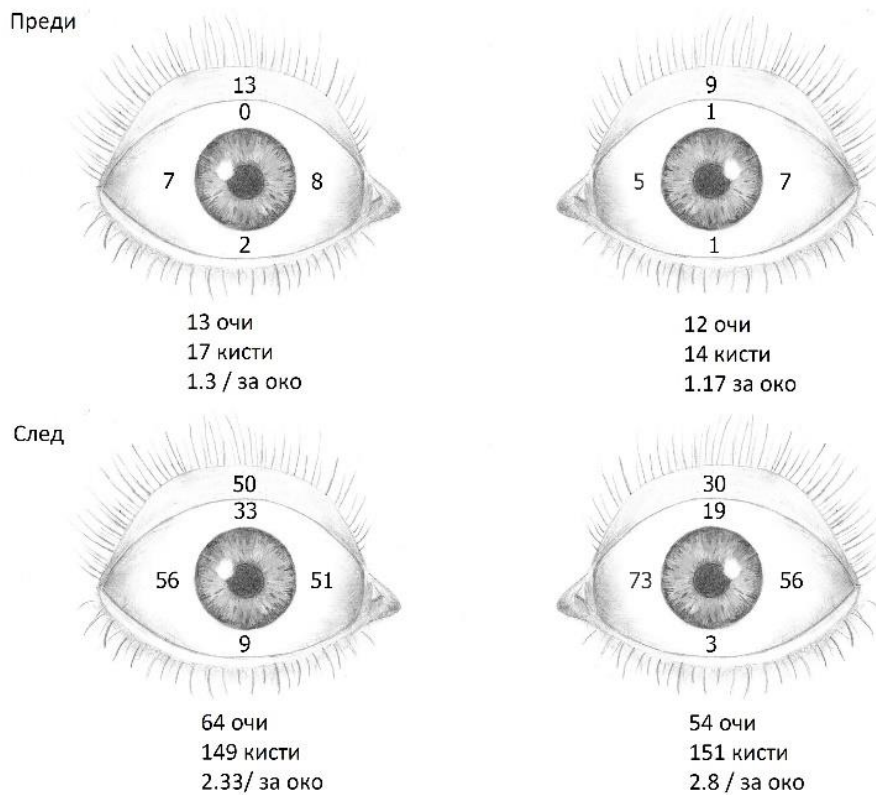
Параметри	Дясно око (n=200)	Ляво око (n=200)	Общо	Статистика
Обща засегната площ (μm^2) преди СЕ	1014 μm^2	835 μm^2	1849 μm^2	NA
Обща засегната площ (μm^2) след СЕ	16 843 μm^2	19 400 μm^2	36 243 μm^2	NA

Общите резултати от Таблица 6 са представени на Фигура 10.



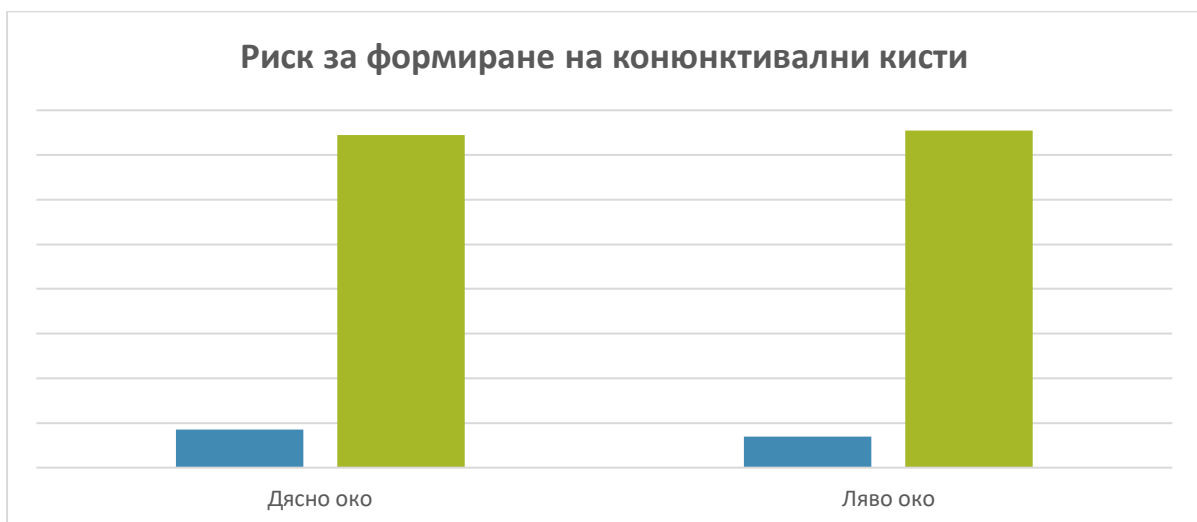
Фигура 10 Графично представяне на общата засегната площ на конюнктивалните лезии в динамика преди и след експозиция на лятно слънце за един сезон за изследваната група.

Конюнктивалните кисти демонстрират специфично топографско разположение с по-значимо разпределение по хоризонталния меридиан, което е асиметрично за дясно и ляво око. Топографските характеристики на лезиите са представени схематично на Фигура 11.



Фигура 11 Схематично представяне на разпредението на кистите преди и след излагане на слънце при 43° г.ш.

Рискът за формиране на кисти съгласно статистическия анализ е представен като диаграма на Фигура 12.



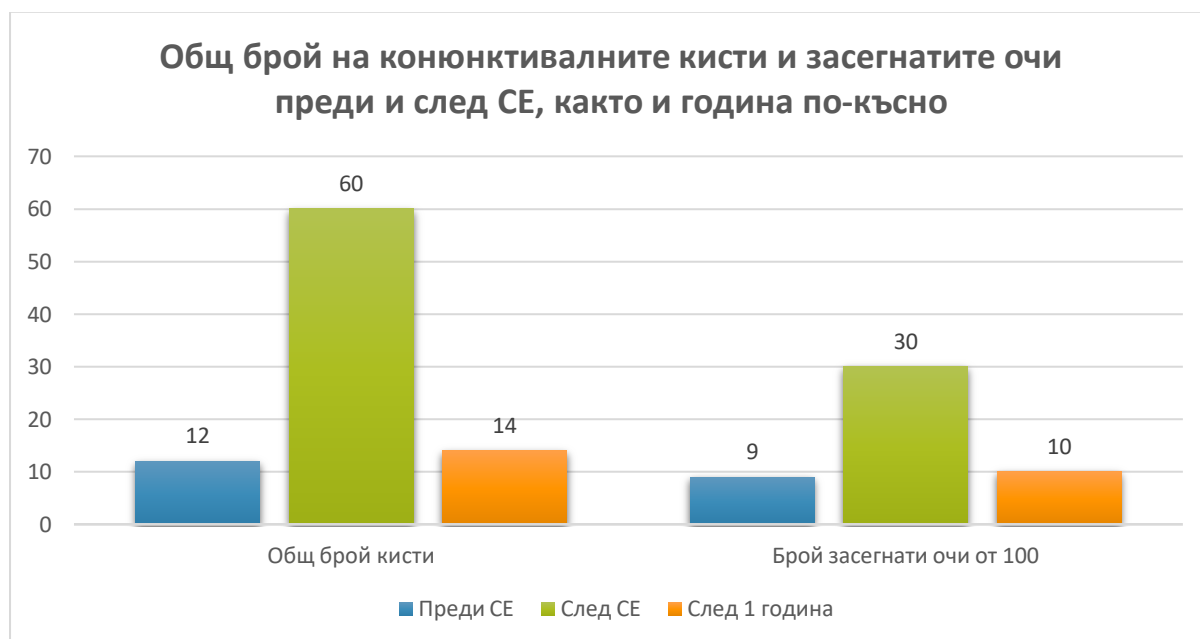
Фигура 12 Диаграма, представяща риска от образуване на конюнктивални кисти преди и след излагане на слънце за един сезон.

Броят на лезиите е определен преди и след излагане на лятно слънце, като е установено 5кратно увеличаване. Резултатите при повторно тестване на петдесетте контролни субекти 1 година по-късно са сходни с изходните и са представени в Таблица 7.

Таблица 7 Обобщение на резултатите за броя на конюнктивалните кисти и засегнатите очи, получени чрез ИВКМ, преди, след експозиция на слънце (СЕ) през летния сезон на 43° г.ш. и 1 година по-късно, спрямо тестовата група от 50 субекти (100 очи). Резултатите са представени за даден регион (супериорен (Суп), инфериорен (Инф), темпорален (Темп), назален (Наз)), за средно за око и като общи стойности. Отчита се петкратно увеличение на общия брой на кистите СЕ, най-демонстративно в темпоралната област. Резултатите при повторно тестване на петдесетте контролни субекти 1 година по-късно са сходни с изходните.

Параметри	Дясно око (n=50)				Ляво око (n=50)				Общо	Статистика
	Суп	Инф	Темп	Наз	Суп	Инф	Темп	Наз		
Брой кисти преди СЕ	0	1	2	3	0	1	3	2	12 (Засегнати 9 от 100 очи)	NA
Общ брой за око преди СЕ	6 (Засегнати 5 от 50 очи)				6 (Засегнати 4 от 50 очи)					
Брой кисти след СЕ	5	3	9	12	2	2	10	17	60 (Засегнати 30 от 100 очи)	Сигнификантна промяна спрямо преди СЕ P = 0.013
Общ брой за око след СЕ	29 (Засегнати 16 от 50 очи)				31 (Засегнати 14 от 200 очи)					
Брой кисти след една година	0	2	3	3	1	1	2	2	14 (Засегнати 10 от 100 очи)	
Общ брой за око след една година	8 (Засегнати 5 от 50 очи)				6 (Засегнати 5 от 50 очи)					

Общите резултати от Таблица 7 са представени във Фигура 13.



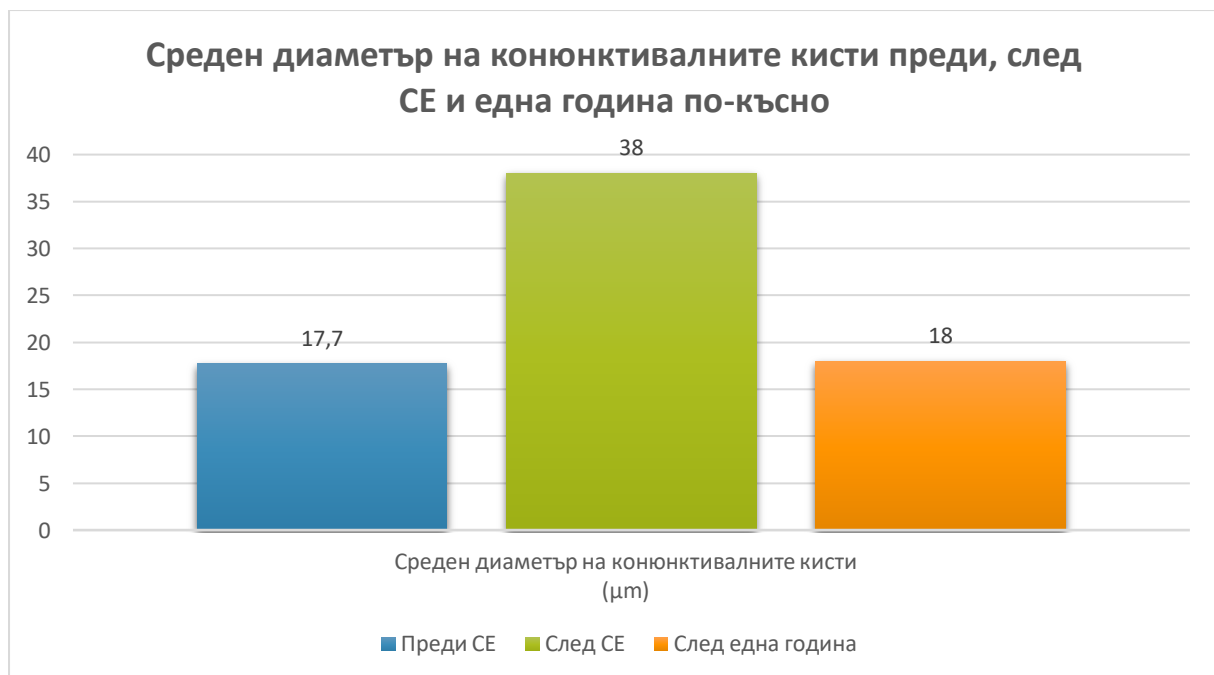
Фигура 13 Графично представяне на промяната в общия брой на кистичните лезии и броя на засегнатите очи преди, след експозиция на лятно слънце за един сезон и година по-късно.

Анализът на средния диаметър на кистите се открива двукратно увеличаване след СЕ.

Таблица 8 Обобщение на резултатите относно средния диаметър на конюнктивалните кисти, получени чрез ИВКМ, преди, след експозиция на слънце (СЕ) през летния сезон на 43° г.ш. и една 1 по-късно, спрямо тестовата група от 50 субекти (100 очи). Резултатите са представени за даден регион (супериорен (Суп), инфериорен (Инф), темпорален (Темп), назален (Наз)), средно за око и като общи стойности. Наблюдава се двукратно увеличение на диаметъра на кистите след СЕ като стойностите 1 година по-късно са сходни с изходните.

Среден диаметър на кистите (µm)	Дясно око (n=50)				Ляво око (n=50)				Общо	Статистика
	Суп	Инф	Темп	Наз	Суп	Инф	Темп	Наз		
Преди СЕ	18	11	19	16	29	16	15	17	17.7 ±5.5 µm	NA
	16 ±4 µm				19.3 ±7 µm					
След СЕ	39	41	26	29	33	43	49	41	38 ±7 µm	Сигнификантна промяна спрямо преди СЕ P = 0.043
	33.8 ±7 µm				41.5 ±7 µm					
След една година	17	14	21	14	23	19	17	19	18 ±3 µm	
	16.5 ±3 µm				19.5 ±3 µm					

Промяната в общия среден диаметър на лезиите от Таблица 8 е демонстрирана графично на Фигура 14.



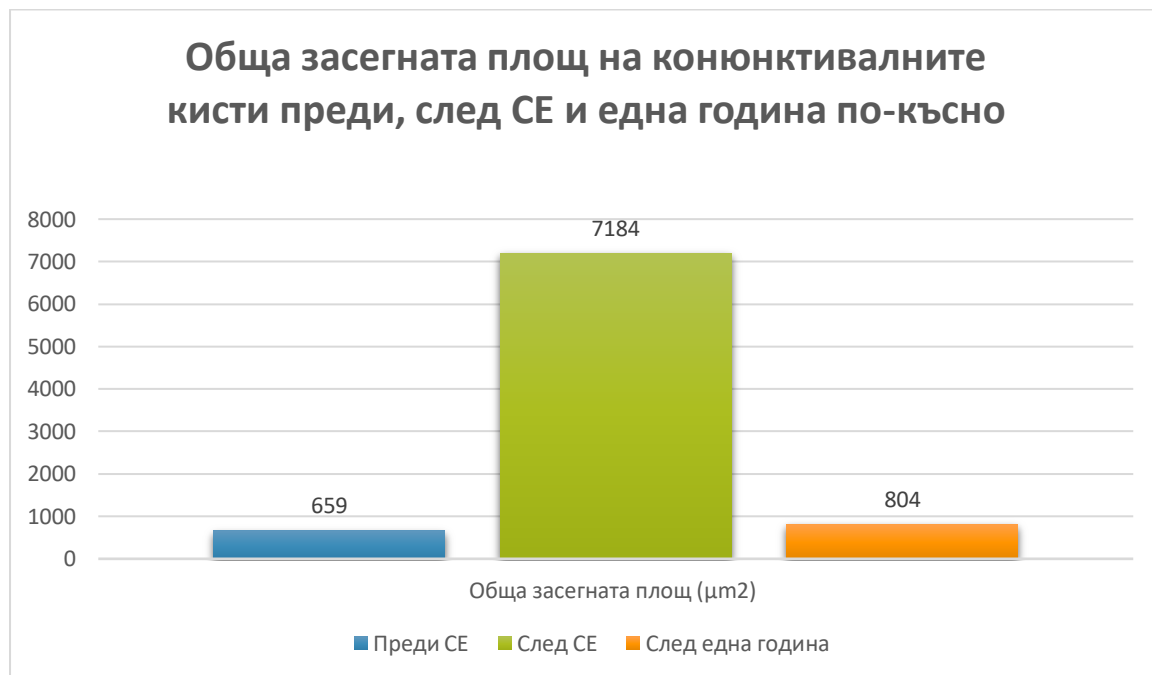
Фигура 14 Графично представяне на промяната на средния диаметър на конюнктивалните кисти преди, след експозиция на лятно слънце и 1 година по-късно.

Общата площ на лезиите е изчислена преди и след излагане на лятно слънце, като е установено десеткратно увеличение. Резултатите при повторно тестване на петдесетте контролни субекти една година по-късно са сходни с изходните и са представени в Таблица 9.

Таблица 9 Обобщение на резултатите относно общата засегната площ на конюнктивалните кисти, получени чрез ИВКМ, преди, след експозиция на слънце (СЕ) през летния сезон на 43° г.ш. и 1 година по-късно, спрямо тестовата група от 50 субекти (100 очи). Отчита се увеличаване на засегнатата площ почти 11 пъти като при повторно тестване на петдесетте контролни субекти една година по-късно резултатите са сходни с изходните.

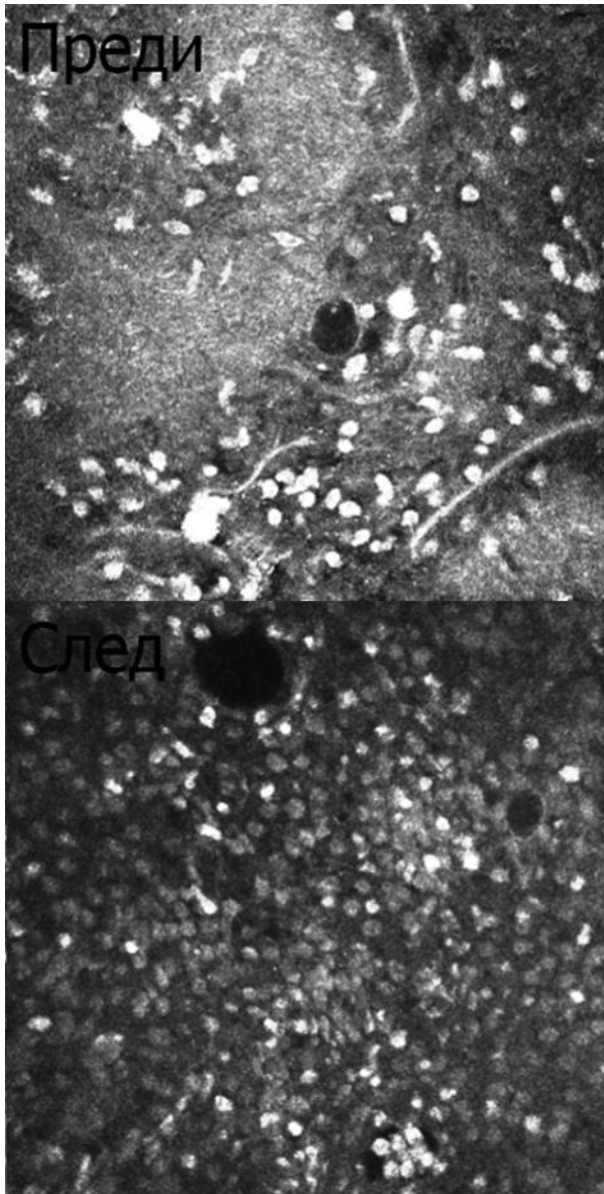
Обща засегната площ (μm^2)	Дясно око (n=50)	Ляво око (n=50)	Общо	Статистика
Преди СЕ	301 μm^2	358 μm^2	659 μm^2	NA
След СЕ	3 096 μm^2	4 088 μm^2	7 184 μm^2	NA
След една година	427 μm^2	377 μm^2	804 μm^2	NA

Общите резултатите от Таблица 9 са нагледно демонстрирани във Фигура 15.



Фигура 15 Графично представяне на общата засегната площ на конюнктивалните кисти в динамика преди, след експозиция на лятно слънце за един сезон и 1 година по-късно.

Друго интересно наблюдение е открито в конюнктивата на горен клепач. Описани са отново окръглени лезии с тъмни центрове и ярки граници (Фигура 16), чиито брой и размер демонстрират значително увеличение след летния период, както е показано на Таблица 11.



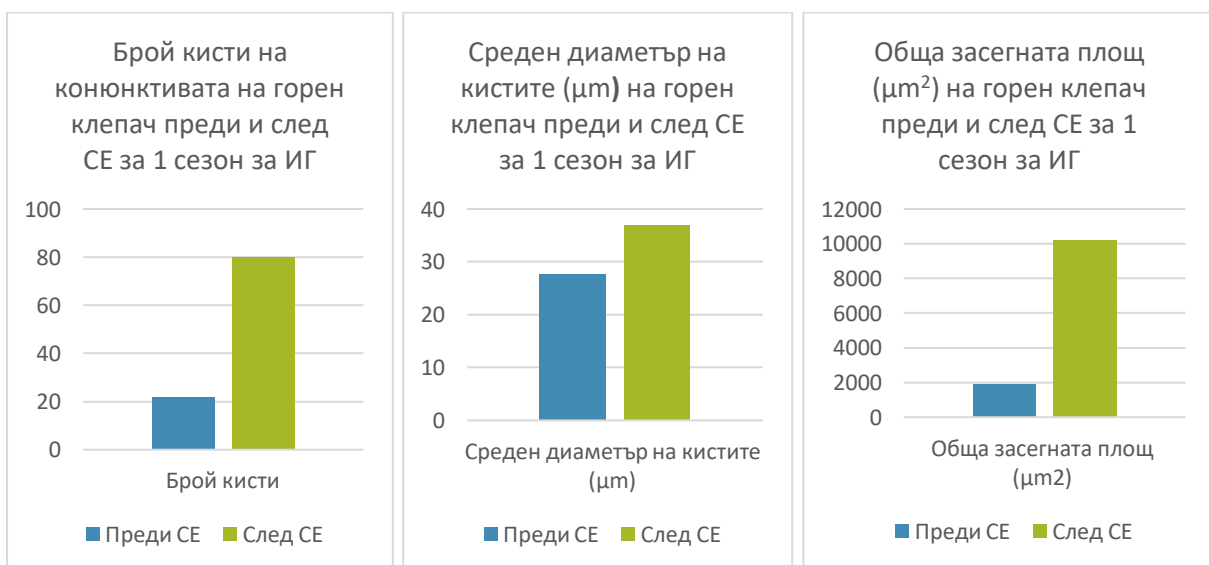
Фигура 16 Кистични лезии по конюнктивата на горен клепач, изобразени чрез *in vivo* лазер-сканираща конфокална микроскопия (HRT II роговичен модул), след обръщане на клепача, преди и след излагане на слънце при 43° г.ш. Размер на изображение 400 на 400 μm , с латерална резолюция 2 μm и размер на среза 5 μm .

Броят на кистите демонстрира близо четирикратно нарастване след СЕ, както и сигнификантно увеличение на средния диаметър, докато общата площ на кистите след СЕ е нараснала 5 пъти. Отчетено е приравняване в рамките на нормалния диапазон в период от 12 месеца.

Таблица 10 Обобщение на параметрите на кистите на конюнктивата на горен клепач (брой и среден диаметър), получени чрез ИВКМ, преди и след експозиция на слънце (СЕ) по време на летния сезон на 43° г.ш., за изследвана група от 200 субекти (400 очи). Резултатите са представени като средни за око и като общи стойности. Броят на кистите демонстрира близо четирикратно увеличение след СЕ, както и сигнификантно нарастване на средния диаметър, докато общата площ на кистите след летния сезон е увеличена 5 пъти. Отчетено е приравняване в рамките на нормалния диапазон в период от 12 месеца.

Параметри	Дясно око (n=200)	Ляво око (n=200)	Общо	Статистическа значимост
Брой кисти преди СЕ	13 (Засегнати 7 от 200 очи)	9 (Засегнати 5 от 200 очи)	22 (Засегнати 12 от 400 очи)	NA
Брой кисти след СЕ	50 (Засегнати 37 от 200 очи)	30 (Засегнати 21 от 200 очи)	80 (Засегнати 58 от 400 очи)	Сигнификантна промяна спрямо преди СЕ P = 0.012
Среден диаметър на кистите (µm) преди СЕ	26.5 ±6.5 µm	29 ±6.5 µm	27.8 ±6.5 µm	NA
Среден диаметър на кистите (µm) след СЕ	34.8 ±13 µm	39 ±11 µm	36.9 ±12 µm	Сигнификантна промяна спрямо преди СЕ P = 0.023
Обща засегната площ (µm ²) преди СЕ	1082 µm ²	820 µm ²	1902 µm ²	NA
Обща засегната площ (µm ²) след СЕ	5464 µm ²	4776 µm ²	10 240 µm ²	NA

Данните от Таблица 10 са демонстрирани във Фигура 17.



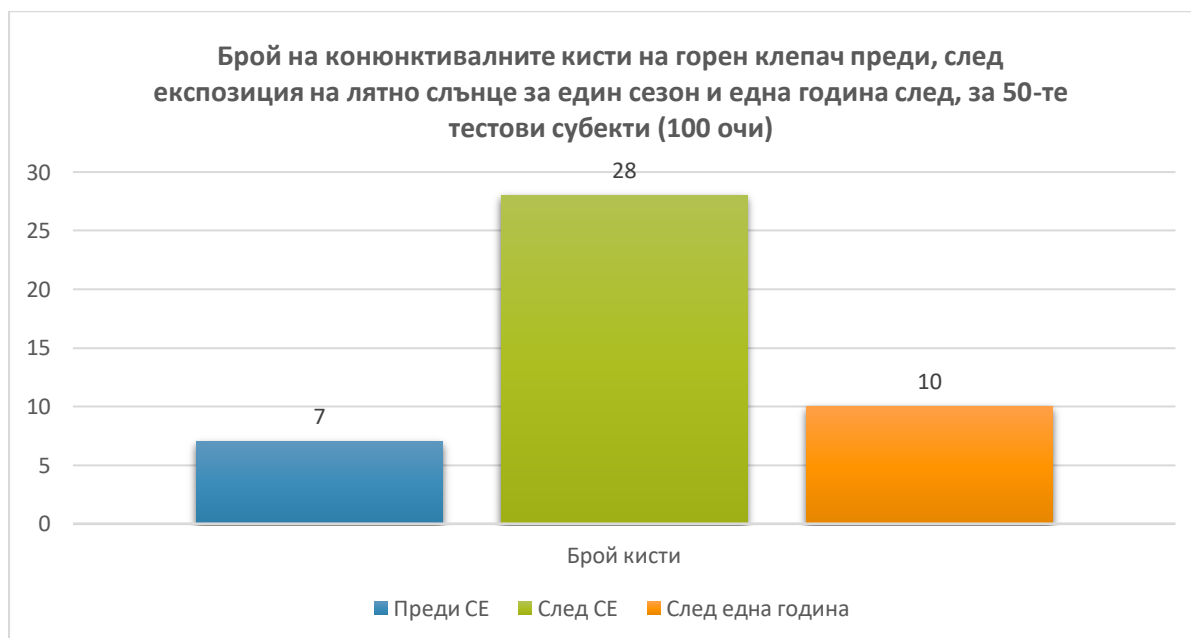
Фигура 17 Графично представяне на изменението преди и след излагане на лятно слънце за един сезон на брой, среден диаметър, обща засегната площ на конюнктивалните лезии на горен клепач за изследваната група.

Броят на кистичните лезии демонстрира четирикратно нарастване след летния сезон, като се отчете редуциране на този брой, без пълно приравняване към изходните стойности при повторно изследване 1 година по-късно.

Таблица 11 Обобщение на резултатите за брой на конюнктивалните кисти на горен клепач, получени чрез ИВКМ, преди, след експозиция на слънце (СЕ) по време на летния сезон на 43° г.ш. и 1 година след, за 50-те тестови субекти (100 очи). Резултатите са представени като средни за око и като общи стойности. Отчита се нарастване на броя на кистите след СЕ 4 пъти, както и редуциране, но не приравняване към изходните стойности след 1 година.

Параметри	Дясно око (n=50)	Ляво око (n=50)	Общо	Статистическа значимост
Брой кисти преди СЕ	5 (Засегнати 4 от 50 очи)	2 (Засегнати 2 от 50 очи)	7 (Засегнати 6 от 100 очи)	NA
Брой кисти след СЕ	16 (Засегнати 11 от 50 очи)	12 (Засегнати 9 от 50 очи)	28 (Засегнати 20 от 100 очи)	Сигнификантна промяна спрямо преди СЕ P=0.011
Брой кисти след една година	7 (Засегнати 5 от 50 очи)	3 (Засегнати 2 от 50 очи)	10 (Засегнати 7 от 100 очи)	Сигнификантна промяна спрямо преди СЕ P = 0.31 Сигнификантна промяна спрямо след СЕ P = 0.009

Промяната в броя на конюнктивалните кисти на горен клепач е демонстрирана графично във Фигура 18.



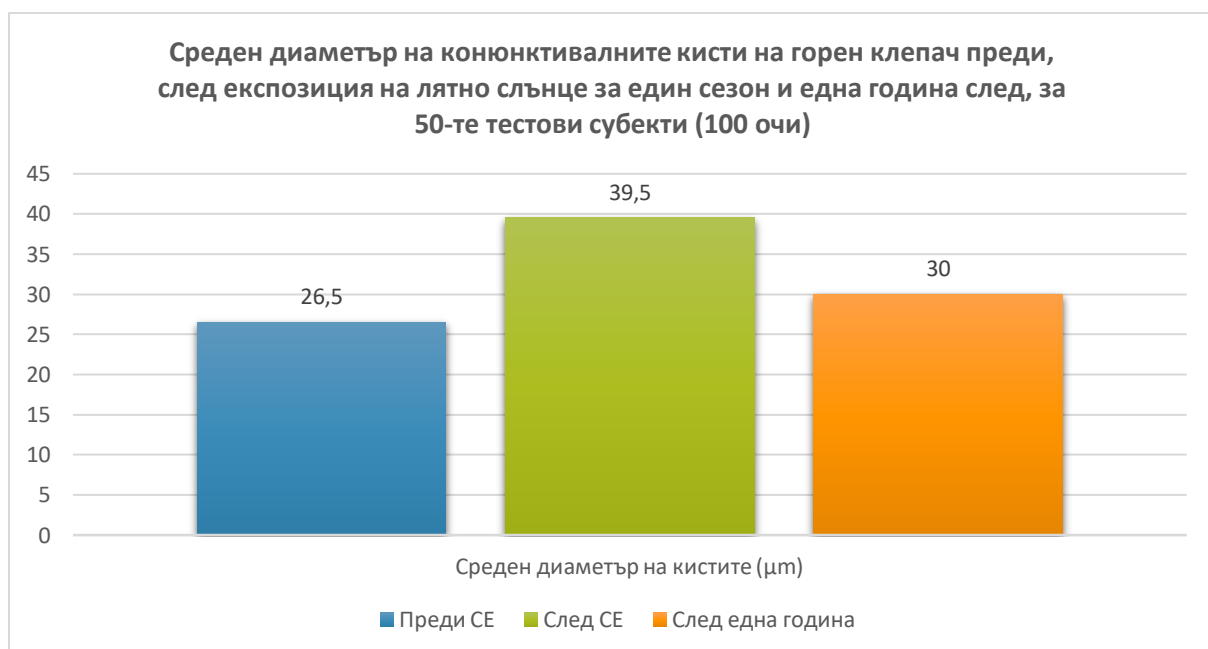
Фигура 18 Графично представяне в динамика на броя на конюнктивалните кисти на горен клепач преди, след излагане на лятно слънце за един сезон и 1 година по-късно за 50-те тестове субекти.

Друго интересно наблюдение е промяната в средния диаметър на конюнктивалните кистични лезии на горен клепач като се отчете сигнификантно увеличаване след СЕ и възвръщане, но не напълно приравняване към изходните стойности при повторно изследване след 1 година.

Таблица 12 Обобщение на резултатите за средния диаметър на конюнктивалните кисти на горен клепач, получени чрез ИВКМ, преди, след експозиция на слънце (СЕ) по време на летния сезон на 43° г.ш. и 1 година след, за 50-те тестови субекти (100 очи). Демонстрира се сигнификантно нарастване на средния диаметър на кистите след СЕ и редуциране 1 година по-късно, без резултатите да са приравнени към базовите стойности.

Среден диаметър на кистите (µm)	Дясно око (n=50)	Ляво око (n=50)	Общо	Статистическа значимост
Преди СЕ	25.5 ±5 µm	27.5 ±6µm	26.5 ±5.5 µm	NA
След СЕ	39 ±14 µm	40 ±12 µm	39.5 ±13 µm	Сигнификантна промяна спрямо СЕ P = 0.002
След една година	28 ±11 µm	32 ±8µm	30 ±9.5 µm	Промяната НЕ е сигнификантна спрямо преди СЕ P = 0.68 Сигнификантна промяна спрямо след СЕ P = 0.031

Промяната в средния диаметър на конюнктивалните лезии на горен клепач е демонстрирана нагледно на Фигура 19.



Фигура 19 Графично представяне на изменението на средния диаметър на конюнктивалните кисти на горен клепач преди, след излагане на лятно слънце за един сезон и 1 година по-късно за 50-те тестови субекти.

Отчетено е изменение и в общата засегната площ на конюнктивалните лезии на горен клепач като този параметър е претърпял шесткратно увеличение след излагане на лятно слънце за един сезон. Наблюдава се редукция при повторно изследване 1 година по-късно, без пълно приравняване към изходните стойности.

Таблица 13 Обобщение на резултатите за средния диаметър на конюнктивалните кисти на горен клепач, получени чрез ИВКМ, преди, след експозиция на слънце (СЕ) по време на летния сезон на 43⁰ г.ш. и 1 година след, за 50-те тестови субекти (100 очи). Отчита се шесткратно увеличение на общата засегната площ след СЕ и редуциране на резултатите 1 година по-късно, без стойностите да бъдат приравнени към изходните.

Обща засегната площ (μm^2)	Дясно око (n=50)	Ляво око (n=50)	Общо	Статистическа значимост
Преди СЕ	400 μm^2	173 μm^2	573 μm^2	NA
След СЕ	1959 μm^2	1507 μm^2	3466 μm^2	NA
След една година	615 μm^2	301 μm^2	916 μm^2	NA

Общата засегната площ преди, след СЕ и една година по-късно са представени графично във Фигура 20.



Фигура 20 Графично представяне на изменението на общата засегната площ на конюнктивалните кисти на горен клепач преди, след излагане на лятно слънце за един сезон и една година по-късно за 50-те тестови субекти

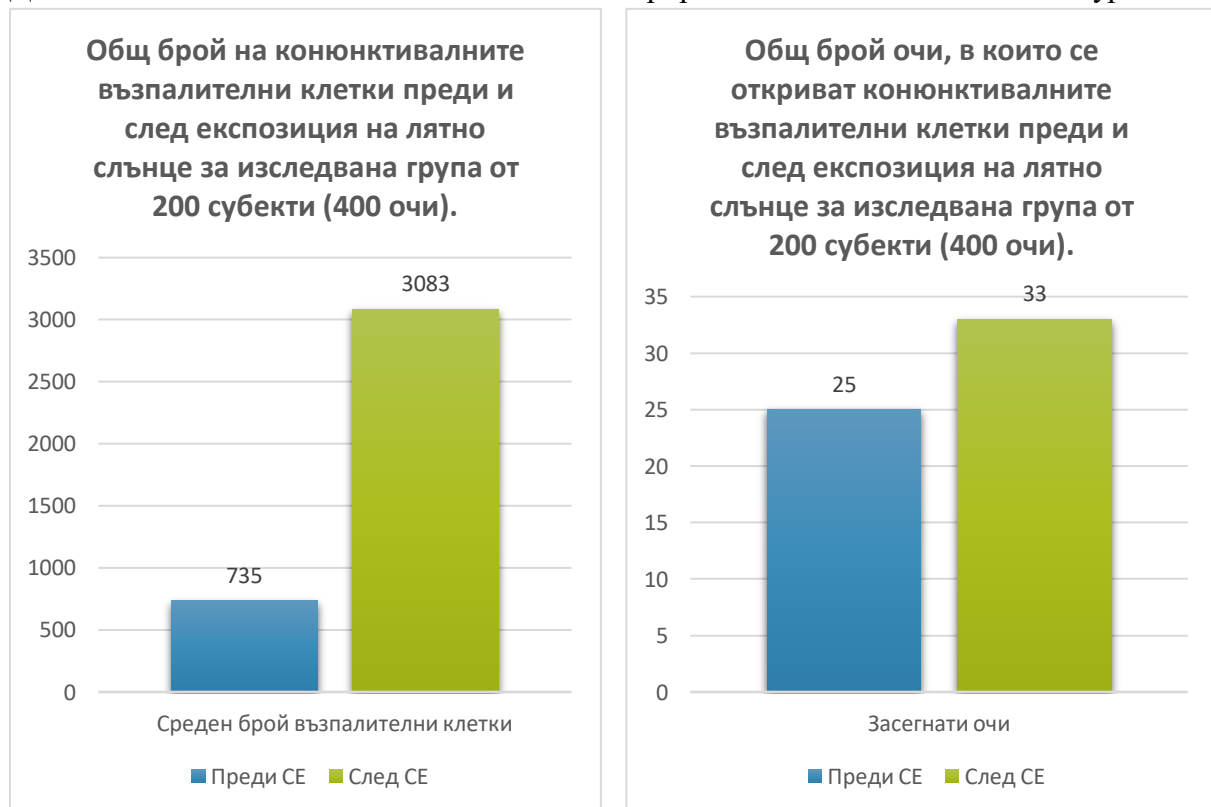
Корелацията на Spearman е оценена отделно за дясно и ляво око, за да се определи непараметричната ранг корелация между слънцезащитните навици и микроструктурните увреждания. Анализите подчертаха отрицателната зависимост между навиците за употреба на слънчеви очила (отговор "ДА / НЕ нося слънчеви очила през по-голямата част от времето през лятото") и броя кисти. Стойността на коефициента е -542 и -373 съответно за дясното и лявото око, като се установи отрицателна зависимост между слънцезащитните навици и броя на кистите.

Анализ на откритите възпалителни клетки в конюнктивата демонстрира четирикратно увеличение за двете очи, с изразено превалиране в лявото око. Резултатите са представени нагледно в Таблица 14.

Таблица 14 Обобщение на броя на конюнктивалните възпалителни клетки (ВК), получени чрез *in vivo* конфокална микроскопия, преди и след слънчева експозиция (СЕ) по време на летния сезон на 43⁰ г.ш., за изследвана група от 200 субекти (400 очи). Резултатите са представени за дадена област (супериорна (Суп), инфериорна (Инф), темпорална (Темп), назална (Наз)), средно за око и като обща стойност. Отчита се четирикратно увеличение на броя на възпалителните клетки за двете очи, по-изразено в лявото око.

Параметри	Дясно око (n=200)				Ляво око (n=200)				Общо	Статистика
	Суп	Инф	Темп	Наз	Суп	Инф	Темп	Наз		
Общ брой ВК преди СЕ	53	124	77	73	67	143	114	84	735 (Засегнати 25 от 400 очи)	NA
Среден брой ВК за око преди СЕ	82 (Засегнати 12 от 200 очи)				102 (Засегнати 13 от 200 очи)					
Общ брой ВК след СЕ	204	189	213	395	255	392	454	981	3083 (Засегнати 33 от 400 очи)	Промяната в броя не е сигнификантна спрямо преди СЕ P = 0.43
Среден брой ВК за око след СЕ	250 (Засегнати 17 от 200 очи)				521 (Засегнати 16 от 200 очи)					

Данните от Таблица 14 са демонстрирани нагледно във Фигура 21.



Фигура 21 Графично представяне на параметрите общ брой конюнктивални възпалителни клетки и брой очи, в които се откриват в динамика преди, след излагане на лятно слънце за изследваната група.

2. Група с излагане на УВ лъчи от изкуствен източник

2.1. Клинични данни

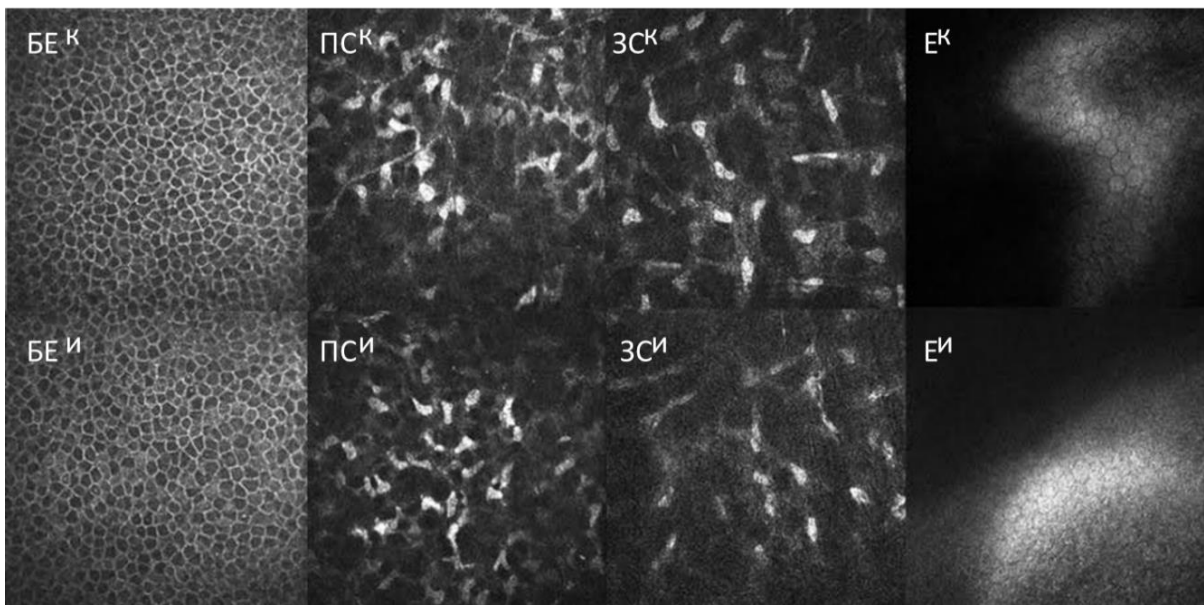
Клиничните данни за двете групи при всички посещения са обобщени в Таблица 16. Зрителната острота на изследваната група остава непроменена след ССПТ. Същата тенденция се наблюдава и при TBUT. Зачервяването на конюнктивата, багренето на роговицата и конюнктивата са в нормални граници (0-1) за повечето от пациентите и оценените параметри не се променят след ССПТ за изследваната група, освен конюнктивалната хиперемия. Не са наблюдавани промени сред здравите контроли. Подробни резултати относно критериите зачервяване и багрене са представени заедно с резултатите от клиничния преглед, включително BSCVA, зачервяване на конюнктивата, багрене на роговицата и конюнктивата за изследваната (N = 75 участници, n = 150 очи) и контролна групи (N = 75 участници, n = 150 очи).

Таблица 15 Резултати от клиничния преглед, включително BSCVA, TBUT, зачервяване на конюнктивата, багрене на роговицата и конюнктивата за изследваната (N = 75 участници, n = 150 очи) и контролна групи (N = 75 участници, n = 150 очи). Скалата за степенуване на Efron е използвана за оценка на конюнктивалното зачервяване, оцветяването на роговицата и конюнктивата. Наблюденията са класифицирани като: 0 - норма, 1 – минимално, 2 - леко, 3 - умерено и 4 – тежко зачервяване. Приложи се сдвоен пробен t-тест за определяне на разликите в клиничния преглед, включително BSCVA, зачервяване на конюнктивата, оцветяване на роговицата и конюнктивата между здрави контроли на изходно ниво и 8 седмици след първото посещение. Повтарящ се тест ANOVA се използва за определяне на разликите в клиничния преглед, включително BSCVA, зачервяване на конюнктивата, оцветяване на роговицата и конюнктивата между изследваната група през трите периода на наблюдение. * Скала на Efron; ^ 8 седмици след изходната визита.

		Визита			Статистика
Параметри	Група	Изходна стойност	В рамките на 3 дни след ССПТ	В рамките на 4 седмици след последния ССПТ ^	RM ANOVA p-стойност /Сдвоен t-test
BSCVA (десетични стойности)	ИГ	1.16 ± 0.19	1.14 ± 0.16	1.15 ± 0.18	F=1.31, p=.272
	КГ	1.14 ± 0.16	NA	1.14 ± 0.19	t=3.21, p=.075
TBUT (s)	ИГ	14 ± 8	13 ± 7	13 ± 7	F=.928, p=.398
	КГ	16 ± 9	NA	15 ± 8	t=.001, p=.970
Конюнктивално зачервяване*	ИГ	0.39± 0.55	0.40± 0.47	0.44± 0.58	F=4.06, p=.019
	КГ	0.36± 0.58	NA	0.37± 0.56	t=.350, p=.555
Роговично багрене*	ИГ	0.14± 0.43	0.13± 0.83	0.15± 0.51	F=2.00, p=.159
	КГ	0.12± 0.33	NA	0.13± 0.34	t=3.08, p=.081
Конюнктивално багрене*	ИГ	0.44± 0.65	0.49± 0.55	0.48± 0.57	F=5.26, p=.060
	КГ	0.44± 0.55	NA	0.43± 0.54	t=3.08, p=.081

2.2. Микроструктурни промени на роговицата

Микроструктурните изображения на всички клетъчни слоеве на роговицата са демонстрирани на Фигура 22, където са представени централна роговица в последователност базален епител (БЕ), предна строма в рамките на 40 μm от слоя на Bowman (ПС), задна строма в рамките на 40 μm пред мембрана на Descemet (ЗС), и ендотел (Е), за контролни субекти (к) и изследвани субекти (и) 4 седмици след ССПТ. Размерът на всяко изображение е 400 на 400 μm , с латерална резолюция 2 μm и размер на среза 5 μm . Тези данни подчертават статистически значими разлики за всички изброени клетки между изследваната и контролната групи (Таблица 17). Анализът на изследваната група демонстрира само редуциране на плътността на базалния епителен слой непосредствено след приключване на соларния цикъл, като тази плътност се възвръща в нормални граници при последващия преглед след 4 седмици (Таблица 17).



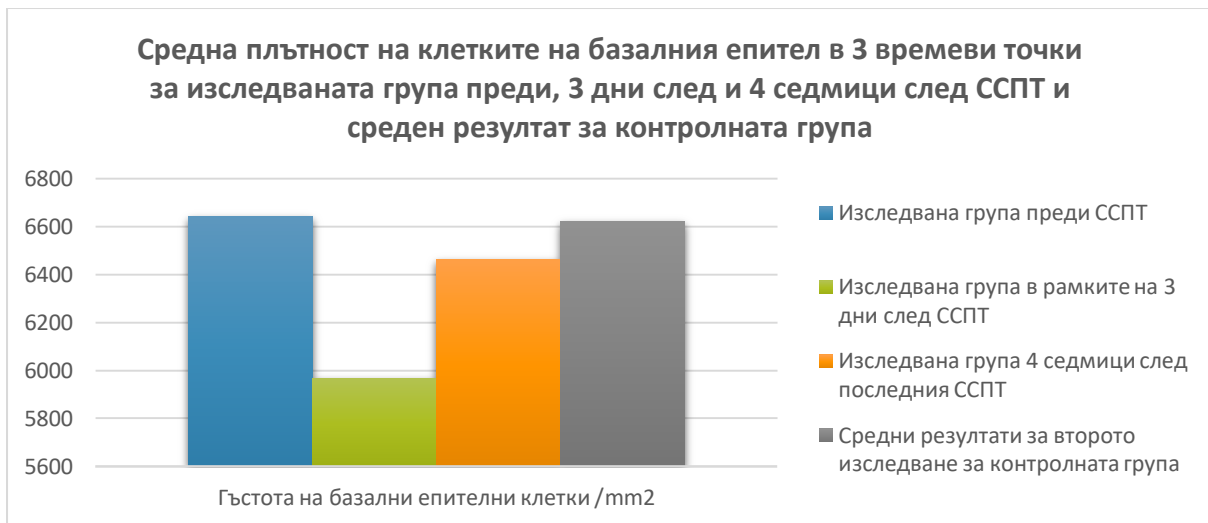
Фигура 22 ИВКМ на централна роговица от базалния епител (БЕ), предна строма (ПС), задна строма (ЗС), и ендотел (Е), за контролни субекти (к) и изследвани субекти (и) 4 седмици след ССПТ.

Подразделенията на резултатите от изследваната група според слънцезащитните навици предоставят допълнителна информация. Освен това, повтарящият се анализ ANOVA не демонстрира значителна разлика, когато слънцезащитата е взета предвид при изходното ниво и първата *in vivo* конфокална микроскопия. Анализът на данните, събрани по време на последващия преглед (след 4 седмици) показва, че предпазните очила ($F = 395,98$, $p = 0,028$) демонстрират значително по-висока степен на защита спрямо употребата на кърпа и липсата на защитни средства ($F = 62,03$, $p = 0,000$, $\eta^2 = 0.636$).

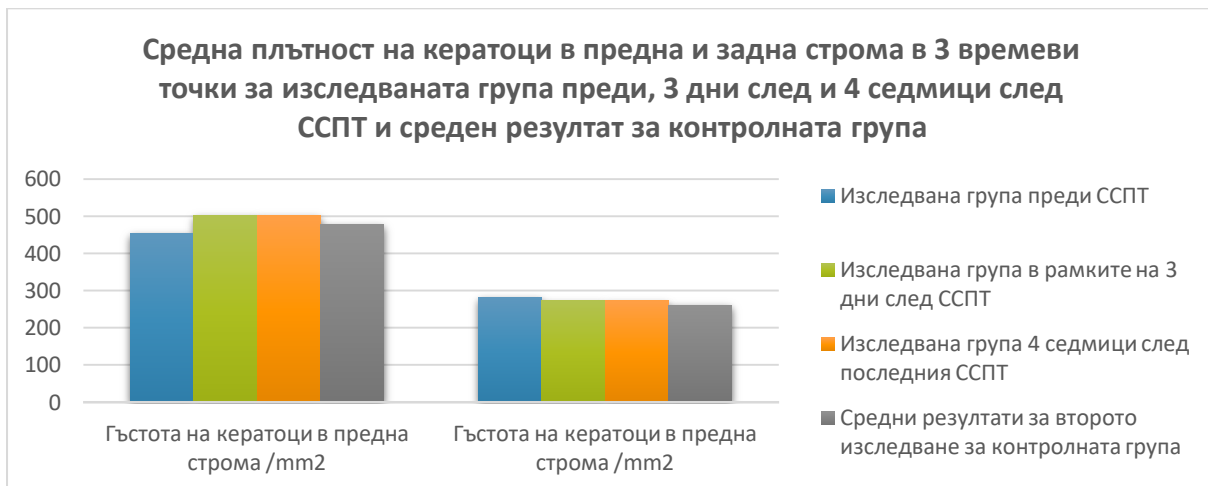
Таблица 16 Средна плътност на клетките на базалния епител, предна, задна строма и ендотел в 3 времеви точки: преди, 3 дни след и 4 седмици след ССПТ за изследвана група, включително значимостта между изходната и крайна точка. Анализът на изследваната група демонстрира само редуциране на плътността на базалния епителен слой непосредствено след приключване на соларния цикъл, като тази плътност се възвръща в нормални граници при последващия преглед след 4 седмици. Освен това, повтарящият се анализ ANOVA не демонстрира значителна разлика, когато слънцезащитата е взета предвид при изходното ниво и първото ИВКМ изследване. Анализът на данните, събрани 4 седмици след това, демонстрира, че предпазните очила ($F = 395,98$, $p = 0,028$) се характеризират с по-висока степен на защита спрямо употребата на кърпа и липсата на защита ($F = 62,03$, $p = 0,000$, $\eta^2 = .636$).

Параметри	Епител		Предна строма		Задна строма		Ендотел	
	Гъстота на базални епителни клетки /mm ²	Статистическа значимост	Гъстота на кератоцити клетки/mm ²	Статистическа значимост	Гъстота на кератоцити клетки/mm ²	Статистическа значимост	Гъстота на ендотелни клетки /mm ²	Статистическа значимост
Изследвана група преди ССПТ	6643 ± 112	NA	453± 64	NA	281± 45	NA	2896± 122	NA
Изследвана група в рамките на 3 дни след ССПТ	5966 ± 111	P=0.0001	501± 88	P=0.12	272± 66	P=0.09	2936± 164	P=0.22
Изследвана група 4 седмици след последния ССПТ	6462 ± 285	P=0.0001	477± 38	P=0.19	261± 51	P=0.06	2799± 144	P=0.09
Значимост между крайната и изходната стойност при изследваната група	P=0.036	NA	P=0.25	NA	P=0.12	NA	P=0.21	NA
Средни резултати за второто изследване за контролната група	6623 ± 352	P=0.0001	537± 28	P=0.002	299± 31	P=0.01	2999± 111	P=0.03
* P < 0.05 сравнено с изходната стойност ** p = 0.0001 сравнено с изходната стойност ^ p = 0.0001 сравнено с резултатите 3 дни по-късно								

Средната плътност на роговичните клетки е демонстрирана на фигури 23, 24, 25.



Фигура 23 Графично представяне средната плътност на клетките на базалния епител в динамика преди, 3 дни след и 4 седмици след ССПТ за изследваната група и среден резултат за контролната група.



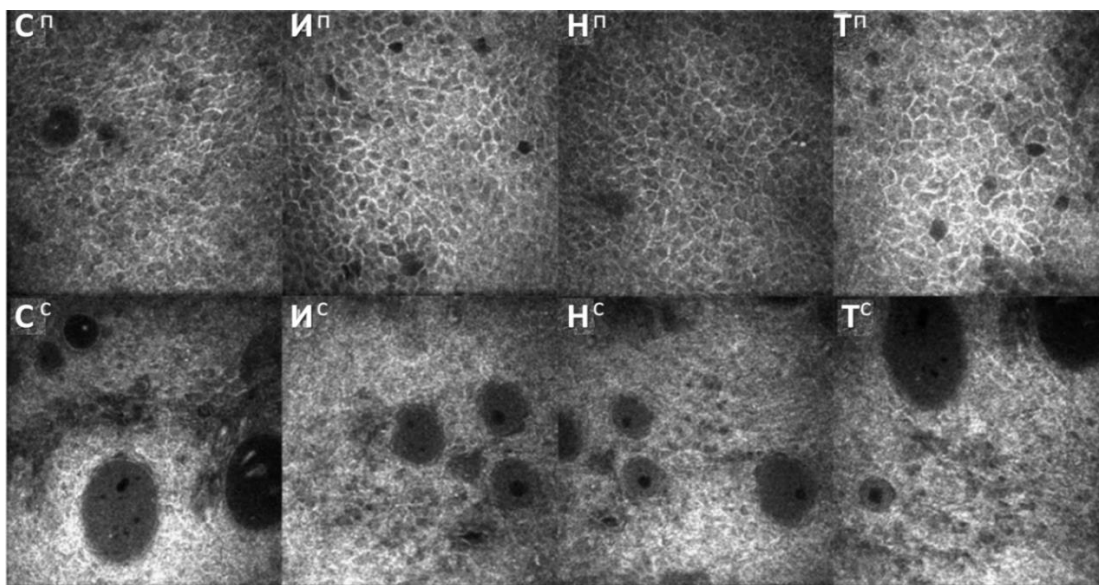
Фигура 24 Графично представяне средната плътност на кератоцитите в динамика преди, 3 дни след и 4 седмици след ССПТ за изследваната група и среден резултат за контролната група.



Фигура 25 Графично представяне средната плътност на ендотелните клетки в динамика преди, 3 дни след и 4 седмици след ССПТ за изследваната група и среден резултат за контролната група.

2.3. Микроструктурни промени на конюнктивата

Анализът на конюнктивата демонстрира вече описаните характерни кистични лезии с тъмни центрове и ярки граници, срещани в някои очи преди и във всички очи след соларните сесии на изследваната група. На Фигура 26 са представени лезии на конюнктивата в базалния епителен слой, изобразени чрез *in vivo* конфокална микроскопия (HRT II роговичен модул) от супериорна (С), долна (И), назална (Н) и темпорална част (Т), преди (п) и 4 седмици след (с) ССПТ при случайно подбрани единични субекти от изследваната група. Размерът на всяко изображение е 400 x 400 μm , с латерална резолюция 2 μm и дебелина за среза 5 μm .



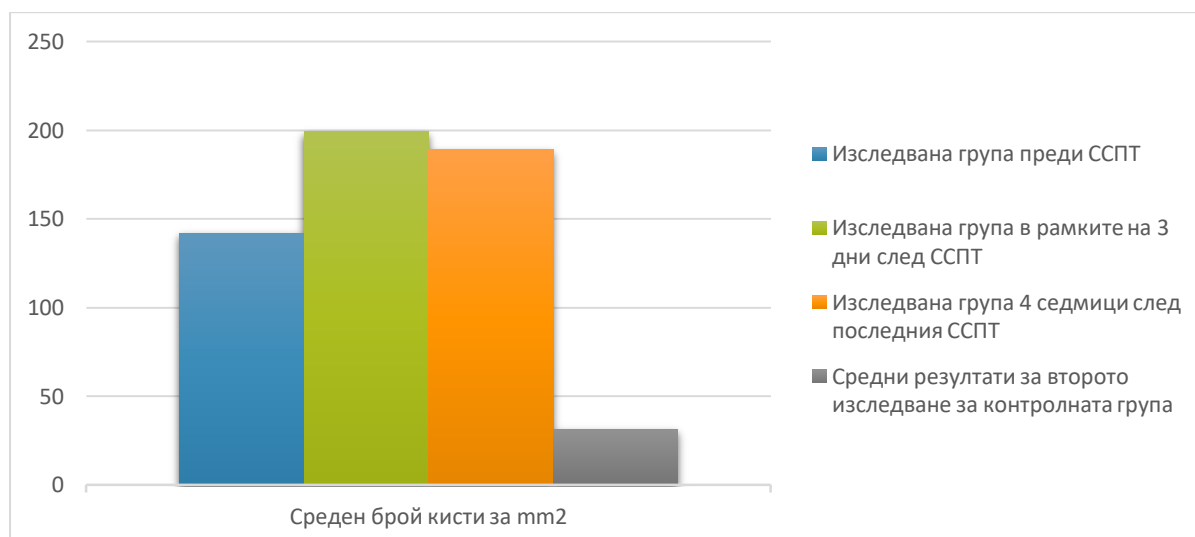
Фигура 26 Кистични лезии на конюнктивата, в базалния епителен слой, изобразени чрез ИВКМ от супериорна (С), инфериорна (И), назална (Н) и темпорална част (Т), преди (п), и 4 седмици след (с) ССПТ при случайно подбрани единични субекти от изследваната група.

Тези лезии рядко се срещат в контролната група. Броят им се увеличава веднага след ССПТ и намалява през периода на проследяване, но остава значително висок до изходното ниво. В таблица 17 са представени брой, разпределение и средна площ на конюнктивалните кисти, открити при *in vivo* конфокална микроскопия в 3 времеви точки: преди, в рамките на 3 дни след и 4 седмици след ССПТ, за изследваната група (N = 75 субекта, n = 150 очи). Резултатите са представени за конюнктивална област (горна (Суп), долна (Инф), темпорална (Темп), назална (Наз), средна стойност за око. Последните 2 реда демонстрират разпределението на кистите в същите области за контролните групи (средни данни от двете *in vivo* конфокални изследвания). Както се вижда на таблицата, кистичните лезии са по-многобройни в горната част на конюнктивата, преди и след излагане на изкуствени УВ лъчи. За да се определи общата дисперсия в броя на кистите, дефинирана от ССПТ експозицията, е използвана ета на квадрат (η^2). Стойността $\eta^2 = 0,81$ показва, че 81% от кистите може да са свързани с експозиция на ССПТ. Резултатите също така демонстрират, че веднага след ССПТ броят на кистичните лезии значително се увеличава в горната ($p = 0,004$) и долна ($p = 0,05$) конюнктивална област.

Таблица 17 Брой и разпределение на конюнктивалните кисти, открити при ИВКМ в 3 времеви точки: преди, в рамките на 3 дни и 4 седмици след ССПТ, за изследваната и контролна групи. Отчитат се статистически значимо увеличаване на броя на кистите 3 дни, както и 4 седмици след ССПТ спрямо изходната стойност и спрямо контролната група.

Параметри *Изследвана група (ИГ) Контролна група (КГ)	Дясно око (n=75)				Ляво око (n=75)				Среден брой кисти за mm ²	Статистика
	Суп	Инф	Темп	Наз	Суп	Инф	Темп	Наз		
ИГ Брой кисти преди ССПТ на mm ²	469	38	0	156	369	31	44	25	142	NA
ИГ Брой кисти 3 дни след ССПТ за mm ²	444	88	44	218	463	106	44	188	199	Промяната е сигнификантна преди ССПТ P=0.001
ИГ Брой кисти 4 седмици след ССПТ за mm ²	400	88	181	119	438	81	94	113	189	Промяната е сигнификантна преди ССПТ P=0.001
КГ Брой кисти за 2 изследвания за mm ²	37	25	19	31	50	31	31	25	31	Промяната е сигнификантна за изследваната група P=0.001

Промяната на общия брой на конюнктивалните кисти е представена графично на Фигура 27.



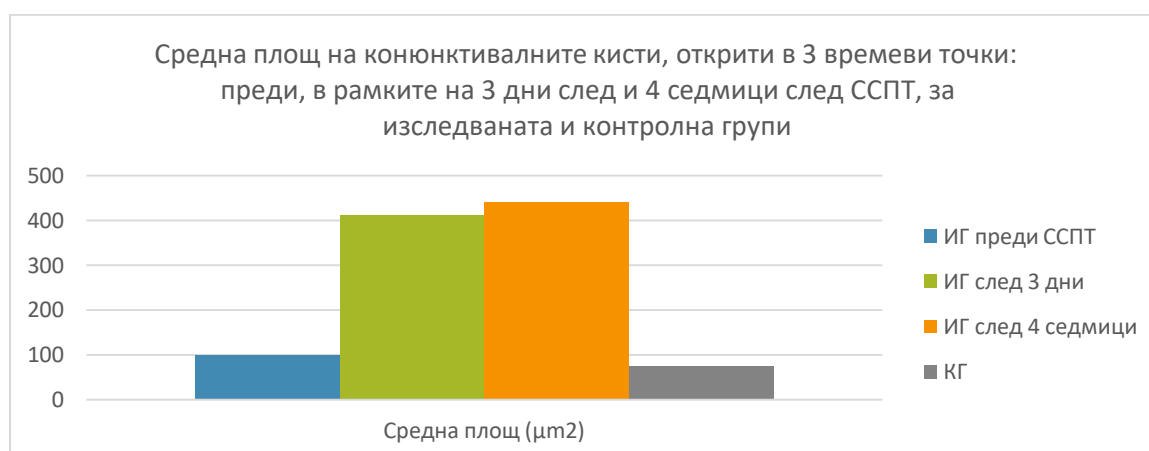
Фигура 27 Графично представяне в динамика на брой конюнктивални кисти в 3 времеви точки за изследваната група преди, 3 дни и 4 седмици след ССПТ и среден резултат за контролната група

Лезиите също са значително по-големи по размер в изследваната група, особено след ССПТ. Като се има предвид, че площта на базалната епителна клетка в конюнктивата е приблизително 30-35 μm^2 , размерът на кистите в изследваната група след ССПТ нараства до такъв равняващ се на 13-16 базални епителни клетки.

Таблица 18 Средна площ на конюнктивалните кисти, открити при ИВКМ в 3 времеви точки: преди, в рамките на 3 дни и 4 седмици след ССПТ, за изследваната и контролна групи. Наблюдава се статистически значимо нарастване на средната площ на лезиите 3 дни, както и 4 седмици след при изследваната група в сравнение с изходните стойности и контролната група.

Параметри *Изследвана група (ИГ) *Контролна група (КГ)	Дясно око (n=75)				Ляво око (n=75)				Общо	Статистика
	Суп	Инф	Темп	Наз	Суп	Инф	Темп	Наз		
ИГ Средна площ на киста преди ССПТ (μm^2)	103.6	84.8	106.8	91.1	116.2	94.2	103.6	97.3	99.5	NA
	Средна площ на киста 96.4				Средна площ на киста 102.8					
ИГ Средна площ на киста 3 дни след ССПТ (μm^2)	449	383.1	351.7	420.8	474.1	379.9	411.3	417.6	411	Промяната е сигнификантна преди ССПТ P=0.001
	Средна площ на киста 401				Средна площ на киста 421					
ИГ Средна площ на киста 4 седмици след ССПТ (μm^2)	474.1	427	414.5	452.2	471	411.3	445.9	430.2	441	Промяната е сигнификантна преди ССПТ P=0.001
	Средна площ на киста 442				Средна площ на киста 440					
КГ Средна площ на киста (μm^2) за 2 изследвания	81.6	69.1	65.9	72.2	87.9	65.9	72.2	81.6	74.6	Промяната е сигнификантна за изследваната група P=0.001
	Средна площ на киста 72.2				Средна площ на киста 76.9					

Промяната в средната площ на конюнктивалните лезии в 3 времеви точки е представена нагледно във Фигура 28.



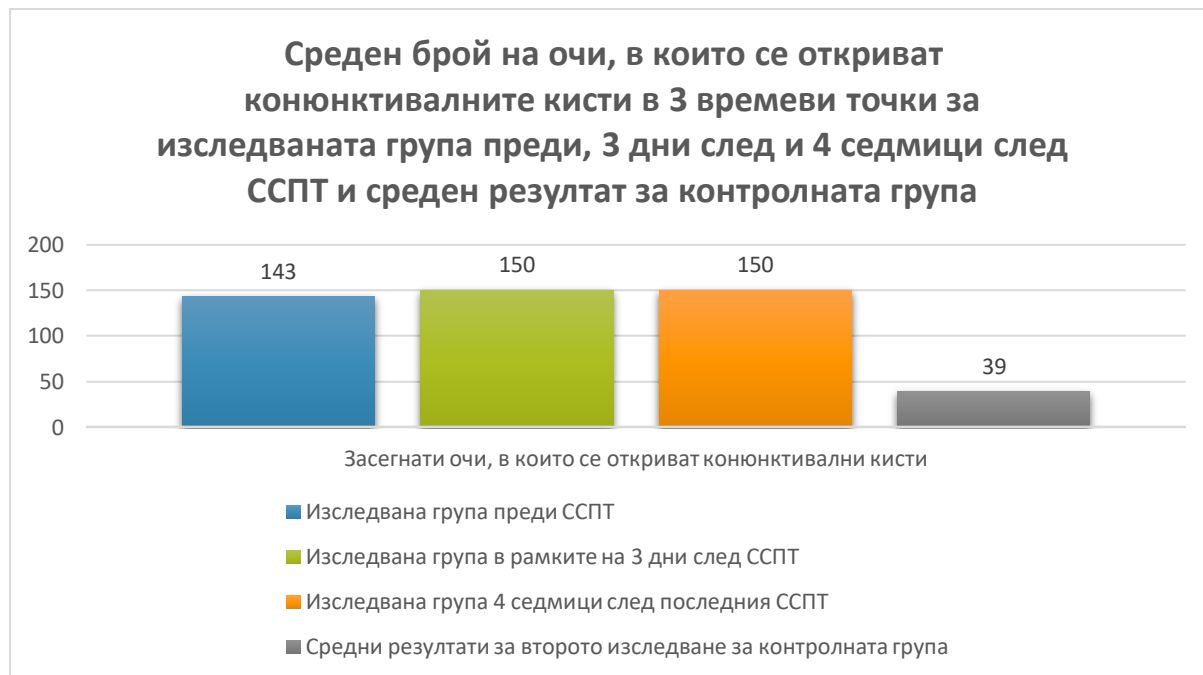
Фигура 28 Графично представяне на промяната на средната площ на конюнктивалните кисти преди, в рамките на 3 дни и 4 седмици след ССПТ, за изследваната и контролна група.

Друго интересно наблюдение е свързано с броя очите, в които се откриват кистичните лезии преди и след ССПТ като се открива статистически значимо увеличение на засегнатите очи в 3 времеви точки и сравнено с контролната група.

Таблица 19 Брой очи, в които се откриват конюнктивални кисти, в 3 времеви точки: преди, в рамките на 3 дни след и 4 седмици след ССПТ, за изследваната и контролна групи. Наблюдава се статистически значимо нарастване на засегнатите очи 3 дни, както и 4 седмици след ССПТ при изследваната група в сравнение с изходните стойности и контролната група.

Параметри	Дясно око (n=75)	Ляво око (n=75)	Общо	Статистика
*Изследвана група (ИГ) *Контролна група (КГ)				
ИГ Засегнати очи преди ССПТ	71 от 75 очи	72 от 75 очи	143 от 150 очи	NA
ИГ Засегнати очи 3 дни след ССПТ	75 от 75 очи	75 от 75 очи	150 от 150 очи	Промяната е сигнификантна преди ССПТ P=0.001
ИГ Засегнати очи 4 седмици след ССПТ	75 от 75 очи	75 от 75 очи	150 от 150 очи	Промяната е сигнификантна преди ССПТ P=0.001
КГ Засегнати очи за 2 изследвания	17 от 75 очи	22 от 75 очи	39 от 150 очи	Промяната е сигнификантна за изследваната група P=0.001

Общите резултати от Таблица 19 са демонстрирани графично във Фигура 29.



Фигура 29 Графично представяне на промяната в броя на очите, в които се откриват конюнктивалните кисти в 3 времеви точки за изследваната група преди, 3 дни и 4 седмици след ССПТ и среден резултат за контролната група.

Промяната в броя и площта на конюнктивалните кисти за всяко око и зона по отделно са представени на Таблица 21.

Таблица 21 Обобщение на броя и площта на конюнктивалните кистични лезии, получени чрез *in vivo* конфокална микроскопия, преди и след ССПТ, както и 3 дни и 4 седмици след това за изследваната група, както и средно от 2 изследвания при контролната група. Резултатите са представени за дадена област (супериорна (С), инфериорна (И), темпорална (Т), назална (Н)). Отчита се статистически значима промяна в броя и площта на лезиите през тези 3 времеви точки, както и сравнено с контролната група.

Параметри			Изследвана група			Контролна група
Око			Изходна стойност	3 дни	4 седмици	Средно от 2 изследвания
Брой кисти	Дясно	С	469	444	400	37
		И	38	88	88	25
		Т	0	44	181	19
		Н	156	218	119	31
	Ляво	С	369	463	438	50
		И	31	106	81	31
		Т	44	44	94	31
		Н	25	188	113	25
Площ на кисти (μm^2)	Дясно	С	103.6	449	474.1	81.6
		И	84.8	383.1	427	69.1
		Т	106.8	351.7	414.5	65.9
		Н	91.1	420.8	452.2	72.2
	Ляво	С	116.2	474.1	471	87.9
		И	94.2	379.9	411.3	65.9
		Т	103.6	411.3	445.9	72.2
		Н	97.3	417.6	430.2	81.6

Ш. Хипотези за офталмохелиози

Настоящият труд демонстрира на микроструктурно ниво, че излагането на УВ лъчи през летния сезон на 43° географска ширина е свързано със значителни прогресивни промени на предната очна повърхност, включително роговицата, булбарната и палпебралната конюнктива. При повторно изследване една година по-късно тези промени показват обратна еволюция, но пълно възстановяване до изходното ниво не се наблюдава, особено по отношение на конюнктивата. Следователно кумулативният ефект на тези промени допринася за "слънчевото стареене на очната повърхност". Ако подчертаните структурни промени се анализират индивидуално, можем да предположим, че всяка от тях има отрицателно въздействие върху целостта на очната повърхност и поради това може да бъде потенциална причина за сухо око, хроничен конюнктивит, хроничен блефарит, намалена прозрачност на роговицата, дефицит на лимбални стволови клетки. Вероятно всички тези структурни промени имат физиологични последици с отрицателен ефект върху целостта на предната очна повърхност и могат да доведат до нейното трайно увреждане и заболяване.

Най-значимата роговична микроструктурна промяна, описана в рамките на една година от проследяването, е гъстотата на епителните клетки. Описаната разлика преди и след летния сезон и излагане на слънце на 43° северна ширина е статистически значима. Douth и сътрудници, в много изчерпателно проучване, доказват, че централната роговица абсорбира 47% от УВ светлината с дължина на вълната от 400 до 310 nm⁴⁹. Те също така установяват, че предаването на УВ светлината от роговицата намалява с редуциране дължина на вълната. Това означава, че повърхностната роговица се уврежда от УВ светлината с най-висока енергия и това е и обяснението защо епителните промени се откриват дори след един сезон излагане на слънце. Други проучвания определят редуцирания брой епителни клетки като явление свързано със стареенето⁵⁰⁵¹.

Най-забележимите изменения на очната повърхност след излагане на лятно слънце бяха промените в конюнктивата. Откриват се кисти, които представляват неспецифично изменение. Описани са при различни „стресови“ ситуации за предната очна повърхност, включително операции, засягащи конюнктивата⁵²⁵³. Интересното е, че подобни кисти са описани като особености на увреждане на кожата след излагане на УВ лъчи⁵⁴. Описаните „микровезикули“ в структурата на кожата и тяхното развитие след излагане на УВ лъчение изглежда са много сходни с резултатите от настоящото проучване. Както се очаква описаните в настоящото изследване конюнктивални кисти имат специфична предилекция в рамките на междупалпебралната фисура. След излагане на слънце обаче те се характеризират с по-голям диаметър в зоната под горния клепач. Кистите в тестовата група намаляват по брой и размер в рамките на една година. Pitts и сътрудници през 1978 г., използвайки електронна микроскопия, демонстрират микроструктурно увреждане на роговицата на примати след остро УВ излагане, като е интересно, че роговицата се възстановява до нормалната архитектура в рамките на седмици⁵⁵.

Наблюденията чрез *in vivo* конфокална микроскопия не са сравними с тези, получени при различни ултраструктурни изследвания, но техниката, използвана от настоящото проучване, също подчерта значително редуциране на структурните изменения във времето. Интересното е, че се наблюдава отрицателна статистическа връзка между навниците за слънцезащита по отношение на очите и броя на кистите, което доказва, че независимо от различните стилове на слънчевите очила, добрите навизи за защита се асоциират с положителни резултати - по-малко щети на клетъчно ниво. Едно от най-интересните находки са кистичните изменения в зоната на горната палпебрална конюнктива. Тези кисти са сходни, но не идентични с установените такива в булбарната конюнктива, вероятно поради по-твърдата тарзална адхезия. В контролната група се наблюдава възвръщане на стойностите близо до изходните в рамките на една година. Основният въпрос е защо тези промени са концентрирани върху горната палпебрална конюнктива? Концепцията, че „периферното фокусиране на светлината“ засяга назалната конюнктива, е универсална в офталмологията. След блестящия експеримент на проф. M. Coroneo, осигуряващ научни и клинични доказателства за назалната предилекция на пингвекула и птериgium, се смята, че зоната, която е най-засегната от светлина (и по-специално UV), е назална конюнктива¹¹. Интерпалпебралната (експонираната на светлина) конюнктива обаче е предразположена към различни външни и вътрешни травматични събития, като прах, вятър, постоянно движение на клепача, които се характеризират с доживотни ефекти, независимо от излагането на UV лъчи. Всъщност, като се има предвид анатомията на очите и функцията на клепачите, най-незащитената част от лимба може да бъде долната му част.

Особено през лятото хората гледат към небето с леко притворени очи и отразената светлина лесно достига до долния лимб, дори под слънчевите очила. Теоретично енергията се неутрализира по-бързо от интензивното кръвоснабдяване и движението, свързано с мигането, но дългосрочният ефект може да бъде микроструктурно увреждане, част от което е описано от това проучване. Тази теория може да се постави под въпрос, имайки предвид назалната предилекция на пингвекулата и птериgium.

Описаните промени, обаче, могат да бъдат свързани с механичния ефект на клепача. Алтернативно, горният лимбичен кератоконюнктивит, лимбалната форма на верналния кератоконюнктивит или неоваскуларизация на горната част на лимба могат да бъдат обяснени с приноса на паралимбалното увреждане в горната част. Това явление може също да допринесе за хроничното увреждане на клепачните ръбове и Мейбомиевите жлези. Това се подкрепя допълнително от топографията, клиничните и хистологичните характеристики на гореспоменатите състояния⁵⁶. В този контекст аргументът, че автофлуоресценцията (приета като белег на ранно слънчево увреждане) се открива в интерпалпебрална конюнктива^{57,10}, може да се обясни с ефекта, подобен на „избърсване“ на клепачите и механично изместване назален и темпорален холестерол като отпадъчен продукт от увреждане на предната очна повърхност.

И накрая, в природата се наблюдава интересно явление. Очите на повечето животни се характеризират с лимбална пигментация, особено в полярните райони. Това може да бъде естествен защитен механизъм за разфокусиране на светлината. В този контекст

контактните лещи с UV A и B защита могат да бъдат най-добрият вариант за хора, изложени на слънце за дълги периоди от време.

Независимо от това, UV увреждането на окото е факт и когато учените изучават точните патологични промени и връзката им с установената клинична патология, практикуващите лекари трябва да насочат вниманието си към процеса на обучение на пациентите относно необходимата UV защита на очите им.

Дискусия

Профилактика на очния анализатор срещу слънчевото ултравиолетово въздействие

Описаните рискове за очното здраве поставят въпроса за адекватна защита от вредното въздействие на УВЛ. Важно е, обаче, средствата за УВ протекция да отговарят на определени стандарти, както и да осигуряват адекватна защита не само от фронтално идващите слънчеви лъчи, но и от периферно фокусираните лъчи. Съществуват различни варианти за очна УВ протекция: слънчеви очила, контактни лещи, шапки и УВ протектори под формата на очни колири. Всяка от тези опции се характеризира с определени предимства и недостатъци.

Слънчеви очила

От десетилетия се провеждат кампании за повишаване осведомеността относно опасностите от излагане на слънце. Крайната им цел е намаляване на дозата на УВЛ в резултат от промени в поведението като съзнателно търсене на сянка, носене на шапка, слънчеви очила, контактни лещи или адекватно облекло⁵⁸. Слънчевите очила обикновено се препоръчват като защита срещу слънчева светлина и отблясъци. Този вид соларна протекция осигурява вертикална бариера за защита на очите, чиято ефективност зависи силно от способността на стъклата да пропускат светлина с определена дължина на вълната, геометрията на лицето, рамката и условията на експозиция. Ефективността на защитата на слънчевите очила обикновено се съобщава от нехармонизирани категории слънчеви очила, базирани само на протективните свойства на лещите, класифициращи осигурения слънчев спектър, без да се отчитат периорбиталните зони на кожата или факторите на околната среда⁵⁹.



Фигура 30 Различни модели слънчеви очила.

Въпреки че слънчевите очила се използват за блокиране на УВЛ, повечето дизайни са недостатъчни за осъществяване на адекватна протекция на окото от странично лъчение⁶⁰. Необходимостта от странична защита на очите чрез слънчеви очила се обсъжда от много време. Още през 1986 г. Silver пише: „Слънцезащитните очила, които позволяват значително предаване на токсични дължини на вълната периферно, не изпълняват основната си функция, а именно да предпазват окото“. В редица други проучвания се посочва важността на блокирането на нежелана светлина, която достига окото темпорално или отгоре, създавайки проблем с разсеяната светлина, отразена от задната повърхност на лещата на слънчевите очила⁶¹.

Високи дози УВЛ могат да достигнат очите дори при наличие на слънчеви очила. Слънчевата радиация достига до очната повърхност от горната страна на рамката поради наличието на директно лъчение, заобикалящо очилата, от долната страна в резултат на отразена радиация от земните повърхности и от всички други посоки поради дифузно излъчване в резултат на разсейване от облаци и частици⁶². Неефективното използване на слънчеви очила може дори да увеличи дозите на УВЛ, получени поради дилатация на зениците или продължителна експозиция на открито⁶³.

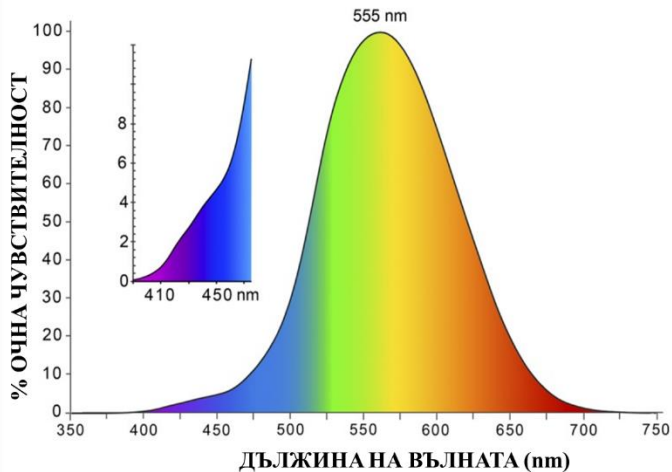
Поглъщането на УВЛ от окото зависи от състоянието на тъканите, възрастта на индивида и дадената дължина на вълната (УВ-В 280–315 nm или УВ-А 315–400 nm)⁶⁴. Преди навършване на десетгодишна възраст, 2–5% от УВЛ, получени от очите, могат да достигнат до ретината, докато на възраст над 25 години този процент е само 1–2%⁶⁵. Тъй като повечето дози УВЛ, получени от светлина с дължина на вълната под 300 nm (почти всички УВ-В), са блокирани от роговицата и периорбиталните кожни зони, оценката на слънчевите УВ дози, получени в тези кожни зони, е от решаващо значение⁶⁶.

Повечето лещи на слънчеви очила абсорбират УВЛ до 400 nm (УВ-В, 280 до 315 nm; УВ-А, 315 до 400 nm) благодарение на стабилизаторите на УВ светлина, вградени в материала⁶⁷. УВ абсорбаторите (бензотриазоли и хидроксифенилтриазини за поликарбонатен материал) предотвратяват влошаването на физическите свойства като загуба на ударна якост, промени в цвета, напукване⁶⁸.

Нивата на защита от УВЛ са утвърдени чрез международни стандарти като тези на Международната организация за стандартизация и Американския национален институт за стандарти Z80.3⁶⁹. Американският стандарт за блокиране на ултравиолетова светлина е 380 nm. Налични са и допълнителни стандарти - европейски, австралийски/новозеландски, канадски и бразилски⁶⁹. Стандартът за блокиране на УВЛ в Европа е 380 nm, докато според останалите посочени стандарти тази норма е 400 nm⁷⁰. Международната комисия за защита от нейонизираща радиация (ICNIRP) установява, че безопасните граници по отношение на излагането на УВЛ в спектър 180nm – 400nm върху незащитеното око не трябва да надвишават 30 Jm⁻² ефективна спектрална експозиция, докато общата УВ лъчиста експозиция в спектралната област 315 nm – 400nm не трябва да надвишава 104 Jm⁻²⁷¹.

Чувствителността на човешкото око към светлина варира силно в обхвата на дължината на вълната между 380 и 800 nm⁷². Нормално човешко око при дневна светлина е най-

чувствително при дължина на вълната от 555 nm и по-малко отзивчиво към червен цвят, с дължина на вълната по-голяма от 670 nm и сини дължини на вълната, по-малки от 430 nm, което предполага, че филтрирането на дължини на вълната по-малко от 430 nm трябва да има слабо влияние върху цветовото възприятие⁷³.



Фигура 31 Нормално човешко око при дневна светлина е най-чувствително при дължина на вълната от 555 nm.

Слънчевите очила и прозрачните оптични лещи могат да съдържат няколко спектрални области на светлинна филтрация. Свойството за филтриране на неутрална плътност на всяка леща диктува цялостното оптично филтриране, което определя светлината или тъмнината на лещата в целия спектрален обхват. Допълнителните специфични за дължината на вълната филтриращи багрила и покрития определят абсолютните характеристики за блокиране на светлината и пропускането на светлина под и над определена дължина на вълната. Пропускането на светлина през материал абсорбиращ светлина зависи и от дебелината на стъклото⁷⁴.

Измерването на действителното количество на светлина с определена дължина на вълната, падаща върху или влизаща в окото и достигаща до ретината, е сложно. Различни фактори като относително оцветяване на лещата, странично предаване на разпръсната светлина, дебелина на лещата, дизайна на избраните рамки за очила и положението на лещата спрямо окото влияят върху размера на зеницата, който определя размера на светлина, влизаща в окото. Тъй като реакцията на зениците е най-чувствителна към видимата светлина, конвенционалните слънчеви очила могат да позволят мидриаза пропорционално на затъмнението на стъклата и в резултат повишена вътреочна инсолация^{75,62}.

Стандартните слънчеви очила (предпазващи само лицевата част на главата) не осигуряват защита от ПФС на слънчева светлина⁷⁶. Тези непопулярни открития демонстрират недостатъчна защита от УВЛ при слънчевите и диоптрични очила⁷⁷. Дори при фронтално лъчение, материалът на лещите може не осигурява абсорбция, необходима за адекватна УВ защита^{61,78}. Слънчевите очила трябва да бъдат правилно употребени за оптимални резултати⁷⁹, но дори това условие да е изпълнено повечето

слънчеви очила са неефективни срещу косо лъчение⁷⁷. В скорошно проучване изследователи извършват измервания на открито, които доказват твърдението, че дифузното УВЛ може да генерира значителни нива на ПФС и демонстрират ограничена защита срещу ПФС на традиционните варианти на протективни стъкла⁸⁰. В облачни дни Kimlin и екип откриват, че УВ лъчението върху носа и лицето се увеличава в резултат на разсейване на УВ от облачна покривка, въпреки че тази констатация може да се прилага само в субтропични ширини (27,5° ю.ш., 151,9° и.д.). Следователно резултатите могат да подценят ПФС при облачни условия⁸¹.

Все пак слънчевите очила намаляват получените дози УВЛ. Плътено прилепващи слънчеви очила тип маска осигуряват максимална защита, но не са подходящи за всички ситуации. Прогнозите за УВ дозата отчитат влияещите фактори като геометрията на слънчевите очила и положението на употреба, разстоянието между носа и моста на челото, зоната на откритата кожа, положението на слънцето и главата, ориентацията към слънцето, облачната покривка и отражението от земята. Наблюдава се висока зависимост между ефективността на слънцезащитата и геометрията на слънчевите очила⁵⁹.

На теория, за да е ефективно едно средство за защита срещу УВЛ, то трябва да може да предпазва от ПФС. Въпреки това, ПФС възниква при редица ъгли на падане, включително много коси траектории, които произхождат зад фронталната равнина на окото⁸². Слънчевите очила осигуряващи най-високи нива на защита при всички условия на излагане са очилата с плътно прилепване, блокиращи УВЛ от всички посоки. Потенциалните УВ дози, получени в зони на кожата, защитени от слънчеви очила със среден или голям размер, силно се различават и зависят от условията на околната среда. Очните дози, получени при употреба на слънчеви очила със среден размер, са по-големи в сравнение с такива с други размери. Това потвърждава, че пътищата на индиректната светлина допринасят за излагането на слънце на очите, чрез висока дифузна и отразена УВ доза⁸³. Средните по размер слънчеви очила предпазват от пряко УВЛ, но не и от отразените от земята УВЛ. Приносът на отразеното УВЛ е предсказан от Sliney и екип, но влиянието на формата на слънчевите очила върху защитата от отразената УВ радиация не е уточнено⁷⁵. Важен е фактът, че през зимата отразената УВ доза остава висока дори при употреба на слънчеви очила.

Дневните кумулативни дози, получени от зоните на периорбиталната и клепачна кожа, защитени чрез средни или големи по размер слънчеви очила, надвишават препоръчителния праг от 1,2 СЕД (120 J/m²) при безоблачни летни условия на излагане⁸⁴. Освен това позицията на главата спрямо слънцето оказва важно влияние върху получената доза УВЛ, особено при употреба на слънчеви очила със среден размер. Докато позицията на главата, гледаща надолу, ефективно блокира УВЛ, най-честата позиция на главата „гледайки право напред“ се асоциира с най-слаба степен на слънцезащита за очните и периорбитални кожни зони, тъй като слънчевите лъчи могат да „заобикалят“ слънчевите очила. По този начин разработването на слънчеви очила, осигуряващи по-плътно прилягане към геометрията на главата, може да осигури по-високи нива на УВ протекция⁸⁵.

Трябва да се вземе предвид разстоянието между моста на слънчевите очила и носа, което може да обясни изненадващо откриване на по-високи дози, изчислени за носа, защитени от слънчеви очила с големи размери, в сравнение със слънчеви очила със среден размер. Слънчевите очила с големи размери са по-слабо прилепнали към носа и в по-малка степен блокират директни и отразени лъчения, достигащи до носа, особено при положение на главата „с поглед напред“. Съобразяването на формата на слънчевите очила спрямо индивидуалната анатомия, условията на околната среда и характера на дейностите на открито трябва да бъде следващото предизвикателство за подобряване на УВ защитата на очите⁸⁶⁶⁶.

Контактни лещи

Контактните лещи се поставят директно върху окото и голяма част от лъчението, което идва от горе, отдолу и темпорално се абсорбира от тях. Ето защо УВ блокиращите меки контактни лещи, редуциращи ефекта на ПФС, представляват удобна алтернатива на слънчевите очила⁸⁷. Множество проучвания на ПФС подчертават необходимостта от преразглеждане на съвременните стандарти за УВ защита и при контактните лещи. Абсорбиращите УВЛ контактни лещи често се препоръчват за индивиди, които имат нужда от защита в среда с висока излагане на слънце. Някои групи работници на открито като моряци са изложени на риск от хронично прекомерно излагане на УВЛ⁸⁸. Очилата не са вариант при извършване някои дейности (водни спортове като сърфиране) и контактните лещи могат да бъдат единствената ефективна защита срещу заболявания като птериgium⁸⁹.

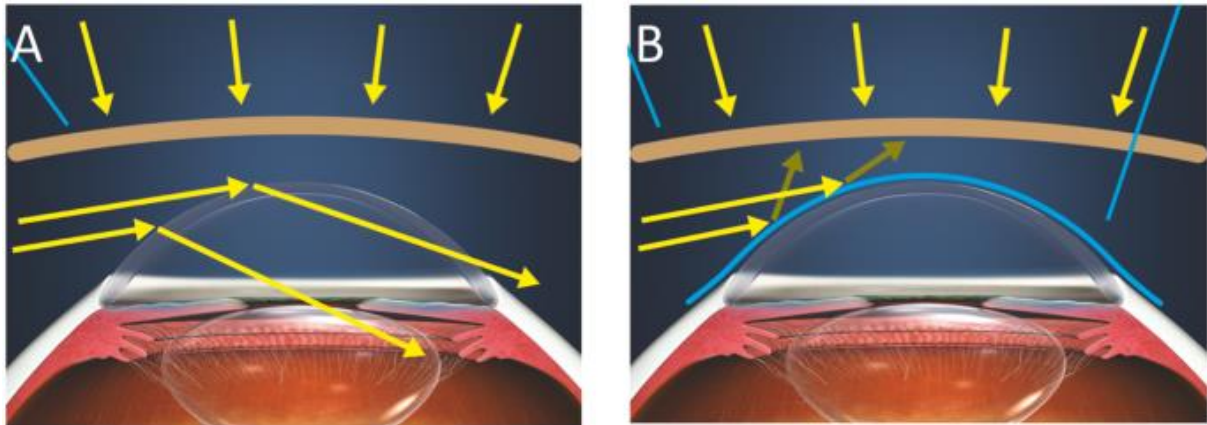
Американската администрация по храните и лекарствата (Food and drugs administration, FDA) има специфични стандарти за УВ абсорбиращи контактни лещи, базирани на американския национален институт за стандарти Z80.20. Съществуват две класификации на УВ абсорбиращи лещи:

- Клас 1. Препоръчва се за среда с висока експозиция, като планини или плажове. Лещите в тази класификация трябва да абсорбират повече от:
 - 90% от УВ -А (316-380 nm дължини на вълната)
 - 99% от УВ -В (280 - 315 nm)
- Клас 2. Препоръчва се за общи цели. Тези лещи трябва да абсорбират повече от:
 - 50% от УВ -А
 - 95% от УВ -В

Множество изследвания показват, че УВ блокиращите контактни лещи са ефективни за значително редуциране на ПФС⁹⁰. Намалването на УВ индуцираното ПФС е потвърдено чрез изследване, при което употребата на УВ блокираща мека контактна леща води до блокиране на флуоресценцията от предната камера на свински очи, което демонстрира значително блокиране на косо падащите УВ лъчи⁹¹.

За разлика от тях, прозрачните контактни лещи (не-УВ-блокиращи) имат само лек ефект върху ПФС, като те оказват влияние главно върху интензитета при по-коси ъгли на падане. Примерна схема е демонстрирана на Фигура 32. Малката, почти незначителна

степен на защита, осигурен от обикновени контактни лещи, може да се дължи на дебелината и формата на периферията на лещата⁷⁸.



Фигура 32 Механизъм на блокиране на периферните светлинни лъчи от контактна леща с UV защита.

Изследване⁶¹ демонстрира, че периферията на лещата променя естеството на фокусиране на светлината, но не намалява ефекта на ПФС. Измерванията в проучването предполагат, че дебелината на периферията и разликите в дизайна на контактните лещи могат да изместят ъгъла на падане с максимална интензивност в зависимост от различните сили на пречупване. Група учени съобщават, че фокусираната светлина, излизаща от назалния лимб, е измерена след двойно преминаване през роговицата, а не след еднократно преминаване, последвано от частично поглъщане⁹². Този факт води до подценяване концентрацията на светлина, достигаща до живото човешко око при реални условия.

Проучвания показват, че UV блокиращите контактни лещи могат да осигурят допълнително, но важно средство за предпазване на очите от хронично излагане на високи нива на UV светлина. Следователно съществува възможност рискът от очни заболявания като птериgium и ранна катаракта да бъде намален чрез употреба на UV блокиращи контактни лещи. Данни показват, че UV блокиращите контактни лещи са ефективни срещу UV-A и UV-B в различни среди, дори в планинската зона, където UV лъчението е най-високо, вероятно поради високи нива на разсеяни UVЛ⁹³. Контактните лещи могат да имат допълнително предимство, когато потребителят се намира под сянка на дърво, където дифузното UV-A облъчване все още е значително и има по-висок дял на UV-B, отколкото на пряка слънчева светлина⁹⁴⁹⁵⁹⁶.

Очни колири

Данните за ефективността на приложението на капки за очи с цел UV защита на очната повърхност са спорни. Множество проучвания изследват UV блокиращата способност на различни съединения.

Изследване изучава екстракти от *Aloe arborescens*. Учените формулират алоинът и полизахаридът в бинарен разтвор с цел защита на очите от бактериална инфекция и UVЛ. UV абсорбционният спектър се отчита от 190 до 440 nm, като се използва UV спектрометър. Бинарният разтвор демонстрира три пика на абсорбция съответно в UV-

А, В и С региони. Такава УВ абсорбционна способност се приписва на фенолните хромофори, отнасящи се до алоина. Това проучване предполага, че формулираният бинарен разтвор има потенциално приложение като УВ абсорбционен агент с антимикробна активност⁹⁷.

Изследователи изучават промените в корнеалната оптика (оценявани чрез промени на роговичната хидратация и поглъщане на светлината) и микроскопичните нарушения на роговици, облъчени с УВ-В лъчи, повлияни от капки за очи, съдържащи актинохинол с хиалууронова киселина. След приложение на буфериран физиологичен разтвор УВ-В лъчите предизвикват промени в роговичната оптика и предизвикват окислително увреждане. След приложение на актинохинол-хиалууронова киселина, тези промени са по-слабо изразени. Самостоятелната употреба на хиалууроновата киселина демонстрира по-слаба ефективност. Те заключват, че капките за очи с актинохинол-хиалууронова киселина редуцират промените в роговицата и потискат окислителните увреждания в УВ-В облъчената роговица. Въпреки това, ефективната защита на роговицата чрез тези капки за очи е ограничена до по-ниски дози УВ-В⁹⁸.

Група учени изследват защитните ефекти на полифенол епигалокатехингалат от зелен чай върху УВ-В индуцираното оксидативно увреждане на роговицата при мъжки контролни мишки. Капките за очи демонстрират мощен протективен ефект върху УВ-В индуцирано оксидативно увреждане на роговицата при тези мишки, вероятно поради увеличаването на активността на антиоксидантната защитна система и инхибирането на липидната пероксидация и протеиновото окисление⁹⁹.

Друго проучване изследва локалното приложение на очни колири, съдържащи кофеин и защитната им способност срещу формиране на УВ индуцирана катаракта *in vivo*. Проведени са три експеримента. ц

Проучване изучава потенциалните защитни ефекти на очни колири, разпространени в местната пазарна мрежа (Dacriovis™), съдържащи екстракти от *Matricaria chamomilla* и *Euphrasia officinalis* върху човешки роговични епителни клетки (HCEC-12) срещу УВ-В индуциран окислителен стрес и възпаление. HCEC-12 клетките са изложени на УВ-В лъчение и са третирани с капки за очи в различни концентрации. Те установяват, че препаратът е в състояние да защити епителните клетки на роговицата от индуцирана от УВ-В клетъчна смърт чрез проява на силно антиоксидантно действие, намалявайки нивата на свободните радикали, както и протеиновите и липидните окислителни увреждания. Тези изследвания демонстрират, че приложението на очни колири, съдържащи екстракти от *Matricaria chamomilla* и *Euphrasia officinalis* се асоциира с положителни ефекти срещу УВ-В индуциран окислителен стрес и възпаление и могат да бъдат полезни за защита на епителните клетки на роговицата при излагане на УВ-В¹⁰⁰.

От друга страна, изследване изучаващо действието на капките за очи при реалистични условия разкрива липса на защитен ефект срещу слънчевата УВ радиация. Учените обаче съобщават за редуциране на УВ-С лъчението в спектралния диапазон, типичен за изкуствените УВ източници, като дъгово заваряване. В това проучване прилагането на

капки за очи като UV защитно средство срещу увреждане на очите от слънчева UV радиация не се препоръчва¹⁰¹.

Шапки

Както вече беше изяснено, индивидуалните дози на слънчевата ултравиолетова радиация, са силно повлияни от поведенчески и екологични фактори. Проучване определя количествената ефективност на шапките срещу слънце при различни условия на експозиция, като прогнозира дозите на експозиция на UVЛ и техните анатомични разпределения. Незащитеното лице получава 2,5 пъти по-високи дози от UVЛ по обедно време през лятото в сравнение със същия времеви период през зимата (3,3 срещу 1,3 стандартна еритемна доза [СЕД]) с най-високи дози, получени в областта на носа (6,1 СЕД). По време на безоблачен летен ден най-ниската средна доза UVЛ се получава от цялото лице, защитено от шапка с широка периферия (1.7 СЕД). Нито един модел шапка не достига 100% защита във всяка зона на кожата на лицето с максимална протекция от 76%. Ефективността на слънцезащитните шапки се различава силно от условията на околната среда и е ограничена главно от приноса на дифузно UV лъчение, независимо от стила на шапката. По-големите размери на периферията на шапката осигуряват по-голяма защита на лицето от по-малките, освен по обедно време, когато положението на слънцето е високо¹⁰².

Проучване в Австралия измерва UV защитата на шапките с помощта на чувствителни към UVЛ полисулфонни баджове, прикрепени към шест локации по главата. В проучването са включени различни модели шапки. Учените установяват, че шапките с широка периферия осигуряват най-висока UV защита за шестте различни места около лицето и главата. Безйболните шапки не осигуряват достатъчно UV защита на много от лицевите локации. Най-високо измерените фактори на защита от UVЛ за лицеве места, различни от челото, са 8 до 10, което показва, че макар някои шапки да са ефективни, те трябва да се използват в комбинация с други форми на UV защита¹⁰³.

В друго проучване изследователи оценяват експозицията на очна ултравиолетова радиация при три професионални групи: риболовци, извършващи ремнотни дейности по автомобилната мрежа и строителни работници. Съотношението на очна експозиция към околната среда се определя чрез поставяне на UV-чувствителен филм (295-320 nm) между очите на субектите. Средната очна експозиция варира между 2 и 17% от експозицията на околната среда на хоризонтална повърхност, в зависимост от това дали субектите са носили шапки, извършената работа и времето на годината. Изследователите достигат до извода, че употребата на покриваща лицето шапка значително намалява очната експозиция при всички групи лица. Субектите, работещи в среда с по-силно отразяващи повърхности, демонстрират значително по-висока очна експозиция.¹⁰⁴



Фигура 33 Шапки, осигуряващи най-добра UV защита.

Профилактика при изкуствени източници на ултравиолетова светлина

Превенция

Кампании

Кампаниите за повишаване на информираността на обществото относно здравни проблеми са най-ефективни, когато са насочени към групи, които са най-засегнати от въпросната зловредност. В случаите на употреба на солариуми, кампаниите често са насочени към жени и по-млади възрастови групи, които са по-склонни да прибегнат до такива процедури. Някои страни като Канада, Дания и Съединените американски щати ефективно използват социалните медии, за да информират младите хора. Кампания за повишаване на обществената осведоменост в Дания е последвана от значително редуциране на посещенията на соларни студия¹⁰⁵. Италианско проучване показва, че употребата на соларни легла от родителите влияе в много по-голяма степен върху решението на тийнейджърите дали да използват услугите на соларни студия в сравнение с провеждането на образователни интервенции, като този факт подчертава значението на семейния пример¹⁰⁶. Изследване разкрива, че консултирането от общопрактикуващи лекари и педиатри може да доведе до умерена промяна в поведението на младите хора¹⁰⁷. Политиците могат да се повлияват разнообразни заинтересовани групи, включително ракови общества, професионални сдружения и дори религиозни лидери, с цел разработване на иновативни и въздействащи послания. Участието на любители на солариумите развили кожни карциноми в такива кампании също е мощен фактор.

Мерки за безопасност

Възможни мерки за контрол на употребата на солариуми са разнообразни като демонстрират различни предимства и недостатъци.

Забрана на употребата на солариуми

- Забрана върху всички услуги за придобиване на тен в изкуствени условия

Като се има предвид сериозните доказателства, свързващи употребата на соларни легла и риска от развитие на кожни неоплазми, някои страни прилагат директна забрана на използването на солариуми за козметични цели. В случай, че правителствата решат да възложат забрана върху употребата на соларни легла, са нужни високи нива на обществена информираност и строго прилагане на забраната. Трябва да се обърне внимание на нежеланите последици, включително увеличената продажбите на домашни устройства и използването на услуги, които не подлежат на контрол.

През ноември 2009 г. Бразилия става първата държава в света, забранила търговията и използването на солариуми. Единствените уреди за UV терапия, които законно могат да функционират в Бразилия, са тези, използвани за медицински цели. От януари 2016 г. всички австралийски щати също приемат пряка забрана за търговската употреба на соларни легла¹⁰⁸.

- Забрана върху наемането и продажбата на солариуми за домашна употреба

Забраняването на устройствата за домашна употреба се счита за допълнителна мярка към наложените рестрикции върху студия и други центрове за придобиване на изкуствен тен. Ирландия и Шотландия забраняват наемането или продажбата на солариуми на лица на възраст под 18 години. Няколко държави, включително Франция, Италия и Испания, допълват забрана за услуги, които не се контролират, като забраняват продажбата на солариуми за домашна употреба.

Ограничаване на достъпа до солариуми

- Забрана на услугите за придобиване на изкуствен тен без контрол

Неконтролираните солариуми най-често се намират в сгради със студентски апартаменти, фитнес центрове, закрити басейни, хотели и други места, където услугите за придобиване на тен са допълнителни към основната дейност. Установено е, че до употребата на неконтролирани соларни устройства прибъгват по-често непълнолетни.

- Определяне на възрастова граница за използване на солариуми

Както бе споменато по-рано, използването на соларни легла в млада възраст увеличава риска от развитие на меланом¹⁰⁹. Доказателствата сочат, че колкото по-висока е възрастовата граница за забрана на достъпа, толкова по-голяма ще бъде ползата за общественото здраве по отношение на редуциране на риска от развитие на меланом.

Осемнадесет годишна възраст представлява пълнолетие в много страни и следователно е логична отправна точка за ограничаване на достъпа до соларни услуги. В допълнение Конвенцията на Организацията на Обединените Нации за правата на детето изисква специална закрила за тези на възраст под 18 години¹¹⁰. Въпреки това, няма научни данни, които да подкрепят 18-годишната възраст като абсолютна точка за употреба на соларни легла, при която рискът от развитие на меланом спада значително.

Много държави, включително Австрия, Белгия, Франция, Германия, Исландия, Ирландия, Италия, Израел, Норвегия, Португалия и Испания, забраняват на индивиди под 18 години да използват устройства за придобиване на изкуствен тен. В Австралия преди пълната забрана кампаниите за повишаване на осведомеността относно опасностите от използването на соларни легла, в комбинация с нов законодателен контрол, включващ забрана на всички под 18-годишна възраст, са довели до 51% намаление на броя на соларните студия¹¹¹. Интересно е, че някои щати в САЩ са установили по-ниски възрастови ограничения. Изискване на непълнолетните да бъдат придружени от родител или да получат писмено съгласие на родителите е алтернативен подход за ограничаване на достъпа до съоръжения за придобиване на изкуствен тен. Такива правни мерки могат да имат ограничено въздействие сред семействата, в които един или повече родители са потребители на солариуми¹¹².

- Предотвратяване на използването на соларни легла от лица с висок риск

Рискът от развитие на меланом при употреба на соларни легла не се ограничава до чувствителни към кожата популации¹¹³. Употребата на солариуми е особено опасна за определени категории хора, които са изложени на по-висок риск от развитие на кожни неоплазми или други неблагоприятни ефекти, причинени от УВЛ. В Италия са въведени законодателни мерки, които поставят тежестта върху собственика на даденото соларно студио, за да забранят достъпа на всички хора с чувствителна кожа и бременни жени да използват солариуми.

През последните години някои държави-членки на ЕС приеха национално законодателство, регулиращо услугите за придобиване на тен в изкуствени условия (например налагане на възрастова граница над 18 години, необходимостта от подходящо обучен персонал). Тези мерки (когато се прилагат правилно) трябва да гарантират, че соларните студия осигуряват по-високо ниво на защита на потребителите, които използват тези устройства.

Контролиране на излагането на ултравиолетова светлина

Степента на излагане на УВ лъчи, генерирани от соларни легла зависи както от характеристиките на устройството, така и от продължителността на излагане. Различните страни използват различни подходи за регулиране на апаратите за генериране на изкуствен тен и тяхната употреба с цел контрол на експозицията и редуциране на острите и дългосрочни неблагоприятни ефекти. През 2006 г. Научният комитет за потребителски продукти даде становище относно биологичните ефекти на УВЛ от изкуствени източници и направи заключение, че използването на УВЛ устройства с козметична цел повишава риска от развитие на злокачествен меланом на кожата и евентуално очен меланом. През 2009 г. Международната агенция за изследвания на рака (IARC) извърши преглед на всички данни, свързани с канцерогенните ефекти на изкуствено УВЛ, и класифицира използването на УВ-излъчващи устройства за придобиване на тен като канцерогенни за хората (група 1)¹¹⁴.

Международната електротехническа комисия (IEC) публикува стандарт за УВ-излъчващи устройства (60335-27: 2009 + AMD1: 2012 + AMD2: 2015), който осигурява горна граница на еритемно УВ облъчване от $0,7 \text{ W/m}^2$ (еквивалентен на УВ индекс от 28)¹¹⁵. Тези ограничения са структурирани така, че да не се позволява развитие на еритема от свръхекспозиция (напр. слънчево изгаряне), но това може да се осъществи само ако еритемното тегло за общото УВ облъчване е известно и лампите отговарят на спецификациите, което в реалността често не е налице. Въздействието на стандарта е ограничено, както от неговия доброволен характер, така и от невъзможността за неговото прилагане. Доброволният хармонизиран стандарт EN 60335-2-27: 2013 определя изискванията за безопасност на соларните легла, включително ограничения за излъчване на ултравиолетова радиация. Той е по-строг, като предписва максимална обща граница на еритемно УВ облъчване от $0,3 \text{ W/m}^2$ (еквивалентна на УВ индекс 12). В допълнение, всички солариуми трябва да бъдат класифицирани в УВ тип 1 до 4 според УВ-А и УВ-В облъчванията. Съществуват изисквания за инструкции за потребителя и схеми за употреба в зависимост от УВ лъчението на соларното легло. Повечето европейски държави са членове на Европейския комитет по електротехническа стандартизация (CENELEC) и следователно са длъжни да спазват този стандарт. Някои европейски държави адаптират допълнителни ограничения в законодателството си, например позволявайки само УВ лъчи от тип 3. В САЩ FDA не контролира спектъра на излъчване на устройството, а по-скоро дава препоръчителни ограничения на максимално допустимата експозиция (т.е. облъчване, умножено по продължителност на експозицията или „доза“) и извършват насоки за това как трябва да се изготви график на експозиция¹¹⁶. FDA изисква от производителите да предоставят на операторите и потребителите схеми на експозиция въз основа на характеристиките на лампата на устройството и типа кожа. През декември 2015 г. FDA предложи да измени стандарта за ефективност от 1985 г., за да го приведе в по-тясно съответствие с клаузите на IEC 60335-2-27¹¹⁷.

Изисквания за защита на очите

Държавите, които са въвели контрол на соларните легла, обикновено превръщат УВ защитните очила в задължително условие за употреба. Мениджърите на соларни студия са длъжни да гарантират за всеки потребител, че носи защитни очила при употреба на солариуми. Очилата трябва да имат стабилно прикрепване около очите, формирайки плътно уплътнение към кожата¹¹⁸. Защитата на очите не трябва да пропуска повече от 1% от УВ-А (320–400 nm) и 0,1% от УВ-В, в съответствие с ограниченията, определени от IEC 60335-2-27:2009 + AMD1:2012 + AMD2:2015 и EN 60335-2-27:2013 в Европа, AS/NZS 60335.2.27:2010 в Австралия и Нова Зеландия, както и стандартите в Съединените американски щати¹¹⁵. Въпреки че подходящо проектираните защитни очила могат ефективно да блокират видимата светлина и УВЛ, много модели очила не постигат такава защита. Освен това, проучванията на потребители на соларни студия многократно демонстрират, че възможностите за очна защита често не се предлага на клиентите, нито се използва по време на сесиите¹¹⁹.

Обучение на супервайзери в соларните студия

Ролята на супервайзъра е да оценява всеки клиент и да контролира времената на експозиция. Подходящата оценка включва идентифициране на отделни рискови фактори, като например възрастта на клиента, вида на кожата, излагането на УВ лъчи през последните 48 часа, миналите нежелани реакции при излагане на слънце и медицинските състояния, които могат да увеличат риска на клиента да получи слънчево изгаряне. Такъв надзор също предоставя възможност да се гарантира използването на очила за адекватно ограничено време на експозиция.

Европейски стандарт, озаглавен „Професионални вътрешни условия на ултравиолетово облъчване“ (EN 16489-1: 2014, EN 16489-2: 2014 и EN 16489-3: 2014), определя изискванията за курсове за обучение на консултанти, които могат да се използват като основа за по-точно правно обвързващи национални разпоредби¹²⁰. Държави като Франция, Германия и Норвегия са въвели сертифицирано обучение за оператори на солариуми в тяхната законова рамка. Например, германският закон указва относно излъчващите УВ устройства, използвани за козметични цели, изисква само акредитирани центрове да обучават персонал за соларните студия.

Данъчно облагане на сесии за придобиване на изкуствен тен

Данъчното облагане на нездравословни продукти (например тютюн, алкохол и захарни напитки) или услуги е част от инструментариума за предотвратяване на неинфекциозни заболявания. Увеличаването на данъчното облагане на тютюневи изделия и алкохолни продукти се ефективно ограничаващо средство, така че е вероятно данък върху доходите, получени от услуги за придобиване на изкуствен тен, да има подобен ефект¹²¹.

Социални, клинични и микроструктурни аспекти на ултравиолетовото облъчване и защита на очните структури

В момента в пазарната мрежа могат да бъдат открити различни видове очила, контактни лещи и дори капки за очи. Всички тези варианти се характеризират с предимства и недостатъци. Така например капките за очи са обект на много негативни коментари, тъй като ефектът им е временен, но при определени дейности колирите могат да представляват добра възможност. Меките контактни лещи с диаметър над 14.00 mm и правилно блокиране на УВ-А и УВ-В светлината със сигурност ще предотвратят увреждането на лимба, но употребата им е свързана със спазване на стриктен хигиенен режим и риск от инфекции. Слънчевите очила представляват най-популярното средство за очна слънцезащита, но трябва да се обърне и специално внимание на дизайна на рамката, фокусиран върху слънцезащитата и възможностите за елиминиране на отразената светлина, като се има предвид анатомията на лицето и други морфометрични характеристики. Въпреки това, поради непрекъснато променящите се тенденции в стила на рамката, повечето от слънчевите очила се приемат като моден аксесоар, а съображенията относно ефекта върху очното здраве остават на заден план при избора им.

Като се има предвид сериозните доказателства, свързващи употребата на апаратура за придобиване на изкуствен тен с висок риск от развитие на кожни неоплазми, потенциалните стратегии за защита включват повишаване нивото на обществена информираност, ограничаване на достъпа до солариуми и контрол, дори и директна забрана на използването на такива устройства за козметични цели. В контекста на очното здраве в научната литература се откриват ограничени публикации, изучаващи защитата на очите по време на соларни сесии и няма публикувани клинични проучвания, оценяващи увреждането на очната повърхност по време на придобиване на изкуствен тен³⁵. Имайки предвид модерната тенденция за насърчаване на соларното поведение, особено сред юноши и млади хора, подобряването на обществената информираност относно потенциалните увреди на очната повърхност би било от голямо значение¹²²¹²³. По принцип субектите с танорексия водят по-нездрословен начин на живот и дори се характеризират с по-кратка продължителност на живота³⁴³⁵³⁶. Тази тенденция беше потвърдена от отговорите на въпросника относно здравните навици на нашата изследвана група. В допълнение към тези здравни съображения, нашите наблюдения подчертават важни въпроси, свързани със структурните промени на очната повърхност. Въз основа на гореописаните микроструктурни наблюдения, ние вярваме, че увреждането на очите е от съществено значение, ако вземем предвид перспективата относно потенциалната опасност и дългосрочните последици за очите на всеки, който посещава рутинно или дори нередовно студия за придобиване на тен, особено без употребата на препоръчителна очна защита. Интересното е, че в това краткосрочно проучване не сме срещнали никакви клинични промени, но на микроструктурно ниво откриваме лезии, подобни на тези при остро слънчево изгаряне на кожата - т.нар. субдермални кисти⁵⁰. Макар и обратими, описаните по-рано субдермални кисти са свързани с развитие на рак на кожата¹²⁴.

Има редица интересни публикувани проучвания, подчертаващи потенциалния вреден ефект на УВ светлината върху очната повърхност, предната камера, лещата и задния сегмент¹²⁵. Важно уточнение е, че Световната Здравна Организация подчертава развитието на катаракта като последица от УВ увреждане. Това беше потвърдено от редица проучвания¹²⁶. Трудно е, обаче, да се докаже, че дадено структурно увреждане на очите е резултат от излагането на УВ на околната среда, тъй като съществуват множество фактори, които могат да допринесат за дадената морфологична промяна. Типичен пример е нездравословният начин на живот на танорексичните субекти като цяло. Това проучване обаче демонстрира, че подчертаните кистични конюнктивални лезии са преходни, но забележими веднага след сеансите за придобиване на изкуствен тен, докато други рискови фактори не се променят за периода на проследяване. Разбира се, нашето проучване има ограничения и фактори, които не могат да бъдат контролирани, като естествения УВ индекс и доброволното излагане на открито, но тези ограничения са универсални за повечето клинични проучвания. Едно много елегантно проучване от Notara, изучаващо култивирани лимбални стволни клетки, успя да докаже *ex vivo*, че УВ-В облъчването води до увреждане на функцията на лимбалните епителни клетки, фибробластите, както и до загуба на стволни клетки¹²⁷. Съществуват и някои интересни проучвания върху животни, разглеждащи увреждането от УВ лъчи на микроструктурно

ниво, които са доказали увреждане *ex vivo* на роговицата и конюнктивата¹²⁸. Независимо от това, прехвърлянето на наблюдения от животни върху хора е ограничено, тъй като животинските очи и особено очната повърхност, обикновено са по-устойчиви на факторите на околната среда. Разбира се, нито едно от тези експериментални проучвания не е повторимо при хора. Търсейки опции за „контролиране“ на излагането на УВ лъчи, ние решихме да идентифицираме субекти с рутинно излагане на изкуствени УВ лъчи през зимата, когато УВ индексът на околната среда е по-малък от 2 и да оценим промените в роговицата и конюнктивата на микроструктурно ниво, използвайки *in vivo* конфокална микроскопия.

Установихме, че въпреки че излагането на ССПТ не е свързано с клинично откриваемо увреждане на очната повърхност, то е ясно свързано с наличието на кистични лезии на конюнктивата, редуциран брой епителни клетки, както и потенциално намален брой кератоцити и други клетки на роговицата.

Дългосрочните ефекти от тази експозиция, и особено след хронична такава, могат да доведат до сериозно увреждане на роговицата и очната повърхност. Чрез *in vivo* конфокални техники се установиха отново вече описаните микроструктурни лезии, които са много подобни на субдермалните изменения, добре познати не само като резултат от излагането на слънце, но и свързани с развитието на кожни злокачествени заболявания. Последниците от редуцираните лимбални стволови клетки, кератоцити и ендотелни клетки са добре известни. Също така се установяват етиологичните причини, които включват възпаление, травматични увреждания, дистрофии и дегенерации, автоимунни заболявания, но като цяло всички те са относително редки. Настоящото проучване добавя още един фактор към списъка – УВ увреждането, което е почти универсално за всички хора, независимо от възрастта, пола и други демографски и социални фактори. Това, обаче може да бъде важен фактор за бъдещи изследвания, като се има предвид, че до 80% от тийнейджърките от бялата раса се интересуват от изкуствен тен¹²². В перспективата на обществената информираност относно слънцезащитата, се отделя недостатъчно внимание на очната повърхност и здравето на очите в контекста на соларните увреждания¹²².

Множество клинични проучвания са посветени на микроструктурните промени след крослинкинг. Този метод наскоро беше приет като рутинна процедура за менажиране на кератоконус и ектазии на роговицата, подкрепена от множество количествени резултати като зрителна острота, кератометрично измерване и роговична топография, въпреки че някои проучвания демонстрират редуциран брой кератоцити и увреждане на епитела¹²⁹. Ограниченията на микроструктурната оценка след крослинкинг са свързани с два отделни аспекта. Първо, това е краткотрайна експозиция с висока енергия върху централната роговица и не може да се сравни с кумулативното увреждане на околната среда, което хората могат да получат за по-дълги периоди от време. Освен това, крослинкингът се прилага не само при пациенти с кератоконус и обикновено тези пациенти са употребяващи контактни лещи в дългосрочен план, и поради това са трудни за сравнение с общата популация.

Настоящото проучване установи, че роговиците на любителите на изкуствения тен се характеризират с по-нисък брой кератоцити и ендотелни клетки в сравнение с популация, съобразена с възрастта, като излагането на УВ светлина уврежда епитела на роговицата непосредствено след няколко ССПТ. Въпреки, че общото „увреждане“ на роговицата не може да бъде пряко свързано с увреждането от УВ лъчи, краткосрочното, обратимо увреждане на епитела няма друг повтарящ се причинител в нашата изследвана група.

И тук, наблюдаваните конюнктивални кистични лезии са по-значителни в зоните на горна и долна конюнктива. Вече беше описано универсалното твърдение в офталмологията, че периферното фокусиране засяга назалната конюнктива¹²⁵. В контекста на соларните сесии, като се има предвид анатомията на очите и функцията на клепачите, най-незащитената част на лимба, когато субектът е в легнало положение със затворени или полузатворени очи, може да бъде долният лимб. Съществуват два вероятни механизма, обясняващи наблюденията: феноменът на Бел, при който окото се измества нагоре, и ефектът на палпебралната фисура, която насочва паралелни лъчи светлина към долната част на роговицата. Следвайки същия принцип на вече описания феномен на периферно дефокусиране, отразената от повърхността светлина достига до долния лимб и се пренасочва към горния лимб, където енергията се поема от съседната горна булбарна конюнктива. Хипотетично, клепачът играе роля на естествена “завеса“, която предотвратява отражението на светлината и абсорбира енергията. Теоретично енергията се неутрализира по-бързо от интензивното кръвоснабдяване и движението, свързано с мигане, но дългосрочният ефект и потенциалните последици не се изследват. Хипотетично някои патологии като горен лимбичен кератоконюнктивит, лимбална форма на пролетен кератоконюнктивит, горна лимбална неоваскуларизация, хронично увреждане на Мейбомиевите жлези и друга аднексална патология могат да бъдат обяснени с увреждане на горната паралимбална област.

В контекста на очното здраве повишаването на обществената информираност относно рисковете, произтичащи от употребата на апаратура за придобиване на изкуствен тен, ограничаване и дори забрана на достъпа до такива устройства е от съществено значение. Въвеждането на стандарти за слънцезащита, включващи УВ защитните очила като задължително условие и обучаването на персонал и мениджъри на соларни студия относно съблюдаването на употребата на средствата за протекция могат да редуцират значително очното увреждане.

Заклучение

Излагането на лятно слънце за един сезон, без приложение на адекватни средства за слънцезащита, води до клинично неоткриваеми, преходни микроструктурни промени, засягащи роговицата, булбарната и палпебралната конюнктива. От своя страна сесиите са придобиване на изкуствен тен водят до клинично неоткриваеми, микроструктурни промени, засягащи роговицата и булбарната конюнктива. Дългосрочният (кумулятивен) ефект на промените, възникващи при въздействие на УВ светлина от естествен и изкуствен източник може да се асоциират с „УВ стареене на предната очна повърхност“, което изглежда подобно на добре познатото увреждане на кожата. Резултатите от анкетното проучване демонстрират нужда от разработване на методи за ефективна защита на предната очна повърхност, заедно с повишаване на обществената информираност относно уврежданията на очите, причинени от самоизлагане на слънчеви лъчи, като това би имало значително положително здравно и социално въздействие върху тийнейджърите и младите хора в бъдеще.

Обобщение

Увреждането на кожата в резултат на въздействието на ултравиолетовите лъчи е добре известен факт. Промените възникващи при такова увреждане са подробно изучени и описани на микроструктурно ниво в научната литература.

Тъй като клепачите и очната повърхност, като части от лицето, са изложени на по-често и по-продължително слънчево облъчване от другите области на тялото, е от особена важност какви микроструктурни промени настъпват при експозиция на ултравиолетови лъчи в тази зона.

Трудът оценява на микроструктурно ниво промените, възникващи под въздействието на ултравиолетови лъчи, както от естествен, така и от изкуствен източник, използвайки *in vivo* конфокална микроскопия.

Настоящото проучване дефинира качествените микроструктурни промени в роговицата и конюктивата, които настъпват под въздействие на ултравиолетови лъчи с естествен произход, както и количествените разлики в плътността на клетките на предната очна повърхност, като не се откриват нито количествени, нито качествени изменения при клинична биомикроскопия.

Свързаната с ултравиолетовото лъчение генеза на получените резултати бе потвърдена чрез *in vivo* конфокално изследване на здрави субекти, подлагащи се на сесии за придобиване на изкуствен тен през зимните месеци като микроструктурните данни бяха сравнени с такива на контролна група.

Извърши се анализ на здравните и слънцезащитни навици на участниците в двете проучвания и получените данни се съпоставиха с микроструктурните резултати.

Доказа се теорията, че има невидима клинично, но откриваема чрез *in vivo* конфокална микроскопия микроструктурна характеристика на клетъчно ниво, която е резултат от експозиция на ултравиолетова светлина.

Изводи

1. Субектите с афинитет към слънцеизлагане и придобиване на тен от изкуствени източници имат доказано вредни навици.
2. Излагането на естествени слънчеви лъчи за един сезон води до клинично неоткриваеми, микроструктурни промени, засягащи роговицата, булбарната и палпебрална конюнктива с преходен, но вероятно кумулативен характер.
3. Придобиването на изкуствен тен води до клинично неоткриваеми микроструктурни промени, засягащи роговицата и булбарната конюнктива.
4. Дългосрочният (кумулятивен) ефект на промените, причинени от въздействие на ултравиолетови лъчи би довел до „УВ стареене на предната очна повърхност“, което изглежда подобно на увреждането на кожата.
5. Наблюдава се отрицателна статистическа връзка между здравните навици и такива за очна слънцезащита, и микроструктурните промени, което доказва, че добрите навици се асоциират с по-малко промени на клетъчно ниво.

Приноси

Приноси с научно-приложен характер

Дефинираха се качествени и количествени промени в предната очна повърхност, причинени от въздействието на ултравиолетови лъчи с естествен и изкуствен произход.

Потвърди се хипотезата относно ултравиолетовата светлина като потенциален етиологичен фактор за „стареење“ и възникване на различни патологии на очната повърхност.

Доказа се нуждата от оптималната защита на очната повърхност от въздействието на ултравиолетовите лъчи.

Приноси с научно-теоретичен характер

За първи път в световната литература се публикува микроструктурен анализ на промените на очната повърхност под въздействие на ултравиолетови лъчи с естествен произход.

За първи път в световната литература се публикува микроструктурен анализ на промените на очната повърхност под въздействие на ултравиолетови лъчи с изкуствен произход.

Доказа се връзка между здравните навици и такива за очна слънцезащита, и микроструктурните промени на очната повърхност, предизвикани от действие на ултравиолетови лъчи.

Приноси с потвърдителен характер

Потвърди се връзката между вредните навици и танорексията за българската популация.

Потвърди се увреждащият ефект на ултравиолетовите лъчи върху предната очна повърхност.

Утвърди се конфокалната микроскопия като метод за детекция на промените на клетъчно ниво при липса на биомикроскопска находка.

Резюме

Цел: Да се оценят и опишат микроструктурните промени на очната повърхност, получени в отговор на излагане на УВ светлина от естествен и изкуствен източник, резултатите да се съпоставят със слънцезащитните навици и да се проследи тяхната динамика, използвайки *in vivo* конфокална микроскопия.

Методи: За период от минимум 4 месеца 200 субекти (400 очи), на възраст $28 \pm 7,3$ години, са включени в проучването с уточнение, че ще прекарват лятото си изключително в района на Черноморското крайбрежие на 43° северна ширина и ще бъдат изследвани преди началото и след края на лятото. Всички участници попълват въпросник относно обичайната им УВ защита и са изследвани клинично и чрез *in vivo* конфокална микроскопия.

Във втората част на проучването участниците са включени или в изследователска група ($n = 75$) с анамнеза за излагане на УВ светлина от изкуствен източник с цел придобиване на тен, или в контролна група ($n = 75$) без анамнеза за посещение на соларно студио. Изследователската група доброволно посещава соларни процедури, извършвани със стандартно оборудване, и поддържа обичайната си рутинна защита на очите. Биомикроскопия и *in vivo* конфокална микроскопия са извършени на изходното ниво, преди да се проведат соларните сеанси (10 сесии с продължителност от 10 минути за период от 15 дни), в рамките на 3 дни, както и 4 седмици след последната сесия. Участниците в контролната група са изследвани на изходното ниво и 8 седмици по-късно, и не участват в сесии за придобиване на тен в изкуствени условия.

Резултати: Резултатите от въпросника показват, че 83,5% (167 участници) от субектите смятат, че слънцето е опасно за очите им, но 78% (156 субекта) вярват, че съществува опасност изключително през летния период. Въпреки че не са открити клинични промени, микроструктурният анализ на роговицата демонстрира статистически значимо ($p = 0,021$) редуциране на гъстотата на базалните епителни клетки - от 6167 ± 151 клетки/ mm^2 преди до 5829 ± 168 клетки/ mm^2 след летния период. Микроструктурната оценка на конюнктивата демонстрира характерни кистични лезии с тъмни центрове и ярки граници само в 25 очи (6%) преди и при 118 очи (29,5%) след края на лятото. Общата площ на кистите след края на лятото демонстрира петкратно увеличение. Анализът на Spearman доказва отрицателна връзка между слънцезащитните навици и броя на кистите.

Във втората част на изследването всички участници са жени на средна възраст съответно $25 \pm 4,3$ години и $24 \pm 3,7$ години в изследваната и контролна групи. Не са отчетени клинично значими промени в нито една група при биомикроскопия (всички $p \geq 0,05$), но са наблюдавани статистически значими разлики между изследваната и контролната група за всички слоеве на роговицата, изобразени с помощта на конфокална микроскопия (всички $p \leq 0,03$). Отново характерни кистични конюнктивални лезии с тъмни центрове и ярки граници са наблюдавани при 95% от изследваната група преди и в 100% от очите след сеансите за придобиване на тен.

Заклучение: Лятното излагане на слънце за един сезон води до клинично неоткриваеми, микроструктурни промени, засягащи роговицата, булбарната и палпебрална конюнктива с преходен, но евентуално кумулативен характер. Соларните сеанси за придобиване на тен водят до статистически значими микроструктурни промени в роговицата и булбарната конюнктива, които не се откриват чрез биомикроскопия.

Abstract

Purpose: To evaluate and describe the microstructural changes at the ocular surface in response to habitual ocular sun exposure, correlate them with the UV protection habits and follow their dynamics using in vivo confocal microscopy. To evaluate the ocular surface at the microstructural level of habitual indoor-suntanning subjects utilising in vivo confocal microscopy.

Methods: For a period of minimum 4 months 200 subjects (400 eyes), aged 28 ± 7.3 years, were recruited with the agreement that they will spend their summer exclusively in the region of the Black Sea coast at 43°N latitude and will be examined before and after the summer. All subjects filled in a questionnaire about habitual UV protection and were examined clinically and by in vivo confocal microscopy.

In the second part of the study participants were enrolled into either a study group ($n = 75$) with a history UV indoor tanning, or a control group ($n = 75$) with no prior history of artificial tanning. The study group participated in voluntary tanning sessions performed with standard equipment and maintained their usual routine for eye protection. Slit lamp biomicroscopy and in vivo confocal microscopy were performed at baseline before undertaking a series of suntanning sessions (10 sessions of 10 minutes duration over a 15 day period), within three days after the last session, and four weeks after the last session. Control group participants were examined at baseline and 8 weeks later and did not participate in tanning sessions.

Results: Questionnaire results demonstrated that 83.5% (167 participants) of the subjects considered the sun dangerous for their eyes, but 78% (156 subjects) believed that there is danger exclusively during the summer period. Although no clinical changes were detected, microstructural analysis of the cornea demonstrated statistically significant ($p = 0.021$) decrease of the basal epithelial density – from 6167 ± 151 cells/mm² before to 5829 ± 168 cells/mm² after the summer period. Microstructural assessment of the conjunctiva demonstrated characteristic cystic lesions with dark centres and bright borders encountered in only 25 eyes(6%) before, and affecting 118 eyes(29.5%) after the summer. The total area of the cysts after the summer increased fivefold. Spearman analysis proved negative correlation between sun protection habits and number of cysts.

In the second part of the study all participants were female with a mean age of 25 ± 4.3 years and 24 ± 3.7 years in the study and control groups, respectively. No clinically significant changes were observed in either group over time using slit lamp biomicroscopy (all $p \geq 0.05$), however, statistically significant differences were observed between the study and the control group for all corneal layers imaged using confocal microscopy (all $p \leq 0.03$). Characteristic cystic conjunctival lesions with dark centres and bright borders were observed in 95% of the study group before and in 100% of eyes after the suntanning sessions.

Conclusion: Summer sun exposure for one season leads to clinically undetectable, microstructural changes affecting the cornea, bulbar and palpebral conjunctiva with transient, but possibly cumulative nature. Indoor suntanning resulted in statistically significant

microstructural changes in the cornea and the bulbar conjunctiva that are undetectable with slit lamp biomicroscopy.

Списък с публикациите, свързани с темата на дисертационния труд

- Grupcheva CN Grupchev D, Radeva M. Hristoiva EH, UV damage of the anterior ocular surface – microstructurl evidence by in vivo confocal microscopy. Cont Lens Anterior Eye. 2018, 41 (6), 482-488.15
- J Simova, M Radeva, D Grupchev, C Grupcheva Assessment of sclerocorneal incision architecture after phacoemulsification using AS-OCT. 2018, Scripta Scientifica Medica 50 (4), 17-23.7.5
- J Simova, M Radeva, D Grupchev, C Grupcheva Bromfenac 0.09% ophthalmic solution for postoperative pain and ocular discomfort after cataract surgery with phacoemulsification. 2018 Bulgarian Review of Ophthalmology 62 (3), 47-57.7.5

Участия в международни и национални научни форуми

- XVIII симпозиум на Българското глаукомно дружество, 22 – 23 март, 2019, Пловдив, България
- 3rd International Symposium of Scientific Journals of Trakya University “How to become Successful Authors & Editors of Scientific Journals” 4-6 December 2018
- The 36th Congress of the European Society of Cataract and Refractive Surgeons (ESCRS) 22-26.09.2018, Vienna, Austria.
- World Ophthalmology Congress (WOC) 16-19.06.2018, Barcelona, Spain
- Конференция „Новости в офталмологията 2018 | Катаракта - Рефрактивни аспекти“, 23-25 ноември 2018г., Правец, България
- XVII Симпозиум на националната глаукомна асоциация, 16-17 март 2018, София, България
- Трета национална конференция по обструктивна сънна апнея и хъркане с международно участие ; Придружаваща заболяемост при обструктивна сънна апнея; хотел „Азалия“, к.к. „Св. Константин и Елена“ гр. Варна, 4-6 октомври 2018 г.
- Среца на Съюза на Учените – Варна, Серия Медицина и Екология, 27 октомври 2017 г., част от Месец на науката"- Варна 2017: Заключителна конференция - "Науката в служба на обществото - 2017"
- First international black sea otology and neuro-otology symposium, third vestibular days of Varna, Varna, Bulgaria; September 1-2, 2017;
- BSSYSB 06-09.04.2017, Varma, Bulgaria;
- XIV Симпозиум на националната глаукомна асоциация, 18 - 19 март, 2016 г. ; „Вторични глаукоми. Конгенитална глаукома“, София, България
- COST Summer Training School – юни 2016, МУ-Варна, Варна, България
- Симпозиум на Българското Дружество по Офталмология - Новости в Офталмологията; 27-29.11.2015г.; Правец, България

Благодаря на семейството си за търпението и безкористната подкрепа.

Искам да изкажа специални благодарности към Проф. Д-р Христина Групчева за това, че точно тя е мой ментор и научен ръководител. Тя е вдъхновението, подкрепата и примерът за подражание, от който всеки млад професионалист има нужда.