

The phenomenon of hyperesthesia of teeth is not fully understood. According to the paradigm proposed by M. Brannstrom in 1963, for the treatment of hyperesthesia of the teeth, means, obturating, or plugging flaws appearing in the hard tissues of the tooth are used. Modern dentistry considers the most actual use for this purpose of the technology of blocking the carrying out of a nerve impulse by an amino acid and the technique of deep fluorination.

Developers of companies that produce desensitizers constantly improve their products, so the lines of their products are always replenished with new ones. The material for this study was the documentation proposed to determine the effectiveness of toothpaste to reduce the sensitivity of teeth, as well as the methods used by domestic dentists to determine GB in subjects of professional and personal hygiene of this purpose. Analysis of the information contained in the documentation for the study of effectiveness and local data on studies of a similar type.

As a result of the study, it was noted that it is much more convenient for local specialists to use in their studies of domestic classification of HR graduation, possibly with partial transformation. Local classification is simpler, easier to reproduce and more understandable both for patients participating in the subjective part of the study, and for dentists studying hyperesthesia of teeth in those suffering from this ailment. Therefore, for the effectiveness of oral hygiene items (and, probably, any other products), in the territory of the post-Soviet space, producers can be recommended to create their own questionnaires on the basis of classifications and other normative documents existing in these areas.

Taking into account the recommendations of P.A. Leus, it can be added that the classification of HR grades, proposed by a well-known firm to investigate the effects produced by the paste to reduce the sensitivity of teeth, without "calibrating" a specialist, will have low reproducibility and reliability.

Key words: tooth hyperesthesia, toothpaste, efficacy.

*Рецензент – проф. Ткаченко І. М.
Стаття надійшла 28.02.2018 року*

DOI 10.29254/2077-4214-2018-1-2-143-275-286

УДК 617.713-007.64-089.843

Кондратенко Ю. М., Шаргородська І. В., Лаврик Н. С., Лисенко М. Г.

ЕФЕКТИВНІСТЬ МОДИФІКОВАНОГО МЕТОДУ ЛІКУВАННЯ КЕРАТОКОНУСУ

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України (м. Київ)

lmg_1976@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота була виконана в рамках НДР кафедри офтальмології НМАПО імені П.Л. Шупика: «Діагностика та лікування порушень оптичної системи ока» (№ державної реєстрації 0110U002363, дати виконання 2010-2014 роки), «Діагностика та лікування порушень оптичної системи, судинних і дистрофічних змін органу зору» (№ державної реєстрації 0115U002167, дати виконання 2015 рік) і «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування і профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органу зору» (№ державної реєстрації 0116U002821, дати виконання 2016-2020 року).

Вступ. На сьогодні науковці вже знайшли відповіді на деякі питання практичної офтальмології щодо можливостей ефективної діагностики кератоконуса, однак питання виживання трансплантату залишається актуальним, оскільки воно залишається першочерговим показником успіху кератопластики [1,2].

Так, на успішне приживлення рогівкового трансплантату впливають три групи факторів: якість донорського матеріалу, інтраопераційна травматизація рогівкового трансплантату та стан трансплантаційного ложа реципієнта [3]. Гомогенна група реципієнтів з кератоконусом та відсутністю інших очних захворювань при стандартизованій хірургічній техніці є ідеальним варіантом для вивчення впливу на при-

живлення трансплантатів саме донорських факторів [4,5,6,7,8,9,10].

По-перше, суттєвим фактором впливу на клінічний результат проведеної кератопластики є вихідна якість донорського рогівкового матеріалу. Отже, якісний скринінг донорського рогівкового матеріалу на доопераційному етапі є актуальною проблемою сучасної офтальмохірургії. Вироблення правильного алгоритму дозволить доцільно розподіляти донорський рогівковий матеріал, через дефіцит якого на тлі особливостей законодавчої бази в державі з питань трансплантології вітчизняна офтальмотрансплантологія знаходиться в скрутному становищі.

По-друге, додаткові міри захисту рогівкового ендотелію на трансплантаті дозволять знизити рівень інтра- та післяопераційної травми донорського рогівкового ендотелію.

Вирішення цих питань призведе до збільшення життєздатності рогівкових трансплантатів, що знизить ризик розвитку пізніх реакцій відторгнення, зменшить кількість рекератопластик та поліпшить якість життя реципієнтів. Отримані результати таких комплексних заходів дозволять поліпшити працездатність та зменшити інвалідизацію пацієнтів з кератоконусом, що являються, як правило, особами молодого працездатного віку. Визначені проблеми піднімають питання виживання рогівкового трансплантату до рівня найважливіших соціальних проблем, які стоять перед науковцями та практичними

офтальмологами і вимагають ефективного їх вищення за допомогою новітніх передових технологій.

Мета роботи – підвищення ефективності виживання наскрізних рогівкових аллотрансплантатів при хірургічному лікуванні кератоконусу шляхом визначення дієвих критеріїв якості донорського матеріалу на етапі його відбору та розробка методики додаткової ендотеліопротекції рогівкового трансплантату на етапі трансплантації.

Об'єкт і методи дослідження. *Загальна характеристика донорського рогівкового матеріалу.* Обстеження проведено на 1108 кадаверних очних яблуках (КОЯ), що надходили для виконання кератопластик в КМКОЛ «Центр мікрохірургії ока» в період з січня 2005 по лютий 2011 року з повним дотриманням юридичних та етичних норм і було схвалено етичною комісією НМАПО імені П.Л. Шупика. Проведені наукові дослідження відповідають морально-етичним принципам Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2008 рр.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), відповідним положенням ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу медичної етики та законам України.

В комплексі з вилученням очних яблук у донорів проводили забір 20 мл венозної крові для подальшого проведення лабораторних тестів на ВІЛ, сифіліс та гепатити В і С. Очні яблука від донорів, що не пройшли серологічний контроль (мали антитіла до збудників вищевказаних інфекцій чи не могли бути обстежені через гемоліз крові чи хільоз) були виключені з групи. Брак матеріалу за цими показниками склав 27,34%. Решту, 805 очних яблук оглядали біомікроскопічно, проводили конфокальну мікроскопію рогівок, визначення коефіцієнту рефлексивності.

Весь донорський рогівковий матеріал було використано не пізніше 48 годин з моменту смерті донора. Очні яблука зберігалися у закритій вологій камері за В.П. Філатовим [11].

Структура смертності серед донорів рогівок для даного дослідження розподілилася наступним чином. Основними причинами смерті донорів були різні варіанти ІХС, варіанти ГПМК, політравма, різні види асфіксії, загальне переохолодження, перфоративні виразки шлунку та дванадцятипалої кишки, ТЕЛА. Інші причини, такі як пневмонія, ускладнення ЦД, ниркова недостатність, тощо, зустрічалися спорадично. Слід зазначити, що у більшій половині донорів рогівок всіх клінічних груп причиною смерті були гострі кардіоваскулярні порушення у вигляді варіантів ІХС та порушень мозкового кровообігу.

Крім того, при перерозподілі вікових співвідношень «донор-реципі-

єнт» в клінічних групах визначено, що більш ніж 2/3 (>67%) реципієнтів всіх клінічних груп отримували рогівки від донорів, які старші за них на 1-30 років.

Біомікроскопія ex vivo проводилась за допомогою операційного мікроскопу OPMI Lumera 700 (Carl Zeiss Meditec AG, Йена, Німеччина). Завдяки великому діапазону збільшення і можливості щільного освітлення можна отримати повноцінну біомікроскопічну картину кожного очного яблука не виймаючи їх повністю з контейнерів. З метою економії часу біомікроскопія проводилась на етапі очікування результатів аналізу епідемічного контролю крові донора. Після отримання негативних результатів серологічного контролю, на ділянці склери кожного ока між лібом та екватором генціан-віолетним маркером, який входить в комплект до вакуумного рогівкового трепану, наносились відповідні індивідуальні мітки, що дозволяли ідентифікувати кожне донорське око на етапі всіх обстежень та при виборі його в операційній.

Конфокальна мікроскопія ex vivo проводилась за розробленою нами методикою. На лазерний скануючий конфокальний ретинотомограф HRT II монтувався рогівковий модуль Rostock Cornea Module, на об'єктив якого одягався одноразовий захисний ковпачок Томо-сар® з ПММА, в який для імерсії вводився очний гель на основі карбомеру. КОЯ розташовувалось в цанговий окотримач рогівкою вгору, центрувалось, після чого пелюстки окотримача затискалися до утворення в кадаверному оці нормального тургору (під безпосереднім пальпаторним контролем хірурга). Для фіксації окотримача на ретинотомографі під потрібним кутом на потрібній

висоті нами був розроблений та сконструйований спеціальний штатив, що мав три принципові частини: струбцину, ногу та пружинний хомут. Штатив струбциною фіксувався до ретинотомографа, пружинний хомут на штативній нозі виставлявся на висоту мітки рівня ока пацієнта, в нього вставлявся цанговий окотримач з КОЯ і фіксувався за допомогою затискного гвинта хомути так, щоб передньо-задня вісь КОЯ співпадала з віссю об'єктива рогівкового модуля (рис. 1).

Запускаючи на під'єднаному комп'ютері відповідне програмне забезпечення Heidelberg Eye Explorer – Cornea, далі проводили конфокальну мікроскопію рогівки за стандартною технологією. Зафіксувавши саме чітке зображення ендотелію, проводили підрахування щільності ендотеліальних клітин (ЩЕК), використовуючи стандартне правило «рамки». Таким чином, отримували ЩЕК, пахіметрію (глибина фокуса на ендотелії) та збе-



Рис. 1. Загальний вид положення окотримача з КОЯ при проведенні конфокальної мікроскопії рогівки.

режені зображення (без компресії). Зображення в подальшому використовувалися для визначення рефлективності ендотелію.

Кількісне визначення рефлективності ендотелію на конфокальних мікрофотограмах проводилось з використанням вільного програмного забезпечення «ImageJ», що знаходиться у неліцензованому доступі на ресурсі розробника [12]. Це програмне забезпечення використовується в світі для аналізу і обробки зображень в різних галузях науки (гістологія, цитологія, металургія, астрономія, тощо). Для аналізу обирались ділянки з найбільш чітким зображенням ендотеліальних клітин (рис. 2).

Формування груп дослідження згідно клінічних характеристик. Клінічні групи для проведення роботи складали пацієнти з діагнозом кератоконусу III – IV стадії за Амслером, яким було показано проведення наскрізної аллокератопластики (НАКП) через суттєву деформацію рогівки та неможливість подальшої жорсткої контактної корекції зору. Діагноз всім пацієнтам був виставлений не менше, ніж за два роки до НАКП та ґрунтувався на основі характерних скарг, відповідних біомікроскопічних змін рогівки, даних рефракції рогівки та підтверджувався за допомогою стандартної кератотопографії на кератотопографі Orbscan IIz діагностичної станції ZYOPTIX (Bausch&Lomb, США). У всіх пацієнтів на етапі передопераційного обстеження були виключені інші захворювання органу зору, всі мали факічні очі та не мали в анамнезі перенесені травми чи інші втручання, в тому числі і кросслінкінг.

Усім пацієнтам, які були включені в дослідження, у КМКОЛ «ЦМХО» була проведена наскрізна аллокератопластика за єдиним протоколом та при виконанні одного хірурга.

В дослідження були включені 129 клінічних випадків НАКП (116 реципієнтів) віком від 14 до 59 років, з яких 65,9% (85 осіб) були чоловіки та 34,1% (31 особа) – жінки.

Гендерно-віковий розподіл клінічних випадків зображений на рис. 3.

Згідно розподілу, 70,6% становили особи віком від 21 до 40 років, тобто особи працездатного та соціально-активного віку.

В 101 (78,3%) клінічному випадку реципієнтам була проведена перша в житті НАКП, в 28 (21,7%) клінічних випадках реципієнти мали в анамнезі успішну НАКП на контрлатеральному оці. Перерва між перенесеними НАКП складала від 8 місяців до 16 років.

Всі випадки було розділено на декілька груп. В I клінічну групу були включені 57 клінічних випадків НАКП з використанням донорських кадаверних рогівок (ДКР), що пройшли стандартний відбір за загальноприйнятими критеріями якості.

II клінічна група складалася з 29 реципієнтів, яким трансплантували ДТР, що пройшла відбір не лише за загальноприйнятими критеріями, а ще й за визначеним критерієм рефлективності ендотеліальних клітин рогівки (КРЕКР) та іншими морфометричними особливостями ендотелію.



Рис. 2. Отримані гістограми розподілу пікселів за відтинками інтенсивності сірого кольору в стандартній монохромній градації «0-255» (аналіз вибраної ділянки найбільш чіткого зображення ендотелію).

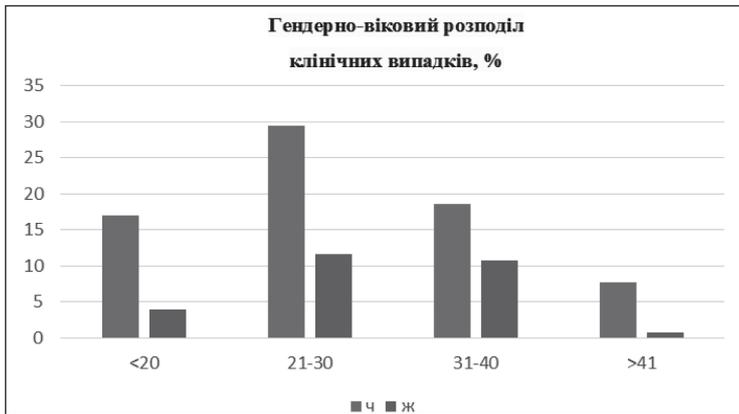


Рис. 3. Гендерно-віковий розподіл клінічних випадків.

В III клінічну групу увійшли 43 клінічні випадки НАКП з використанням ДТР відібраної за стандартними критеріями та прийнятим КРЕКР, та проведенням на етапі «back table» віскопротекції ендотеліальних клітин ДТР для їх додаткового захисту від механічного пошкодження об внутрішньоочні анатомічні структури в момент розгерметизації передньої камери ока при трепануванні ДТР.

Гендерно-вікові співвідношення реципієнтів в усіх клінічних групах представлені в таблиці 1-3 та зображені на рисунку 4. Як видно, всі клінічні групи є співставними за гендерно-віковими показниками. В

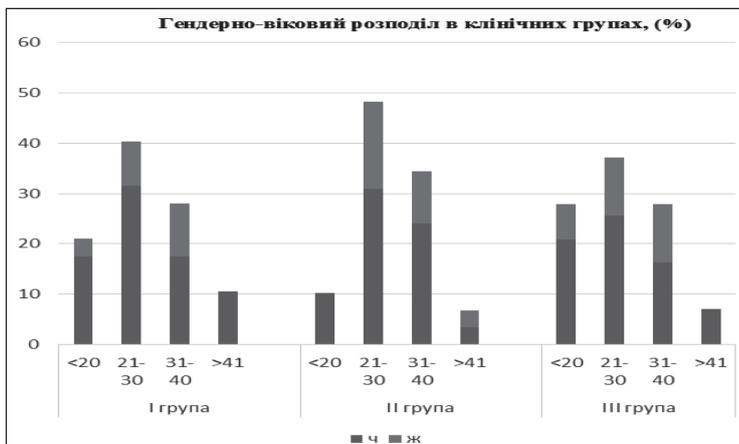


Рис. 4. Гендерно-віковий розподіл в клінічних групах.

усіх трьох групах співвідношення чоловіків до жінок складало приблизно 3:1 та, крім того, мінімум 2/3 частини складала особи молодого працездатного віку (21-40 років).

Методика підготовки рогівкового трансплантату (етап «back table») для I та II клінічних груп. КОЯ розташовується в цанговий окотримач рогівкою вгору, центрується, після чого пелюстки окотримача затискаються до утворення в кадаверному оці нормального тургору (під безпосереднім пальпаторним контролем хірурга). За допомогою шкребка проводиться механічна деепітелізація рогівки, залишки епітеліального детриту змиваються 0,02% водним розчином хлоргексидину. Генціан-віолетним маркером, що входить в комплект до вакуумного ро-

гівкового трепану, відмічається центр рогівки. Одноразовим вакуумним трепаном потрібного діаметру (на 0,25 мм більше, ніж діаметр ложа в рогівці реципієнта) проводилось трепанування донорської рогівки. За потребою, дорізання глибоких шарів рогівки проводилось тупокінечним офтальмохірургічним алмазним ножом «Соха». Підготовлений трансплантат береться в ділянці строми мікрохірургічним пінцетом, на ендотеліальну сторону наноситься крапля віскоеластик VISCOAT і трансплантат переноситься в трансплантаційне ложе реципієнта.

Методика підготовки рогівкового трансплантату (етап «back table») для

III клінічної групи. Фіксація КОЯ в окотримачі, деепітелізація рогівки – як і для I та II груп (див. вище). Далі офтальмохірургічним алмазним ножом виконувався лімбальний парацентез передньої камери, через який в передню камеру спочатку вводився віскоеластик VISCOAT для захисту ендотеліальних клітин трупної рогівки, а потім для утримання об'єму передньої камери вводився віскоеластик ProVisc (рис. 5-6). Всі подальші етапи – як і для I та II груп (див. вище), окрім нанесення краплі віскоеластик VISCOAT на ендотеліальну сторону трансплантату, бо він трепанується вже з віскопротекцією.

Методика наскрізної аллокератопластики у реципієнтів I – III груп. Всі операції, які були проведені в рамках дослідження виконані одним хірургом, за єдиним протоколом. Методика включала наступні етапи: в кожному випадку передопераційна підготовка і проведення місцевої антибіотикотерапії шляхом триразової інстиляції в кон'юнктивальний мішок 3% розчину тобраміцину за 3 години до операції. Знеболення з виконанням класичної ретробульбарної анестезії з акінезією. Внутрішньовенне введення (після попередньо проведеної алергічної проби на антибіотик) 1 г цефтріаксону або 1,2 г аугментину безпосередньо перед початком операції. Обробка операційного поля 0,02% спир-

товим розчином хлоргексидину двічі. Пелюшка одноразова офтальмологічна стерильна, з адгезивним шаром в ділянці операційного поля, ізоляторів інтермаргінального краю повік [13]. Блефаростат. Промивання кон'юнктивальної порожнини 0,02% водним розчином хлоргексидину. Шви-тримачі на верхній та нижній прями м'язи. Кільце Флінґа в косих меридіанах з фіксацією до епісклери. Маркування центру рогівки генціан-віолетним рогівковим. Проведення трепанування рогівки реципієнта одноразовим вакуумним трепаном потрібного діаметру (7,25 – 8,75 мм) з утворенням трансплантаційного ложа. Заповнення передньої камери віскоеластиком ProVisc. За потреби, дорізання глибоких шарів рогівки тупокінечним офтальмохірургічним алмазним ножом «Соха». Розташування рогівкового трансплантату, виготовлено-

го на етапі «back table», в утворене рогівкове ложе. Фіксація трансплантату до ложа чотирма провізорними вузловими швами з нейлону 10-0, та наступне пришивання його по колу основним Z-подібним безперервним швом з нейлону 10-0 на 16-18 стібків, приблизно на 90% товщини обох губ. Формування потрібного накиду початку та кінця нитки. Вимивання залишків віскоеластиду за допомогою АІС. Підтягування кінців ниток до накиду двічі. Формування потрібного хірургічного вузла. Видалення всіх провізорних швів, кільця Флірінга, блефаростату та ізоляторів інтермаргінального краю повік. Промивання кон'юнктивальної порожнини 0,02% водним розчином хлоргексидину. Асептична монокулярна пов'язка. Внутрішньовенне введення 60 мг преднізолону.

Режим динамічного клінічного обстеження та схема післяопераційних лікарських призначень. Всі пацієнти оглядалися щоденно до досягнення повної епітелізації трансплантату та отримували місцеве та загальне медикаментозне лікування за наступною схемою: інстиляції 4 рази на день 0,02% водного розчину хлоргексидину, 40% розчину глюкози, 3% розчину тобраміцину; закладання очного геля з дексапантенолом і внутрішньовенне введення 30 мг преднізолону один раз на добу.

По досягненню повної поверхневої епітелізації трансплантату клінічний офтальмологічний моніторинг за пацієнтами у всіх досліджуваних групах здійснювався через 2 і 3 тижні, 1, 3, 6, 9 та 12 місяців після НАКП. Місцеве медикаментозне лікування полягало: інстиляції 3% розчину тобраміцину – 4 рази на день до 7 днів після операції; інстиляції 40% розчину глюкози – 4 рази на день протягом 1 місяця; інстиляції 0,5% розчину тимололу малеату – 2 рази на день 12 місяців; інстиляції 0,1% розчину дексаметазону за низхідною схемою (з 6 разів до 2 разів на день, зменшуючи на одну інстиляцію в день кожний місяць, потім 1 раз на день зранку протягом 3 місяців); закладання гелю-репаранту з дексапантенолом – 1 раз на день на ніч. Після досягнення повної епітелізації трансплантату парабульбарно через 2 і 3 тижні та 1 місяць після операції вводили 4 мг дексаметазону та 7 мг бетаметазону.

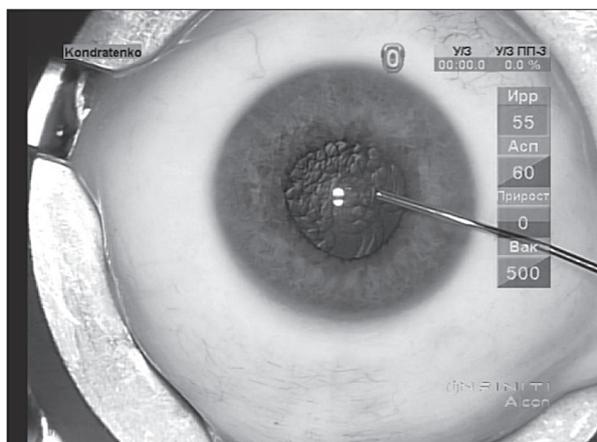


Рис. 5. Введення віскоеластиду VISCOAT для ендотеліопротекції.

Таблиця 1.
Гендерно-віковий розподіл клінічних випадків в I клінічній групі

Вік	Чоловіки		Жінки		Всього	
	абс. числ	%	абс. числ	%	абс. числ	%
До 20	10	17,5	2	3,5	12	21,0
21-30	18	31,6	5	8,8	23	40,4
31-40	10	17,5	6	10,5	16	28,1
Старше 41	6	10,5	0	0,0	6	10,5
Всього	44	77,2	13	22,8	57	100,0

Таблиця 2.
Гендерно-віковий розподіл клінічних випадків в II клінічній групі

Вік	Чоловіки		Жінки		Всього	
	абс. числ	%	абс. числ	%	абс. числ	%
До 20	3	10,3	0	0,0	3	10,3
21-30	9	31,0	5	17,2	14	48,3
31-40	7	24,1	3	10,3	10	34,5
Старше 41	1	3,4	1	3,4	2	6,9
Всього	20	69,0	9	31,0	29	100,0

Таблиця 3.
Гендерно-віковий розподіл клінічних випадків в III клінічній групі

Вік	Чоловіки		Жінки		Всього	
	абс. числ	%	абс. числ	%	абс. числ	%
До 20	9	20,9	3	7,0	12	27,9
21-30	11	25,6	5	11,6	16	37,2
31-40	7	16,3	5	11,6	12	27,9
Старше 41	3	7,0	0	0,0	3	7,0
Всього	30	69,8	13	30,2	43	100,0

Протягом спостереження на кожному огляді у всіх пацієнтів проводилася біомікроскопія переднього відрізка ока, візометрія з використанням апарату Рота та таблиці Сивцева-Головіна, офтальмометрія, рефрактометрія за допомогою автокераторефрактометра, вимірювання внутрішньоочного тиску шляхом пневмотонометрії, конфокальна мікроскопія рогівки з визначенням ЩЕК. Зняття безперервного рогівкового шва проводилось по закінченню терміну спостере-

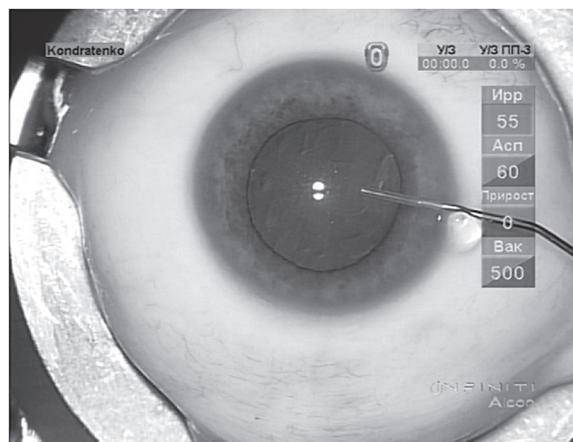


Рис. 6. Введення віскоеластиду ProVisc для утримання об'єму передньої камери.

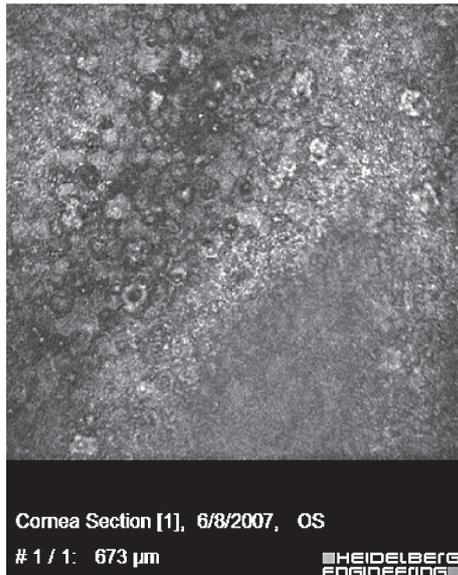


Рис. 7. Органели в ендотеліоцитах.

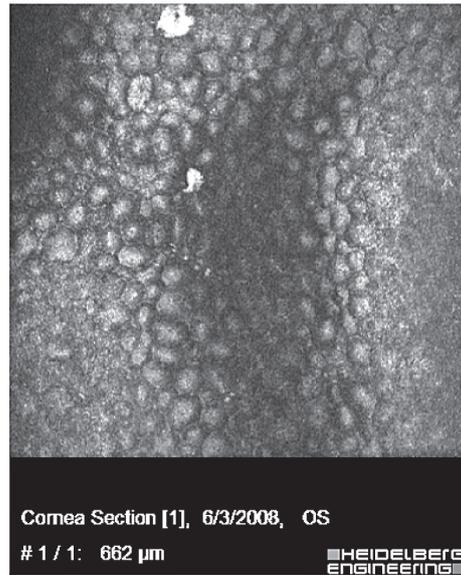


Рис. 8. «Об'ємність» ендотеліоцитів.

ження (через 12 місяців після НАКП) та не впливало на результати дослідження.

Визначення відторгнення рогівкового трансплантату проводилося за наступними клінічними і біомікроскопічними ознаками: сильний набряк рогівки, поява субепітеліальних інфільтратів, реакція передньої камери, поява в трансплантаті лінії Ходадуста, тощо.

Конфокальна мікроскопія *in vivo* проводилась за стандартною методикою на центральній частині трансплантату через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців після НАКП з підрахуванням ЩЕК, використовуючи стандартне правило «рамки».

Статистичний аналіз результатів дослідження виконаний на персональному комп'ютері з використанням програми Microsoft Excel та пакету статистичного аналізу «Statistica v.10» (Stat Soft, США). Для збереження і обробки отриманих даних створено комп'ютерну базу даних в програмі Microsoft Excel 2010.

Результати дослідження та їх обговорення. Аналізуючи результати дослідження шляхом біомікроскопії встановлено, що на 369 очах з 805 (45,84%) відмічались різні (за площею, глибиною та локалізацією) ерозії поверхневого рогівкового епітелію. На 9-ти рогівках (1,11%) були виявлені різні змутнення (посттравматичні, скрофульозні, як наслідок кератитів). На 5-ти очах (0,62%) від 3-х донорів були присутні ознаки розвинутого кератоконусу у вигляді кільця Флейшнера та симптому «масляної плями», відповідно, друге око одного з донорів теж було відбраковане через високу вірогідність на ньому кератоконусу. На 18-ти очах (2,24%) були присутні ознаки перенесених раніше офтальмохірургічних втручань (1 – антиглаукоматозна операція, 1 – антиглаукоматозна операція з екстракцією катаракти та імплантацією ІОЛ, 2 – лазерні базальні іридектомії, 1 – ЕЕК без імплантації ІОЛ, 7 – ЕЕК з імплантацією ІОЛ та 2 – після радіальних кератотомій, 4 –

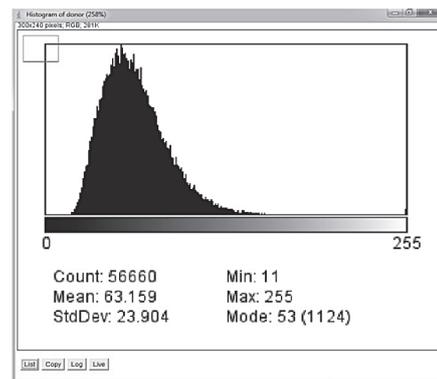
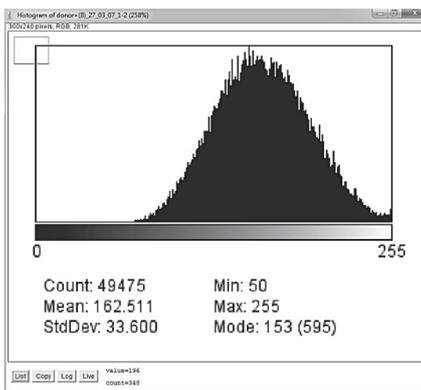
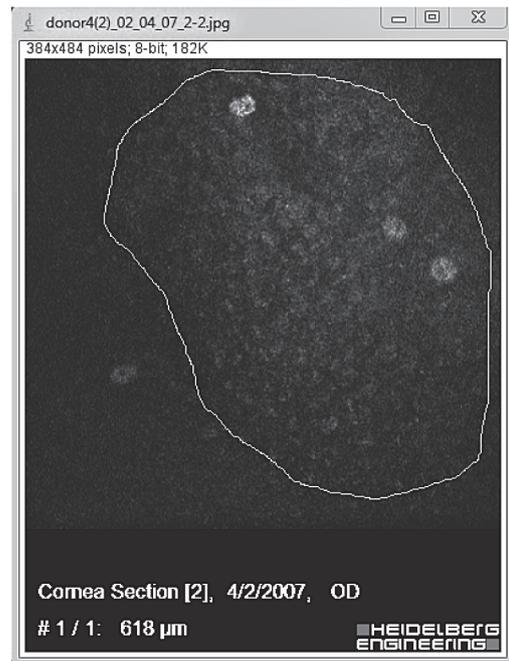
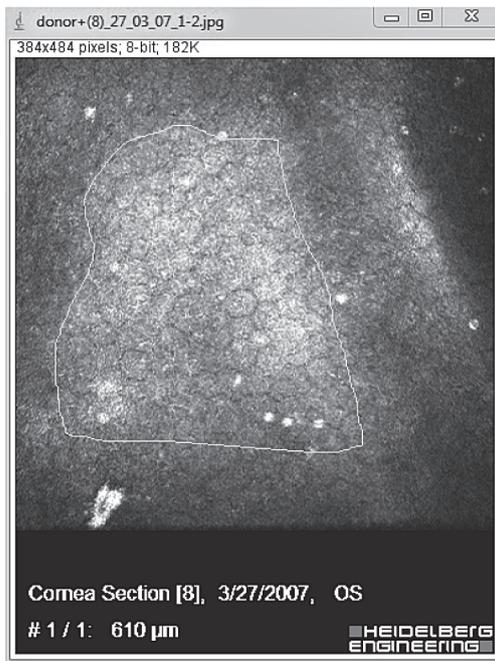
після фоторефракційних операцій). На 2-х очах (0,25%) від 2-х донорів були присутні наслідки проникаючих поранень у вигляді рогівкового рубця, синехій та пігменту на ендотелії. Одне око (0,13%) мало наслідки перенесеної тяжкої контузії у вигляді повної люксації кришталика в склисте тіло, заповненої склистим тілом передньої камери та неоваскуляризації райдужки. На 4-х очах (0,5%) була виявлена субтотальна гіфема, що була результатом механізму смерті донора (асфіксія через повішення). Виразний набряк рогівки, який унеможлилював огляд глибших анатомічних структур мали 6 очей (0,75%). Десквамації поверхневого епітелію не були критерієм відбракування. В ході дослідження за рештою біомікроскопічних змін було відбраковано 46 очних яблук (5,8%), які були використані для інших видів кератопластик.

Конфокальна мікроскопія *ex vivo* дозволила в реальному часі в тривимірному просторі дослідити структуру всіх шарів кадаверної рогівки.

В 4-х рогівках від двох донорів відмічались зміни, характерні для дегенеративного переродження стромы, в 2-х очах від одного донора відмічені зміни, характерні для інтерфейсу після фоторефракційного втручання (при біомікроскопії вони були пропущені). На 6-ти очах відмічались «краплі» десцеметової оболонки, характерні для дистрофії Фогта-Фукса. Відповідно до цих ознак, було відбраковано ще 12 очей (1,5%).

При дослідженні ендотелію 747 очей (92,79%), які залишились після попереднього відбракування, на 14 рогівках (1,87%) щільність ендотеліальних клітин підрахувати не вдалось. На решті 718 очей (98,13%) ЩЕК складала 935 – 3998 клітин/мм². Слід зазначити, що використовуючи критерій ЩЕК менше 2200 /мм², було відбраковано 143 очних яблука (19,91%), які були використані для інших видів кератопластик.

Фактично, після стандартного відбракування з 1108 обстежених очних яблук залишалось 590 (53,25%), придатних для НАКП. На 209 з 590



А

Б

Рис. 9. Гістограми зображень ендотелію різної рефлексивності.

(35,4%) рогівках визначалась зміна рельєфу задньої поверхні роگیвки у вигляді мікроскладчатості десцементової мембрани та ендотелію, що пояснюється посмертним набряком строми. Морфологічні зміни ендотеліоцитів зустрічалися на 135 з 590 мікрофотограм (22,88%) в різних поєднаннях (наявність органел в ендотеліоцитах, що в нормі не візуалізуються (рис. 7), та «об'ємність» ендотеліоцитів (рис. 8)).

Також було відмічено, що цитоплазма ендотеліоцитів мала різну рефлексивність (тобто різні відтінки сірого кольору). Інтенсивність відтінку не залежала від візуальної прозорості роگیвки і ЩЕК та була приблизно однакова на обох очах від одного донора. Для фіксації об'єктивної різниці між відтінками конфокальних мікрофотограм ендотелію в дослідженні були застосовані сучасні можливості кількісної гістології щодо отримання тонових гістограм наявних зображень за допомогою вільного програмного забезпечення «ImageJ» [14].

Відмічено, що тонові гістограми мають різні конфігурації, але їх можливо розподілити за декількома основними типами кривих. Таким чином, на кожну конфокальну мікрофотограму ендотелію були отримані тонові гістограми розподілу пікселів за монохромною шкалою від 0 (абсолютно чорний) до 255 (білий). Гістограма в табличному вигляді зберігалась окремим файлом «Microsoft Excel» та використовувалась в подальшій статистичній обробці інформації. На **рисунку 9** представлено приклад конфокальних мікрофотограм рогівок двох КОЯ з різними відтінками інтенсивності забарвлення ендотелію, які мали зіставні значення центральної товщини роگیвки (610 (А) та 618 мкм (Б)), ЩЕК (2289 (А) та 2322 /мм² (Б)) та біомікроскопічно гарну прозорість рогівки.

В післяопераційному періоді 8 осіб були виключені з I групи через наступні причини: 3 випадки раннього відторгнення трансплантату, що виникли на фоні одонтогенного чи риногенного увеїтів (жінка 19 років через 3 місяці після НАКП, чоловік 18 років

через 5 місяців після НАКП та чоловік 22 років через 7 місяців після НАКП), 2 випадки розвитку синдрому Уррець-Завалія, що привели до гострого нападу закритокутової глаукоми на тлі набухання кришталика (чоловік, 42 роки через 7 місяців після НАКП та чоло-

ЩЕК в підгрупі Ib дорівнювала: до трансплантації (*ex vivo*) – $2771 \pm 330 / \text{мм}^2$, через 1 міс. – $2606 \pm 279 / \text{мм}^2$, через 3 міс. – $2221 \pm 282 / \text{мм}^2$, через 6 міс. – $1864 \pm 256 / \text{мм}^2$, через 9 міс. – $1409 \pm 144 / \text{мм}^2$, через 12 міс. – $1187 \pm 154 / \text{мм}^2$. Діаграма динаміки втрати ендотелію

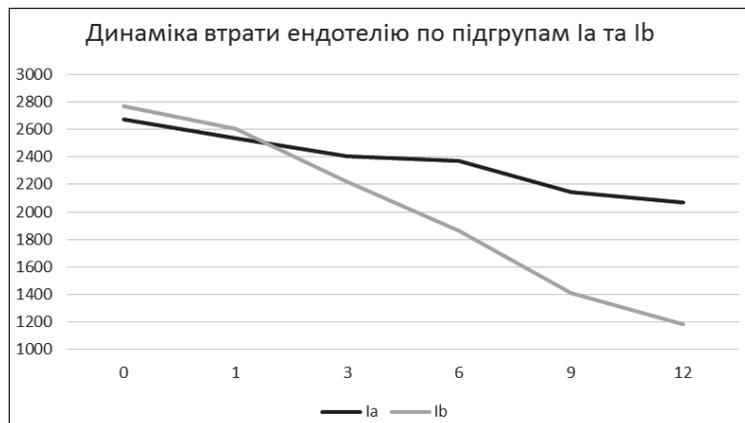


Рис. 10. Динаміка втрати ендотелію по підгрупах Ia та Ib.

вік 47 років через 5 місяців після НАКП), 2 випадки травми оперованого ока з відривом трансплантату (жінка 37 років через 5 місяців після НАКП та чоловік 18 років через 7 місяців після НАКП), 1 випадок швидкого розвитку катаракти з набуханням, який вимагав проведення екстракції катаракти з імплантацією ІОЛ за медичними показаннями (чоловік, 51 рік через 4 місяці після НАКП). У решти реципієнтів післяопераційний період протікав без особливостей.

Щодо динаміки втрати ендотеліоцитів на трансплантаті, то в I групі в середньому ЩЕК була наступною: до трансплантації (*ex vivo*) – $2724 \pm 332 / \text{мм}^2$, через 1 міс. – $2567 \pm 337 / \text{мм}^2$, через 3 міс. – $2297 \pm 294 / \text{мм}^2$, через 6 міс. – $2081 \pm 307 / \text{мм}^2$, через 9 міс. – $1791 \pm 389 / \text{мм}^2$, через 12 міс. – $1600 \pm 475 / \text{мм}^2$.

В I клінічній групі для всіх випадків кератопластики був побудований зведений графік, на якому кожна окрема лінія відображала динаміку втрати ендотеліальних клітин на кожному окремому трансплантаті через 1, 3, 6, 9 та 12 місяців після НАКП. За вихідне значення («0») бралася вихідна ЩЕК на трансплантаті, яка визначалась при конфокальній мікроскопії *ex vivo*. На зведеному графіку було відмічено, що частина трансплантатів мала більш стрімку втрату ендотеліальних клітин, що проявлялось вже через 6 місяців після НАКП і далі. Враховуючи, що така динаміка втрати ендотеліоцитів через 6 місяців після НАКП є ранньою прогностичною ознакою розвитку пізнього відторгнення трансплантату [15], за цим критерієм I клінічна група була розділена на дві підгрупи: Ia (повільна втрата ендотеліоцитів на трансплантаті, 23 реципієнти) та Ib (швидка втрата ендотеліоцитів на трансплантаті, 26 реципієнтів). Аналіз результатів показав, що динаміка втрати ендотеліоцитів (ЩЕК) на трансплантаті в підгрупі Ia була наступною: до трансплантації (*ex vivo*) – $2671 \pm 319 / \text{мм}^2$, через 1 міс. – $2533 \pm 324 / \text{мм}^2$, через 3 міс. – $2405 \pm 290 / \text{мм}^2$, через 6 міс. – $2368 \pm 300 / \text{мм}^2$, через 9 міс. – $2141 \pm 3304 / \text{мм}^2$, через 12 міс. – $2067 \pm 313 / \text{мм}^2$. В той же час,

по підгрупах зображена на **рисунку 10**. Різниця в динаміці втрати ендотеліоцитів на трансплантаті між підгрупами стає статистично достовірною через 6 місяців ($t = 4,87$; $p < 0,01$), 9 місяців ($t = 5,07$; $p < 0,01$) та 12 місяців після НАКП ($t = 9,43$; $p < 0,01$).

Враховуючи той факт, що підгрупи були порівняні в гендерно-вікових співвідношеннях донорів та реципієнтів, динаміка втрати ендотеліоцитів залежала від інших властивостей донорського рогівкового матеріалу.

Задля визначення морфометричних факторів ендотеліальних клітин, які впливали на динаміку їх втрати на трансплантаті була проведена статистична обробка накопиченої інформації.

При обробці отриманих тонових гістограм ендотелію основним показником було визначено моду гістограми, оскільки вона вказувала на тон пікселів, що зустрічались найбільш часто на конфокальній мікрофотограмі ендотеліоцитів, тобто на тон рефлексивності їх цитоплазми. При визначенні меж вибірки в підгрупі Ia ($n = 23$), які потрапляли в 95%-вий довірчий інтервал ($p = 0,05$), був використаний інтервал $[x_{cp} - 2\sigma; x_{cp} + 2\sigma]$, що описував 97,5% вибірки. Для даної вибірки був отриманий наступний інтервал $[50; 154]$ ($x_{cp} = 102$, $\sigma = 26$). Таким чином визначена нижня межа для розподілу мод тонових гістограм ендотелію у вибірці реципієнтів з позитивною динамікою втрати ендотелію на трансплантаті, яка дорівнювала 50. Крім того, в ході дослідження було запропоновано моду тонової гістограми ендотелію позначати як «коефіцієнт рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки» (КРЕКР) та використати цей показник як критерій відбору донорської рогівки. Таким чином, нижня межа КРЕКР для відбору донорської рогівки для реципієнтів II клінічної групи була прийнята за 50.

В процесі подальшої статистичної обробки даних була також виявлена залежність динаміки втрати ендотеліальних клітин на трансплантаті від таких факторів, як наявність органел в ендотеліоцитах та «об'ємність» ендотеліоцитів на конфокальних мікрофотограмах ендотелію донорських трупних рогівок. Наступним етапом роботи було вивчення діагностичної інформативності цих ознак. При статистичній незалежності ознак, що використовуються для опису характеру події (швидка втрата ендотеліоцитів на трансплантаті), ми скористалися одним із простих методів обчислення інформаційної цінності – застосували алгоритм, заснований на критерії Ст'юдента в модифікації Амосова М. М. зі співавт. (1975) [16]. Він полягав в порівнянні частоти деякого результату у хворих при наявності досліджуваної ознаки (P_1) із середньою частотою цього ж результату у всіх хворих,

обстежених на даний показник (P_0). Відповідне математичне значення мало вигляд (Ф.1):

$$t = \frac{P_1 - P_0}{\sqrt{m_1^2 + m_0^2}}, \quad (\text{Ф.1})$$

де t – «цінність» ознаки (у балах); m_1 й m_0 – середні помилки величин P_1 і P_0 .

Для всіх ознак (пошкодження шару поверхневого роговкового епітелію на донорському оці, різниця у віці між донором та реципієнтом, гендерна різниця між донором та реципієнтом, стан після НАКП на контрлатеральному оці, діаметр трансплантату, центральна товщина донорської роговочки, наявність органел, «об'ємність» ендотеліоцитів) обчислювалося значення інформативності. У такий спосіб були виділені найбільш інформативні з погляду диференціальної діагностики ознаки: наявність органел та «об'ємність» ендотеліоцитів. Значимість показників інформативності цих ознак для підгруп представлені в таблиці 4.

Отримані показники інформативності були перевірені нами за допомогою формули С. Кульбака (1967) [17] у модифікації Е. В. Гублера (1978) [18] (Ф.2):

$$J(x_i) = \sum(x_{ij}) = \sum 10 \lg [P(x_{ij}/A_1)/P(x_{ij}/A_2)] - 0,5 [P(x_{ij}/A_1) - P(x_{ij}/A_2)] \quad (\text{Ф.2})$$

Співвідношення показників інформативності збіглося з даними, отриманими за допомогою першого методу.

Враховуючи визначені фактори (КРЕКР більше 50, відсутність «об'ємності» клітин та відсутність органел), була сформована II клінічна група (група порівняння) з 29 реципієнтів. Операції в цій групі були проведені за стандартною методикою та післяопераційний період протікав без особливостей. Динаміка зменшення середнього значення ЩЕК в цій групі була наступною: до трансплантації (*ex vivo*) – 2635±302/мм², через 1 міс. – 2645±309/мм², через 3 міс. – 2401±328/мм², через 6 міс. – 2321±315/мм², через 9 міс. – 2143±435/мм², через 12 міс. – 2010±410/мм². Співвідношення динаміки зменшення ЩЕК в I та II групах представлено на **рисунку 11**.

Таким чином, в ході дослідження нами отримано зменшення втрати ендотеліоцитів на трансплантаті в II клінічній групі в порівнянні з I групою, яке було

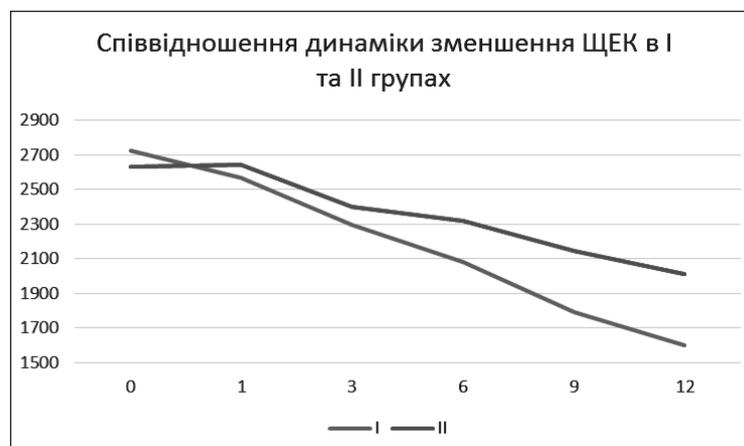


Рис. 11. Співвідношення динаміки зменшення ЩЕК в I та II групах.

Таблиця 4.

Значимість показників інформативності в цілому по клінічним групам

Підгрупа	Коефіцієнт ознаки	Ознака	Інформативність (значимість)
Ia			
	x_1	Відсутність «об'ємності» ендотеліоцитів	2,36
	x_2	Відсутність органел в ендотеліоцитах	6,58
Ib			
	x_1	Наявність «об'ємності» ендотеліоцитів	2,71
	x_2	Наявність великої кількості органел в ендотеліоцитах	2,01

статистично достовірним через 6 місяців ($t=2,45$; $p<0,05$), 9 місяців ($t=2,11$; $p<0,05$) та 12 місяців після НАКП ($t=3,16$; $p<0,01$).

Аналізуючи питання інтраопераційної травми ендотелію на роговковому трансплантаті, звертає на себе увагу той факт, що суттєвої травми ендотелію зазнає на етапі «back table». Перед трепанацією кадаверне очне яблуко затискається в кангвий окотримач до утворення тургору, достатнього для коректної фіксації та роботи вакуумного трепану. В момент прорізання роговочки настає швидка розгерметизація передньої камери, що призводить до швидкого її спорожнення та дислокації внутрішньоочних структур кадаверного очного яблука з подальшою механічною травматизацією незахищеного ендотелію (**рис. 12**).

За аналогією з методами профілактики травми ендотелію та запобігання спорожнення передньої камери при виконанні факоемульсифікації катаракти за допомогою віскоеластиків [19], в ході дослідження було прийнято рішення на етапі «back table» використовувати комбінацію адгезивного (VISCOAT) та когезивного (ProVisc) віскоеластиків для подолання даної проблеми. Таким чином було сформовано III клінічну групу із 43 реципієнтів. В цій групі використана ДТР, яка була відібрана за тими ж критеріями, що і для II групи, але на етапі «back table» проводилася віскопротекція ендотелію. Всі оперативні втручання в цій групі проводилися за стандартною методикою та післяопераційний період протікав без особливостей. Динаміка зменшення середнього значення ЩЕК в цій групі була наступною: до трансплантації (*ex vivo*) – 2699±309/мм², через 1 міс. – 2675±328/мм², через 3 міс. – 2566±327/мм², через 6 міс. – 2460±370/мм², через 9 міс. – 2248±452/мм², через 12 міс. – 2258±453/мм². Співвідношення динаміки зменшення ЩЕК в II та III групах представлено на **рисунку 13**.

При порівнянні динаміки втрати ендотеліоцитів на трансплантатах у реципієнтів III та II клінічних груп (з віскопротекцією

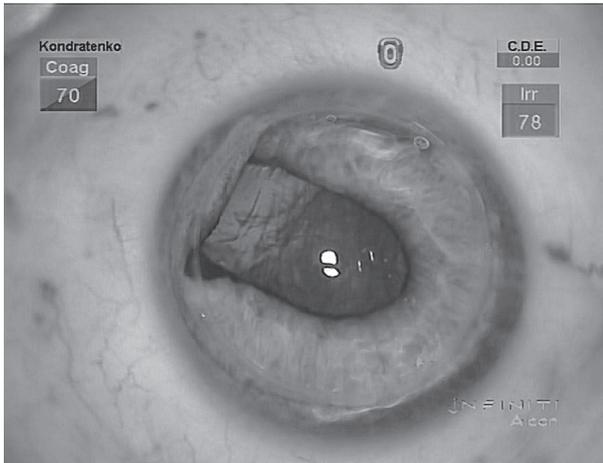


Рис. 12. Травматизація ендотелію дислокованою райдужкою при розгерметизації передньої камери в кадаверному оці на етапі «back table».

та без неї, відповідно) ми не отримали статистично значимої різниці протягом річного періоду спостереження, але при порівнянні I та III групи (рис. 14) отримано статистично значиме зменшення втрати ендотеліоцитів вже на 3-му місяці спостереження (3 місяць – $t=2,24$; $p < 0,05$; 6 місяців – $t=4,01$; $p < 0,01$; 9 місяців – $t=2,84$; $p < 0,01$; 12 місяців – $t=5,39$; $p < 0,01$), на відміну від порівняння I та II групи (рис. 11), де

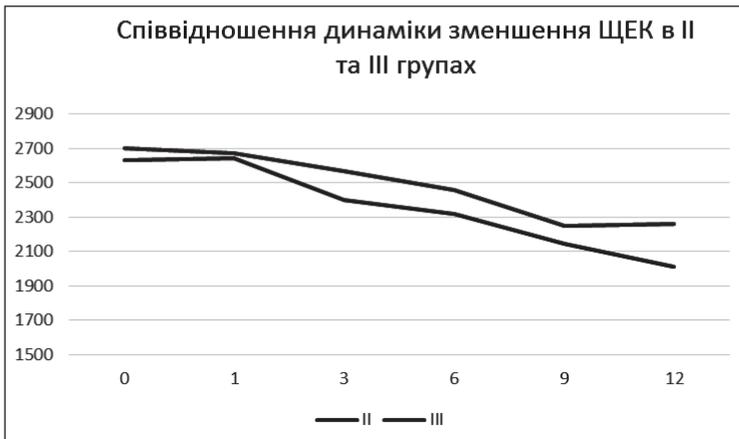


Рис. 13. Співвідношення динаміки зменшення ЩЕК в II та III групах.

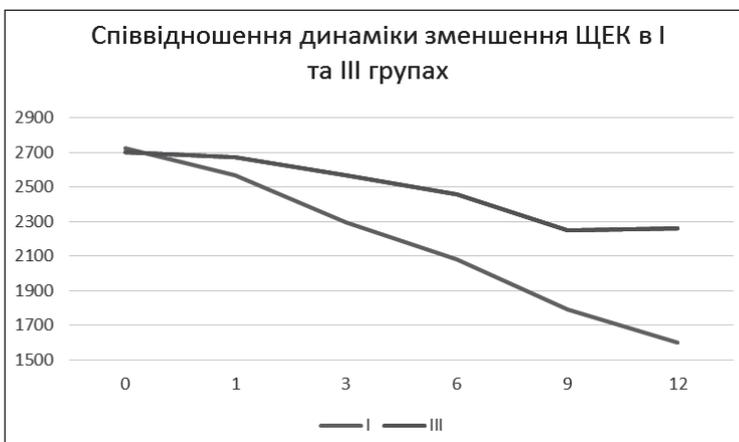


Рис. 14. Співвідношення динаміки зменшення ЩЕК в I та III групах.

зменшення втрати ендотеліоцитів на трансплантаті статистично значимо проявлялося тільки з 6 місяця спостереження.

Якщо розглядати дану динаміку втрати ендотеліоцитів на трансплантаті у відсотковому аспекті, то за 12 місяців після НАКП в I групі отримано середню втрату $\approx 74\%$ ендотеліоцитів, а в III групі $\approx 17\%$.

Аналізуючи конфокальні мікрофотограми донорських рогівок за визначеними новими критеріями якості, встановлено наявність факторів ризику ($\text{КРЕКР} < 50$, наявність «об'ємності» ендотеліоцитів та органел в них) в будь якій комбінації в 165 рогівках з 590, що пройшли біомікроскопічний контроль та мали ЩЕК більше $2200/\text{мм}^2$. Тобто, відносний брак рогівкового матеріалу за конфокальною мікроскопією складав $27,97\%$. Щодо загального браку, то з 1108 очних яблук, доставлених для трансплантацій, лише 455 ($41,06\%$) виявились повністю придатними для НАКП при кератоконусі.

Висновки

1. Інтенсивність рефлексивності ендотеліальних клітин – ефективний критерій якості донорської кадаверної рогівки, величина якого залежить від процесів в цитоплазмі ендотеліоцитів та є кількісним маркером апоптозу ендотеліоцитів. Ця властивість рогівки потребує подальшого вивчення та може бути використана як інформативна суправітальна реакція в судово-медичній танатології.

2. Наявність видимих органел в ендотеліоцитах, візуальна «об'ємність» ендотеліоцитів при конфокальній мікроскопії та коефіцієнт рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки < 50 (як самостійні три фактори або в будь-якій комбінації) суттєво зменшують вірогідність виживання ендотеліоцитів на наскрізному рогівковому трансплантаті протягом першого року після трансплантації.

3. Серед кадаверних очних яблук, які могли бути використані для проведення аллокератопластики, такі, які мали додаткові критерії ($\text{КРЕКР} < 50$, органели в ендотеліоцитах, візуальна «об'ємність» ендотеліоцитів – ізольовано або в будь-якій комбінації), склали $\approx 28\%$ від загальної кількості, що робило абсолютно придатними для проведення НАКП при кератоконусі лише $\approx 40\%$ очних яблук. Цей факт потрібно враховувати при планування проведення аллокератопластики.

4. Інтраопераційна віскопротекція донорського ендотелію на етапі «back table» є додатковим механізмом заощадження ендотеліальних клітин на трансплантаті при НАКП у пацієнтів з кератоконусом. Віскопротекція в поєднанні з якісним відбракуванням донорського рогівкового матеріалу за визначеними в нашому дослідженні додатковими критеріями майже в 4 рази зменшує відсоток втрати ендотеліальних клітин на рогівковому трансплантаті за

перший рік після трансплантації, що є попередженням розвитку пізнього ендотеліального відторгнення рогівкового трансплантату.

Перспективи подальших досліджень. Проведений аналіз літератури свідчить про те, що групи факторів, які впливають на успішне приживлення рогівкового трансплантату при хірургічному лікуванні кератоконусу вивчені не достатньо повно. Проте,

більшість критеріїв, що використовуються з метою оцінки якості донорського матеріалу не є достатньо специфічними, що обмежує їх застосування. Тому актуальним і своєчасним видається провести поглиблене дослідження дієвих критеріїв якості донорського матеріалу на етапі відбору та розробити методики додаткової ендотеліопротекції рогівкового трансплантату на етапі трансплантації.

Література

1. Patel SV. Graft survival after penetrating keratoplasty. *American Journal of Ophthalmology*. 2011 March;151(3):397-8.
2. Tan DT, Mehta JS. Future directions in lamellar corneal transplantation. *Cornea*. 2007 October;26(9 Suppl 1):21-8.
3. Halliday BL, Ritten SA. Effect of donor parameters on primary graft failure and the recovery of acuity after keratoplasty. *British Journal of Ophthalmology*. 1990;74:7-11.
4. Patel SV, Diehl NN, Hodge DO, Bourne WM. Donor risk factors for graft failure in a 20-year study of penetrating Keratoplasty. *Archives of Ophthalmology*. 2010 April;128(4):418-25.
5. Feizi S, Javadi MA, Ghasemi H, Javadi F. Effect of Donor Graft Quality on Clinical Outcomes After Penetrating Keratoplasty for Keratoconus. *Journal of Ophthalmic and Vision Research*. 2015;10(4):364-9.
6. Inoue K, Amano S, Oshika T, Tsuru T. Risk factors for corneal graft failure and rejection in penetrating Keratoplasty. *Acta Ophthalmologica*. 2001 June;79(3):251-5.
7. Javadi MA, Motlagh BF, Jafarinasab MR, Rabbanikhah Z, Anissian A, Souri H, Yazdani S. Outcomes of penetrating keratoplasty in keratoconus. *Cornea*. 2005 November;24(8):941-6.
8. Troutman RC, Lawless MA. Penetrating keratoplasty for keratoconus. *Cornea*. 1987;6(4):298-305.
9. Price FW Jr, Whitson WE, Marks RG. Graft survival in four common groups of patients undergoing penetrating keratoplasty. *Ophthalmology*. 1991 March;98(3):322-8.
10. Kelly TL, Williams KA, Coster DJ. Australian Corneal Graft Registry. Corneal transplantation for keratoconus: a registry study. *Archives of Ophthalmology*. 2011;129(6):691-7.
11. Puchkovskaya NA, Barkhash SA, Bushmich DG, Voyno-Yasenetsky VV, Muchnik SR. Osnovi transplantasii rogovki. Kyiv: Zdorovie; 1971. 278 s. [in Russian].
12. ImageJ – domashnya storinka. Dostupno: <https://imagej.nih.gov/ij/> [in Russian].
13. Sergienko NM, Kondratenko UN, Chumak NV, Daneshmand Eslami Amirreza, vynakhidnyky; Sposib profilaktiki ekzogennogo infikuvanya at conducted ophthalmology operations. Pat. № 77873 Ukraine, MPK (2006): A 61 F 9/007. № a 200505121; zayavl. 30.05.05; publ. 15.01.07, Bul. № 1. [in Ukrainian].
14. Nikonenko AG. Vedenie v kolichestvenuyu gistologiyu. Kiyv: Kniga-plus; 2013. 256 s. [in Russian].
15. Lass JH, Sugar A, Benetz BA, Dontchev M, Gal RL, Kollman C, et al. Endothelial Cell Density to Predict Endothelial Graft Failure After Penetrating Keratoplasty. *Archives of Ophthalmology*. 2010;128(1):63-9.
16. Amosov NM, Sidorenko LM, Mintser OP. Factori riska protezirovaniya mitralnogo klapana. *Grudnaya chirurgiya*. 1975;3:9-16. [in Russian].
17. Kulbak S. Teoriya informacii i statastiki. M.: Nauka; 1967. 408 s. [in Russian].
18. Gubler EV. Vichislitelnie metodi analiza i raspoznavaniya patologicheskich protsesov. Leningrad: Medizina; 1978. s. 91-124, 126-46. [in Russian].
19. Buratto L. Chirurgiya kataracti. Perechod ot ekstrakapsulyarnoy ekstrakcii kataracti k fakoemulsifikacii. *Fabiano Editore*; 1999. 474 s. [in Russian].

ЕФЕКТИВНІСТЬ МОДИФІКОВАНОГО МЕТОДУ ЛІКУВАННЯ КЕРАТОКОНУСУ

Кондратенко Ю. М., Шаргородська І. В., Лаврик Н. С., Лисенко М. Г.

Резюме. Проведена лазерна скануюча конфокальна мікроскопія донорським трупним рогівкам, призначеним для кератопластики. За допомогою програмного забезпечення ImageJ проаналізована рефлексивність ендотелію та введено поняття Коефіцієнту рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки (КРЕКР). В ході статистичної обробки визначені морфометричні властивості ендотеліоцитів при конфокальній мікроскопії, що значимо впливають на втрату ендотеліальних клітин на трансплантаті і, можливо, є ознаками апоптозу ендотеліоцитів. Розроблена методика віскопротекції ендотелію кадаверної рогівки на етапі формування трансплантату. Відмічено, що поєднання якісного відбракування донорського рогівкового матеріалу за розробленими критеріями з проведенням інтраопераційної віскопротекції ендотелію майже в 4 рази зменшує відсоток втрати ендотеліальних клітин на рогівковому трансплантаті за перший рік після трансплантації, що є попередженням розвитку пізнього ендотеліального відторгнення рогівкового трансплантату. Встановлено, що загальний (абсолютний та відносний) брак донорських рогівок для проведення наскрізної аллокератопластики при кератоконусі складає приблизно 60%.

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

ЭФЕКТИВНОСТЬ МОДИФИЦИРОВАННОГО МЕТОДА ЛЕЧЕНИЯ КЕРАТОКОНУСА

Кондратенко Ю. Н., Шаргородская И. В., Лаврик Н. С., Лысенко М. Г.

Резюме. Проведена лазерная сканирующая конфокальная микроскопия донорских трупных роговиц, предназначенных для кератопластики. С помощью программного обеспечения ImageJ проанализи-

рована рефлексивність ендотелія і введено поняття Коефіцієнта рефлексивності ендотеліальних кліток роговиці (КРЭКР). В ході статистическої обробки определены морфометрические свойства ендотелиоцитов при конфокальной микроскопии, которые существенно влияют на потерю эндотелиальных клеток на трансплантате и, возможно, являются признаками апоптоза эндотелиоцитов. Разработана методика вископротекции эндотелия кадаверной роговицы на этапе формирования трансплантата. Отмечено, что сочетание качественной отбраковки донорского роговичного материала по разработанным критериям с проведением интраоперационной вископротекции эндотелия сокращает процент потери эндотелиальных клеток на роговичном трансплантате почти в 4 раза в течение первого года после трансплантации, что является профилактикой развития позднего эндотелиального отторжения роговичного трансплантата. Установлено, что общий (абсолютный и относительный) брак донорских роговиц для проведения сквозной аллокерато-пластики при кератоконусе составляет приблизительно 60%.

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

EFFICIENCY OF MODIFIED METHOD TREATMENT OF KERATOCONUS

Kondratenko Y. M., Shargorodska I. V., Lavryk N. S., Lysenko M. G.

Abstract. *Keratoconus* is a disorder of the eye characterized by thinning and protrusion of the cornea, resulting in an irregular, conical shape and is the cause of persistent decline in vision and disability of young able-bodied people. Despite development of lamellar techniques of corneal surgery, penetrating keratoplasty remains the “gold standard” in the keratoconus treatment. The rapid loss of endothelial cells on the corneal graft at 6 months after keratoplasty is an important early symptom of late graft rejection (Lass J.H. et al, 2010).

The aim of this study is to improve the quality of preservation of endothelial cells on the native corneal grafts. This task can be solved by qualitative preliminary selection of donor tissue and reduction of intraoperative traumatization of endothelium on corneal graft. *Methods.* In Kyiv ophthalmic city hospital “Eye microsurgery center” (Kyiv, Ukraine) determined preoperative endothelium cells density by Heidelberg Retina Tomograph HRT II Rostock Cornea Module and were archived available endothelium cells images (590 human cadaveric corneas). Endothelial cells reflectivity analyses performed by *ImageJ free* software. Proposed to introduce the concept of the coefficient of reflectivity of corneal endothelial cells. Also noted the presence of organelles and “swelling” endothelial cells. In 1st clinic group (n=57) all the patients got standard penetrating keratoplasty procedure with standardly graft exams. Investigated the dependence of rapid endothelial cells loss with endothelial morphometric properties. In 2nd clinic group (n=29) all the patients got standard penetrating keratoplasty procedure with qualitative screening of corneas with new morphometric criteria (coefficient of corneal endothelial reflectivity more, than 50; without “swelling” endothelial cells and without organelles in the endothelial cells). In 3rd clinic group (n=43) patients got qualitative screening of corneas (like 2nd group), but viscoprotection during “back table” procedure has been developed.

Results. As a result, combination of qualitative rejection of cadaveric corneas with morphometric endothelial factors reduces the percentage of cell loss four times. Three morphometric factors in any combination were related with rapid loss of endothelial cells in graft: coefficient of corneal endothelial reflectivity lower, than 50; “swelling” endothelial cells and organelles in the endothelial cells. Determined that total (absolute and relative) qualitative rejection make unsuitable for penetrating keratoplasty for keratoconus approximately 60% of cadaveric corneas.

Discussion. This study may help to reduce endothelial cells loss and frequency of late endothelial rejection of corneal grafts. Three morphometric factors in any combination were related with rapid loss of endothelial cells in graft: coefficient of corneal endothelial reflectivity lower, than 50; “swelling” endothelial cells and organelles in the endothelial cells. Perhaps, these factors are markers of endothelial cells apoptosis.

Conclusion. Investigated the dependence of rapid endothelial cells loss with endothelial morphometric properties. Proposed to introduce the concept of the coefficient of reflectivity of corneal endothelial cells. Proposed the methodology of endothelial viscoprotection during “back table” procedure before penetrating keratoplasty.

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

Рецензент – проф. Безкоровайна І. М.

Стаття надійшла 28.03.2018 року