

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

УДК 617.713-00.17-002.2-018-003.93 (043.5)

СЕМАК
Галина Романовна

**КЛИНИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ
ДИСТРОФИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ РОГОВИЦЫ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук
по специальности 14.01.07 – глазные болезни

Минск 2022

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный консультант **Потапнёв Михаил Петрович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом клеточных биотехнологий государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий»

Официальные оппоненты: **Алексеев Сергей Алексеевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Абельская Ирина Степановна, доктор медицинских наук, профессор, главный врач государственного учреждения «Республиканский медицинский центр Управления делами Президента Республики Беларусь»

Шустеров Юрий Аркадьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой глазных болезней Некоммерческого акционерного общества «Медицинский университет Караганды»

Оппонирующая организация: государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Защита состоится 2 марта 2023 года в 13.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.05 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220083, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, тел.: 302 16 21, e-mail: uchsovet@bsmu.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан _____ января 2023 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат медицинских наук, доцент



А.В. Жура

ВВЕДЕНИЕ

Хронические дистрофические заболевания роговицы (ХДЗР) – группа заболеваний, характеризующихся нарушением обменных процессов, ведущих к уменьшению прозрачности роговицы. Неблагоприятным исходом дистрофического процесса являются бельма, приводящие к резкому снижению зрения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), 5% населения мира страдает от корнеальной слепоты [Бржевский В. В., 2012; Tear Film and Ocular Surface Society II Introduction, 2017]. Трансплантация аллогенной роговицы – единственная возможность возвращения и сохранения зрения, которая сопряжена с большим количеством осложнений на фоне протекающего дистрофического процесса и требует длительного наблюдения в послеоперационном периоде [Fili S., 2021; Gómez-Benlloch A., 2021]. Одним из самых распространенных рисков непрозрачного приживления является дистрофическое поражение глазной поверхности, проявляющееся как болезнь сухого глаза (БСГ). Без эффективного ее купирования пересадка роговицы заканчивается прозрачным приживлением менее чем в 30% случаев, в 20% – приходится прибегать к повторной кератопластике [Душин Н. В., 2009; Varabino S., 2020; Kamoy B., 2022]. Использование индивидуализированных многоэтапных методик лечения дистрофических заболеваний [TFOS DEWS II Introduction, 2017] не дает желаемого результата у пациентов с тяжелыми изменениями роговицы [Colby K., 2021; Srinivasan S., 2021]. Существует необходимость разработки методов, которые бы не только позволяли поддерживать необходимый уровень гидратации, но и способствовали активации регенеративных процессов в тканях глазной поверхности, оказывая патогенетическое влияние на процессы воспаления, фиброзирование и сохраняя при этом прозрачность роговицы.

Стволовые/стромальные клетки распределены по всей поверхности глаза, а не только в лимбальной зоне, где определяются в наибольшем количестве и активно участвуют в процессах регенерации. Обеспечение гомеостаза наружных слоев глаза осуществляется за счет стволовых/стромальных клеток глазной поверхности [Majo F., 2008; Dziasko M. A., 2016; Alsaedi H. A., 2019; Liu X., 2020;], а также камбиальных стволовых/стромальных клеток лимба. Это доказывает, что для сохранения прозрачности роговицы, а значит, и зрения пациентов с патологией глазной поверхности, необходимо создание благоприятных условий для мезенхимальных (МСК) и лимбальных (ЛСК) стволовых/стромальных клеток всей поверхности глаза и особенно зоны лимба, являющейся местом формирования основных регенеративных процессов глаза. Одним из таких условий является обеспечение ее гиалуроновой кислотой (ГК) [Lorenzo-Martín E., 2019].

ГК – естественный компонент муцинового слоя слезной пленки (СП), которая является составной частью глазной поверхности. Пул ГК в тканях достаточно гетерогенный [Gao Y., 2019; Abatangelo G., 2020]. Наиболее оправданным является терапевтическое использование низкомолекулярной фракции ГК, сочетающей в себе защитные функции высокомолекулярного натрия гиалуроната и активирующее влияние олиго-натрия гиалуроната на клетки [Termeer C. C., 2000; Guthoff R. F., 2006; Chang C. C., 2012; Gottsch J. D., 2016; Yamasaki K., 2020]. Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование продемонстрировало, что увеличение толщины СП, вызванное применением ГК в инстилляциях, даже у здоровых людей отмечается лишь в течение 30 мин [Kaaya S., 2015]. В связи с этим для лечения дистрофии роговицы нами предлагается субконъюнктивальное введение препарата низкомолекулярного натрия гиалуроната (НМ-NaГ), что может оказать пролонгированное терапевтическое действие.

В качестве патоморфологических признаков дистрофического поражения роговицы выбраны маркеры воспаления и фиброза: кластер дифференциации 44 (CD44), матриксные металлопротеиназы 9 (MMP9), трансформирующий фактор роста- β 1 (TGF- β 1), люмикан, окклюдин, белок плотных контактов 1 (TJP1), фактор роста соединительной ткани (ФРСТ) [Sonnylal S., 2010; Jun J. I., 2011; Amjadi S., 2013; Karousou E., 2014; Yamamoto T. A., 2018; Ramazani Y., 2018; Wilson S. E., 2020; Otani T., 2020]. Определение уровня экспрессии данных маркеров при дистрофическом поражении роговицы и после проведения лечения может явиться доказательством эффективности разработанного метода лечения.

Таким образом, необходимо изучение механизмов возникновения ХДЗР на основе оценки изменений патоморфологии роговицы в процессе лечения, направленного на активацию регенерации и замедление фиброобразования, что позволит обосновать возможность клинического использования 1% НМ-NaГ для снижения уровня фиброза с сохранением прозрачности роговицы и повышения эффективности кератопластики.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Исследования, входящие в диссертационную работу, выполнены в рамках НИОК(Т)Р: «Разработать метод лечения пациентов с дистрофическими заболеваниями роговицы, основанный на восстановлении функциональных резервов и защитных механизмов поверхности глаза» (№ государственной регистрации 20171497) в рамках Государственной научно-технической программы «Новые методы оказания медицинской помощи, 2016-2020 гг.», (подпрограмма «Внутренние болезни») и «Разработать метод

персонифицированного лечения воспалительных заболеваний роговицы» (№ государственной регистрации 20220764) в рамках Государственной научно-технической программы «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021-2025 гг. (подпрограмма «Терапия»). Соискатель является научным руководителем обоих заданий. Диссертационная работа выполнена также в рамках научно-исследовательской работы кафедры офтальмологии Белорусской медицинской академии последипломного образования «Реабилитация пациентов с заболеваниями и травмами органа зрения» (№ государственной регистрации 20130890, срок выполнения: 2013–2016 гг.).

Цель исследования: разработка, экспериментальное обоснование и доказательство клинической эффективности нового направления лечения пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы, основанного на повышении активности локальных регенеративных процессов.

Задачи исследования:

1. Провести I этап клинического исследования с анализом структуры патологии роговицы в этиологии ее хронического дистрофического поражения, наиболее часто приводящего к кератопластике. Сформировать группы пациентов для II этапа клинического исследования.

2. Определить патоморфологические изменения роговицы у пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы различной этиологии: после воспалительных заболеваний, при эндотелиально-эпителиальной дистрофии, глаукоме, болезни трансплантата, кератоконусе.

3. Оценить клиническую эффективность субконъюнктивального введения 1% НМ-NaГ в лечении пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы различной этиологии по сравнению со стандартной терапией.

4. Оценить клиническую эффективность применения 1% НМ-NaГ в пред- и послеоперационном периоде у пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы по сравнению со стандартной терапией.

5. Установить патоморфологию терапевтического воздействия инъекций 1% раствора НМ-NaГ в роговичных эксплантах. Оценить характер и степень влияния НМ-NaГ на активность мезенхимальных стволовых/стромальных клеток человека *in vitro*.

6. Разработать методы комплексного лечения пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы в зависимости от этиологии и степени выраженности повреждения тканей роговицы.

Научная новизна

1. Впервые установлена роль различных нозологических форм заболеваний роговицы в Республике Беларусь в структуре причин, приводящих к хроническим дистрофическим заболеваниям роговицы. Показана клиническая однородность исходов заболеваний роговицы, характеризующихся формированием помутнений различной степени интенсивности, приводящих к кератопластике.

2. Показана иммуногистохимическая схожесть изменений в роговице при хронических дистрофических заболеваниях роговицы различной этиологии: повышение экспрессии CD44, MMP9 и TGF- β 1, фактора роста соединительной ткани, снижение экспрессии люмикана, окклюдина и TJP1.

3. Впервые доказано положительное влияние субконъюнктивального введения 1% НМ-NaГ на течение как хронических дистрофических заболеваний роговицы, так и сопутствующей болезни сухого глаза за счет повышения прозрачности роговицы, стабилизации водного, муцинового и липидного слоев слезной пленки по сравнению со стандартной терапией.

4. Впервые доказано положительное влияние субконъюнктивального введения 1% НМ-NaГ до и после кератопластики на состояние роговичного трансплантата.

5. Установлены механизмы воздействия 1% НМ-NaГ на активацию регенеративных процессов в тканях роговицы с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы различной этиологии и показана эффективность разработанного метода по сравнению со стандартной терапией.

6. Впервые установлено, что 1% НМ-NaГ не оказывает токсического действия на МСК человека *in vitro*, а также не активирует их пролиферацию. Показана способность препарата поддерживать жизнедеятельность клеток *in vitro* за счет создания оптимального микроокружения.

7. Впервые разработано новое направление комплексного лечения пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы с применением инъекционной формы 1% НМ-NaГ до и после кератопластики, которое позволяет воздействовать на патогенетические механизмы развития хронических дистрофических заболеваний роговицы за счет восстановления гидратации, качественного состава слезной пленки, активации процессов регенерации в эпителии роговицы, ингибирования апоптоза и воспаления, что способствует восстановлению прозрачности роговицы.

Положения, выносимые на защиту

1. Различные нозологические формы заболеваний роговицы, приводящие к хроническим дистрофическим заболеваниям роговицы, в терминальных стадиях характеризуются клинической однородностью исходов –

формированием бельма, что является абсолютным показанием к кератопластике. На основании анализа возникновения болезни трансплантата и непрозрачного приживления для II этапа клинического исследования сформированы группы пациентов в соответствии со структурой самых тяжелых исходов: хронические дистрофические заболевания роговицы после кератитов, при эндотелиально-эпителиальной дистрофии и при глаукоме.

2. Гистологические характеристики роговицы при хронических дистрофических заболеваниях роговицы различной этиологии сходны и проявляются дезорганизацией стромы, нарушением анатомической и функциональной целостности эпителия, воспалением в тканях роговицы. Глаукома осложняет течение хронических дистрофических заболеваний роговицы, что выражается в более глубоких изменениях эпителия и стромы роговицы. Однородность иммуногистохимических изменений при хронических дистрофических заболеваниях роговицы различной этиологии определяется выраженной эпителиальной экспрессией CD44, стромальной экспрессией MMP9 и TGF- β 1, снижением экспрессии люмикана в строме, сниженной позитивностью и интенсивностью эпителиальной экспрессии окклюдина в сравнении с нормальными тканями роговицы, снижением индекса интенсивности экспрессии TJP1 в эпителии, особенно в группе с глаукомой.

3. Лечение пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы с применением инъекционной формы 1% НМ-NaГ по сравнению со стандартной терапией способствует повышению остроты зрения за счет снижения степени помутнения роговицы, уменьшению толщины роговицы, а также стабилизации водного, муцинового и липидного слоев слезной пленки. Глаукома осложняет течение хронических дистрофических заболеваний роговицы любой этиологии, что выражается в более медленном восстановлении клинических показателей на фоне разработанной терапии.

4. Применение лечения с использованием 1% НМ-NaГ в предоперационном периоде приводит к увеличению значений пробы Ширмера, времени разрыва слезной пленки, снижению индекса Ocular Surface Disease Index, что создает благоприятные условия для трансплантации. Клиническая эффективность 1% НМ-NaГ после кератопластики характеризуется ускорением эпителизации на фоне восстановленной гидратации и сохранением прозрачности трансплантата.

5. Эффективность применения 1% НМ-NaГ может быть связана с его способностью поддерживать *in vitro* жизнедеятельность мезенхимальных стромальных клеток как основу регенеративных процессов у пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы, не вызывая при этом пролиферацию данных клеток. Применение 1% НМ-NaГ способствует восстановлению анатомической целостности и функционального состояния

эпителия роговицы за счет ингибирования процессов воспаления, которое проявляется снижением экспрессии MMP9 и TGF- β 1, увеличением эпителиальной экспрессии CD44. Активация регенеративных процессов в строме проявляется снижением содержания экспрессии MMP9 и TGF- β 1 до уровня контроля, возрастанием позитивности стромальной экспрессии люмикана до нормальных значений, восстановлением целостности клеточных контактов при возрастании позитивности экспрессии окклюдина, уменьшением процессов фиброобразования при снижении позитивности экспрессии фактора роста соединительной ткани.

б. Активация регенеративных процессов при применении 1% НМ-НаГ на дооперационном этапе кератопластики является ключевым звеном в лечении хронических дистрофических заболеваний роговицы, так как обеспечивает снижение активности воспалительно-дистрофических процессов в тканях роговицы на 25%, позволяет снизить риск развития ксероза на 30%, избежать кератопластики у 74,8% пациентов. Применение субконъюнктивальных инъекций 1% НМ-НаГ до и после кератопластики позволяет сохранить прозрачность трансплантата даже при высоком риске осложнений.

Личный вклад соискателя

При проведении исследования автором осуществлен информационно-патентный поиск и самостоятельно выполнен анализ зарубежных и отечественных источников литературы. Совместно с научным консультантом были определены цель и задачи исследования, разработаны его этапы и направления. I и II этапы клинического исследования выполнены автором самостоятельно: сбор и анализ первичных материалов, пред- и послеоперационное обследование пациентов, ведение пациентов в клинических наблюдениях, статистическая обработка и анализ полученных данных. Все хирургические вмешательства в исследуемых группах, операционный забор роговиц выполнены лично автором. Гистологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследования забранных операционно роговиц после выполненной по показаниям кератопластики проводились на базе кафедры патологической анатомии УО «Белорусский государственный медицинский университет» (вклад соискателя – 60%). Работы по исследованию эффектов 1% НМ-НаГ на МСК проводились совместно с сотрудниками РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий (вклад соискателя – 60%). Автором произведена интерпретация полученных результатов диссертационного исследования, сформулированы выводы и практические рекомендации. На основании данных медицинской документации пациентов, включенных в исследование, разработано мобильное приложение для обучения студентов, врачей-интернов, клинических ординаторов (вклад соискателя – 90%).

Основные результаты исследования представлены в научных статьях [1-35], материалах конференций и тезисах докладов [36-56] (вклад соискателя – до 90%). Получен патент (вклад соискателя – 80%) [57]. Получено свидетельство о регистрации компьютерных программ (вклад соискателя – 90%) [58]. Разработаны и утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь 4 инструкции по применению (вклад соискателя – 80%) [59-62].

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты доложены и обсуждены на 15 конференциях с международным участием, в том числе 5 – за рубежом: 30th European congress of pathology «Pathology: Path to precision medicine», Bilbao, 8-12 sept. 2018; I Международном конгрессе Ассоциации офтальмологов Республики Казахстан «Возрастассоциированные болезни глаза», Алматы, Казахстан, 24 мая 2019; 31th European congress of pathology «Pathology is Nice», Nice, 7-11 sept. 2019; Technology Summit 2019 «Заболевания глазной поверхности и их осложнения» с участием ведущих офтальмологов Казахстана, России, Беларуси; Узбекистан, г. Ташкент, 26 сентября 2019; 33rd European congress of pathology «Pathology: Compass for optimal patient therapy», Berlin, 29-31.08.2021.

Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику офтальмологических отделений 7 учреждений здравоохранения в Республике Беларусь (19 актов внедрения), в Российской Федерации (2 акта внедрения), в учебный процесс – 4 акта внедрения.

Опубликованность результатов диссертации

По результатам выполненных исследований издано: 35 статей (в том числе 26 – в научно-практических рецензируемых журналах, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК Беларуси, 4 – в зарубежных изданиях, 7 из них – в моноавторстве) – 26,8 авторских листа, 21 публикация в материалах научных конференций, съездов и конгрессов – 8,8 авторских листа. Получен 1 патент на изобретение, зарегистрировано 1 мобильное приложение. Утверждены Министерством здравоохранения Республики Беларусь 4 инструкции по применению. Общее число печатных работ составило 62.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 222 страницах машинописи и состоит из оглавления, введения, общей характеристики работы, обзора литературы, описания материала и методов исследования, изложения полученных результатов (9 глав), заключения, библиографического списка, состоящего из списка использованных источников и списка публикаций соискателя ученой степени. Раздел «Приложения» оформлен в виде отдельной части.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования

Исследование проводилось на базе УЗ «3-я городская клиническая больница им. Е. В. Клумова» в период с 2016 по 2020 г. и УЗ «10-я городская клиническая больница» г. Минска в период с 2000 по 2015 г. Проведено одномоментное проспективное нерандомизированное продольное исследование 583 пациентов (1062 глаза) с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы. Выполнено 305 кератопластик. Все пациенты подписывали информированное согласие на лечение с применением субконъюнктивального введения 1% раствора НМ-NaГ. Проведенное исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике УО «Белорусский государственный медицинский университет» (выписка из протокола от 22.12.2017) и УЗ «3-я городская клиническая больница имени Е. В. Клумова» (выписка из протокола от 03.01.2018).

Для изучения структуры ХДЗР на I этапе клинического исследования проведен анализ результатов кератопластик, выполненных на базе УЗ «10-я городская клиническая больница» за период времени с 2000 по 2015 г. В анализ были включены 230 пациентов (460 глаз, с патологией 394 глаза), из них 146 (63,4%) – мужчины, 84 (36,6%) – женщины. Средний возраст пациентов составил $46,44 \pm 18,08$ лет. По поводу ХДЗР различной этиологии было выполнено 230 кератопластик. Все пациенты проходили полное офтальмологическое обследование, включавшее визометрию, пневмотонометрию, биомикроскопию, кератопахиметрию, оптическую когерентную томографию (ОКТ) переднего отрезка глаза, кератотопографию, тест Ширмера, определение времени разрыва слезной пленки, тест LIPCOF (lid-parallel conjunctival folds – оценка выраженности параллельных краю складок конъюнктивы), окрашивание флюоресцеином, фоторегистрацию переднего отрезка глазного яблока. Диаметр роговичного трансплантата при сквозной кератопластике определялся индивидуально в зависимости от объема, длительности поражения. В пред- и послеоперационном периоде все пациенты получали стандартную противовоспалительную и иммуносупрессивную терапию согласно клиническим протоколам, утвержденным приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 29.05.2001 г. № 126, от 12.02.2007 № 82. Динамическое наблюдение осуществлялось 1 раз в месяц до полного приживления трансплантата в течение года, а затем каждые 3-6 месяцев в течение 5-10 лет. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Для установления характера воздействия 1% раствора НМ-NaГ на МСК человека проведено экспериментальное исследование *in vitro*. Эксперименты

проводились на культуре МСК костного мозга человека из коллекции клеток лаборатории биологии и генетики стволовых клеток РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий Министерства здравоохранения Республики Беларусь.



Рисунок 1. – Дизайн исследования

На II этапе клинического исследования проводилась оценка эффективности применения разработанного метода лечения с использованием инъекций 1% НМ-НаГ в комплексном лечении ХДЗР. Клиническое исследование проведено на базе УЗ «3-я городская клиническая больница им. Е. В. Клумова». В исследование были включены 144 пациента (288 глаз), патология выявлена на 159 глазах. Все 100% пациентов имели БСГ разной степени выраженности и получали лечение с применением инстилляций слезозамещающих растворов с содержанием высокомолекулярного натрия гиалуроната или среднемoleкулярного натрия гиалуроната в течение 2-10 лет без положительной динамики. Именно отсутствие положительного эффекта от капель с ГК явилось показанием к включению данных пациентов в исследование. Субконъюнктивальные инъекции 1% НМ-НаГ проводились 1 раз в неделю в течение 3 недель, всем 144 пациентам. В данную основную группу клинического исследования включено 40 пациентов (48 глаз) с ХДЗР при воспалительных заболеваниях, 29 пациентов (30 глаз) с ЭЭД, 34 пациента (35 глаз) с болезнью трансплантата, 20 пациентов (22 глаза) с кератоконусом, 21 пациент (24 глаза) с ХДЗР при глаукоме. Длительность наблюдения пациентов составила 1-5 лет.

В группу сравнения для клинического исследования вошли 134 пациента (164 глаза) с ХДЗР различной этиологии, сопоставимые по полу и возрасту. Всем пациентам проводилось стандартное лечение согласно клиническим протоколам, утвержденным приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 12.02.2007 № 82 с обязательным включением инстилляций препаратов ГК. Исследования проводились в одни и те же сроки и в группе сравнения, и в исследуемой группе.

В группу сравнения для патоморфологического исследования были включены пациенты, которым выполнена кератопластика на фоне проведения стандартной терапии без включения 1% НМ-НаГ. Данная группа включала 52 пациента (52 кератопластики, 104 глаза): 12 пациентов (24 глаза) с ХДЗР на фоне воспалительных заболеваний, 12 пациентов (24 глаза) с ЭЭД, 6 пациентов (12 глаз) с болезнью трансплантата, 17 пациентов (34 глаза) с кератоконусом, 5 пациентов (10 глаз) с ХДЗР при глаукоме.

При наличии показаний (грубые терминальные васкуляризированные бельма при тяжелых воспалительных процессах, центральные стромальные помутнения, рубцовые изменения, истончения роговицы с угрозой перфорации) в сроки от 3 до 10 лет от начала заболевания пациентам проводилась сквозная субтотальная кератопластика донорской роговицей по стандартной методике с морфологическим исследованием дисков удаленных роговиц (для кератопластики использовался нативный донорский материал, сохраненный по методу Филатова). Для изучения патоморфологических особенностей ХДЗР

разной этиологии, а также механизмов положительного влияния инъекций 1% НМ-NaГ было проведено гистологическое, гистохимическое и ИГХ-исследование 75 эксплантов и 3 здоровых донорских роговиц. Разрешение на выполнение исследований получено при утверждении НИОК(Т)Р (номер госрегистрации 20171497).

Предметом патоморфологической части исследования явились данные гистологического, гистохимического и иммуногистохимического исследований роговичных эксплантов, полученных интраоперационно, данные микроскопии культивирования клеток человека *in vitro*. Были использованы следующие модификации морфологического метода: окрашивание гистологических препаратов гематоксилином и эозином, гистохимическое окрашивание: PAS-реакция (окрашивание реактивом Шиффа), *martius scarlet blue* (MSB), по Массону, конго красным, ИГХ-метод с использованием антител к маркерам CD44, MMP9, TGF- β 1, окклюдину, TJP1, люмикану, ФРСТ. CD44 – ключевой трансмембранный рецептор ГК I типа, который служит для связывания с ГК, образования и удержания перичеллюлярного матрикса, а также для эндоцитоза фрагментов ГК. Кроме того, CD44 является молекулой клеточной адгезии, и экспрессия данного маркера увеличивается при воспалении. MMP9 – один из ферментов внеклеточного матрикса. Экспрессия MMP9 может увеличиваться в эпителии при экзогенном введении полисахаридов, потенцируя воспаление. В строме этот молекулярный маркер способен активировать фибробласты, потенцировать их подвижность без трансформации в контрактильный тип, увеличивать синтез коллагена 1-го типа. TGF- β 1 – противовоспалительный цитокин с антиапоптотическим действием, вызывающий фиброз и являющийся наиболее важным регулятором экспрессии ФРСТ. Люмикан относится к малым протеогликанам с высоким содержанием лейцина, являющимися основными компонентами экстрацеллюлярного матрикса роговицы. Участвуя в организации коллагеновых фибрилл, они обеспечивают прозрачность роговой оболочки. Повышение экспрессии люмикана в процессе прогрессирования альтеративных изменений, воспаления и заживления способствует миграции и адгезии эпителиальных клеток, привлечению нейтрофилов и макрофагов, пролиферации и своевременному апоптозу кератоцитов. Окклюдин, TJP1 – белки комплекса плотных контактов. При этом окклюдин относится к группе мембранных белков и регулирует межклеточный транспорт малых гидрофильных молекул и нейтрофилов. TJP1 относится к группе цитоплазматических белков, необходимых для соединения с цитоплазматическими актиновыми филаментами. TJP1 участвует в процессах транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, клеточной пролиферации, реакции клетки на стресс, способствуя поддержанию целостности межклеточных взаимодействий. ФРСТ – основной молекулярный

регулятор процессов заживления, в том числе в тканях роговицы. Он взаимодействует с большим количеством рецепторов, цитокинов и факторов роста, дисбаланс которых может приводить к патологическому фиброзированию через увеличение экспрессии MMP и фактора роста эндотелия сосудов. Под их действием эпителиальные и мезенхимальные клетки дифференцируются в миофибробласты, продуцирующие компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), потенцируя процесс фиброирования.

Статистический анализ данных проводился с использованием программного обеспечения STATISTICA 10.0. Полученные результаты обработаны статистически с вычислением средней величины (M), медианы (Me), моды (Mo), интерквартильного (25 и 75% процентиля) и 95% доверительного интервалов, максимального и минимального значения. Сравнение независимых выборок по количественным признакам проводилось с использованием дисперсионного анализа непараметрических данных критерия Фридмана (Friedman ANOVA test) с последующим апостериорными (попарными) сравнениями с использованием поправки Бонферрони (Bonferroni) и определением критериев Краскела–Уоллиса (H-критерий) для 3 и более выборок. Для оценки характера распределения полученных данных использовался критерий Шапиро–Уилка (W). Уровень статистической значимости устанавливался $p < 0,05$. Корреляционные взаимосвязи между анализируемыми признаками вычислялись с использованием рангового коэффициента корреляции непараметрических данных Спирмена (ρ). Сравнение бинарных признаков проводилось с использованием критерия χ^2 (Chi-square, в том числе с поправкой Йетса), точного критерия Фишера. Достоверность различий вариационных рядов проводили с использованием парного t-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Результаты кератопластики у пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы различной этиологии

На I этапе клинического исследования за период с 2000 по 2015 г. проводилось обследование, консервативное и хирургическое лечение пациентов с ХДЗР различной этиологии. Было выполнено 230 кератопластик: 99 операций по поводу кератоконуса III-IV стадии, 15 – острого кератоконуса, 43 – вторичных, ассоциированных с экстракцией катаракты ЭЭД, 13 – васкуляризованных тяжелых центральных бельм на фоне кератитов, 16 – первичных дистрофий роговицы, 16 – посттравматических центральных бельм, 12 – болезни трансплантата, 16 – васкуляризованных тотальных бельм при ожогах роговицы.

Из 230 включенных в исследование пациентов прозрачное приживление трансплантата наблюдалось у 192 в основном за счет пациентов с кератоконусом (114 случаев) с наличием не более 2 факторов риска – самых благоприятных пациентов для трансплантации. При других заболеваниях роговицы, приводящих к формированию бельма, болезнь трансплантата возникала при наличии более 3 факторов риска, а также на фоне длительного воспаления и повышенного внутриглазного давления (рисунок 2).

Болезнь трансплантата развилась в 38 случаях (16,6%) у пациентов своспалительными заболеваниями и ЭЭД при глаукоме. Это пациенты с наличием большого количества факторов риска на каждом этапе лечения. Из них в 29 случаях болезнь трансплантата развилась в течение первого года после кератопластики, в 2 случаях – через 1 год, в 3 – через 2 года, в 2 – через 4 года, в 2 – через 8 лет. Повторная кератопластика была проведена в 7 случаях (3%). После кератопластики в большинстве случаев наблюдалась замедленная эпителизация трансплантата ($12,3 \pm 8,1$ дней в 66,7% случаев), что привело к непрозрачному приживлению.

Все пациенты имели множественные риски возникновения болезни трансплантата: БСГ – 100%, молодой возраст (до 40 лет) – 46%, поражение роговицы (более 50%) – 35% случаев, васкуляризация более 1 сектора – 25%, сопутствующая патология глаза – 45% и его придаточного аппарата – 14%. Наиболее часто встречающиеся риски представлены на рисунке 2. В предоперационном периоде на фоне консервативной стандартной терапии интенсивное помутнение роговицы сохранялось у 80% пациентов.

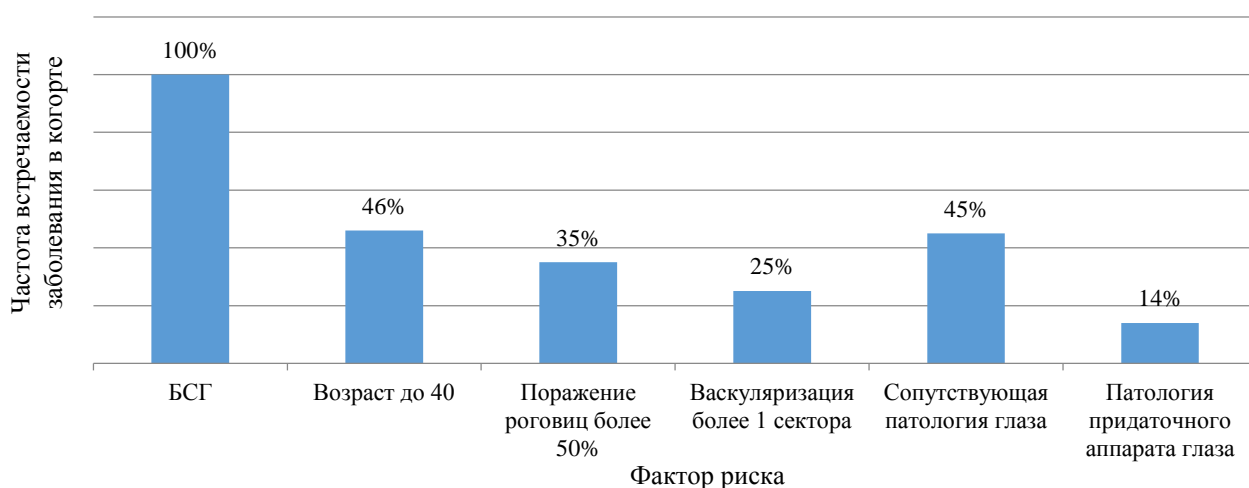


Рисунок 2. – Частота выявления рисков неблагоприятного исхода кератопластики у пациентов на I этапе клинического исследования (230 пациентов)

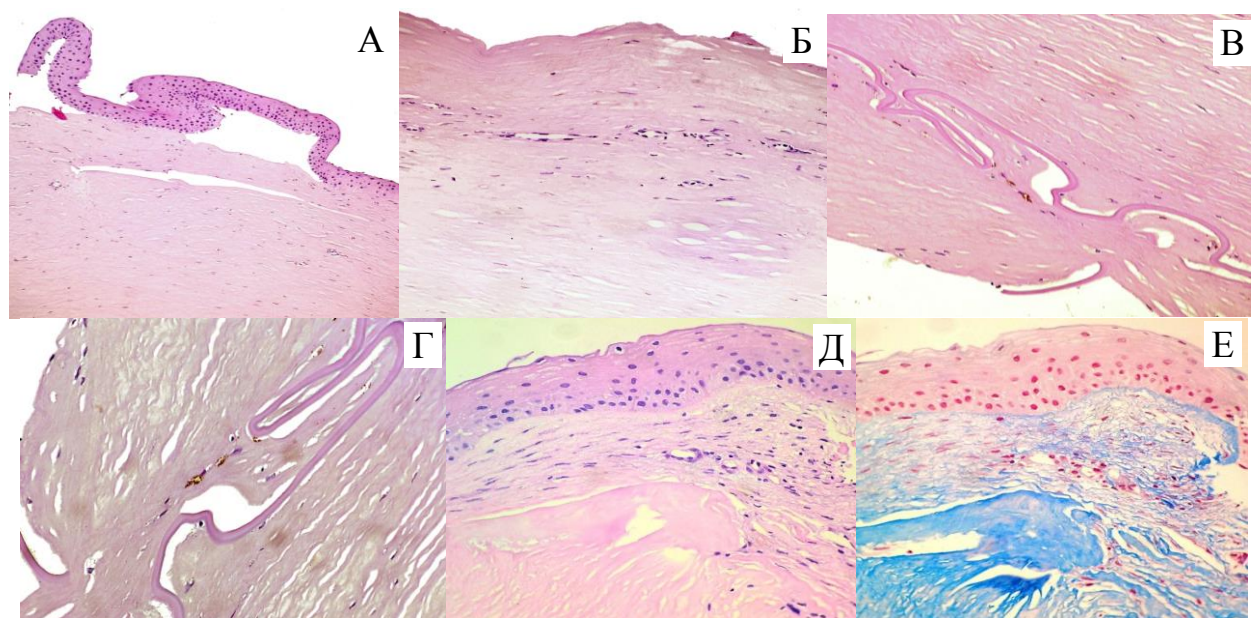
10-летняя выживаемость роговичного трансплантата за период с 2000 по 2015 г. составила 82,7%. Такой высокий процент прозрачного приживления получен за счет пациентов с кератоконусом, имеющих небольшое количество

факторов риска. Полученные нами результаты сопоставимы с таковыми других авторов [Маено А., 2000; Гундорова Р. А., 2011; Banerjee S. A., Dick D., 2003; Труфанов С. В., 2018]. На основании анализа причин возникновения болезни трансплантата и непрозрачного приживления для дальнейшего исследования с целью разработки методов лечения были сформированы группы пациентов с ХДЗР в соответствии со структурой причин самых тяжелых исходов данной патологии, которую и отражало количество проведенных кератопластик. Это ХДЗР после кератитов, при ЭЭД и при глаукоме.

Гистологическая и иммуногистохимическая характеристика патоморфологических изменений роговицы у пациентов с ХДЗР

На II этапе клинического исследования нами сначала была определена патоморфологическая характеристика изменений роговицы до начала лечения пациентов с ХДЗР.

При окраске гематоксилином и эозином дисков роговиц пациентов с ХДЗР выявлялись массивная отслойка эпителия с формированием булл, апоптотические тела в значительном количестве, истончение роговичного эпителия, формирование субэпителиального фиброваскулярного паннуса, обильная васкуляризация стромы, отслойка глубоких слоев стромы роговицы с десцеметовой мембраной, отек. При глаукоме гистологическая картина отражала более тяжелые поражения (рисунок 3).



А – отслойка эпителия с формированием буллы, Б – склерокорнеа, В – передняя синехия между стромой роговицы и стромой радужной оболочкой, Г – скопления меланина в передней синехии, объектив ×65; Д, Е – формирование фиброваскулярного паннуса. Окраска гематоксилином и эозином, объектив ×130. Окраска трихромом по Массону

Рисунок 3. – Морфологические изменения роговицы при ХДЗР

Для ИГХ-исследований эксплантов были отобраны ключевые маркеры, определяющие выраженность воспаления и фиброза при дистрофических заболеваниях роговицы: CD44, MMP9, TGF- β 1, люмикан, окклюдин, TJP1, ФРСТ. Прежде всего были охарактеризованы уровни экспрессии данных маркеров в эксплантах нормальных здоровых донорских роговиц. Проведенные затем ИГХ-исследования удаленных патологически измененных роговиц пациентов показали наличие однотипных изменений экспрессии маркеров воспаления и фиброза в ткани роговицы при ХДЗР различной этиологии (таблица 1).

Таблица 1. – Уровни экспрессии ключевых маркеров, определяющих выраженность воспаления и фиброза при ХДЗР различной этиологии

Группы пациентов с ХДЗР (n = 52)	Изменение экспрессии тканевых маркеров в сравнении с нормой								
	CD 44 в эпителии	MMP 9 в эпителии	MMP9 в строме	Люмикан в эпителии	Люмикан в строме	Окклюдин в эпителии	Белок плотных контактов 1 в эпителии	ФРСТ в строме	TGF β 1 в строме
После воспалительных заболеваний (n =12)	↑	↑	↑	=	↓	↓	↓	↑	↑
	p=0,015	p<0,001	p<0,001	p=0,190	p=0,001	p=0,048	p=0,094	p=0,029	p<0,001
ЭЭД приобретенная (n =6)	↑	↑	↑	=	↓	↓	=	↑	↑
	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p=0,700	p=0,010	p=0,039	p=0,116	p=0,015	p<0,001
ЭЭД наследственная (n = 6)	↑	↑	↑	=	↓	↓	=	↑	↑
	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p=0,340	p=0,048	p=0,009	p=0,116	p<0,001	P <0,001
Болезнь трансплантата (n = 6)	↓	↑	↑	↓	↓	↓	↓	↑	↑
	p=0,160	p=0,040	p=0,001	p<0,001	p<0,001	p=0,020	p=0,600	p=0,130	p=0,024
ХДЗР при глаукоме (n = 5)	↑	↑	↑	=	↓	↓	↓	↑	↑
	p=0,016	p=0,020	p=0,028	p=0,220	p=0,045	p=0,019	p=0,015	p=0,011	p=0,002
Кератоконус (n=17)	↑	↑	↑	↑	↑	↓	↓	↑	↑
	p=0,01	p=0,03	p=0,019	p=0,045	p=0,017	p=0,041	p=0,001	p=0,024	p=0,031

Примечание – данные представлены в сравнении с нормой (n=35 в группе пациентов с ХДЗР, n=3 – в группе контроля эксплантов донорских роговиц). ↑ – повышение уровня экспрессии, = – равный уровень экспрессии, ↓ – снижение уровня экспрессии.

Группа «ХДЗР после воспалительных заболеваний»

В группу сравнения вошли 45 пациентов (53 глаза), сопоставимые по полу, возрасту и срокам наблюдения, с признаками дистрофического поражения роговицы после перенесенного кератита. Всем пациентам

проводилось стандартное лечение согласно протоколам с обязательным включением инстилляций ГК. Исследования показателей проводились в одни и те же сроки и в группе сравнения и в исследуемой группе (таблица 2).

Таблица 2. – Изменение объективных показателей состояния роговицы пациентов группы «ХДЗР в исходе воспалительных заболеваний» в процессе лечения

Показатели	День исследования						Результаты анализа Фридмана
	0	+7	+14	+21	+28	+51	
Стандартное лечение							
Показатель пробы Ширмера, мм	5,0 [3,0-7,0]	5,0 [3,0-8,0]	5,0 [3,0-8,5]	6,0 [3,0-9,0]	6,0 [3,0-9,0]	7,0 [3,0-10,0]	$p_{2-7}=0,122$
Показатель времени разрыва СП, с	3,0 [2,0-4,0]	3,0 [2,0-4,0]	3,0 [2,0-4,0]	4,0 [2,0-5,0]	4,0 [2,0-5,0]	4,0 [2,0-5,0]	$p_{2-7}=0,982$
LIPCOF-тест, баллы	3,0 [2,0-5,0]	3,0 [2,0-5,0]	3,0 [2,0-5,0]	3,0 [2,0-5,0]	3,0 [2,0-5,0]	3,0 [2,0-5,0]	$p_{2-7}=0,974$
Индекс OSDI, баллы	75,9 [48,3-90,0]	73,5 [46,5-90,0]	72,1 [45,7-89,0]	70,8 [44,9-89,8]	70,2 [44,4-89,9]	69,7 [43,7-89,8]	$p_{2-7}=0,651$
Острота зрения	0,08 [0,00-0,10]	0,08 [0,00-0,10]	0,08 [0,00-0,10]	0,09 [0,00-0,10]	0,1 [0,00-0,10]	0,1 [0,0-0,10]	$p_{2-7}>0,05$
Прозрачность роговицы, баллы	3,0 [3,0-3,0]	3,0 [2,9-3,0]	2,8 [2,6-2,9]	2,6 [2,3-2,9]	2,3 [2,1-2,7]	2,2 [2,0-2,6]	$p_{2-7}>0,05$
Лечение с использованием субконъюнктивального введения 1% НМ-НаГ							
Проба Ширмера, мм	7 [3,0-10,0]	8 [4,0-10,5]	9 [5,0-13,0]	11 [6,0-14,5]	11 [6,5-15,0]	12 [8,5-18,0]	$p_{2-7}<0,001$
Время разрыва СП, с	5,0 [3,75-6,0]	5,0 [4,0-6,0]	6,0 [5,5-8,0]	7,0 [6,0-10,0]	7,0 [6,0-10,0]	7,0 [6,0-10,0]	$p_{2-7}\leq 0,001$
LIPCOF-тест, баллы	3,0 [2,0-5,0]	3,0 [1,3-5,0]	1,5 [1,0-5,0]	1,0 [1,0-5,0]	1,0 [1,0-1,0]	1,0 [1,0-1,0]	$p_{2-7}<0,0001$
Индекс OSDI, баллы	53,5 [42,2-65,6]	49,5 [36,1-57,0]	38,3 [27,6-49,9]	27,4 [19,5-33,1]	19,7 [10,2-24,6]	11,3 [6,3-16,7]	$p_{2-7}<0,0001$
Острота зрения	0,08 [0,00-0,30]	0,08 [0,00-0,30]	0,09 [0,00-0,30]	0,1 [0,00-0,30]	0,1 [0,00-0,40]	0,2 [0,0-0,4]	$p_{2-7}<0,05$
Прозрачность роговицы, баллы	3,0 [3,0-3,0]	3,0 [2,5-3,0]	2,2 [1,8-2,6]	2,0 [1,1-2,2]	1,5 [0,8-1,9]	1,0 [0,0-1,0]	$p_{2-7}<0,05$

Примечание – данные представлены как Ме [25-75%], n= 45 пациентов (53 глаза), получавших стандартное лечение, и 40 пациентов (48 глаз), получавших лечение с использованием субконъюнктивального введения 1% НМ-НаГ. Дни исследования: 0 – до начала терапии, +7 – после первой недели инстилляций препаратами ГК для группы сравнения и через неделю после первой инъекции для группы исследования, +14 – после второй недели инстилляций и второй инъекции, +21 – после третьей недели инстилляций и третьей инъекции, +28 и +51 – контрольное обследование через неделю и месяц на фоне продолжения инстилляций для группы сравнения и после субконъюнктивальных инъекций для группы исследования.

Отсутствие достоверной ($p>0,05$) положительной динамики показателей с использованием стандартной терапии с инстилляциями ГК у пациентов с ХДЗР при воспалительных заболеваниях и на фоне БСГ III-IV было связано с глубоким и длительным поражением тканей конъюнктивы и роговицы, что показало низкую эффективность стандартного лечения у данной группы сравнения.

В группу исследования, включавшую лечение с использованием субконъюнктивального введения 1% НМ-NaГ, вошли 40 пациентов (48 глаз) с диагнозом «ХДЗР после воспаления».

Снижение индекса OSDI, отражающее уменьшение субъективных жалоб пациентов, отмечалось уже после первой инъекции, индекс продолжал прогрессивно снижаться во время курса лечения 1% НМ-NaГ и после его окончания вплоть до контроля через месяц после последней инъекции.

Результаты динамического наблюдения за пациентами представлены в таблице 2.

Наблюдаемое повышение остроты зрения происходило за счет увеличения прозрачности помутнений роговицы, устранение роговичного синдрома, уменьшения количества конъюнктивальных сосудов (рисунок 4).

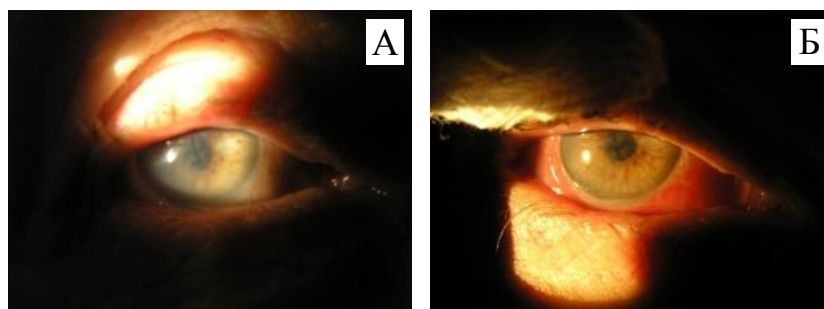


Рисунок 4. – Биомикроскопия переднего отрезка глаза до (А) и после (Б) курса терапии пациента группы «ХДЗР после воспаления»

Наиболее быстро и значительно на фоне разработанного метода лечения увеличивались значения пробы Ширмера и времени разрыва СП ($p<0,0001$) со стойким эффектом в течение месяца, что свидетельствовало о благоприятном влиянии терапии как на водный, так и на муциновый слой СП. Снижение индекса OSDI, отражающее уменьшение субъективных жалоб пациентов, отмечалось уже после первой инъекции, индекс продолжал прогрессивно снижаться во время курса лечения.

Группа «ЭЭД»

В группу сравнения вошли 31 пациент (45 глаз) с ЭЭД, сопоставимые по полу и возрасту, которым проводилось стандартное лечение согласно протоколам с обязательным включением инстилляций ГК. Несмотря на

незначительную динамику показателей после инстилляций ГК, в данной группе сравнения отсутствовала достоверная положительная динамика всех показателей (проба Ширмера, время разрыва СП, индекс OSDI, $p > 0,05$). Острота зрения и толщина роговицы также не изменились.

В группе исследования «ЭЭД» обследование и лечение, включавшее субконъюнктивальные инъекции 1% НМ-NaГ, проводилось 29 пациентам (30 глаз). Наиболее быстро и значительно увеличивались проба Ширмера и время разрыва СП ($p < 0,00001$) со стойким эффектом в течение месяца. Так, средняя величина показателя пробы Ширмера за время исследования увеличилась на 9,5 [8,5-18,5] мм, а показатель времени разрыва СП – на 4,0 [4,0-6,0] сек. На фоне предложенной терапии наблюдалось улучшение показателя OSDI и состояния глазной поверхности по данным теста LIPCOF. По данным пахиметрии, толщина роговицы достоверно уменьшалась после курса терапии, что свидетельствовало об уменьшении отека роговицы. Несмотря на статистически значимое улучшение состояния глазной поверхности и клинически выявляемое увеличение прозрачности роговицы в процессе лечения, практически не наблюдалось увеличения остроты зрения, что было связано с выраженными изменениями центральной зоны стромы, ее фиброзом на фоне сопутствующей офтальмологической и общесоматической патологии (рисунок 5). Послеоперационный период у всех пациентов с вторичной дистрофией характеризовался ранней эпителизацией (до 5 дней) и прозрачным приживлением трансплантата.

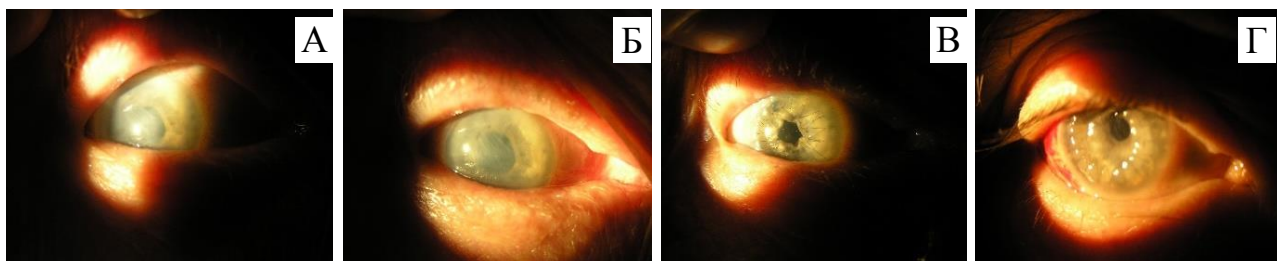


Рисунок 5. – БиOMICROSCOPY переднего отрезка глаза до (А) и после (Б) курса терапии, на первые (В) и третьи сутки (Г) после кератопластики

Группа «ХДЗР при глаукоме»

В группу сравнения вошли 16 пациентов (22 глаза) с ХДЗР при глаукоме, сопоставимые по полу и возрасту, которым проводилось стандартное лечение согласно протоколам с обязательным включением инстилляций ГК. Отсутствие достоверной положительной динамики показателей (проба Ширмера, время разрыва СП, индекс OSDI, $p > 0,05$) в группе сравнения у пациентов с ХДЗР при глаукоме было связано с более выраженным глубоким поражением глазной поверхности, что объясняется более длительным и тяжелым течением БСГ. Использование стандартной терапии и инстилляций ГК оказалось

недостаточным для восстановления гидратации тканей глазной поверхности и качества СП в данной группе сравнения ($p>0,05$).

В группе исследования «ХДЗР при глаукоме» обследование и лечение с субконъюнктивальным введением 1% НМ-NaГ проводилось 21 пациенту (24 глаза). Изменения объективных показателей состояния передней поверхности глаза характеризовались выраженной положительной динамикой в процессе терапии. Наиболее быстро и значительно увеличивались проба Ширмера и время разрыва СП ($p<0,00001$) со стойким эффектом в течение месяца, что свидетельствовало о благоприятном влиянии терапии как на водный, так и на муциновый слой СП. Снижение индекса OSDI, отражающее уменьшение субъективных жалоб, отмечалось уже после первой инъекции и продолжало прогрессивно снижаться во время курса предложенного метода лечения и после его окончания вплоть до контроля через месяц после последней инъекции. На фоне терапии наблюдалось уменьшение толщины роговицы по данным ОКТ, что свидетельствовало об уменьшении отека роговицы. При центральных стромальных помутнениях проводилась сквозная кератопластика. Несмотря на предоперационную подготовку, у пациентов с глаукомой отмечалась замедленная эпителизация. Проводился курс метаболической терапии с включением 1% НМ-NaГ 1 раз в неделю в течение 3 недель. Через месяц после курса отмечалась полная эпителизация, отсутствие отека, удовлетворительное состояние глазной поверхности, которое поддерживалось инъекциями 1 раз в месяц в течение года (рисунок 6).

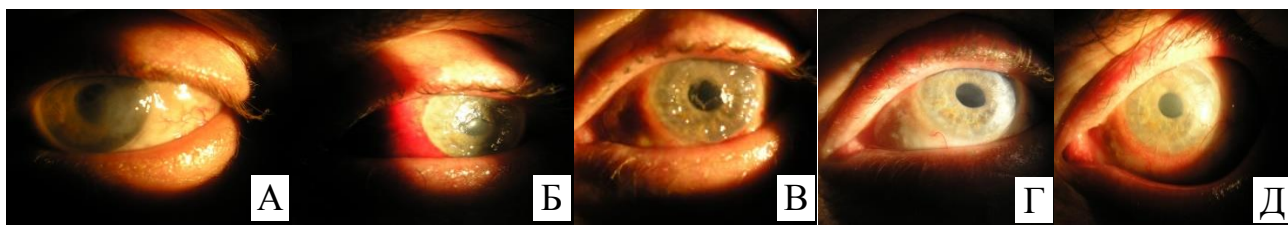


Рисунок 6. – Биомикроскопия переднего отрезка глаза до лечения (А), через неделю после сквозной кератопластики (Б), через месяц после сквозной кератопластики (В), после курса терапии (Г), через год (Д) после курса у пациента группы «ХДЗР при глаукоме» (левый глаз)

Группа «Болезнь трансплантата»

В группу сравнения вошли 22 пациента (22 глаза) с болезнью трансплантата, которым проводилось стандартное лечение согласно протоколам с обязательным включением инстилляций ГК. Исследования показателей проводились в одни и те же сроки и в группе сравнения, и в исследуемой группе. Отсутствие достоверной положительной динамики показателей у пациентов данной группы подтвердило низкую эффективность стандартной терапии с инстилляциями ГК ($p>0,05$).

У пациентов группы исследования «Болезнь трансплантата» после кератопластики обследование и лечение с субконъюнктивальным введением 1% НМ-NaГ проводилось 34 пациентам (35 глаз). Изменения объективных показателей состояния передней поверхности глаза характеризовались положительной динамикой в процессе терапии. Наиболее быстро и значительно увеличивались проба Ширмера ($p < 0,00001$) со стойким эффектом в течение месяца. Средняя величина показателя пробы Ширмера увеличилась на 6,0 [4,0-7,5] мм, а показатель времени разрыва СП – на 3,0 [4,0-5,0] с за время исследования. Положительная динамика изменений показателей индекса OSDI и LIPCOF-теста отмечалась уже после первой инъекции. Данная тенденция сохранялась и после 2 последующих инъекций.

Так, средняя величина показателя LIPCOF-теста уменьшилась на 1,0 [0,0-1,0] балла, а показатель индекса OSDI – на 43,7 [6,3-65,0] балла за время исследования. С увеличением прозрачности трансплантата и уменьшением зон дезэпителизации повышалась острота зрения ($p < 0,001$) (рисунок 7).

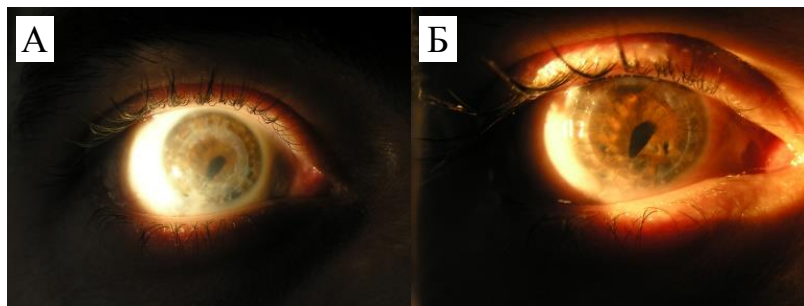


Рисунок 7. – Биомикроскопия переднего отрезка глаза у пациента с хронической болезнью трансплантата до (А) и после курса (Б) инъекций 1% НМ-NaГ

Группа «Кератоконус»

В группу сравнения вошли 14 пациентов (22 глаза). Всем проводилось стандартное лечение с обязательным включением инстилляций ГК. Достоверная положительная динамика показателей у пациентов в данной группе отсутствовала, что связано с выраженным изменением формы роговицы (проба Ширмера, время разрыва СП, индекс OSDI, $p > 0,05$). Острота зрения и толщина роговицы также не изменялись.

После кератопластики у 20 пациентов (22 глаза) в группе «Кератоконус» дефект эпителия в большинстве случаев – у 18 пациентов (82%) – закрывался уже после первой инъекции 1% НМ-NaГ. В 100% случаев дефекты эпителизировались после второй инъекции. У пациентов группы «Кератоконус» важную роль и в диагностике БСГ и в оценке динамики проводимого курса лечения играл LIPCOF-тест. Положительная динамика наблюдалась по результатам LIPCOF-теста уже после первой инъекции. Уменьшение индекса OSDI отмечалось тоже сразу после первой инъекции.

Острота зрения статистически значимо улучшалась сразу после кератопластики (рисунок 8).



Рисунок 8. – Биомикроскопия переднего отрезка пациента с кератоконусом до операции (А), через 3 месяца после кератопластики (Б) развилось эпителиальное отторжение трансплантата (зона дезэпителизации после перенесённого острого аппендицита), полная эпителизация (В) после курса инъекций 1% НМ-NaГ

Таким образом, уровень показателей всех тестов во всех группах сравнения с проведением стандартной терапии крайне низкий, что доказало низкую эффективность инстилляций ГК у данных тяжелых пациентов. В процессе терапии с применением субконъюнктивальных инъекций 1% НМ-NaГ при динамическом наблюдении пациентов всех исследуемых групп прослеживалась четкая положительная динамика после каждой инъекции, показывающая статистически значимое улучшение со стойким эффектом в течение месяца наблюдения. При этом в группе сравнения показатели состояния глазной поверхности достоверно не изменялись.

Динамическое наблюдение за лечением 144 пациентов (159 глаз) с ХДЗР с использованием субконъюнктивального введения 1% НМ-NaГ продемонстрировало, что кератопластика после курса лечения была показана и проведена всего 40 пациентам (40 глаз). По результатам исследования остальных 104 пациентов (119 глаз) установлено не только улучшение состояния тканей глазной поверхности и их гидратации, но и повышение прозрачности помутнений роговицы. Полученное повышение зрительных функций с применением разработанного лечения позволило отменить или отложить кератопластику у 74,8% пациентов, тогда как при использовании стандартной терапии по результатам первого этапа клинических исследований повышение зрения наблюдалось только у 20% пациентов ($p=0,0001$).

Влияние препарата 1% НМ-NaГ на МСК человека, культивированные *in vitro*

Для оценки влияния препаратов ГК на МСК нами проведены экспериментальные исследования *in vitro*, включающие культивирование МСК костного мозга человека в течение 3 суток в присутствии ГК. Выявлено, что

препарат 1% НМ-NaГ в конечной концентрации в питательной среде 0,02 и 0,05% (не вызывающей гелеобразования в питательной среде) не оказывал токсического действия на пролиферирующие МСК, но также и не вызывал усиление их пролиферативной активности (таблица 3).

Таблица 3. – Зависимость пролиферации МСК *in vitro* от присутствия или отсутствия препарата НМ-NaГ

Номер экспериментов	Количество МСК ($\times 1000$) в мл через 3 дня культивирования		
	Контроль (среднее число клеток \pm среднее отклонение)	В присутствии 1% НМ-NaГ (0,02% в питательной среде), число клеток (среднее число клеток \pm среднее отклонение)	В присутствии 1% НМ-NaГ (0,05% в питательной среде), число клеток (среднее число клеток \pm среднее отклонение)
1	111,75 \pm 4,50	120,00 \pm 2,45	117,75 \pm 4,50
	p=0,018		p=0,108
2	139,50 \pm 5,20	135,00 \pm 12,72	137,25 \pm 4,50
	p=0,530		p=0,530
3	35,00 \pm 2,00	37,00 \pm 2,00	36,00 \pm 0
	p=0,134		p=0,260

Было установлено, что отсутствовали значимые различия в уровне пролиферативной активности МСК при воздействии на них 1% НМ-NaГ. При культивировании в присутствии препарата 1% НМ-NaГ МСК приобретали более удлиненные и утолщенные отростки (псевдоподии), морфологически более контрастные, отсутствовали клетки, отлипшие от дна культурального флакона, что свидетельствовало об их активном росте и отсутствии нежизнеспособных округлых клеток. Таким образом, препарат 1% НМ-NaГ не оказывал токсического действия на МСК в экспериментальных условиях, не потенцировал при этом пролиферацию клеток, но поддерживал жизнеспособность клеток.

Патоморфология терапевтического воздействия инъекционной формы 1% раствора НМ-NaГ у пациентов с ХДЗР

В результате гистологического исследования дисков роговиц было установлено, что у пациентов, получавших терапию с применением препарата 1% НМ-NaГ, было достоверно снижено количество апоптотических телец ($p < 0,00001$) в роговичном эпителии (таблица 4).

Таблица 4. – Количество апоптотических телец в поле зрения биопсийного препарата роговицы в зависимости от проведенной терапии

Вид терапии	Количество апоптотических телец (Ме [25-75%])
ГК-, n= 52	10 [7-12]
ГК+, n=23	4 [3-6] ($p < 0,00001$)

На фоне применения 1% НМ-NaГ по сравнению со стандартной терапией при ХДЗР после воспалительных заболеваний в роговице параметры интенсивности эпителиальной экспрессии люмикана статистически значимо увеличивались, в то время как интенсивность стромальной экспрессии маркера снижалась по сравнению с группой контроля.

Позитивность и интенсивность эпителиальной экспрессии окклюдина имела тенденцию к росту на фоне применения 1% НМ-NaГ с восстановлением позитивности экспрессии (ПЭ) окклюдина до нормальных значений. Параметры экспрессии TJP1 также увеличивались на фоне дополнительного применения 1% НМ-NaГ (рисунок 9).

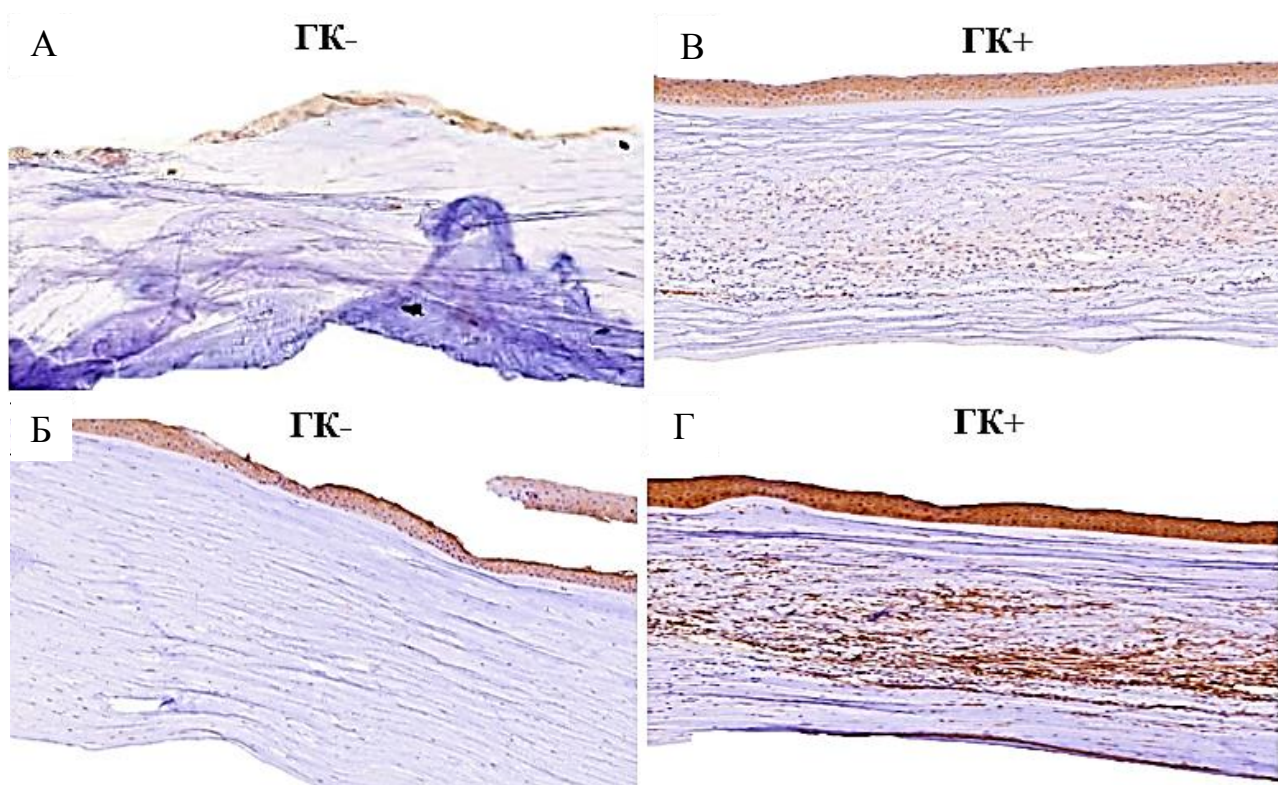


Рисунок 9. – Экспрессия окклюдина (А, Б) и TJP1 (В, Г) в эпителии роговицы пациентов с ХДЗР после воспалительных заболеваний, получавших лечение без (А, В) или с субконъюнктивальным применением 1% НМ-NaГ (Б, Г). Окраска: хромоген – диаминобензидин. Контрокрасивание – гематоксилин Майера. Объектив ×40

В группе «ЭЭД», согласно полученным данным, значимое снижение экспрессии адгезивных молекул CD44 на фоне введения 1% НМ-NaГ имело место при дистрофии Фукса (n=3). Снижение экспрессии также наблюдалось у пациентов в группе приобретенной ЭЭД (n=3). Такие результаты можно объяснить снижением интенсивности воспаления на фоне терапии с применением 1% НМ-NaГ.

Анализ показателей площади экспрессии MMP9 в ткани роговиц выявил значимое снижение показателя эпителиальной и стромальной позитивности

в группе пациентов с приобретенными формами ЭЭД ($n=3$), а также уменьшение позитивности эпителиальной экспрессии MMP9 ($p<0,003$) в группе пациентов с дистрофией Фукса ($n=3$) на фоне субконъюнктивального применения 1% НМ-NaГ. Это свидетельствовало об уменьшении интенсивности воспаления в эпителии роговицы и уменьшении степени дезорганизации компонентов экстрацеллюлярного матрикса роговицы, что объясняет полученный клинический эффект.

Анализ характера экспрессии TGF- β 1 в ткани роговиц на фоне субконъюнктивального применения 1% НМ-NaГ выявил значимое снижение показателя позитивности стромальной экспрессии в группе пациентов с приобретенными ЭЭД ($n=3$; $p=0,001$).

Терапия с субконъюнктивальным использованием 1% НМ-NaГ в группах пациентов с ХДЗР при наследственных и приобретенных формах ЭЭД оказывала одинаковый эффект, заключавшийся в повышении эпителиальной и стромальной экспрессии люмикана до уровней эксплантов донорских роговиц. Причем отмеченное повышение эпителиальной экспрессии люмикана на фоне выраженной альтерации сопровождалось постепенным ее снижением до нормы по мере завершения патологического процесса. Изучение стромальной экспрессии люмикана показало, что важным являлось его нормальное содержание в строме роговицы, поскольку как резкое повышение, так и низкие параметры экспрессии сопровождалось снижением прозрачности роговицы.

В группе пациентов с наследственными и приобретенными ЭЭД позитивность и интенсивность экспрессии ФРСТ в строме роговицы статистически значимо ($p<0,0001$) снижались после проведения терапии с субконъюнктивальным введением 1% НМ-NaГ по сравнению с применением стандартной терапии.

В группе пациентов с болезнью трансплантата при проведении терапии с субконъюнктивальным введением 1% НМ-NaГ отмечалось увеличение эпителиальной экспрессии CD44 ($p<0,001$), что показывает улучшение регенеративных свойств эпителия роговицы, и уменьшение интенсивности экспрессии MMP9 ($p=0,040$) и TGF- β 1 ($p=0,001$) в строме, что отражает снижение дезорганизации стромы роговицы. После применения 1% НМ-NaГ экспрессия окклюдина ($p=0,020$) и TJP1 ($p=0,005$) в эпителии эксплантов роговиц повышались, отмечалась нормализация ПЭ люмикана ($p=0,030$).

В группе пациентов с ХДЗР при глаукоме выявлено значимое увеличение индекса экспрессии CD44 ($p=0,017$). Экспрессия MMP9 ($p=0,028$) и TGF- β 1 как в эпителиальном слое ($p=0,002$), так и в строме ($p=0,011$) снижалась.

Таким образом, на фоне субконъюнктивального применения 1% НМ-NaГ во всех группах пациентов наблюдалось восстановление показателей

экспрессии маркеров до значений, близких к таковым в донорских роговицах, что объясняет клиническую эффективность данного метода лечения ХДЗР (таблица 5).

Таблица 5. – Уровни экспрессии ключевых маркеров, определяющих выраженность воспаления и фиброза при ХДЗР различной этиологии, на фоне применения 1%НМ-NaГ по сравнению со стандартной терапией

Группа (n=23)	Изменение экспрессии тканевых маркеров после проведения разработанного метода лечения по сравнению со стандартной терапией								
	CD44 в эпителии	ММР9 в эпителии	ММР9 в строме	Люмикан в эпителии	Люмикан в строме	Окклюдин в эпителии	Белок плотных контактов 1 в эпителии	ФРСТ в строме	TGF-β1 в строме
После воспалительных заболеваний (n=6)	↓	↓	↑	↑	↓	↑	↑	=	↓
	p<0,001	p=0,002	p=0,028	p<0,001	p=0,004	p<0,001	p<0,001	p=0,094	p=0,050
ЭЭД приобретенная (n=3)	↓	↓	↓	↑	↓	=	=	↓	↓
	p=0,042	p<0,001	p<0,001	p=0,047	p=0,10	p=0,489	p=0,086	p=0,002	p<0,001
ЭЭД наследственная (n=3)	↓	↓	↓	↑	↓	↑	↑	↓	↓
	p=0,039	p<0,001	p=0,003	p=0,010	p=0,007	p=0,004	p=0,023	p<0,001	p=0,010
Болезнь трансплантата (n=6)	↑	↓	↓	↑	↑	↑	↑	↓	↓
	p<0,001	p=0,420	p=0,180	p<0,001	p=0,030	p=0,024	p=0,005	p=0,060	p<0,001
При глаукоме (n=5)	↑	↓	↓	↑	↓	↑	↑	↓	↓
	p=0,017	p=0,028	p<0,001	p=0,010	p=0,007	p=0,004	p=0,023	p<0,001	p=0,011

Примечание – данные представлены по сравнению с результатами стандартной терапии (в группе пациентов с ХДЗР, n=23). ↑ – повышение уровня экспрессии, = – равный уровень экспрессии, ↓ – снижение уровня экспрессии.

Эффективность персонифицированного лечения пациентов с ХДЗР

При проведении исследования были разработаны алгоритмы лечения пациентов с ХДЗР [59, 61]. На их основании всем пациентам с ХДЗР при воспалительных заболеваниях переднего отрезка глазного яблока первоначально назначается субконъюнктивальное введение инъекционной формы 1% НМ-NaГ 0,5 мл один раз в неделю в течение 3 недель. Далее в зависимости от степени выраженности дистрофического поражения тканей глазной поверхности, проявляемой как БСГ, терапия может быть продолжена учетом течения заболевания. Пациентам с БСГ I-II в последующем проводят инстилляцию лекарственных средств, содержащих ГК. При БСГ III-IV инъекции 1% НМ-NaГ проводят 1 раз в месяц с контролем состояния переднего отрезка

глазного яблока перед каждой инъекцией. При наличии тяжелого ксероза на фоне синдрома Шегрена или нейротрофических нарушений в области орбиты терапию начинают с выполнения инъекции 1% НМ-НаГ 1,0 мл под кожу век и 0,5 мл субконъюнктивально для улучшения регенеративных процессов мягких тканей орбиты. Далее терапия продолжается как при БСГ III-IV [59].

Пациентам с ЭЭД I-II стадии выполняют субконъюнктивальное введение инъекционной формы 1% НМ-НаГ 0,5 мл один раз в неделю в течение 3 недель, при ЭЭД III-IV стадии – в течение 5 недель. Далее пациентам с БСГ I-II проводят инстилляцию лекарственных средств, содержащих ГК, при БСГ III-IV продолжают субконъюнктивальные инъекции до стабилизации состояния роговицы, затем переводят на поддерживающую инстилляционную терапию. Инъекции возобновляют при ухудшении состояния роговицы и прогрессировании сопутствующей патологии [59].

Пациентам с ХДЗР при глаукоме рекомендовано раннее назначение разработанной схемы лечения – до начала развития терминальных стадий заболевания, требующих кератопластики. Лечение проводят с первого момента установления диагноза БСГ I-II без выраженной манифестации роговичного синдрома, даже при незначительных субъективных жалобах – значениях OSDI более 25 баллов на фоне длительного приема гипотензивных препаратов (более 3 лет). При БСГ III-IV после выполнения запланированных 3 инъекций для более стойкого эффекта в последующем вводят инъекционную форму 1% НМ-НаГ 1 раз в месяц с контролем состояния переднего отрезка глазного яблока перед каждой инъекцией до стабилизации состояния роговицы с последующим переводом на инстилляционную терапию. При ухудшении состояния роговицы возможно проведение повторных курсов регенеративной терапии с использованием инъекций препаратов НМ-НаГ [59].

При риске развития дистрофии роговицы у пациентов без ХДЗР показано проведение предоперационной подготовки за месяц до хирургической операции путем субконъюнктивального введения инъекционного раствора 1% НМ-НаГ 0,5 мл один раз в неделю в течение 3 недель (и более при необходимости). Абсолютными показаниями к назначению вышеуказанной терапии являются: снижение плотности эндотелиальных клеток (менее 1500 кл./мм²); наличие у одного пациента двух или более факторов риска развития дистрофии роговицы в послеоперационном периоде; OSDI более 25 баллов [62].

При планировании первичной кератопластики всем пациентам с терминальными стадиями ХДЗР показано субконъюнктивальное введение инъекционной формы 1% НМ-НаГ 0,5 мл один раз в неделю в течение 3 недель. При положительном эффекте от лечения пациента переводят на инстилляцию препаратов, содержащих ГК, до момента хирургического лечения. При сохранении жалоб на светобоязнь, слезотечение, стойком отеке роговицы

показано введение инъекционной формы 1% НМ-NaГ 0,5 мл 1 раз в месяц с контролем состояния переднего отрезка глазного яблока перед каждой инъекцией до момента хирургического лечения ХДЗР [59, 61].

После кератопластики в раннем послеоперационном периоде очень важен процесс эпителизации. Поэтому при его отсутствии через сутки после операции необходимо применять активаторы регенеративных процессов в виде субконъюнктивального введения инъекционной формы 1% НМ-NaГ 0,5 мл 1 раз в неделю. При положительном эффекте от лечения пациента переводят на инстилляцию препаратов, содержащих ГК, или продолжают инъекции 1-2 раза в месяц до достижения положительного результата. При наличии болезни трансплантата различной степени выраженности необходимо раннее начало назначения регенеративной терапии с использованием инъекций 1% НМ-NaГ от момента постановки диагноза до достижения стабилизации. Контроль визометрии, биомикроскопии показан перед каждой инъекцией [61].

Внедрение разработанного метода активации регенеративных процессов с использованием инъекционной формы 1% НМ-NaГ в лечебный процесс позволило снизить риск прогрессирования ХДЗР на 30%. Использование предложенного метода лечения пациентов с ХДЗР сделало возможным снижение количества посещений офтальмолога одним пациентом за год на 5 посещений. В 2 раза уменьшилась продолжительность стационарного лечения при обострении (до 10 дней при разработанном лечении по сравнению с 20 днями при стандартном лечении). Временная нетрудоспособность одного пациента в год уменьшилась в среднем на 15 дней. Уменьшилось и количество обострений (2-3 раза в год при использовании разработанного способа лечения по сравнению с 4-5 при стандартном).

Метод активации регенеративных процессов с использованием 1 % НМ-NaГ является основой при лечении ХДЗР, так как способствует эффективному завершению воспалительно-дистрофического процесса в тканях роговицы. Применение данного метода позволило снизить интенсивность помутнений у 74,8% пациентов по сравнению с 20 % ($p=0,0001$) без субконъюнктивального введения 1% НМ-NaГ и избежать проведения у них кератопластики (из 144 пациентов (159 глаз) с ХДЗР удалось увеличить прозрачность роговицы у 119). Это отразилось на снижении инвалидности в год на 15%. Применение разработанных алгоритмов персонализированного лечения пациентов с ХДЗР с использованием субконъюнктивальных инъекций 1% НМ-NaГ позволило проводить предоперационную подготовку и послеоперационное лечение пациентов с высоким риском осложнений при кератопластике, что повысило выживаемость роговичного трансплантата – 5-летняя выживаемость составила 100% (по сравнению с 90% при стандартном лечении, $p=0,001$) [59,61].

Разработано мобильное приложение iDOC, позволяющее приобрести как теоретические знания, так и практические навыки постановки диагноза ХДЗР и лечения, внедрено в учебный процесс всех учреждений высшего медицинского образования страны [58].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Доказана клиническая однородность исходов заболеваний роговицы, характеризующихся формированием помутнений (бельм) различной степени интенсивности. У пациентов с ХДЗР на фоне проводимой консервативной стандартной терапии интенсивное помутнение сохранялось у 80%, что являлось абсолютным показанием для проведения кератопластики. Установлено, что наиболее частой причиной пересадки роговицы (n=230) являлся кератоконус (43% кератопластик), ЭЭД роговицы (18,69% кератопластик), дистрофия после воспалительных заболеваний (5,65%). Возникновение болезни трансплантата при кератопластике у пациентов с ХДЗР связано с высокой частотой основных факторов риска в дооперационном периоде: БСГ – 100% случаев, молодой возраст (до 40 лет) – 46%, поражение роговицы более 50% – 35% случаев; и в послеоперационном периоде: БСГ – 100% случаев, сопутствующая патология, в том числе глаукома, – более 45% случаев. Болезнь трансплантата развилась в 14,3% случаев, повторная кератопластика была проведена в 7 случаях (3%). В группе пациентов с поствоспалительной ХДЗР болезнь трансплантата развилась в 38,5% случаев, с ЭЭД – в 11,6% случаев, с глаукомой – в 40% случаев [1, 2, 3, 4, 6, 21, 27, 33, 36, 37, 38].

2. При гистологическом исследовании эксплантов роговиц пациентов с ХДЗР различной этиологии в терминальной стадии прослеживается схожесть морфологической картины. Она характеризуется отслойкой эпителия с формированием булл и интраэпителиальных кист, апоптотическими телами, кератозом и акантозом роговичного эпителия, субэпителиальным фиброваскулярным паннусом, васкуляризацией и гранулоцитарной инфильтрацией стромы, отеком глубоких слоев стромы с набуханием кератоцитов, утолщением и складчатостью десцеметовой мембраны. При ХДЗР при глаукоме выявляются наиболее тяжелые поражения роговицы [11, 13, 27, 43, 52].

3. ИГХ-исследование роговичных эксплантов показало, что значения уровней экспрессии маркеров патологического процесса при ХДЗР различной этиологии близки и проявляются дезорганизацией стромы и воспалением в тканях роговицы по сравнению с нормальными тканями. При исследовании эксплантов роговиц пациентов с ХДЗР всех исследуемых групп в эпителии

наблюдались более выраженные значения экспрессии CD44 ($p < 0,001$), ПЭ MMP9 ($p = 0,04$), ИИ экспрессии TGF- β 1 ($p = 0,048$), снижение позитивности и интенсивности экспрессии окклюдина ($p = 0,009$ и $0,044$ соответственно). В строме выявлялись более выраженная экспрессия MMP9 ($p < 0,001$), ИИ экспрессии TGF β 1 значимо превышал таковой в группе контроля ($p = 0,024$), снижены показатели экспрессии люмикана в строме ($p = 0,001$). ХДЗР при глаукоме характеризовалась экспрессией MMP9 и TGF- β 1 как в эпителии, так и строме роговицы, значимо превышающей таковую в группе контроля ($p = 0,028$ и $p = 0,002$ соответственно). По сравнению с дистрофией и нормальным внутриглазным давлением, в эксплантах с ХДЗР при глаукоме наблюдалось достоверное снижение ПЭ окклюдина ($p = 0,019$) и ИИ экспрессии TJP1 в эпителии ($p = 0,015$), что доказывает неблагоприятное влияние повышенного внутриглазного давления на течение ХДЗР и объясняет выраженное повреждение эпителия [11, 14, 22, 24, 26, 29, 31, 34, 35, 41, 43, 54, 55, 56, 59].

4. На фоне субконъюнктивального введения 1% НМ-НаГ у пациентов с ХДЗР всех групп отмечается достоверное улучшение показателей состояния роговицы и СП по сравнению со стандартной терапией ($p < 0,0001$). Уже после первой инъекции увеличиваются проба Ширмера ($10,0 [7,0-13,0]$ мм по сравнению с $7,0 [3,0-10,0]$ мм до лечения, $p < 0,0001$) и время разрыва СП ($4,0 [2,0-5,0]$ с до лечения и $6,0 [6,0-10,0]$ с, $p < 0,0001$) с увеличением данных показателей после каждой последующей инъекции и стойким эффектом в течение месяца после завершения курса терапии. На фоне лечения отмечается также снижение индекса OSDI ($69,7 [43,7-89,8]$ до лечения и $8,75 [3,25-13,7]$ через месяц после последней инъекции, $p < 0,0001$) [7, 8, 9, 10, 12, 15, 17, 20, 23, 25, 28, 30, 32, 39, 40, 47, 50, 51, 53, 59, 61].

5. Лучших результатов лечения относительно прозрачности роговицы удалось достичь у пациентов, включенных в исследование на ранних сроках (через 1-2 месяца) по сравнению с пациентами, включенными в исследование на поздних (6 месяцев и более) сроках от начала заболевания. В группе пациентов с ХДЗР при кератите повышение остроты зрения ($0,08 [0,03-0,3]$ до лечения и $0,2 [0,06-0,4]$ через месяц после последней инъекции, $p < 0,0001$) удалось получить только при раннем применении субконъюнктивальных инъекций 1% НМ-ГА в течение первого месяца от начала воспалительного процесса. У пациентов с болезнью трансплантата с увеличением прозрачности и уменьшением зон деэпителизации отмечалось повышение остроты зрения ($0,2 [0,04-0,30]$ до начала лечения и $0,3 [0,06-0,40]$ через месяц после последней инъекции соответственно, $p < 0,0001$) при условии применения предложенного метода с первых дней воспаления. У пациентов с замедленной эпителизацией после кератопластики по поводу кератоконуса полная эпителизация

наблюдалась уже после первой инъекции 1% НМ-NaГ, проведенной на 1-е – 3-и сутки после операции [8, 21, 28, 32].

6. Глаукома является фактором, отягощающим течение дистрофического процесса. У пациентов с ХДЗР при глаукоме все анализируемые показатели (проба Ширмера, время разрыва СП, индекс OSDI) были достоверно ниже, чем у пациентов других групп, что требовало проведения более длительной терапии с субконъюнктивальным введением 1% НМ-NaГ для достижения стабилизации процесса [1, 5, 12, 30, 31, 32, 34, 47, 59].

7. 1% НМ-NaГ не оказывает токсического действия на культивируемые МСК *in vitro*, поддерживает их жизнедеятельность ($p < 0,0001$), не потенцируя при этом пролиферативную активность ($p = 0,53$). С этим может быть связана терапевтическая эффективность 1% НМ-NaГ при лечении ХДЗР, что подтверждается клиническими исследованиями [20, 44, 49, 57].

8. На фоне субконъюнктивального введения 1% НМ-NaГ наблюдается восстановление показателей экспрессии ИГХ-маркеров воспаления тканей роговицы до значений контрольной группы роговиц. Выявлено снижение ПЭ CD44 ($p < 0,001$), ИИ экспрессии MMP9 в эпителии эксплантов роговиц в группе с применением 1% НМ-NaГ ($p = 0,002$), что характеризует подавление процессов воспаления. Уровень экспрессии MMP9 в строме ниже в эксплантах после применения 1% НМ-NaГ ($p < 0,001$), что свидетельствует о торможении процессов ремоделирования стромы поврежденной роговицы. На фоне применения 1% НМ-NaГ происходит нормализация интенсивности экспрессии люмикана в строме роговицы ($p = 0,007$), а также ПЭ окклюдина в роговичном эпителии ($p = 0,004$), что указывает на повышение регенеративной активности тканей. Уровни интенсивности и позитивности стромальной экспрессии ФРСТ снижаются ($p = 0,002$ и $p = 0,026$ соответственно), что подтверждает замедление процессов фиброобразования роговицы. На фоне субконъюнктивального введения 1% НМ-NaГ при гистологическом исследовании наблюдается достоверное снижение количества апоптотических телец в роговичном эпителии ($p < 0,00001$) [11, 14, 22, 24, 26, 29, 31, 34, 35, 45, 46, 53, 54, 59].

9. Разработано, экспериментально доказано и клинически обосновано новое направление комплексного лечения пациентов с ХДЗР, основанное на повышении активности локальных регенеративных процессов. В предложенных методах лечения с применением субконъюнктивального введения 1% НМ-NaГ реализован принцип персонализированного подхода к лечению с учетом клинических проявлений заболевания, стадийности процесса, а так же всех факторов риска, осложняющих течение дистрофического процесса у пациентов с ХДЗР. Определены показания к назначению метода с целью профилактики дистрофии роговицы перед хирургическим лечением. Такой подход позволил в группах с применением

инъекционного раствора 1% НМ-NaГ снизить интенсивность помутнений роговицы у 74,8% пациентов по сравнению с 20% ($p=0,0001$) в группах без применения 1% НМ-NaГ и избежать проведения кератопластики [16-А, 18-А, 19-А, 42-А, 45-А, 48-А, 59-А, 61-А, 62-А].

10. При терминальных центральных бельмах восстановление остроты зрения проблематично, однако активация регенерации роговицы и улучшение состояния глазной поверхности с применением предложенных методов до и после хирургического лечения повышает эффективность проведения кератопластики даже у пациентов с высоким риском осложнений – 5-летняя выживаемость трансплантата составила 100% по сравнению с 90% при стандартной терапии ($p=0,0001$) [16, 18, 19, 36, 42, 48, 51, 60, 61].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Для повышения эффективности лечения ХДЗР рекомендуется субконъюнктивальное введение 1% НМ-NaГ как для повышения прозрачности роговицы, так и для увеличения гидратации тканей глазной поверхности: назначается субконъюнктивальное введение инъекционной формы 1% НМ-NaГ 0,5 мл один раз в неделю в течение 3 недель, затем 1 раз в месяц до стабилизации патологического процесса [59, 61].

2. У пациентов с ХДЗР любого генеза лучшие результаты можно получить, применяя метод в ранние сроки (в течение месяца) после вызвавшего дистрофию патологического процесса [59, 60, 61, 62].

3. В лечении ХДЗР необходимо придерживаться персонифицированного подхода и учитывать продолжительность заболевания, этиологию, степень сопутствующей БСГ, наличие глаукомы и сопутствующей общесоматической патологии. Мониторинг должен включать как изучение состояния роговицы и параметров, характеризующих состояние всей поверхности глаза, так и показателя качества жизни пациента согласно субъективным ощущениям по шкале OSDI [59].

4. Исследование состояния глазной поверхности целесообразно включать в перечень обязательных исследований перед оперативным лечением. Это даст возможность более глубокого изучения состояния роговицы в силу его клинической гетерогенности на уровне конкретного пациента, позволит провести предоперационную подготовку с включением инъекционной формы 1% НМ-NaГ за месяц до операции и предотвратить развитие дистрофии роговицы после операции [61].

5. Пациентам с ХДЗР при глаукоме следует проводить раннее назначение разработанной схемы лечения до начала развития терминальных стадий заболевания, требующих кератопластики. Необходимо добиться нормального внутриглазного давления медикаментозно с преимущественным

использованием гипотензивных препаратов без консервантов или оперативным путем. После этого применение инъекционной формы 1% НМ-NaГ станет более эффективным [59].

6. При планировании первичной кератопластики всем пациентам с терминальными стадиями ХДЗР показано субконъюнктивальное введение инъекционной формы 1% НМ-NaГ 0,5 мл один раз в неделю в течение 3 недель до операции. После кератопластики для активизации регенерации эпителия через сутки после операции показано применение инъекций 1% НМ-NaГ один раз в неделю до завершения эпителизации с последующим применением 1 раз в месяц до стабилизации состояния трансплантата. Применение предложенного метода показано и до, и после кератопластики [59, 61, 62].

7. Перспективным направлением в организации оказания медицинской помощи пациентам с ХДЗР является внедрение в учебный процесс учреждений высшего медицинского образования и повышения квалификации врачей мобильного приложения, позволяющего приобрести как теоретические знания, так и практические навыки постановки диагноза ХДЗР и назначения лечения [58].

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ**Статьи в научных журналах**

1. Семак, Г.Р. Гипотензивная терапия глаукомы при синдроме «сухого глаза» / Г.Р. Семак // Офтальмология в Беларуси. – 2009. – № 1. – С. 97–101.
2. Семак, Г.Р. Диагностика и лечение синдрома «сухого глаза» / Г.Р. Семак, А.К. Хаддад, Ю.В. Лутенкова // Офтальмология в Беларуси. – 2009. – № 2. – С. 92–97.
3. Семак, Г.Р. Тест LIPCOF в диагностике синдрома «сухого глаза» / Г.Р. Семак // ARS medica. Искусство медицины. – 2009. – № 9. – С. 151–153.
4. Lid-parallel conjunctival folds (LIPCOF) and dry eye: a multicentre study / J. Németh, E. Fodor, Z. Lang, K. Kosina-Hagyó, A. Berta, T. Komár, I. Petricek, M. Higazy, M. Prost, G. Semak, C. Grupcheva, O.E. Kemer, P. Schollmayer, A. Samaha, K. Hlavackova // The Br. J. of Ophthalmol. – 2012. – Vol. 96, № 11. – P. 1380–1385.
5. Семак, Г.Р. Новые возможности индивидуального подхода к гипотензивной терапии у пациентов с глаукомой / Г.Р. Семак, Ю.Г. Спургияш // ARS medica. Искусство медицины. – 2012. – № 14. – С. 280–283.
6. Семак, Г.Р. Восстановление глазной поверхности у пациентов с системными аутоиммунными заболеваниями / Г.Р. Семак // Офтальмология. Вост. Европа. – 2016. – Т. 6, № 4. – С. 520–523.
7. Семак, Г.Р. Новый подход к лечению хронических дистрофических заболеваний роговицы / Г.Р. Семак, А.В. Людчик, И.Ю. Жерко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 6. – С. 719–724.
8. Семак, Г.Р. Клинические результаты комплексного лечения кератопатий в исходе воспалительных заболеваний переднего отрезка глазного яблока с использованием инъекционной формы гиалуроновой кислоты / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко // Мед. журн. – 2019. – № 1. – С. 97–100.
9. Семак, Г.Р. Механизмы действия гиалуроновой кислоты при лечении болезни «сухого» глаза на фоне хронических дистрофических заболеваний роговицы (обзор литературы) / Г.Р. Семак, А.В. Людчик, И.Ю. Жерко // Офтальмология. Вост. Европа. – 2019. – Т. 9, № 2. – С. 264–271.
10. Семак, Г.Р. Клинические результаты использования препаратов гиалуроновой кислоты в лечении кератопатии / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко, Н.Г. Розуванова // Офтальмология. Вост. Европа. – 2019. – Т. 9, № 2. – С. 237–245.
11. Иммуногистохимические доказательства эффективности гиалуроновой кислоты в лечении кератопатий / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, И.Ю. Жерко // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 3. – С. 343–349.

12. Семак, Г.Р. Влияние внутриглазного давления на биомеханические свойства и прозрачность роговицы / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко // Офтальмология. Вост. Европа. – 2019. – Т. 9, № 3. – С. 345–355.

13. Семак, Г.Р. Амилоидоз в офтальмологии / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко, С.К. Клецкий // Офтальмология. Вост. Европа. – 2019. – Т. 9, № 3. – С. 411–417.

14. Особенности экспрессии биомолекулярных маркеров (CD44, MMP9, TGF β 1) в оценке эффективности лечения эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, И.Ю. Жерко // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 4. – С. 477–487.

15. Нешегреновская болезнь сухого глаза в общей врачебной практике: причины, исходы, тактика / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, И.Ю. Жерко // Неотлож. кардиология и кардиоваскуляр. риски. – 2019. – Т. 3, № 2. – С. 719–725.

16. Semak, G.R. Clinical study of the efficacy of low molecular weight sodium hyaluronate in complex treatment of corneal graft disease / G.R. Semak // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2020. – Т. 17, № 2. – С. 170–177.

17. Семак, Г.Р. SARS-CoV-2 и глазная поверхность / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко, С.К. Клецкий // Офтальмология. Вост. Европа. – 2020. – Т. 10, № 2. – С. 240–247.

18. Молекулярно-биологические предикторы эффективности применения инъекционной формы низкомолекулярного натрия гиалуроната в лечении болезни трансплантата / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко, В.А. Захарова, Т.А. Летковская, С.К. Клецкий // Офтальмология. Вост. Европа. – 2020. – Т. 10, № 4. – С. 469–479.

19. Семак, Г.Р. Результаты использования низкомолекулярного гиалуронана в лечении пациентов с болезнью трансплантата / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко // Медицина и экология. – 2020. – № 4. – С. 51–58.

20. Применение плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, в лечении заболеваний глазной поверхности / Г.Р. Семак, М.П. Потапнев, И.Ю. Жерко, А.В. Марушко, А.В. Сментина, В.А. Асаевич // Офтальмология. Вост. Европа. – 2021. – Т. 11, № 1. – С. 59–66.

21. Семак, Г.Р. Методы медикаментозной терапии хронических дистрофических заболеваний глазной поверхности / Г.Р. Семак // Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 1. – С. 109–116.

22. Семак, Г.Р. Экспрессия окклюдина и белка плотных контактов 1 при хронических дистрофических заболеваниях роговицы / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, И.Ю. Жерко // Офтальмология. Вост. Европа. – 2021. – Т. 11, № 2. – С. 113–125.

23. Семак, Г.Р. Клинические результаты лечения пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями глазной поверхности на фоне роговичного синдрома / Г.Р. Семак, Ю.А. Майсак, Д.В. Рындова // Офтальмология. Вост. Европа. – 2021. – Т. 11, № 2. – С. 195–211.

24. Экспрессия люмикана при хронических дистрофических заболеваниях роговицы / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, И.Ю. Жерко, П.Ю. Юдин // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2021. – Т. 65, № 3. – С. 345–354.

25. Semak, G. A new approach to ocular surface disease treatment / G. Semak, E. Rezaei, I. Zherka // J. of Clin. and Exp. Ophthalmol. – 2021. – Vol. 12, № 4. – P. 1–3.

26. Анализ экспрессии люмикана, белка плотных контактов 1, фактора роста соединительной ткани, супероксиддисмутазы 1 в тканях роговиц при болезни трансплантата / Г.Р. Семак, Т.А. Летковская, В.А. Захарова, И.Ю. Жерко // Офтальмохирургия. – 2022. – № 2. – С. 45–53.

Статьи в сборниках научных трудов

27. Анализ частоты встречаемости и степени выраженности болезни сухого глаза у офтальмологических пациентов [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, Т.А. Муштина, И.Ю. Жерко, Н.Г. Розуванова, С.Е. Микульчик // Междисциплинарный подход в офтальмологии: сб. науч. тр. XI Респ. конф. с междунар. участием, Минск, 8–9 дек. 2017 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2017. – С. 166–167. – Режим доступа: https://zdrav.by/pdf/2017/сборник_web.pdf. – Дата доступа: 15.05.2022.

28. Реабилитация пациентов с кератопатиями в исходе воспалительных заболеваний роговицы [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, Л.В. Дулуб, Ю.Ш. Назарова, И.Ю. Жерко, Е.К. Макаревич // Междисциплинарный подход в офтальмологии: сб. науч. тр. XI Респ. конф. с междунар. участием, Минск, 8–9 дек. 2017 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2017. – С. 167–169. – Режим доступа: https://zdrav.by/pdf/2017/сборник_web.pdf. – Дата доступа: 02.06.2022.

29. Влияние низкомолекулярной гиалуроновой кислоты на процессы ремоделирования стромы роговицы [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, И.Ю. Жерко // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рец. сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. А.В. Сикорского, В.Я. Хрыщановича. – Минск, 2019. – Вып. 9. – С. 30–37.

30. Семак, Г.Р. Влияние повышенного внутриглазного давления на исходы хронических дистрофических заболеваний роговицы / Г.Р. Семак, С.К. Клецкий, И.Ю. Жерко // БГМУ в авангарде медицинской науки

и практики: рец. сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. А.В. Сикорского, В.Я. Хрыщановича. – Минск, 2019. – Вып. 9. – С. 38–47.

31. Особенности экспрессии биомолекулярных маркеров в оценке эффективности лечения дистрофических заболеваний роговицы на фоне глаукомы [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, И.Ю. Жерко // Достижения медицинской науки Беларуси: науч. рец. полнотекстовая база данных / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч. мед. б-ка. – Минск, 2019. – Режим доступа: http://med.by/dmn/book.php?book=19-14_10. – Дата доступа: 09.03.2020.

32. Семак, Г.Р. Низкомолекулярная гиалуроновая кислота в лечении кератопатии на фоне глаукомы [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко // Достижения медицинской науки Беларуси: науч. рец. полнотекстовая база данных / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч. мед. б-ка. – Минск, 2019. – Режим доступа: http://med.by/dmn/book.php?book=19-14_10. – Дата доступа: 09.03.2020.

33. Семак, Г.Р. Двадцатилетний опыт хирургического лечения дистрофических заболеваний роговицы / Г.Р. Семак // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рец. ежегод. сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. С.П. Рубниковича, В.Я. Хрыщановича. – Минск, 2020. – Вып. 10. – С. 62–70.

34. Семак, Г.Р. Анализ экспрессии люмикана, окклюдина, фактора роста соединительной ткани, белка плотных контактов при хронических дистрофических заболеваниях роговицы на фоне глаукомы / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, И.Ю. Жерко // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рец. ежегод. сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. С.П. Рубниковича, В.А. Филонюка. – Минск, 2021. – Вып. 11. – С. 384–388.

35. Семак, Г.Р. Экспрессия фактора роста соединительной ткани при хронических дистрофических заболеваниях роговицы / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, И.Ю. Жерко // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рец. ежегод. сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. С.П. Рубниковича, В.А. Филонюка. – Минск, 2021. – Вып. 11. – С. 292–297.

Материалы конференций

36. Семак, Г.Р. Особенности проведения сквозной кератопластики при комбинированной патологии органа зрения / Г.Р. Семак, Т.В. Капельчик // Актуальные вопросы офтальмологии: материалы респ. науч.-практ. конф. офтальмологов, Минск, 7 апр. 2006 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь,

Белорус. мед. акад. последиплом. образования // Рецепт. – 2006. – Прил. – С. 192–193.

37. Семак, Г.Р. Принципы ранней диагностики и лечения кератоконуса / Г.Р. Семак // VII съезд офтальмологов Республики Беларусь, Минск, 23–24 ноября 2007 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Беларус. мед. акад. последиплом. образования // Рецепт. – 2007. – Прил. – С. 519–522.

38. Реабилитация пациентов с заболеванием глазной поверхности после оперативных вмешательств / Г.Р. Семак, Л.Н. Марченко, А.Ю. Чекина, М.Ф. Джумова // Инновации в офтальмологии: сб. материалов Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Минск, 11–12 дек. 2015 г. // Офтальмология. Вост. Европа. – 2015. – Прил. – С. 19–20.

39. Восстановление глазной поверхности у пациентов с синдромом Шегрена / Г.Р. Семак, Л.Н. Марченко, А.Ю. Чекина, Л.В. Дулуб, Е.К. Макаревич, Ю.Ш. Назарова, В. Джавад // Актуальные вопросы офтальмологии: материалы X Респ. конф. с междунар. участием, Минск, 9–10 дек. 2016 г. // Офтальмология. Вост. Европа. – 2016. – Т. 6, № 4. – С. 574–576.

40. Активизация регенеративных процессов глазной поверхности у пациентов с эндотелиально-эпителиальной дистрофией роговицы [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, Л.В. Дулуб, И.Ю. Жерко, Е.К. Макаревич, Л.Н. Солодуха, О.А. Островская // Актуальные вопросы офтальмологии (реальность, мифы, противоречия): сб. материалов XII Респ. конф. с междунар. участием, Минск, 14–15 дек. 2018 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Беларус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2018. – С. 174–177. – Режим доступа: https://zdrav.by/pdf/sborn_oft.pdf. – Дата доступа: 14.02.2022.

41. Закономерности экспрессии CD44 и MMP9 в тканях роговицы при БСГ до и после субконъюнктивального введения гиалуроната натрия [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, И.Ю. Жерко // Актуальные вопросы офтальмологии (реальность, мифы, противоречия): сб. материалов XII Респ. конф. с междунар. участием, Минск, 14–15 дек. 2018 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Беларус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2018. – С. 168–171. – Режим доступа: https://zdrav.by/pdf/sborn_oft.pdf. – Дата доступа: 21.03.2022.

42. Кератопластика при хронических дистрофических заболеваниях роговицы / Г.Р. Семак, Л.В. Дулуб, М.М. Максимович, С.В. Тараненко, С.В. Шкурин // Актуальные вопросы офтальмологии (реальность, мифы, противоречия): сб. материалов XII Респ. конф. с междунар. участием, Минск, 14–15 дек. 2018 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Беларус. мед. акад.

последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2018. – С. 172–173.

43. Клинический случай амилоидоза роговицы (роль морфологического исследования) [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко, С.К. Клецкий, В.А. Захарова // Актуальные вопросы офтальмологии (реальность, мифы, противоречия): сб. материалов XII Респ. конф. с междунар. участием, Минск, 14–15 дек. 2018 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2018. – С. 166–167. – Режим доступа: https://zdrav.by/pdf/sborn_of.pdf. – Дата доступа: 19.09.2022.

44. Влияние гиалуроновой кислоты и плазмы, обогащенной ростовыми факторами тромбоцитов на мезенхимальные стволовые клетки в эксперименте [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, М.П. Потапнев, И.Ю. Жерко, Д.И. Асаевич // IX съезд офтальмологов Республики Беларусь с международным участием: сб. материалов, Минск, 13–14 дек. 2019 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2019. – С. 15–16. – Режим доступа: http://www.zdrav.by/pdf/sb_of_19.pdf. – Дата доступа: 10.10.2022.

45. Экспрессия CD44, MMP9, TGFβ1 у пациентов с болезнью трансплантата на фоне инъекций низкомолекулярного натрия гиалуроната [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, Т.Л. Харитончик, И.Ю. Жерко // IX съезд офтальмологов Республики Беларусь с международным участием: сб. материалов, Минск, 13–14 дек. 2019 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2019. – С. 21–22. – Режим доступа: http://www.zdrav.by/pdf/sb_of_19.pdf. – Дата доступа: 13.02.2022.

46. Молекулярные предикторы эффективности низкомолекулярного натрия гиалуроната в лечении пациентов с кератопатией на фоне глаукомы [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, И.Ю. Жерко // IX съезд офтальмологов Республики Беларусь с международным участием: сб. материалов, Минск, 13–14 дек. 2019 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2019. – С. 93–94. – Режим доступа: http://www.zdrav.by/pdf/sb_of_19.pdf. – Дата доступа: 13.02.2022.

47. Клинические результаты лечения пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы на фоне глаукомы с применением низкомолекулярного натрия гиалуроната [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, Л.В. Дулуб, И.Ю. Жерко, Е. К. Макаревич, Л.Н. Солодуха, О.А. Островская, П.Ю. Юдин // IX съезд офтальмологов Республики Беларусь с международным

участием: сб. материалов, Минск, 13–14 дек. 2019 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2019. – С. 150–151. – Режим доступа: http://www.zdrav.by/pdf/sb_of_19.pdf. – Дата доступа: 10.10.2022.

48. Активация регенеративных процессов роговицы как способ снижения возникновения болезни трансплантата после кератопластики [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко, А.В. Марушко, А.В. Сментина // Актуальные вопросы в офтальмологии в условиях COVID-19: сб. материалов XIII Респ. конф. (с международным участием), Минск, 11–12 дек. 2020 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2020. – С. 47–48. – Режим доступа: <https://zdrav.by/pdf/sb2020.pdf>. – Дата доступа: 15.04.2022.

49. Влияние активаторов регенеративных процессов на мезенхимальные стволовые клетки [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, М.П. Потапнев, И.Ю. Жерко, И.Н. Смирнов, А.В. Марушко, А.В. Сментина // Актуальные вопросы в офтальмологии в условиях COVID-19: сб. материалов XIII Респ. конф. (с международным участием), Минск, 11–12 дек. 2020 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2020. – С. 101–102. – Режим доступа: <https://zdrav.by/pdf/sb2020.pdf>. – Дата доступа: 03.06.2022.

50. Современные подходы к лечению хронических дистрофических заболеваний глазной поверхности [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко, А.В. Сментина, А.В. Марушко // Актуальные вопросы в офтальмологии в условиях COVID-19: сб. материалов XIII Респ. конф. (с международным участием), Минск, 11–12 дек. 2020 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2020. – С. 61–62. – Режим доступа: <https://zdrav.by/pdf/sb2020.pdf>. – Дата доступа: 09.09.2022.

51. Влияние низкомолекулярной гиалуроновой кислоты на прозрачность роговицы [Электронный ресурс] / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко, А.В. Марушко, А.В. Сментина, Д.В. Рындова // Актуальные вопросы в офтальмологии: сб. материалов XIV Респ. конф. (с междунар. участием), Минск, 10–11 дек. 2021 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования; под общ. ред. Т.А. Имшенецкой. – Минск, 2021. – С. 52–53. – Режим доступа: <https://zdrav.by/pdf/2021/Sbornik2021.pdf>. – Дата доступа: 07.05.2022.

Тезисы докладов

52. Семак, Г.Р. Морфологические изменения при эпителиально-эндотелиальной дистрофии роговицы / Г.Р. Семак, И.А. Пучкова, О.И. Солодка // Федоровские чтения – 2013: сб. тез. XI Всерос. науч.-практ.

конф. с междунар. участием, Москва, 21–22 июня 2013 г. / М-во здравоохранения Рос. Федерации, О-во офтальмологов России, Межотраслевой науч.-техн. комплекс «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова; под общ. ред. Б.Э. Малюгина. – М., 2013. – С. 49.

53. Семак, Г.Р. Особенности лечения пациентов с выраженным роговичным синдромом после кератопластики / Г.Р. Семак, М.А. Дубровская, И.А. Пучкова // Актуальные вопросы офтальмологии: тез. Респ. конф. с междунар. участием, Минск, 12–13 дек. 2014 г. // Офтальмология. Вост. Европа. – 2014. – Спецвып. – С. 79–81.

54. Patterns of CD44 and MMP9 expression in cornea with dry eye disease before and after injections of hyaluronic acid / V. Zakharava, G. Semak, T. Liatkouskaya, I. Zherka, S. Kletski // Pathology: path to precision medicine: Abstr. 30th Eur. Congr. of Pathol., Bilbao, Spain, 8–12 Sept. 2018 / Eur. Soc. of Pathol. // Virchows Arch. – 2018. – Vol. 473, suppl. 1. – P. S182. – Abstr. PS-23-003.

55. Ratterns of biomolecular markers expression in patients with corneal endothelial dystrophies before and after injections of hyaluronic acid / V. Zakharava, G. Semak, I. Zherka, T. Liatkouskaya, S. Kletski // Pathology is nice: Abstr. 31th Eur. Congr. of Pathol., Nice, France, 7–11 Sept. 2019 / Eur. Soc. of Pathol. // Virchows Arch. – 2019. – Vol. 475, suppl. 1. – P. S387. – Abstr. E-PS-18-013.

56. Analysis of lumican expression in cornea dystrophies / V. Zakharava, G. Semak, I. Zherka, P. Yudin // Pathology: compass for optimal patient therapy: Abstr. 33rd Eur. Congr. of Pathol., Gothenburg, Sweden (virtual), 29–31 Aug. 2021 / Eur. Soc. of Pathol. // Virchows Arch. – 2021. – Vol. 479, suppl. 1. – P. S149. – Abstr. PS-18-009.

Патенты на изобретение

57. Семак, Г.Р. Способ определения наличия у препаратов гиалуроновой кислоты стимулирующего действия на мезенхимальные стромальные клетки человека / Г.Р. Семак, М.П. Потапнев, И.Ю. Жерко // Пат. ВУ 23602. – Опубл. 30.12.2021.

Свидетельства о регистрации компьютерных программ

58. Семак, Г.Р. Мобильное приложение «iDOC»: компьютер. программа № 1437 / Г.Р. Семак, А.А. Зайцев, Е.В. Степанюк // Национальный центр интеллектуальной собственности Республики Беларусь. – 2020. – Дата подачи заявки 15.07.2021. – Дата регистрации 23.08.2021.

Инструкции по применению

59. Метод лечения хронических дегенеративно-дистрофических заболеваний мягких тканей орбиты и глазной поверхности: инструкция по применению № 079-0519: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 28.06.2019 / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская,

И.Ю. Жерко // УО «Белорусский государственный медицинский университет». – Минск, 2019. – 10 с.

60. Методы диагностики хронических дистрофических заболеваний роговицы и оценки эффективности их лечения на основе иммуногистохимического выявления биомолекулярных маркеров в ткани роговицы: инструкция по применения № 096-0920: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 07.12.2020 / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, И.Ю. Жерко // УО «Белорусский государственный медицинский университет». – Минск, 2020. – 11 с.

61. Метод лечения болезни роговичного трансплантата: инструкция по применению № 047-0521: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 11.06.2021 / Г.Р. Семак, В.А. Захарова, С.К. Клецкий, Т.А. Летковская, И.Ю. Жерко // УО «Белорусский государственный медицинский университет». – Минск, 2021. – 6 с.

62. Семак, Г.Р. Метод медицинской профилактики дистрофии роговицы после хирургических операций на глазном яблоке: инструкция по применению № 107-1021: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 19.11.2021 / Г.Р. Семак, И.Ю. Жерко // УО «Белорусский государственный медицинский университет». – Минск, 2021. – 4 с.

Сямак Галіна Раманаўна

**Клінічнае і эксперыментальнае абгрунтаванне патагенетычных метадаў
лячэння хранічных дыстрафічных захворванняў рагавіцы**

Ключавыя словы: хранічныя дыстрафічныя захворванні рагавіцы, нізкамалекулярны натрыю гіялуранат, імунагістахімічнае даследаванне, ствалавыя/страмальныя клеткі, скразная кератапластыка.

Мэта даследавання: распрацоўка, эксперыментальнае абгрунтаванне і доказ клінічнай эфектыўнасці новага напрамку лячэння пацыентаў з хранічнымі дыстрафічнымі захворваннямі рагавіцы, які заснаваны на павышэнні актыўнасці лакальных рэгенератыўных працэсаў.

Метады даследавання: клінічныя, інструментальныя, гісталагічныя, гістахімічныя і імунагістахімічныя метады даследавання рагавічных эксплантаў, даныя мікраскапіі культывавання клетак чалавека *in vitro*, клініка-эканамічны аналіз, статыстычныя метады.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. На падставе клінічных і гістахімічных даных абгрунтаваны новы напрамак у лячэнні пацыентаў з хранічнымі дыстрафічнымі захворваннямі рагавіцы рознай этыялогіі з прымяненнем ін'екцыйнай формы 1% нізкамалекулярнага натрыю гіялуранату (НМ-НаГ). Паказана, што 1% НМ-НаГ спрыяе актывацыі рэгенератыўных працэсаў у тканках рагавіцы, інгібіруючы працэсы апаптоза і запалення. У выніку аднаўляецца празрыстасць рагавіцы, якасны склад слёзнай плёнкі. Устаноўлена, што 1% НМ-НаГ здольны падтрымліваць жыццядзейнасць мезенхімальных страмальных клетак чалавека *in vitro* без актывацыі іх праліферацыі. Упершыню выяўлена аднароднасць імунагістахімічных змен у рагавіцы пры дыстрафіі рознай этыялогіі. Клінічная эфектыўнасць новага метаду ў параўнанні са стандартнай тэрапіяй вызначаецца зніжэннем рызыкі прагрэсавання дыстрафіі на 30%, памяншэннем у 2 разы тэрмінаў лячэння, зніжэннем працягласці часовай непрацаздольнасці пацыента.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: атрыманыя даныя могуць быць выкарыстаны ў афтальмологіі пры дыягностыцы і лячэнні дыстрафічных захворванняў рагавіцы, для прафілактыкі дыстрафіі рагавіцы перад хірургічным лячэннем вока і захавання празрыстасці трансплантанта пасля кератапластыкі.

Галіна прымянення: афтальмологія.

РЕЗЮМЕ

Семак Галина Романовна

Клиническое и экспериментальное обоснование патогенетических методов лечения хронических дистрофических заболеваний роговицы

Ключевые слова: хронические дистрофические заболевания роговицы, низкомолекулярный натрия гиалуронат, иммуногистохимическое исследование, стволовые/стромальные клетки, сквозная кератопластика.

Цель исследования: разработка, экспериментальное обоснование и доказательство клинической эффективности нового направления лечения пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы, основанного на повышении активности локальных регенеративных процессов.

Методы исследования: клинические, инструментальные, гистологические, гистохимические и иммуногистохимические методы исследования роговичных эксплантов, данные микроскопии культивирования клеток человека *in vitro*, клинико-экономический анализ, статистические методы.

Полученные результаты и их новизна. На основании клинических и гистохимических данных обосновано новое направление в лечении пациентов с хроническими дистрофическими заболеваниями роговицы различной этиологии с применением инъекционной формы 1% низкомолекулярного натрия гиалуроната (НМ-НаГ). Показано, что 1% НМ-НаГ способствует активации регенеративных процессов в тканях роговицы, ингибируя процессы апоптоза и воспаления. В результате восстанавливается прозрачность роговицы, качественный состав слезной пленки. Установлено, что 1% НМ-НаГ способен поддерживать жизнедеятельность мезенхимальных стромальных клеток человека *in vitro* без активации их пролиферации. Впервые выявлена однородность иммуногистохимических изменений в роговице при дистрофии различной этиологии. Клиническая эффективность нового метода по сравнению со стандартной терапией определяется снижением риска прогрессирования дистрофии на 30%, уменьшением в 2 раза сроков лечения, снижением продолжительности временной нетрудоспособности пациента.

Рекомендации по использованию: полученные данные могут быть использованы в офтальмологии при диагностике и лечении дистрофических заболеваний роговицы, для профилактики дистрофии роговицы перед хирургическим лечением глаза и сохранения прозрачности трансплантата после кератопластики.

Область применения: офтальмология.

SUMMARY

Semak Galina R.

Clinical and experimental rationale of pathogenetic methods for treating chronic dystrophic corneal disease

Key words: chronic dystrophic corneal disease, low molecular sodium hyaluronate, immunohistochemical investigation, stem/stromal cells, penetrating keratoplasty.

Objective: development, experimental rationale and proof of clinical efficacy of a new approach for treating patients with chronic dystrophic corneal disease, based on increased activity of local regenerative processes.

Methods: clinical, instrumental, histological, histochemical and immunohistochemical methods of investigating corneal explant, findings of human cell culture microscopy *in vitro*, clinical and economic analysis, statistical method.

Results and novelty. Based on clinical and histochemical findings, a new approach for treating patients with chronic dystrophic corneal disease with 1% low molecular sodium hyaluronate (LM-SH) has been grounded. The study demonstrated LM-SH contributes to regenerative processes activation in corneal tissues and inhibits the processes of apoptosis and inflammation. As a result corneal transparency and tear film qualitative composition are restored. It has been ascertained that 1% LM-SH is able to maintain vital functions of human mesenchymal stromal cells *in vitro* without their proliferative activation. Homogeneity of immunohistochemical corneal changes in dystrophy of various etiology has been assessed, showing a 30% decreased risk of the dystrophy progression, a 2 fold reduction in treatment duration and shortened the length of patient's temporary disability.

Recommendations for use: the obtained data can be used in ophthalmology for diagnosing and treatment of the dystrophic corneal disease, for preventing corneal dystrophy prior to the eye surgery and preserving transplant transparency following the keratoplasty.

Field of application: ophthalmology.

Подписано в печать 31.01.23. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Хероx office».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 2,56. Уч.-изд. л. 2,72. Тираж 60 экз. Заказ 66.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.