

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ НАЦІОНАЛЬНИЙ
МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ**

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

ГАВРИЛЯК ІРИНА ВАСИЛІВНА

УДК: 617.713-001.3-018-092-074-085

**ДИСЕРТАЦІЯ
КЛІНІКО-ПАТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ НЕПРОНИКАЮЧИХ
ПОШКОДЖЕНЬ РОГІВКИ ТА ЇХ МЕТОДИ КОРЕКЦІЇ З
УРАХУВАННЯМ МАРКЕРІВ МІЖКЛІТИННОГО МАТРИКСУ**

Галузь знань 22 – «Охорона здоров'я»

Спеціальність 222 – «Медицина»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ (підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник: Жабосєдов Дмитро Геннадійович,
доктор медичних наук, професор.

Київ – 2024

АНОТАЦІЯ

Гавриляк І.В. Клініко-патогенетичні аспекти непроникаючих пошкоджень рогівки та їх методи корекції з урахуванням маркерів міжклітинного матриксу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – «Медицина» (22 – «Охорона здоров'я»). Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2024.

Дисертація присвячена вирішенню актуальної задачі офтальмології – покращенню ефективності лікування непроникаючих пошкоджень рогівки (травматичних та рецидивуючих ерозій) шляхом вивчення маркерів міжклітинного матриксу в сльозовій рідині та методів їх корекції.

Обґрунтування вибору теми дослідження. За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я кожного року реєструється 55 мільйонів випадків травми ока, які призводять до обмеження працездатності пацієнтів більше ніж на один день на рік та до 750 000 випадків госпіталізації щорічно (Wilson SE, et al. 2021; Barrientez B, et al. 2019; Пасечнікова, Н. В. 2021).

В структурі первинного звернення за невідкладною офтальмологічною допомогою провідне місце займають травми пов'язані з пошкодженням рогівки. Близько 45% випадків звернень припадає на травматичні ерозії рогівки, тоді як на сторонні тіла рогівки припадає біля 31% випадків звернень. Поширеність травм рогівки вища серед людей працездатного віку, що призводить до тимчасової втрати працездатності і становить важливу медико-соціальну проблему.

Навіть незначне травматичне пошкодження рогівки може призвести до морфологічних змін та порушити її функціональні властивості. Рогівка є цікавим органом для вивчення механізму загоєння ран та взаємодії, таких як стромально-епітеліальний, стромально-ендотеліальний завдяки своїй прозорості та доступності для маніпуляцій та візуалізації. Бар'єрний захист,

заломлення світла та фільтрація ультрафіолетового світла є основними функціями рогівки для підтримки нормального зору. Оскільки рогівка є основною заломлюючою поверхнею ока, навіть незначні зміни в її структурі призводять до проблем із зором. Епітелій рогівки підтримується в складному балансі, який можна легко порушити. Травма рогівки може призвести до різного ступеня її помутніння в залежності від величини клітинної та молекулярної реакції на пошкодження (Wilson SE 2020; Torricelli AA, et al. 2017).

З іншого боку, після пошкодження рогівки може виникати стан, коли епітелій рогівки з різних причин нездатний регенерувати та утворювати адгезивні комплекси з базальною мембраною. Зокрема до таких станів відносять стійкі дефекти епітелію та рецидивуючу ерозію рогівки (PEP). Для PEP характерно поява спонтанних дефектів епітелію рогівки, які тривають від декількох годин до декілька днів, що призводить до втрати працездатності та зниження якості їх життя, потребує тривалого консервативного лікування.

Загоєння рани рогівки є складним процесом, що складається з наступних фаз: клітинної міграції/запалення, клітинної проліферації/диференціації та ремоделювання матриксу. Хронічна або тривала гіпоксія, яка розвивається в результаті травми, може порушити клітинний гомеостаз, викликати запалення, змінити протеїновий склад сльозової плівки.

Сльозова рідина (CR) містить багато ферментів та білків, які відіграють важливу роль у метаболізмі, поділі клітин, експресії генів та реакції імунної системи. Певні протеїни можуть використовуватися як відповідні маркери гострофазового запалення, ангіогенезу та ремоделювання матриксу рогівки. Гомеостаз CR підтримується специфічними ферментами, що виробляються слізними залозами, епітеліальними клітинами рогівки та кон'юнктиви. Багато білків CR є захисними, відіграючи значну роль в антиоксидантному захисті та клітинному обміні тканин рогівки (Wang B, et al, 2019; Singh J, et al., 2021).

Зокрема до таких білків СР, відноситься лактоферин (ЛФ) – мультикомпонентний протеїн, що забезпечує антибактеріальну, противірусну, протигрибкову, протипаразитарну та протизапальну дію. Ряд дослідників вивчали зниження лактоферину при хворобі сухого ока, кератоконусі та низці інших патологічних станів передньої поверхні ока. Втім, динаміка кількісних змін лактоферину в слюзовій рідині в ході репаративних процесів при травмі рогівки залишається недослідженою.

Поглиблене вивчення механізмів, що лежать в основі загоєння рани рогівки, зокрема, травматичних ерозій рогівки, а також порушень регуляції даного процесу, як у випадку рецидивуючих ерозій рогівки, повинно дозволити розробити комплексний підхід у лікуванні, спрямований на прискорення процесу загоєння ран рогівки. Таким чином проблема загоєння ран рогівки є актуальним питанням сьогодення, що зумовлює необхідність подальшого вивчення даної теми і розробки нових методів лікування.

Мета дослідження: Покращити ефективність лікування непроникаючих пошкоджень рогівки шляхом вивчення процесу заживлення ран рогівки на основі визначення рівнів маркерів гострофазового запалення, ангіогенезу та ремоделювання у слюзовій рідині та розробка комплексної медикаментозної корекції даних змін.

Завдання дослідження:

1. Дослідити клініко-морфологічні особливості рогівки при травматичних та рецидивуючих ерозіях рогівки на основі клінічних даних та оптико-когерентної томографії переднього відділу ока.

2. Вивчити рівні ММР-9, ангіостатинів, лактоферину та церулоплазміну у слюзовій рідині при травматичних ерозіях рогівки та рецидивуючих ерозіях.

3. Провести порівняння рівнів ММР-9, ангіостатинів, лактоферину та церулоплазміну у слізній рідині в залежності від виду травми та її перебігу.

4. Оцінити клініко-морфологічні зміни рогівки при травматичних та рецидивуючих ерозіях в залежності від методу комплексного лікування

пацієнтів.

5. Оцінити зміни показників MMP-9, ангіостатину, лактоферину, церулоплазміну у слъзовій рідині в залежності від методу комплексного лікування пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями.

Об'єкт дослідження: Ерозії рогівки (МКХ-10 S05.0, H18.8)

Предмет дослідження: бальна оцінка рогівка, товщина епітелію, товщина рогівки, рівні MMP-9, ангіостатинів, лактоферину та церулоплазміну в слъзовій рідині при травматичних та рецидивуючих ерозіях рогівки, термін лікування.

Методи дослідження: загальноклінічні; офтальмологічні (візометрія, біомікроскопія, бальна оцінка рогівки, профарбування рогівки флюоросцеїном, офтальмоскопія, авторефрактометрія, тонометрія, оптична когерентна томографія переднього відрізка ока); імуноблотинг, желатинова зимографія; статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів. Розширено наукові дані щодо рівнів лактоферину при травматичній і рецидивуючій ерозіях рогівки і показано достовірне зниження рівнів лактоферину при травматичній і рецидивуючій ерозіях рогівки порівняно з групою контролю на $6,36 \pm 0,05$ у. о. та на $6,02 \pm 0,01$ у. о. ($p < 0,05$) відповідно, що призводить до порушення гомеостазу очної поверхні та порушення захисних механізмів слъзової плівки. Виявлено зростання рівнів церулоплазміну при травматичній – $2,37 \pm 0,25$ у. о. ($p < 0,05$) та рецидивуючій – $1,78 \pm 0,2$ у. о. ($p < 0,05$) ерозіях рогівки, що є показником гострофазового запального процесу при цих захворюваннях.

Доповнено наукові дані, щодо рівнів MMP-9 та ангіостатинів при при травматичній і рецидивуючій ерозіях рогівки. Встановлено різке підвищення рівня MMP-9 у пацієнтів з ТЕР в порівнянні з контрольною групою у 105 разів ($p < 0,001$) та при РЕР у 97 разів ($p < 0,001$). При визначенні активності ангіостатинів у слъзі пацієнтів з травматичними ерозіями встановлено

збільшення рівнів ангіостатинів у 5,8 разів порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$), а у пацієнтів з рецидивуючими ерозіями рогівки встановлено збільшення рівнів ангіостатинів у 4,5 разів порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$).

Показано ефективність застосування лактоферину в комплексному лікуванні травматичних ерозій на основі зміни клініко-морфологічних показників, а саме підвищення коригованої гостроти зору у підгрупі 2, що отримували комплексне лікування до $0,92 \pm 0,09$ порівняно з підгрупою 1, що отримувала стандартну терапією до $0,88 \pm 0,12$ ($p < 0,01$), за бальною оцінкою рогівки показники відповідно становили у підгрупі 1 – $0,6 \pm 0,68$ балів та у підгрупі 2 відповідно $0,48 \pm 0,66$ балів ($p < 0,01$). За даними морфологічного дослідження рогівки за допомогою AS-OCT, встановлено відновлення товщини епітелію рогівки до $56,4 \pm 1,0$ мкм у підгрупі 1 та відповідно до $57,1 \pm 0,9$ мкм у підгрупі 2 ($p < 0,01$).

Показано ефективність застосування лактоферину в комплексному лікуванні рецидивуючих ерозій на основі зміни клініко-морфологічних показників, а саме підвищення коригованої гостроти зору у підгрупі 2, що отримували комплексне лікування до $0,96 \pm 0,07$ порівняно з підгрупою 2, що отримувала стандартну терапією становило $0,84 \pm 0,14$ ($p < 0,01$), за бальною оцінкою рогівки показники відповідно становили у підгрупі 1 – $0,5 \pm 0,53$ балів та у підгрупі 2 відповідно $0,38 \pm 0,52$ балів ($p < 0,01$). За даними морфологічного дослідження рогівки за допомогою AS-OCT, встановлено відновлення товщини епітелію рогівки до $55,3 \pm 1,0$ мкм у групі 1 та відповідно до $58,2 \pm 0,8$ мкм у групі 2 ($p < 0,01$). Оцінка ефективності комплексного лікування була проведена на основі суб'єктивних скарг пацієнтів та клініко-морфологічних змін рогівки. Загалом комплексне лікування з включенням лактоферину призвело до більш швидкого клінічного одужання пацієнтів як у групі травматичних, так і рецидивуючих ерозій відповідно.

Практичне значення отриманих результатів. Запропоновано

визначення маркерів гострофазового запалення, ангиогенезу та ремоделювання матриксу у слізній рідині для оцінки пошкодження та моніторингу епітелізації рогівки. Проведено порівняльний аналіз експресії даних маркерів (а саме MMP-9, ангиостатинів, лактоферину та церулоплазміну) при травматичній та рецидивуючій ерозії в залежності від клініко-морфологічних особливостей перебігу травми.

Запропоновано новий комплексний спосіб лікування травматичних та рецидивуючих ерозій на основі доповнення патогенетичних механізмів епітелізації рогівки.

Обґрунтовано позитивний ефект застосування в комплексному лікуванні лактоферину місцевої дії при епітелізації рогівки, як у групі травматичних, так і рецидивуючих ерозій, на основі вивчення клініко-морфологічних показників та вивчення експресії протеїнів слезової рідини.

Публікації. Основні результати дисертації викладені в 11 наукових публікаціях. З них 4 статті в журналі відповідно до «Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії», у тому числі з них 2 статті – у науковому періодичному виданні, що індексується у наукометричній базі Scopus, 5 робіт – тези у матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів, симпозіумів.

Ключові слова: травматична ерозія рогівки, рецидивуюча ерозія рогівки, загоєння ран, епітелізація, травма ока, рогівка, матриксні металопротеїнази, ангиостатини, лактоферин, патогенез, слезова рідина, прогноз, комплексне лікування, флуоресцеїновий тест, клінічні показники в балах.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Gavrylyak IV, Grebin NK, Bilous VL, Korska VV, Zhaboedov DG, Aghca CA, et al. The levels of hypoxia- and angiogenesis-related regulators and matrix metalloproteinase 9 activity in tear fluid of patients with non-penetrating

ocular traumas. Мед. перспективи. 2022;27(4):168-76. doi: 10.26641/2307-0404.2022.4.271217.

2. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Вплив лактоферину на епітелізацію рогівки при непроникних травмах ока. Архів офтальмології України. 2022;10(3):14-8. doi: <https://doi.org/10.22141/2309-8147.10.3.2022.301>.

3. Gavrylyak IV, Zhaboiedov DG, Greben NK. Experience of using optical coherence tomography in corneal injuries. Med Sci Ukraine. 2023;19(4):3-8. doi: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.4.2023.01>.

4. Гавриляк ІВ, Жабоедов ДГ, Гребень НК, Тихомиров АО. Рівень лактоферину й церулоплазмину в сльозі пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями рогівки. Офтальмол. журн. 2024;(1):8-14. doi: <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh20241814>.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Гавриляк ІВ. Моніторинг ММП-9 при травматичних пошкодженнях рогівки. В: Сателіт. симп. Спеціальні питання діагностики та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасціальної ділянки та органу зору; 2022 Черв 10. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2022;(Suppl №2):40.

6. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Досвід застосування лактоферину при травматичних пошкодженнях рогівки. Зб. пр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю Рефракційний пленер`22; 2022 Жовт 20-21; Київ. Київ; 2022. с. 29-30.

7. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Значення рівня гіпоксії в патогенезі пошкодження рогівки. В: Зб. пр. наук.-практ. конф. Сучасні проблеми медицини (Практична офтальмологія. Сучасні проблеми екологічної медицини); 2022 Лют 24-26. Київ; 2022. с. 13-4.

8. Гавриляк ІВ. Діагностичні можливості оптико-когерентної томографії переднього відділу ока при травматичних кератитах. В: XV Наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнар. участю Спеціальні питання

діагностики та лікування захворювань лор-органів, краніофасціальної ділянки та органу зору; 2023 Квіт 21. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2023;(Suppl №1):94-5.

9. Гавриляк І.В., Гребень Н.К., Жабоедов Д.Г. Прогностичні методи діагностики порушень епітелізації рогівки при травматичних пошкодженнях. Практична офтальмологія. Медичні та екологічні проблеми сучасності: збірник праць наук.-практ. конф. За ред. Федірка П. А., Медведовської Н. В., Максимук О. Ю., Бабенко Т. Ф., Гарькавої Н. А. Київ. 2024; с.23-25.

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

10. Gavrylyak I.V., Bilous V.L., Korsa V.V., Greben N.K. Protein markers of hypoxia and angiogenesis in tear fluid of patients with traumatic corneal injury. *Biotechnologia Acta.* 2022; 2(15). P.53-55. <https://doi.org/10.15407/biotech15.02.053>.

11. Tykhomyrov A., Yusova O., Kapustianenko L., Bilous V., Drobotko T., Gavrylyak I., Greben N., Ağca C.A. Production of lactoferrin antibodies and their application in analyses of the tear fluid in health and corneal injuries. *Biotechnologia Acta.* 2022; 5 (15). P.31-40. <https://doi.org/10.15407>.

ABSTRACT

I.V.Gavrylyak Clinical-pathogenetic aspects of non-penetrating corneal injuries and their correction methods taking into account markers of the extracellular matrix. - Qualification of scientific work as a manuscript. Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 222 - "Medicine" (22 - "Health Care"). Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2024.

The dissertation addresses a relevant issue in ophthalmology - improving the effectiveness of treatment for non-penetrating corneal injuries (traumatic and recurrent erosions) by studying markers of the extracellular matrix in tear fluid and methods of their correction.

The rationale for choosing the research topic is based on the staggering statistics provided by the World Health Organization, which registers 55 million cases of eye injuries annually, resulting in activity limitation for more than one day per year for the individuals affected, and 750,000 cases requiring hospitalization each year.

In the structure of primary visits for urgent ophthalmic care, corneal injuries occupy a prominent place. Approximately 45% of visits are due to traumatic corneal erosions, while foreign bodies on the cornea account for around 31% of visits. The prevalence of corneal injuries is higher among working-age individuals, leading to temporary disability and posing a significant medical and social problem.

Even minor traumatic damage to the cornea can lead to morphological changes and disrupt its functional properties. The cornea is an interesting organ for studying the mechanism of wound healing and interaction such as stromal-epithelial, stromal-endothelial due to its transparency and accessibility for manipulation and visualization. Barrier protection, light refraction and ultraviolet light filtration are the main functions of the cornea to maintain normal vision. Because the cornea is the primary refractive surface of the eye, even minor changes in its structure lead to

vision problems. The corneal epithelium is maintained in a complex balance that can be easily disturbed. Corneal trauma can result in varying degrees of opacity depending on the magnitude of the cellular and molecular response to the injury.

On the other hand, after corneal injury, a condition may arise where the corneal epithelium is unable to regenerate and form adhesive complexes with the basement membrane for various reasons. Such conditions include persistent epithelial defects and recurrent corneal erosions (RCE). RCE is characterized by the spontaneous appearance of corneal epithelial defects that last from several hours to several days, resulting in loss of productivity and decreased quality of life, necessitating prolonged conservative treatment.

Corneal wound healing is a complex process consisting of three overlapping phases, including cell migration/inflammation, cell proliferation/differentiation, and matrix remodeling. Chronic or prolonged hypoxia resulting from trauma can disrupt cellular homeostasis, induce inflammation, and alter the protein composition of the tear film.

Tear fluid (TF) contains numerous enzymes and proteins that play a crucial role in metabolism, cell division, gene expression, and immune system reactions. Certain proteins can serve as relevant markers of acute-phase inflammation, angiogenesis, and matrix remodeling [100, 102, 105]. The homeostasis of tear fluid (TF) is maintained by specific enzymes produced by lacrimal glands, corneal epithelial cells, and conjunctival cells. Many TF proteins are protective, playing a significant role in antioxidant defense and cellular metabolism.

One such protein in tear fluid is lactoferrin (LF) – a multi-component protein providing antibacterial, antiviral, antifungal, antiparasitic, and anti-inflammatory effects. Several researchers have investigated the decrease in lactoferrin levels in conditions such as dry eye disease, keratoconus, and various other pathological conditions of the anterior surface of the eye. However, the dynamics of quantitative changes in lactoferrin in tear fluid during reparative processes following corneal injury remain understudied.

A better understanding of the mechanisms underlying corneal wound healing, particularly traumatic corneal erosions, as well as the disruption of the regulation of this process, as in the case of recurrent corneal erosions, should enable the development of a comprehensive approach to treatment aimed at accelerating the corneal wound healing process.

The aim of the study is to improve the effectiveness of treatment for non-penetrating corneal injuries by studying the process of corneal wound healing based on the determination of levels of acute-phase inflammation, angiogenesis, and remodeling markers in tear fluid and developing a comprehensive pharmacological correction of these changes.

Research objectives:

1. Investigate the clinical-morphological features of the cornea in traumatic and recurrent corneal erosions based on clinical data and anterior segment optical coherence tomography.
2. Study the levels of MMP-9, angiostatins, lactoferrin, and ceruloplasmin in tear fluid in traumatic corneal erosions and recurrent erosions.
3. Compare the levels of MMP-9, angiostatins, lactoferrin, and ceruloplasmin in tear fluid depending on the type of injury and its course.
4. Evaluate the clinical-morphological changes in the cornea in traumatic and recurrent corneal erosions depending on the method of comprehensive treatment of patients.
5. Assess changes in MMP-9, angiostatin, lactoferrin, and ceruloplasmin levels in tear fluid depending on the method of comprehensive treatment of patients with traumatic and recurrent erosions.

Research object: Traumatic corneal erosions (ICD-10 S05.0, H18.8)

Research subject: corneal score, epithelial thickness, corneal thickness, levels of MMP-9, angiostatins, lactoferrin, and ceruloplasmin in tear fluid in traumatic and recurrent corneal erosions, corneal wound healing.

Research methods: general clinical; ophthalmological (visual acuity

assessment, biomicroscopy, corneal evaluation, fluorescein staining of the cornea, ophthalmoscopy, autorefractometry, tonometry, anterior segment optical coherence tomography); immunoblotting, gelatin zymography; statistical.

The scientific novelty of the obtained results. Expanded scientific data on lactoferrin levels in traumatic and recurrent corneal erosions are presented, demonstrating a significant decrease compared to control groups, to 6.36 ± 0.05 conventional units and 6.02 ± 0.01 conventional units ($p < 0.05$) respectively, leading to disruption of ocular surface homeostasis and impairment of protective mechanisms of the tear film. An increase in ceruloplasmin levels in traumatic (2.37 ± 0.25 conventional units) and recurrent (1.78 ± 0.2 conventional units) corneal erosions was revealed ($p < 0.05$), indicating an acute-phase inflammatory process in these conditions.

Supplemented scientific data regarding the levels of MMP-9 and angiostatins in traumatic and recurrent corneal erosions have been provided. A sharp increase in MMP-9 levels in patients with TE compared to the control group by 105 times ($p < 0.001$) and in RCE by 97 times ($p < 0.001$) was established. When determining the activity of angiostatins in the tear fluid of patients with traumatic erosions, an increase by 5.8 times compared to control volunteers was found ($p < 0.05$), and in patients with RCE, an increase in activity at the level of 5.39 ± 0.46 conventional units was observed, which is 4.5 times higher than the control group ($p < 0.001$).

The effectiveness of lactoferrin application in the comprehensive treatment of traumatic erosions has been demonstrated based on changes in clinical-morphological indicators. Specifically, an increase in corrected visual acuity was shown in subgroup 2, receiving comprehensive treatment, to 0.92 ± 0.09 compared to subgroup 1, receiving standard therapy, to 0.88 ± 0.12 ($p < 0.01$). According to the corneal evaluation, the scores were 0.6 ± 0.68 points in subgroup 1 and 0.48 ± 0.66 points in subgroup 2 ($p < 0.01$). Morphological examination of the cornea using AS-OCT revealed restoration of epithelial thickness to 56.4 ± 1.0 μm in subgroup 1 and 57.1 ± 0.9 μm in subgroup 2 ($p < 0.01$).

The effectiveness of lactoferrin application in the comprehensive treatment of recurrent erosions has been demonstrated based on changes in clinical-morphological indicators. Specifically, an increase in corrected visual acuity was observed in subgroup 2, receiving comprehensive treatment, to 0.96 ± 0.07 compared to subgroup 2, receiving standard therapy, at 0.84 ± 0.14 ($p<0.01$). According to the corneal evaluation, the scores were 0.5 ± 0.53 points in subgroup 1 and 0.38 ± 0.52 points in subgroup 2 ($p<0.01$). Morphological examination of the cornea using AS-OCT revealed restoration of epithelial thickness to 55.3 ± 1.0 μm in subgroup 1 and 58.2 ± 0.8 μm in subgroup 2 ($p<0.01$). The assessment of the effectiveness of comprehensive treatment was based on patients' subjective complaints and clinical-morphological changes in the cornea. Overall, comprehensive treatment including lactoferrin led to faster clinical recovery of patients in both traumatic and recurrent erosion groups, respectively.

The practical significance of the obtained results lies in proposing the determination of markers of acute-phase inflammation, angiogenesis, and matrix remodeling in tear fluid for assessing corneal damage and monitoring epithelialization. A comparative analysis of marker expression (specifically MMP-9, angiostatins, lactoferrin, and ceruloplasmin) has been conducted in traumatic and recurrent erosions based on the clinical and morphological characteristics of the trauma course.

A new comprehensive treatment approach for traumatic and recurrent erosions has been proposed based on complementing the pathogenetic mechanisms of corneal epithelialization.

The positive effect of locally applied lactoferrin in comprehensive treatment has been demonstrated in the epithelialization of the cornea, both in the group of traumatic and recurrent erosions, based on the study of clinical-morphological indicators and the examination of tear fluid protein expression.

The main results of the dissertation are presented in 12 scientific publications. Among them, 6 articles: 4 in journals according to the "List of scientific professional

publications of Ukraine where the results of dissertation research for the degree of Doctor of Sciences, Candidate of Sciences, and Doctor of Philosophy may be published", 2 articles in a scientific periodical indexed in the Scopus bibliographic database, and 6 works in abstracts of scientific-practical conferences, congresses, and symposiums.

Keywords: traumatic corneal erosion, recurrent corneal erosion, wound healing, epithelialization, eye injury, matrix metalloproteinases, angiostatins, lactoferrin, pathogenesis, tear fluid, prognosis, complex treatment, fluorescein test, clinical indicators in points.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ, ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ НЕПРОНИКАЮЧИХ ПОШКОДЖЕНЬ ОКА	27
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	27
1.1.Епідеміологія травматичних пошкоджень рогівки та їх наслідків.	27
1.2.Патофізіологічні особливості епітелізації рогівки	29
1.3.Роль матриксної металопротеїнази в епітелізації рогівки	34
1.4. Сльозова рідина та її роль в підтримці гомеостазу рогівки	37
1.5. Сучасні аспекти діагностики та лікування травматичних пошкоджень рогівки.....	41
РОЗДІЛ 2. ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	48
2.1.Дизайн дослідження, загальна характеристика	48
2.2. Методи офтальмологічних досліджень	51
2.3. Методи біохімічних досліджень	55
<i>2.3.1. Збір зразків та підготовка</i>	<i>55</i>
<i>2.3.2. Гель-електрофорез та вестерн блот-аналіз.</i>	<i>56</i>
<i>2.3.3. Желатинова зимографія.</i>	<i>58</i>
РОЗДІЛ 3. КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПОШКОДЖЕНЬ РОГІВКИ	61
3.1. Клініко-морфологічні особливості непроникаючих поранень рогівки	61
3.2.Клініко-морфологічні особливості рецидивуючої ерозії рогівки	65

РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ MMP-9, АНГІОСТАТИНІВ ТА ФАКТОРІВ ГОСТРОГО ЗАПАЛЕННЯ У СЛІЗНІЙ РІДИНІ ПАЦІЄНТІВ З ТРАВМАТИЧНИМИ ТА РЕЦИДИВУЮЧИМИ ЕРОЗІЯМИ.....	70
4.1. Визначення рівнів MMP-9 та ангіостатинів при травматичних та рецидивуючих ерозіях рогівки.....	71
4.2. Визначення рівнів лактоферину та церулоплазміну при травматичній та рецидивуючій ерозії рогівки.	75
РОЗДІЛ 5. ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ТРАВМАТИЧНИХ ТА РЕЦИДИВУЮЧИХ ЕРОЗІЙ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ЛАКТОФЕРИНУ.....	80
5.1. Вплив комплексного лікування на клініко- морфологічні показники при травматичній ерозії.....	81
5.2. Вплив комплексного лікування на клініко- морфологічні показники при рецидивуючій ерозії.....	87
5.3. Оцінка комплексного лікування на основі визначення активності MMP-9/ангіостатинів та лактоферину/церулоплазміну.....	92
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	99
ВИСНОВКИ.....	109
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	111
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	112
ДОДАТКИ.....	138

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ТЕР – травматична ерозія рогівки

РЕР – рецидивуюча ерозія рогівки

БМ – базальна мембрана

ММР – матриксні металопротеїнази

ММР-9 – матриксна металопротеїназа 9

СР – слъозова рідина

ЛФ – лактоферин

ЦП – церулоплазмін

ОСТ – оптико-когерентна томографія

AS-ОСТ – оптико-когерентна томографія переднього відділу ока

VEGF – фактор росту ендотелію судин

HIF-1 α – гіпоксія індукційбельний фактор-1

АБ – антибіотик

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження.

За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) кожного року реєструється 55 мільйонів випадків травми ока, які призводять до обмеження діяльності працездатності пацієнтів більше ніж на один день на рік та до 750 000 випадків госпіталізації [1-5]. Окрім того, 1,6 мільйона випадків призводить до повної сліпоти в результаті травми ока та 19 мільйонів призводить до значного зниження зорових функцій та обмеження працездатності.

В структурі первинного звернення за невідкладною офтальмологічною допомогою провідне місце займають травми пов'язані з пошкодженням рогівки. Близько 45% випадків звернень припадає на травматичні ерозії рогівки, тоді як на сторонні тіла рогівки біля 31% випадків звернень [11-17]. Поширеність травм рогівки вища серед людей працездатного віку, що призводить до тимчасової втрати працездатності і становить важливу медико-соціальну проблему.

Основними причинами інвалідизації при очному травматизмі є морфофункціональні наслідки травми ока. Монокулярна сліпота, спричинена помутнінням рогівки внаслідок травми рогівки, у 2021 році, за оцінками експертів, становить від 1,5 до 2,0 мільйонів випадків на рік. Травма рогівки призводять до різного ступеня морфологічних змін у рогівці в залежності від величини клітинної та молекулярної реакції на пошкодження. Навіть незначне травматичне пошкодження рогівки може призвести до морфологічних змін та порушити її властивості. Травма рогівки може призвести до різного ступеня помутніння залежно від величини клітинної та молекулярної реакції на пошкодження [1, 3-7, 21, 24].

З іншого боку, після пошкодження рогівки може виникати стан, коли епітелій рогівки з різних причин нездатний регенерувати та утворювати

адгезивні комплекси з базальною мембраною. Зокрема до таких станів відносять стійкі дефекти епітелію та рецидивуючу ерозію рогівки (PER) [3, 17-19, 32-33]. PER характерно поява спонтанних дефектів епітелію рогівки, які тривають від декількох годин до декілька днів, що призводить до втрати працездатності та зниження якості життя, потребує тривалого консервативного лікування.

Важливим на всіх етапах заживлення рани є баланс між ангіогенними та проангіогенними факторами, завдяки якому підтримується аваскулярність та прозорість рогівки. Хронічна або тривала гіпоксія, яка розвивається в результаті травми, може порушити клітинний гомеостаз, викликати запалення, змінити протеїновий склад сльозової плівки [24-25, 36-39].

Сльозова рідина (CR) містить багато ферментів та білків, які відіграють важливу роль у метаболізмі, поділі клітин, експресії генів та реакції імунної системи. Певні білки можуть використовуватися як відповідні маркери гострофазового запалення, ангіогенезу та ремоделювання матриксу [79-84]. Гомеостаз CR підтримується специфічними ферментами, що виробляються слізними залозами, епітеліальними клітинами рогівки та кон'юнктиви. Багато білків CR є захисними, відіграючи значну роль в антиоксидантному захисті та клітинному обміні [171, 174].

Зокрема до таких білків CR, відноситься лактоферин (ЛФ) – мультикомпонентний протеїн, що забезпечує антибактеріальну, противірусну, протигрибкову, протипаразитарну та протизапальну дію. Ряд дослідників вивчали зниження лактоферину при хворобі сухого ока, кератоконусі та низці інших патологічних станів передньої поверхні ока. Втім, динаміка кількісних змін лактоферину в сльозовій рідині в ході репаративних процесів при травмі рогівки залишається недослідженою.

Поглиблене вивчення механізмів, що лежать в основі загоєння рани рогівки, зокрема, травматичних ерозій рогівки, а також порушень регуляції даного процесу, як у випадку рецидивуючих ерозій рогівки, повинно

дозволити розробити комплексний підхід у лікуванні, спрямований на прискорення процесу загоєння ран рогівки. Таким чином проблема загоєння ран рогівки є актуальним питанням сьогодення, що зумовлює необхідність подальшого вивчення даної теми і розробки нових методів лікування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами
Дисертаційна робота була виконана на кафедрі офтальмології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри офтальмології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця «Удосконалення діагностики та лікування патології сітківки та зорового нерва судинного, травматичного та ендокринного генезу», (№ держреєстрації 0120U100810, 2020-2023рр.), в якій дисертантка була співвиконавцем.

Мета дослідження: Покращити ефективність лікування непроникаючих пошкоджень рогівки шляхом вивчення процесу заживлення ран рогівки на основі визначення рівнів маркерів гострофазового запалення, ангиогенезу та ремоделювання у сльозовій рідині та розробка комплексної медикаментозної корекції даних змін.

Завдання дослідження:

1. Дослідити клініко-морфологічні особливості рогівки при травматичних та рецидивуючих ерозіях рогівки на основі клінічних даних та оптико-когерентної томографії переднього відділу ока.

2. Вивчити рівні MMP-9, ангиостатинів, лактоферину та церулоплазміну у сльозовій (слізній рідині) рідині при травматичних ерозіях рогівки та рецидивуючих ерозіях.

3. Провести порівняння рівнів MMP-9, ангиостатинів, лактоферину та церулоплазміну у слізній рідині в залежності від виду травми та її перебігу.

4. Оцінити клініко-морфологічні зміни рогівки при травматичних та рецидивуючих ерозіях в залежності від методу комплексного лікування пацієнтів.

5. Оцінити зміни показників ММР-9, ангіостатину, лактоферину, церулоплазміну у слъзовій рідині в залежності від методу комплексного лікування пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями.

Об'єкт дослідження: ерозії рогівки (МКХ-10 S05.0, H18.8)

Предмет дослідження: бальна оцінка рогівки, товщина епітелію, товщина рогівки, рівні ММР-9, ангіостатинів, лактоферину та церулоплазміну в слъзовій рідині при травматичних та рецидивуючих ерозіях рогівки, термін лікування.

Методи дослідження: загальноклінічні; офтальмологічні (візометрія, біомікроскопія, бальна оцінка рогівки, профарбування рогівки флюоросцеїном, офтальмоскопія, авторефрактометрія, тонометрія, оптична когерентна томографія переднього відрізка ока); імуноблотинг, желатинова зимографія; статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше встановлено наукові дані щодо рівнів ЛФ при травматичній і рецидивуючій ерозіях рогівки і показано достовірне зниження ніж у групів контролю, на $6,36 \pm 0,05$ у. о. і $6,02 \pm 0,01$ у. о. ($p < 0,05$) відповідно, що призводить до порушення гомеостазу очної поверхні та порушення захисних механізмів слъзної плівки. Виявлено зростання рівня церулоплазміну в разі травматичної ($2,37 \pm 0,25$ у. о.) та рецидивуючої ($1,78 \pm 0,2$ у. о.) ($p < 0,05$) ерозій рогівки, що є показником гострофазового запального процесу при цих захворюваннях.

Доповнено наукові дані, щодо рівнів ММП-9 та ангіостатинів при при травматичній і рецидивуючій ерозіях рогівки. Встановлено різке підвищення рівня ММП-9 у пацієнтів з ТЕР в порівнянні з контрольною групою у 105 разів ($p < 0,001$) та при РЕР у 97 разів ($p < 0,001$). При визначенні активності ангіостатинів в слъзі пацієнтів з травматичними ерозіями встановлено збільшення у 5,8 рази порівняно з добровольцями контролю ($p < 0,05$) та у пацієнтів з РЕР встановлено збільшення активності на рівні $5,39 \pm 0,46$ у.о., що

у 4,5 раз більше порівняно з групою контролю ($p < 0,001$).

Показано ефективність застосування лактоферину в комплексному лікуванні травматичних ерозій на основі зміни клініко-морфологічних показників, а саме підвищення коригованої гостроти зору у підгрупі Б, що отримували комплексне лікування до $0,92 \pm 0,09$ порівняно з підгрупою А, що отримувала стандартну терапією до $0,88 \pm 0,12$ ($p < 0,01$), за бальною оцінкою рогівки показники відповідно становили у підгрупі А – $0,6 \pm 0,68$ балів та у підгрупі Б відповідно $0,48 \pm 0,66$ балів ($p < 0,01$). За даними морфологічного дослідження рогівки за допомогою AS-ОСТ, встановлено відновлення товщини епітелію рогівки до $56,4 \pm 1,0$ мкм у підгрупі А та відповідно до $57,1 \pm 0,9$ мкм у підгрупі Б ($p < 0,01$).

Показано ефективність застосування лактоферину в комплексному лікуванні рецидивуючих ерозій на основі зміни клініко – морфологічних показників, а саме підвищення коригованої гостроти зору у підгрупі Б, що отримували комплексне лікування до $0,96 \pm 0,07$ порівняно з підгрупою А, що отримувала стандартну терапією становило $0,84 \pm 0,14$ ($p < 0,01$), за бальною оцінкою рогівки показники відповідно становили у підгрупі А – $0,5 \pm 0,53$ балів та у підгрупі Б відповідно $0,38 \pm 0,52$ балів ($p < 0,01$). За даними морфологічного дослідження рогівки за допомогою AS-ОСТ, встановлено відновлення товщини епітелію рогівки до $55,3 \pm 1,0$ мкм у групі А та відповідно до $58,2 \pm 0,8$ мкм у групі Б ($p < 0,01$).

Практичне значення отриманих результатів

Запропоновано визначення маркерів гострофазового запалення, ангіогенезу та ремоделювання матриксу у сльозовій рідині для оцінки пошкодження та моніторингу епітелізації рогівки. Проведено порівняльний аналіз експресії даних маркерів (а саме MMP-9, ангіостатинів, лактоферину та церулоплазміну) при травматичній та рецидивуючій ерозії в залежності від клініко-морфологічних особливостей перебігу травми.

Запропоновано новий комплексний спосіб лікування травматичних та рецидивуючих ерозій на основі доповнення патогенетичних механізмів епітелізації рогівки.

Показано позитивний ефект застосування в комплексному лікуванні лактоферину місцевої дії при епітелізації рогівки, як у групі травматичних, так і рецидивуючих ерозій, на основі вивчення клініко-морфологічних показників та вивчення експресії протеїнів слізної рідини.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є особистою науковою працею здобувача. Автором, спільно з науковим керівником д.мед.н., професором Жабоедовим Д. Г. розглянута і визначена ідея наукового дослідження. Мета та завдання дослідження, методологія були визначені, обговорені і остаточно сформульовані автором разом із науковим керівником.

Дисертантка самостійно провела патентний пошук, аналіз наукової літератури з досліджуваної проблематики, аргументувала необхідність та доцільність даної роботи.

Здобувач самостійно здійснила підбір пацієнтів, розробила критерії включення і виключення, провела офтальмологічні дослідження, лікування та клінічне спостереження за пацієнтами. Забір слезової рідини в ході спостереження було виконано особисто дисертанткою.

Дослідження протеїнів слезової рідини проводилися на базі Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України у відділі хімії та біохімії ферментів під керівництвом д. біол. н., старшого наукового співробітника Тихомирова А.О. на основі договору про співробітництво.

Здобувачем особисто створено базу даних досліджуваних показників у пацієнтів за допомогою комп'ютерних технологій обробки.

Статистична обробка результатів клінічних та лабораторних досліджень виконана здобувачем самостійно.

Аналіз та узагальнення отриманих результатів, формулювання основних наукових положень і висновків дисертації були виконані спільно з науковим керівником д. мед. н., професором Жабоедовим Д. Г.

У наукових працях, опублікованих за матеріалами дисертації у співавторстві, здобувачу належала провідна роль у формулюванні теми, мети, завдань, методології дослідження, статистичній обробці та аналізі отриманих результатів.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи представлені, обговорені й одержали позитивну оцінку на наукових форумах: конференція-конкурс молодих вчених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2022» (м.Київ, 31 травня 2022); XIV Międzynarodowym Sympozjum «Postępy w diagnostyce i terapii schorzeń rogówki» (Katowice, Poland 31.03. – 2.04.2022) (Міжнародний симпозіум «Досягнення в діагностиці та лікуванні захворювань рогівки», Катовіце, Польща 31 березня-2 травня 2022); сателітному симпозіумі «Спеціальні питання діагностики та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасціальної ділянки та органу зору» (м. Київ, 10 червня 2022); науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`22» (Київ, 28-30 жовтня 2022 р.); Науково-практична конференція «Практична офтальмологія. Медичні та екологічні проблеми сучасності» (22-23 лютого 2023); XV Międzynarodowym Sympozjum «Postępy w diagnostyce i terapii schorzeń rogówki» (Katowice, Poland 02. – 04.03.2023)) (Міжнародний симпозіум «Досягнення в діагностиці та лікуванні захворювань рогівки», Катовіце, Польща 02-04 березня 2023); XV науково-практичній конференції з міжнародною участю «Спеціальні питання діагностики та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасціальної ділянки та органа зору» (м. Київ, 21 квітня 2023); 41 Congress of the ESCRS (Vienna, Austria 8-12 September 2023) (41 Конгрес Європейського товариства катарактальної та рефракційної хірургії 8-12 вересня 2023); науково-практичній конференції «Практична офтальмологія» (м. Київ, 3-4 листопада 2023);

Науково-практичній конференції офтальмологів, дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю «Сьомий український РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР – 23» (м. Київ, 10-11 листопада 2023); науково-практична конференція «Медичні і екологічні проблеми сучасності. Практична офтальмологія» (м. Київ, 22-23 лютого 2024); ІХ Міжнародна науково-практична інтернет конференція « Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (м. Київ, 22 березня 2024).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 11 наукових праць, які відповідають вимогам Постанови Кабінету міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 «Про затвердження порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» та «Переліку наукових фахових видань України, дозволених для публікації результатів дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора наук, кандидата наук та ступеня доктора філософії», зокрема 6 статей, у тому числі 2 з яких у виданні, що індексується у наукометричній базі Scopus, 5 робіт – тези у матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів, симпозіумів, в тому числі іноземних, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 137 сторінках комп'ютерного тексту. Побудована за загальноприйнятою схемою і містить дві анотації, вступ, 6 розділів, висновки, список використаних джерел та 1 додатки. Дисертація ілюстрована 10 таблицями та 17 рисунками.

РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ, ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ НЕПРОНИКАЮЧИХ ПОШКОДЖЕНЬ ОКА (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Епідеміологія травматичних пошкоджень рогівки та їх наслідків

Травма ока є основною причиною монокулярної сліпоти та погіршення зору, особливо в країнах, що розвиваються та призводить до значних соціально-економічних наслідків. Як наслідок травми ока близько 1,6 мільйона людей страждає на слабозорість, 2,3 мільйона на двосторонній слабкий зір, а у 19 мільйонів спостерігається одностороння сліпота [1-5]. У Сполучених Штатах щорічно реєструється від 2,0 до 2,4 мільйона випадків травми ока, більшість з яких прогресують до часткової втрати зору [6].

В Україні останні десятиліття відзначається тенденція до зростання очного травматизму, яка в більшості випадків є основною причиною первинної інвалідизації по зору та складає 16,1%. З первинно зареєстрованих випадків інвалідизації по зору з наслідками травм ока близько 5-6% становлять пацієнти з більмами, грубими рубцями та помутнінням рогівки [7-11].

У Сполучених Штатах поширеність первинної травми ока становить 3,0% на 100 000 населення та частота травми ока, як супутнього діагнозу, оцінюється в 19,0% на 100 000 населення [12, 13]. Тоді як у Великобританії повідомляється про 8,14 випадків госпіталізації з приводу травми ока на 100 000 населення [14]. В Україні поширеність травми ока складає 24,5 випадків на 100 000 населення. За даними МОЗ України, після початку повномасштабних військових дій на території України, кількість травм органа зору значно зросла, як серед цивільних, так і військових, але точних статистичних даних на даний момент не опубліковано [7].

За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я кожного року реєструється 55 мільйонів випадків травми ока, які призводять до обмеження

діяльності більше ніж на один день на рік та 750 000 випадків госпіталізації щорічно, з них 200 000 випадків – це проникаюча травма ока [17].

Проникаюча травма ока є причиною сліпоти та незворотних втрат зорових функцій, що призводить до інвалідності. Тоді як, непроникаюча травма ока не завжди потребує госпіталізації, але становить значний економічний тягар для охорони здоров'я у зв'язку з тимчасовою втратою працездатності та витратами на покриття лікування та реабілітацію пацієнтів [13, 17].

В структурі первинного звернення за невідкладною офтальмологічною допомогою провідне місце займають непроникаючі травми ока пов'язані з пошкодженням рогівки. Близько 45% випадків звернень припадає на травматичні ерозії рогівки, тоді як на сторонні тіла рогівки біля 31% випадків звернень [2, 3, 16].

Навіть незначне травматичне пошкодження рогівки може призвести до морфологічних змін та порушити її функціональні властивості. Травма рогівки може призвести до різного ступеня помутніння залежно від величини клітинної та молекулярної реакції на пошкодження [1, 2, 18-20]. З іншого боку, після пошкодження рогівки може виникати стан, коли епітелій рогівки з різних причин нездатний регенерувати та утворювати щільні з'єднання з підлеглою стромою. Зокрема до таких станів відносять стійкі дефекти епітелію та рецидивуючу ерозію рогівки (PER) [21-26].

Стійкі дефекти епітелію рогівки виникають протягом 10-14 днів після травми в результаті неефективної епітелізації на фоні консервативного лікування. Тоді як, для PER характерна поява спонтанних дефектів епітелію після загоєння рани рогівки, яке пов'язане з порушенням адгезії між епітелієм та базальною мембраною [26, 27].

PER супроводжується раптовим болем в оці після пробудження від сну, сльозотечею, блефароспазмом, світлобоязню та відчуттям стороннього тіла в оці. Дані симптоми можуть продовжуватися від декількох годин до днів, та

повторюватися протягом певного часу, що призводить до зниження якості життя та втрати працездатності, потребує тривалого консервативного лікування, а в деяких випадках і хірургічних методів корекції. PEP переважно вражає дорослих у віці від 30 до 80 років, з найбільшою поширеністю у віці від 30 до 40 років, більш характерно для жінок [21, 27, 28].

Попередня травма рогівки є найчастішою причиною виникнення PEP, що становить за даними різних авторів від 45-69% випадків, тоді як дистрофія епітеліальної базальної мембрани складає лише 20-25% [29-31]. За повідомленнями у світовій літературі, PEP при дистрофії епітеліальної базальної мембрани носить двосторонній характер, та описуються випадки сімейної дистрофії за домінуючим типом успадкування. До факторів розвитку PEP, ряд авторів виділяє такі патологічні стани, як синдром сухого ока, цукровий діабет, хронічний блефарит та офтальморозацеа [21, 27, 32, 33].

На даний момент в літературі немає єдиної класифікації PEP. Одні автори виділяють PEP, як окреме захворювання, та розподіляють на первинну та вторинну рецидивуючу ерозію, в залежності від вродженого чи набутого дефекту епітеліальної базальної мембрани. При первинній рецидивуючій ерозії в анамнезі є попередня мікротравма рогівки, як може бути різною за етіологією (травма нігтем чи пальцем, гілкою дерева, склом, листком паперу). Тоді як вторинна рецидивуюча ерозія відноситься до дистрофій рогівки: епітеліальні дистрофії; дистрофії базальної мембрани (дистрофія Когана, дистрофія Рейса –Бюклерса, дистрофія Мисмана); стромальні дистрофії (гратчаста, макулярна, зерниста) [21, 22, 27].

1.2.Патофізіологічні особливості епітелізації рогівки

Порушення цілісності епітелію при травматичному пошкодженні призводить до зниження бар'єрної функції та оптичних властивостей рогівки. За даними літератури відомо, що загоєння рани рогівки є динамічним процесом, що включає в себе апоптоз (загибель) клітин, міграцію,

проліферацію, диференціацію та ремоделювання позаклітинного (екстрацелюлярного) матриксу [1, 18-20, 34].

Каскадний механізм загоєння епітеліальної рани включає дві різні фази: початкову латентну фазу та пізню фазу закриття.

Початкова фаза (латентна, або лаг-фаза) включає збільшення метаболічної активності та субклітинну реорганізацію, що в подальшому ініціює міграції епітеліальних клітин в зону рани. Апоптоз кератоцитів є пусковим механізмом, що спостерігається після пошкодження епітелію та є ймовірною мішенню для модуляції загальної відповіді, що відбувається в процесі загоєння рани рогівки [19, 34, 35]. Раніше в ряді експериментів було показано, що чим більше площа пошкодження епітелію рогівки та підлеглої строми, тим вищий рівень апоптозу кератоцитів [19, 36]. Після апоптозу пошкоджених клітин формується тимчасовий позаклітинний матрикс завдяки виробленню фібронектину. Епітелізація рани рогівки відбувається від периферії дефекту до центру за рахунок міграції лімбальних епітеліальних клітин. Також це супроводжується посиленням синтезу цитоскелетних білків та інтегринів, розташованих у базальній зоні епітеліальних тканин, що відповідають за зв'язок цитоскелетних компонентів з базальною мембраною [20, 36, 37].

Фаза закриття складається з клітинної проліферації та диференціювання клітин, яка завершується відновленням початкової структури та міжклітинних з'єднань [19, 35]. Проліферація клітин епітелію відбувається завдяки поділу базальних клітин епітелію і відновлюється щільність епітеліальних клітин.

Відомо, що при нормальних умовах після пошкодження рогівки епітеліальний шар відновлюється протягом 7-14 днів. Загоєння рани рогівки завершується прикріпленням регенованого епітеліального шару до базальної мембрани через систему гемідесмосоми [19, 35, 38, 39]. Базальні епітеліальні клітини здатні заповнювати пошкоджені ділянки базальної мембрани та прикріплюватися до неї, утворюючи гемідесмосоми та фібрильні

з'єднання. Дефект епітеліальної адгезії або дефіцит базальної мембрани може спричинити підвищений ризик стійких дефектів епітелію рогівки та PER [20, 24, 39, 40].

Стійкі дефекти епітелію рогівки є результатом неефективної епітелізації рогівки та неповного закриття дефекту протягом 10-14 днів після травми, навіть при умові проведення стандартного лікування. Порушення захисного епітелію, структури базальної мембрани, а у деяких випадках і строми рогівки призводять до змін в гомеостазі очної поверхні та утворюють сприятливе середовища для проникнення інфекції [23, 24, 40].

Тоді як PER виникає на фоні нещільного та неповного з'єднання між епітелієм і базальною мембраною, що пов'язане з дисфункцією гемідесмосоми внаслідок травматичного пошкодження. Гемідесмосоми розташовані в базальних епітеліальних клітинах рогівки та є частиною комплексу, який забезпечує щільний структурний зв'язок між внутрішньоклітинним цитоскелетом і базальною мембраною. Дисфункція гемідесмосоми спричинює неповну адгезію епітеліальних клітин до базальної мембрани та утворення повторних ерозій рогівки [19, 35].

На всіх етапах регенерації епітелію, поряд з фазою проліферації, диференціації базальних клітин та ремоделюванню матриксу, відокремлюють важливу роль сигнальним молекулам, які виробляються клітинами епітелію [19, 36, 42]. Цитокіни, що виділяються під час травми відіграють ключову роль в пусковому механізмі реакції загоєння рани, зокрема такі інтерлейкіни, як IL-1 та IL-6. Наприклад, IL-1 модулює апоптоз кератоцитів, опосередковує різні аспекти реакції загоєння ран, включаючи неоваскуляризацію, хемотаксис і стимуляцію імунних клітин. IL-1 відноситься до прозапальних цитокінів та підвищена його експресія корелює з посиленням запаленням рогівки внаслідок травми [36, 43, 44].

Дані цитокіни здатні впливати на експресію факторів росту, таких як епітеліальний фактор росту (EGF), фактори росту кератиноцитів (KGF),

трансформуючий фактор росту (TGF) і тромбоцитарний фактор росту (PDGF). Дані фактори та цитокіни регулюють процеси загоєння, включаючи апоптоз, міграцію, проліферацію та диференціацію клітин та широко описані у сучасній науковій літературі [19, 36, 44].

Окрім цього, у процесі загоєння рани рогівки відіграють важливу роль нервові волокна, які опосередковано через сигнальні молекули, такі як нейропептиди та фактор росту нервів впливають на епітелізацію [45-49]. Також це підтверджують дослідження, проведені при герпетичній інфекції та діабетичній полінейропатії, що загоєння епітеліальних ран рогівки відбувається довготривалий період внаслідок пошкодження іннервації [50, 51].

Дослідження останніх років продемонстрували важливість стану базальної мембрани у загоєнні рани рогівки [35, 52, 53]. Наприклад, Pal-Ghosh та інші дослідники продемонстрували, що видалення базальної мембрани провокує апоптоз кератоцитів та загибель нервів [52]. Оперативні втручання на рогівці, травма або інфекція провокують появу стромальних міофібробластів, які призводять до стійких помутнінь рогівки. Нормально функціонуюча базальна мембрана створює бар'єр для проникнення TGF- β 1 і PDGF в строму і тим самим запобігає розвитку міофібробластів [19, 53, 54]. Тоді як, при пошкодженні базальної мембрани відбувається проникнення даних цитокінів у строму рогівки, що ініціює диференціювання клітин-попередників міофібробластів. Внаслідок цього відбувається заміщення дефекту міофібробластами та зміна морфології рогівки. Фіброз та помутніння розвивається в результаті зниження прозорості самих клітин і виробництва невпорядкованих компонентів екстрацелюлярного матриксу стромальними клітинами [1, 35, 53, 55].

На всіх етапах заживлення ран рогівки є важливим баланс між проангіогенними та антиангіогенними факторами, завдяки чому зберігається прозорість та авскулярність [56-60]. Основними проангіогенним факторам, що

активуються внаслідок гіпоксії є фактор росту ендотелію судин (VEGF). VEGF ідентифікований як важливий патофізіологічний медіатор у розвитку та підтримці ангиогенезу, що спостерігається при неоваскуляризації рогівки [57, 61].

Серед основних антиангіогенних факторів, що експресуються в рогівці є ангиостатини, ендостатин, тромбоспондин (TSP) і фактор пігментного епітелію (PEDF). В ряді досліджень встановлено, що продукція ангиостатинів в епітелії рогівки помітно зростає при загоєнні ран рогівки. В експерименті було продемонстровано успішне лікування сегментарної неоваскуляризації рогівки після ексимер лазерної кератомії за допомогою антитіл анти-ангиостатину, що підтверджує дану теорію [61, 63].

Ангиостатини присутні у значних кількостях у слізній рідині здорових людей та відіграють ключову роль у запобіганні неоваскуляризації в умовах гіпоксії. Раніше було показано, що ангиостатини постійно утворюються епітелієм рогівки і беруть участь у підтримці прозорості рогівки через інгібування VEGF-опосередкованого проангіогенного сигналу, пригнічуючи надмірний ріст капілярів під час травми рогівки та запалення [64, 67].

Внаслідок гіпоксії, що розвивається після пошкодження рогівки, відбувається порушення функції епітеліального бар'єру, набряк рогівки, ендотеліальна дисфункція та зміни в стромі [58, 59, 66-68]. Гіпоксія запускає численні шляхи для адаптації клітин до нестачі кисню. Відбувається активація сигнальних шляхів, що призводить до змін метаболізму, генерація активних форм кисню, ангиогенезу та прогресуванні клітинного циклу або апоптозу. Численні дослідження продемонстрували, що гіпоксія індукбельний фактор-1 (HIF-1 α) бере участь у регуляції ангиогенезу для компенсації недостатності кисню у пошкодженій тканині та є проксимальним регулятором експресії VEGF та матричної металопротеїнази (MMP) [59, 68, 71]. В експериментах проведених на кролях та епітелію рогівки людини показало, що короткочасний

вплив гіпоксії змінює бар'єрну функцію епітелію, порушуючи щільні з'єднання між епітеліальними клітинами [70, 71].

Групою дослідників на чолі з McКау показали, що гіпоксія призводить до зменшення вироблення колагену I, колагену IV і ламініну, структурного компоненту екстрацелюлярного матриксу, та одночасно провокує збільшення вироблення MMP, що в свою чергу відповідає за деградацію білків позаклітинного матриксу та є ключовим фактором в її ремоделюванні [35, 69, 73].

Було виявлено, що цистеїнові катепсини разом з MMP у тканині рогівки розщеплюють протеїн-попередник ангіостатинів (плазміноген), відповідаючи таким чином за утворення цих антиангіогенних поліпептидів у рогівці [63, 65, 67, 74]. Надмірне підвищення активності MMP може призвести до аномальної деградації позаклітинного матриксу, пригнічення репаративного ангіогенезу через масивну деградацію плазміногену та утворення надмірного рівня ангіостатину, що перешкоджає належному загоєнню ран рогівки.

Однак у сучасній літературі, недостатньо розкрита взаємодія ангіостатинів та MMP при травматичних пошкодженнях рогівки та їх роль у виникненні станів, пов'язаних з порушенням епітелізації рогівки.

1.3. Роль матриксної металопротеїнази в епітелізації рогівки

Матриксні металопротеїнази (MMP) – це Zn^{2+} -залежні ендопептидази, які відіграють важливу роль в міграції клітин та ремоделювання тканин в таких фізіологічних процесах, як ембріогенез, розвиток кісток та загоєння ран [75-80]. Класифікують більше 25 протеїназ в залежності від хімічного субстрату, та близько 13 виявлено в рогівці:

- колагенази (MMP-1, -8 і -13),
- желатинази А і В (MMP-2 і -9),
- стромелізени (MMP- 3, -10 і -11),

- матрилізін (ММР-7),
- металоеластаза макрофагів (ММР-12)
- ММР мембранного типу (МТ-ММР; ММР-14, -15, -16, -17, -24, -25)

Загальною властивістю всіх ММР наявність іонів цинку в активному центрі та необхідність іонів кальцію для стабілізації молекули [77,80].

Відомо, що ММР продукуються різними типами клітин (стромальними фібробластами, макрофагами, ендотеліальними та епітеліальними клітинами) у вигляді неактивних проферментів, що містять пропептидний домен, який необхідно видалити для активності протеази. ММР мають здатність розщеплювати елементи позаклітинного матриксу, такі як колаген, фібронектин, протеоглікани та ламінін, дозволяючи вивільнити регуляторні молекули, що відповідають за міграцію клітин. ММР також беруть участь в утворенні біологічно активних білкових фрагментів, активації та дезактивації інших протеїназ, синтезі та вивільненні молекул клітинної адгезії, сигнальних молекул і факторів росту. Таким чином, ММР беруть участь у передачі сигналів у клітину та контролюють клітинну проліферацію, міграцію, диференціацію та адгезію [75,76,78].

За фізіологічних умов така активність життєво необхідна в процесах ангіогенезу та ембріонального розвитку. Тоді як, порушення регуляції ММР призводить до запальних станів, аутоімунних захворювань, аномального ангіогенезу, фіброзу та канцерогенезу. Зокрема, дисбаланс між ММР та їх тканиними інгібіторами (ТІМР) встановлено при таких патологічних станах, як цукровий діабет та його судинні ускладнення, нефропатія, наслідки серцево-судинних захворювань [80,86].

Як показують дослідження, при травматичному пошкодженні рогівки пусковим фактором загоєння ран є вивільнення ізоформи ММР-9, внаслідок чого запускається каскад змін у системі клітина-клітина та клітина-матрикс, що призводить до ремоделювання екстрацелюлярного матриксу. У процесі

загоєння рогівки ММР-9 можуть вироблятися шляхом швидких або тривалих трансформацій [78,79,84].

Перший механізм характеризується швидким піком активності ММР-9 під час загоєння епітеліальних ран. При травмі реепітелізація починається відразу після пошкодження тканини. Він передбачає відновлення екстрацелюлярного матриксу та міграцію клітин в зону пошкодження. Після того, як епітеліальний дефект закрито, базальні епітеліальні клітини ініціюють регенерацію БМ. Процес відновлення міжклітинних з'єднань між епітелієм та компонентами БМ регулюється завдяки ферментам групи ММР [19,35,78,84].

Дані досліджень показують, що ММР-9 синтезується та секретується базальними клітинами епітелію рогівки на краю мігруючого епітелію після пошкодження, таким чином контролюючи реепітелізацію БМ та стимулюють клітини до міграції. Активність ММР-9 відмічається протягом 24 годин після травми та знижується протягом кількох тижнів, до того моменту поки базальна мембрана епітелію рогівки повністю відновиться [39,40,74,78].

Коли процес реепітелізації та відновлення БМ завершується, попередники міофібробластів зникають з зони запалення, прозорість рогівки та її оптичні властивості відновлюється. Якщо БМ не регенерується, то запускається тривалий механізм трансформації, у зоні запалення міофібробласти дозрівають і трансформуються в рубцеву (фіброзну) тканину. Фіброз буде зберігатися, до того часу поки не відновиться нормальна БМ [1,43,53,55,84].

Ряд досліджень показує [67,86,88], що навіть незначні травми, такі як ерозія рогівки, можуть спричинити її фіброз внаслідок рецидивуючих дефектів епітелію та незавершеної регенерації БМ. Кінцевий результат може залежати від наявності та кількості TIMP, які є природними модуляторами активності ММР. Комплексний аналіз експресії ММР і TIMP під час відновлення епітелію рогівки у мишей показав чіткі часово-просторові профілі ММР-9 на різних стадіях регенерації. Аномальна експресія ММР-9 сприяє виникненню багатьох

патологічних станів, таких як діабетична кератопатія, кератоконус, хронічні (персистуючі) рани рогівки та рецидивуючі ерозії рогівки [21,24,26,67].

У пацієнтів з РЕР спостерігається підвищена регуляція MMP-9, що призводить до розщеплення колагену типів IV, V, VII і X, а також молекул адгезії фібронектину. Крім того, надмірне розщеплення MMP-9 ланцюга гемідесмосоми компонента інтегрину α може призвести до порушення в системі гемідесмосоми нещільного з'єднання з базальною мембраною [21,33,67,76].

Раніше повідомлялося, що активні форми MMP-9 присутні у пацієнтів із травматичними пошкодженнями допоміжного апарату ока, виразками рогівки, при кератоконусі, синдромі сухого ока. Рівні MMP-9 корелюють з активністю запального процесу поверхні ока та ремоделювання рубців [74,84,87-90]. Запропоновано використовувати MMP-9 як маркер розвитку патологічних процесів поверхні ока. Однак немає робіт присвячених комплексній оцінці маркерів ангиогенезу разом з активністю MMP у слізній рідині при травматичних пошкодженнях рогівки та рецидивуючих ерозіях, спричинених травмою. Визначення даних маркерів може бути корисним для неінвазивної діагностики та належної оцінки загоєння ран рогівки.

1.4. Сльозова рідина та її роль в підтримці гомеостазу рогівки

Останніми роками чимало публікацій присвячено вивченню біохімічного складу слізної рідини, її ролі в метаболізмі рогівки в нормі та при патологічних станах [91-100]. За даними літератури, саме слізна рідина відіграє важливу роль у підтримці гомеостазу поверхні ока. Виділяють наступні функції CR [91,97,99]:

1. зволоження поверхні ока та зменшення тертя між поверхнею ока та повіками під час моргання;
2. забезпечення киснем та електролітами рогівку, які необхідні для її метаболізму;
3. захист ока від навколишнього середовища та інвазії патогенної флори.

СР є доступною біологічною рідиною для виконання дослідження, ніж сироватка або плазма крові. Незважаючи на відносно невелику кількість, СР представляє собою складну біологічну суміш, яка містить білки, електроліти, ліпіди та метаболіти [98,101,102]. Дослідження слізної рідини людини за допомогою рідинної хромато маспектроскопії виявило понад 3500 білків.

Після ряду публікацій [102,104] було запропоновано використовувати слюзу як джерело діагностичних та прогностичних біомаркерів. Склад СР може відображати фізіологічний стан та метаболічну активність у тканинах рогівки, як в нормі, так і при патологічних станах [100,102-104].

Зокрема, Бездітко П.А. та автори досліджували зміни цитокинового складу СР у хворих на бактеріальний кератит і цукровий діабет в залежності від важкості перебігу захворювання. Завдяки цій роботі розширено дані про зміни прозапальних цитокінів при запальних захворюваннях рогівки, зокрема інтерлейкінів (IL-1 β й IL-6) у СР та протизапальних цитокінів (IL-10). Також ряд робіт присвячено вивченню імунокомплексних змін у СР при офтальмогерпесі та при комплексному лікуванні даного захворювання [106,107].

В останні роки широко вивчаються зміни окисно-відновних ферментів та перикисного окислення ліпідів, що відображає стан антиоксидантної системи поверхні ока. Зокрема у літературі зустрічаються роботи присвячені вивченню вмісту лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази та глутатіонпероксидази у СР за розвитку експериментального кон'юнктивіту на фоні цукрового діабету, при травмах рогівки залізовмісними сторонніми тілами [104,107,108].

СР містить багато ферментів та білків, які відіграють важливу роль у метаболізмі, поділі клітин, експресії генів та реакції імунної системи. Гомеостаз СР підтримується специфічними ферментами, що виробляються слізними залозами, епітеліальними клітинами рогівки та кон'юнктиви. Багато білків СР є захисними, відіграючи значну роль в

антиоксидантному захисті та клітинному обміні в тканинах кон'юнктиви та рогівки [98,103,104,109-112].

Зокрема до таких білків СР, відноситься лактоферин (ЛФ) – мультикомпонентний протеїн, що забезпечує антибактеріальну, противірусну, протигрибкову, протипаразитарну та протизапальну дію. Сучасні дослідження також активно вивчають антиоксидантні, антиангіогенні та протипухлинні властивості ЛФ, його роль в диференціації, остеогенезі та загоєнні ран [110-116].

Найбільш широко вивчена антимікробна активність ЛФ. У ряді досліджень було показано, що даний білок пригнічує ріст бактерій, зокрема таких як, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.* та *Pseudomonas spp.* Окрім того, інші дослідження встановили, що ЛФ запобігає активації комплементу та утворення вільних радикалів, тим самим забезпечує імуномодулюючу дію [111-113].

Як показали результати досліджень, лактоферин впливає як на вроджену, так і набуту імунну відповідь, забезпечує антиоксидантну дію, сприяє зменшенню впливу оксидативного стресу та запалення у тканинах [116,117]. Зокрема, завдяки своїй здатності хелатувати залізо, лактоферин забезпечує поглинання радикалів і гідроксилів, таким чином пригнічуючи прозапальні процеси та пошкодження тканин активними формами кисню. З іншого боку, лактоферин послаблює надмірне запалення шляхом пригнічення класичної активації комплементу та зниження регуляції медіаторів запалення, таких як фактор некрозу пухлин, ІЛ-1, -6 і -8, та молекули міжклітинної адгезії [118-122].

Також у ряді експериментів було показано, що лактоферин здатний утворювати комплекс з церулоплазміном як *in vivo*, так і *in vitro*, що запускає механізм антиоксидантних процесів при пошкодженні. Відомо, що церулоплазмін є протеїном гострої фази запалення, що відноситься до

сімейства мультоксидаз міді, рівень якого істотно зростає при запальних станах. Однією з фізіологічних реакцій, що каталізується церулоплазміном в даному комплексі, є окислення Fe^{2+} до Fe^{3+} , що дозволяє зв'язувати вільне залізо з трансферином та внаслідок цього блокувати субстрат для росту бактерій [119]. Роль ЦП в імунитеті організму пов'язана з елімінацією вільних радикалів, окисненням та апоптозом нейтрофільних гранулоцитів [123-126,132].

Як багатофункціональний білок, ЛФ проявляє антивірусну активність, зокрема в ранній фазі інфікування перешкоджає проникненню вірусу в клітину господаря. Пригнічення вірусної інфекції відбувається за рахунок взаємодії ЛФ з глікозаміноглікановими рецепторами клітин-мішеней вірусу або через безпосередню взаємодію з вірусними частинками [113,116].

В той же час показано в експерименті Pattamatta U., що місцеве застосування лактоферину зменшує наслідки опромінення пошкодженого епітелію рогівки на моделях мишей, а також сприяє загоєнню рани рогівки після опіку лугом [127].

За даними аналізу літератури та ряду представлених досліджень, ЛФ складає близько 25% від загальної кількості протеїнів сльози та його середня концентрація у сльозі здорових осіб становить в середньому 1,42 мг/мл. Численні попередні публікації повідомляють про зниження рівня лактоферину при таких патологічних станах, як хронічний кератокон'юнктивіт, блефарокон'юнктивіт та низці інших патологічних станів передньої поверхні ока [121,122,128]. Досліджували зниження рівня ЛФ та його вплив на пахіметричні показники рогівки при кератоконусі [121]. Але в сучасній літературі не зустрічається публікацій, де висвітлюється динаміка кількісних змін ЛФ при регенеративних процесах в рогівці після травматичного пошкодження, взаємозв'язок з рівнем ЛФ та виникнення рецидиву ерозій.

Дані дослідження дозволяють сформулювати гіпотезу, що рівень ЛФ в сльозі може вважатися цінним біомаркером для діагностики та прогнозу

перебігу захворювання, а також використовуватися як лікарський засіб для корекції даних патологічних порушень.

1.5. Сучасні аспекти діагностики та лікування травматичних пошкоджень рогівки

На сьогодні основні методи дослідження рогівки при непроникаючих травмах ока включають біомікроскопію переднього відділу ока, забарвлення очної поверхні вітальними барвниками, фоторегістрація для оцінки захворювання в динаміці [133-142].

В офтальмологічній практиці широко використовують забарвлення очної поверхні вітальними барвниками, зокрема такими як, флюоресцеїн, лісамінновий зелений та бенгальський рожевий. Найбільшого розповсюдження набув флюоресцеїн, так як йому властива нетоксичність на клітини епітелію, біодоступність та інформативність, завдяки здатності забарвлювати апоптозні клітини та міжклітинні з'єднання [143-146].

При травматичному пошкодженні, коли існує підозра на проникаюче поранення та перфорацію рогівки, за допомогою флюоресцеїну проводять тест Зайделя. Даний тест дозволяє виявити витік внутрішньоочної рідини при перфорації рогівки, яка візуалізується завдяки барвнику [140, 141]. При непроникаючих пораненнях рогівки використання флюоресцеїну дозволяє профарбувати ділянку злущених епітеліальних клітин та оцінити площину пошкодження [147-149].

Важливим при біомікроскопії є оцінка дефекту епітелію, а саме локалізація, розмір, глибина пошкодження; наявність ускладнень та запальної реакції в передній камері ока, набряк стромы та її цілісність; наявність васкуляризації рогівки; залучення в процес глибше розташованих структур ока.

Завдяки біомікроскопії не завжди достовірно можливо провести оцінити глибини травматичної ерозії та залягання стороннього тіла рогівки,

тому застосування сучасних діагностичних методів дослідження широко впроваджується в офтальмотравматологію [139, 141, 150].

Нові методи візуалізації стали інструментальними доповненнями до клінічного обстеження при захворюваннях та травмах рогівки. До сучасних методів інструментальної діагностики, які використовують для оцінки передньої поверхні ока та рогівки, відносять конфокальну мікроскопію *in vivo*, топографію рогівки, томографію Шеймпфлюга, ультразвукову біомікроскопію з високою роздільною здатністю та оптичну когерентну томографію (ОСТ) [3,16,138,151-155]. Не всі наведенні інструментальні дослідження є доступні та доцільні у використанні при травматичних пошкодженнях рогівки, але метод ОСТ зарекомендував себе як інформативний діагностичний метод для визначення глибини пошкодження та залягання сторонніх тіл, залучення у патологічний процес глибше розташованих структур очного яблука.

Будучи неінвазивним методом візуалізації, ОСТ можна використовувати для отримання зображень поперечних перерізів тканин в режимі реального часу, без необхідності отримання зразків, як у звичайних процедурах біопсії та гістопатології. Принцип методу полягає в отриманні зображення завдяки інтерферометрії з низькою когерентністю для отримання зображення від структур тканин, що дозволяє прижиттєво оцінити структуру оболонок ока [154, 155, 160].

Вперше метод ОСТ був представлений у 1991 році групою дослідників на чолі з Huang для візуалізації заднього сегмента ока. ОСТ як метод широко використовується в діагностиці патології сітківки та зорового нерва. Багато робіт присвячено стану зорового нерва при глаукомі, патології макулярної ділянки, та при діабетичній ретинопатії [154, 155].

З розвитком технології оптико-когерентної томографії переднього відрозку ока (AS-ОСТ) стало можливим отримання зображення слізної плівки, кон'юнктиви, шарів рогівки, склери, кута передньої камери. Використання

діодного джерела випромінювання з довжиною хвилі 1300 нм та шириною горизонтального сканування 14-16 мм дозволяє з високою роздільною здатністю візуалізувати структури переднього відрізка ока, зокрема рогівку, кут передньої камери та кришталик. За даними досліджень, AS-OCT співставляється з гістологічною будовою рогівки, що дозволяє прижиттєво оцінити структуру оболонок ока [156,161-164].

У науковій літературі зустрічається різноманітні результати досліджень AS-OCT ока при кератоконусі, сторонніх тілах рогівки, мікробних кератитах, при оцінці помутнінь рогівки та товщини рогівки. Даний діагностичний метод при пошкодженнях рогівки дозволяє оцінити морфологічні зміни в шарах рогівки, глибину та площу ерозії, побудувати епітеліальну карту пошкодження рогівки та провести моніторинг епітелізації рогівки [158-160,170,171].

Існуюча терапія непроникаючих пошкоджень рогівки направлена на лікування та профілактику інфекційних ускладнень, зменшення запальних реакцій, регенерацію рогівки і відновленню сльозової плівки. Незважаючи на застосування комплексної терапії при травматичних пошкодженнях рогівки спостерігаються ускладнення у вигляді посттравматичних кератитів, рецидивуючої ерозії, помутніння та васкуляризації рогівки [3, 16, 21,172-175].

В першу чергу, лікування ерозій рогівки передбачає запобігання приєднання інфекції в раньовий процес. Поточні рекомендації Американської Асоціації офтальмологів, щодо лікування травматичних ерозій рогівки наголошують на застосуванні місцевих антибіотиків, першої ланки антибактеріальних препаратів, а саме групи фторхінолонів (офлоксацин) або хінолонів (ципрофлоксацин) [136,175,176]. Також в практиці офтальмотравматології широко використовують мазеві форми АБ, зокрема препарати тетрациклінового ряду (тетрациклінова 1% очна мазь), які не лише чинять антимікробну дію, але завдяки своїм властивостям забезпечують змащувальний ефект та прикриття ерозії [136,175].

Перехресне крос-секційне, проспективне загальнонаціональне дослідження «Моніторинг стійкості очних мікроорганізмів до антибіотиків» показало збільшення стійкості до АБ препаратів в офтальмології. Зростаюче міжнародне занепокоєння з приводу протимікробної стійкості призвело до посилення уваги з приводу призначення антибактеріальної терапії та направлена на доцільне використання АБ для збереження їхньої ефективності в майбутньому при важких інфекційних захворювань ока [176-183]. Тому світові дослідницькі центри пропонують зменшення використання АБ при первинному зверненні, доцільність їх використання враховувати в кожному випадку індивідуально.

Потужним протизапальним препаратом, що використовують для лікування внутрішньоочного запалення є кортикостероїди. Їхній механізм дії полягає в пригніченні вироблення медіаторів запалення, зокрема пригнічення хемотаксису нейтрофілів та цитокінів. Але з іншого боку стероїди сповільнюють загоєння рани рогівки, тому доцільність використання даної групи препаратів навіть після епітелізації рогівки досі залишається темою для дискусій [184-186].

Останніми роками широко використовують імуномодулятори місцевої дії, які застосовують з ціллю зміни активності імунної системи та зменшення запалення. Одним з таких препаратів є циклоспорин А, який є циклічним нерибосомним пептидом з 11 амінокислот та першим імунодепресантом в офтальмологічній емульсії для місцевого застосування [136, 187]. Даний препарат був розроблений для застосування в трансплантології для профілактики відторгнення органів та здобув широкого застосування при важкій формі хвороби сухого ока. У дослідження показано, що місцеве застосування циклоспорину А знижує активність MMP-2, MMP-9 та MMP-13, зменшує епітеліальний апоптоз та секрецію цитокінів. Циклоспорин А було

запропоновано використовувати для запобігання наслідків травматичних пошкоджень, таких як неоваскуляризація та помутніння рогівки [187].

Серед засобів, що позитивно впливають на регенерацію та репарацію епітелію рогівки використовують наступні речовини: декспантенол, гіалуронову кислоту, аутологічну сироватку та препарати на основі факторів росту [188-194].

Декспантенол - є похідним Д –пантотенової кислоти, якому притаманні гігроскопічні властивості, здатність утримувати вологу на очній поверхні та доведений позитивний ефект на загоєння епітелію. Пантотенова кислота та її похідні є попередниками коензиму А, що захищають клітини та органи від пероксидантного пошкодження за рахунок збільшення глутатіону в клітинах. Карбомер в складі препаратів з декспантенолом збільшує перебування препарату на поверхні ока та додатково підсилює його регенеративні властивості [189, 192, 194]. Завдяки цьому, декспантенол набув широкого застосування для лікування травматичних пошкоджень рогівки, а також в післяопераційний період для відновлення ділянок деепітелізації.

Гіалуронова кислота належить до групи глікозаміногліканів та впливає на окремі фази загоєння ран рогівки. За результатами досліджень *in vivo* та *in vitro*, відомо, що гіалуронова кислота сприяє загоєнню ран рогівки, викликаючи проліферацію та міграцію епітеліальних клітин рогівки [192, 195, 196]. Однак в залежності від мукоадгезивних властивостей та походження молекули (тваринного чи рослинного) залежить період контакту препарату гіалуронової кислоти з рогівкою, його біодоступність та мукоадгезійні властивості. Дослідження залежить період контакту з рогівкою, біодоступність препарату та її мукоадгезійні властивості. При дослідженні впливу препаратів гіалуронової кислоти та її похідних на епітелізацію рогівки після травми на моделі мишей *in vivo* показало, що швидкість епітелізації та відсоток площі реепітелізації рогівки вищий у групі з використанням

гідроксипропіл гуарем на 53% порівняно препаратами, що містять гіалуронову кислоту [197].

За останні роки вийшла значна кількість публікацій ефективного використання препаратів на основі аутологічної сироватки, включаючи стійки дефекти епітелію та нейротрофічні захворювання рогівки. Позитивний ефект від застосування аутологічної сироватки пояснюється вмістом в ній епітеліальних факторів росту (епідермальний фактор росту, фактор росту фібробластів, фібронектин, трансформуючий фактор росту) та аналогічним складом протеїнів порівняно з сльозою [136, 189, 190]. Проте на даний час немає стандартного протоколу підготовки та зберігання даних препаратів, клінічного консенсусу, щодо тривалості лікування та отриманих клінічних результатів.

На етапі дослідження знаходиться препарат, в складі яких є комбінація нейропептиду Р та інсуліноподібного фактору росту. Дані фактори приймають участь в адгезії епітеліальних клітин до базальної мембрани, міграції та проліферації епітелію. Опубліковані дані, щодо успішного застосування в комплексі нейропептиду Р з інсуліноподібним фактором росту при стійких дефектах епітелію рогівки та ефективність закриття дефекту епітелію рогівки шляхом покращення міграції епітелію в ділянці пошкодження [191, 193].

Як бачимо, лікування травматичних пошкоджень не завжди є простим завданням, адже має бути комплексний підхід, що буде впливати на декілька ланок патогенезу епітелізації рани та запалення одночасно. У зв'язку з цим пропонуються різні методи додаткової корекції та лікування травматичних пошкоджень рогівки. Широкого застосування здобули біологічно активні сполуки, які є одночасно компонентом сльозової плівки та можуть впливати на метаболічні зміни спрямовані на збереження гомеостазу очної поверхні. Зокрема таким препаратом є лактоферин, який можна використовувати

додатково з іншими методами для досягнення максимальної ефективності лікування.

Резюме до розділу 1

Таким чином, на підставі аналізу літератури з проблеми, що досліджується у дисертації, можемо зробити висновки, травма ока є основною причиною погіршення зору та сліпоти, особливо в країнах, що розвиваються та призводить до значних соціально-економічних наслідків. Також одним із несприятливих наслідків травми ока є виникнення рецидивуючої ерозії рогівки, яка призводить до втрати працездатності від декількох днів до тижнів, потребує тривалого консервативного лікування, а в деяких випадках і хірургічних методів корекції.

Поглиблене розуміння патогенетичних механізмів, що лежать в основі загоєння рани рогівки, зокрема, травматичних ерозій рогівки, а також порушення регуляції даного процесу, як у випадку рецидивуючих ерозій рогівки, повинно дозволити розробити комплексний підхід у лікуванні, спрямований на прискорення процесу загоєння ран рогівки.

РОЗДІЛ 2. ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Дизайн дослідження, загальна характеристика

Дисертаційна робота виконувалася на клінічній базі кафедри офтальмології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця «Олександрівська клінічна лікарня м. Києва» в період 2020-2024 років.

Дослідження було емпіричним, аналітичним, проспективним, когортним, випадок – контроль. Пацієнти, дані яких використовували у дисертаційному дослідженні, давали інформовану згоду, текст якої затверджено на засіданні кафедри офтальмології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (протокол засідання №5 від «27» жовтня 2020 р.).

Проведення даного дослідження було узгоджено та затверджено на Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень при Національному медичному університеті ім. О. О. Богомольця від 10.11.2020 року (протокол засідання №138).

Всі клінічні дослідження проводилися відповідно до біоетичних вимог Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964 р. з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 р.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977 р.), відповідного положення Всесвітньої організації охорони здоров'я, Міжнародної ради медичних наукових товариств, міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.) та законам України та наказу Міністерства охорони здоров'я України від 23.09.2009 р. № 690.

Під нашим спостереженням було 120 пацієнтів віком від 19 до 65 років (39 ± 9), з них 71 чоловік (59,2%) та 49 жінок (40,8%). В залежності від клінічних проявів пацієнти розподіленні на дві групи.

Таблиця 2.1

Характеристика пацієнтів по групах

Показник		Стать		Середній вік, років	Кількість очей
		Чоловіки Абс / %	Жінки Абс / %		
Група травматична ерозія рогівки	Підгрупа 1 38	25	13	39 ± 9	76 очей
	Підгрупа 2 38	22	16		
Група рецидивуюча ерозія рогівки	Підгрупа 1 22	10	12	40 ± 8	44 ока
	Підгрупа 2 22	8	14		
Контрольна група		18 (50%)	18 (50%)	29 ± 8	36 очей

Згідно даних таблиці, середній вік пацієнтів припадає на працездатних осіб, що в свою чергу становить важливу соціально економічну проблему, так як втрата працездатності від травми рогівки та її наслідків триває від декілька днів до тижнів. Статистично значущої відмінності розподілу пацієнтів за статтю та віком в групах не виявлено.

До першої групи включено 76 пацієнти (76 очей) з вперше встановленим діагнозом травматична ерозія рогівки (ТЕР), яка мала різну етіологію. Серед етіологічних факторів переважав механічний фактор: удар металевим стороннім тілом, пальцем дитини, гілкою дерева, листком рослини, котяча подряпина.

До другої групи включено 44 пацієнтів (44 очей) з діагнозом – рецидивуюча ерозія рогівки (PER). Даний діагноз встановили на основі ретельного збору анамнезу та огляду. Враховували такі фактори як наявність в анамнезі травми ока, попередні епізоди ерозії рогівки, частота виникнення рецидивів, період від моменту травми до часу виникнення рецидиву. До дослідження було включено пацієнтів з рецидивуючою ерозією рогівки після попередньої травми ока.

Наступним етапом дослідження був розподіл груп в залежності від способу лікування. Підгрупа 1 отримувала лікування за схемою: очні краплі з антибіотиком (клас хінолонів, діюча речовина ципрофлоксацин гідрохлорид) 4 рази на день та декспантенол з частотою інсталяцій 4 раз на добу протягом 7 днів. Підгрупа 2 додатково очні краплі з основною діючою речовиною лактоферин 4 рази в день протягом 7 днів, потім продовжували інсталяцію лактоферину 2 рази на день 7 днів.

Для дослідження біохімічних змін в сльозі при травматичних та рецидивуючих ерозіях було прийнято рішення включити у дослідження контрольну групу. До контрольної групи входили 36 людей (36 очей) – 18 чоловіків і 18 жінок, віком від 18 до 45 років (29 ± 8), без ознак і симптомів синдрому сухого ока та хірургічних втручань на очах в анамнезі.

Критерії включення:

пацієнти з непроникаючими пошкодженнями рогівки (травматичні ерозії рогівки)

пацієнти з рецидивуючими ерозіями рогівки (посттравматичні)

вік старше 18 років

Критерії виключення:

пацієнти віком менше 18 років

- вагітні та жінки в період лактації;
- пацієнти з цукровим діабетом;
- пацієнти з захворюваннями сполучної тканини та аутоімунними захворюваннями
- пацієнти з вірусними чи грибковими ураженнями рогівки
- опікова травма рогівки
- пацієнти, з кератоконусом або субклінічним кератоконусом
- пацієнти, що перенесли офтальмологічне хірургічне втручання;
- пацієнти з хронічними запальними процесами повік;
- пацієнти з рубцевими деформаціями повік
- пацієнти з офтальморозацеа

2.2. Методи офтальмологічних досліджень

При проведенні дисертаційного дослідження всім пацієнтам проводилося комплексне офтальмологічне обстеження на першу, третю та сьому добу.

Збір анамнезу. Включав отримання даних про механізм та час отримання травми, період від моменту виникнення травми до звернення за офтальмологічною допомогою. При зверненні пацієнти пред'являли наступні скарги світлобоязнь, слезотеча, відчуття стороннього тіла в оці, зниження та затуманення зору. При рецидивуючій ерозії рогівки враховували кількість епізодів рецидиву (мінімум 1 випадок ерозії рогівки після травми) та звертали увагу на характерні (типові) скарги, такі як раптовий біль в оці після пробудження, відчуття стороннього тіла та затуманення зору. Додатково збирали амнестичні дані, щодо загального статусу, професійної діяльності, застосування ліків, перенесених захворювань та оперативних втручань.

Оцінку суб'єктивних скарг пацієнта проводили за допомогою модифікованої шкали: ступінь прояву рогівкового синдрому (сльозотеча, світлобоязнь, блефароспазм), відчуття стороннього тіла: 0-немає, 1-слабо виражений, 2- помірно виражений, 3 -значно виражений.

Візометрія. Дослідження гостроти зору проводилось за допомогою таблиць Головіна-Сівцева за стандартною загальноприйнятою методикою з відстані 5 метрів без корекції та з максимальною корекцією (найкраща коригована гострота зору). Для визначення гостроти зору менше 0,1 використовували набір оптотипів Поляка. Так як, початкова рефракція у всіх пацієнтів відрізнялася, використовували для аналізу кориговану гостроту зору, але для оцінки ефективності лікування важливим був суб'єктивний результат покращення гостроти зору в кожному випадку.

Авторефрактометрія. Об'єктивну рефракцію у пацієнтів визначали за допомогою авторефкератометра Unicos URK-700 (Корея). Вимірювання для кожного ока проводилося тричі та фіксували середнє значення в діоптріях з точністю до - 0,25 дптр. Отримані середні показники рефракції використовували для визначення найкращої коригованої гостроти зору.

Біомікроскопія. Дослідження проводилася за допомогою щілинної лампи Carl Zeiss Meditec AG (Німечинна).

Спочатку проводили огляд та оцінку кон'юнктиви за наступними критеріями: 1) Ін'єкція очного яблука: 0 – кон'юнктива блідо-рожева, відповідає фізіологічній нормі 1 – кон'юнктивальна ін'єкція 2 – перикорнеальна ін'єкція 3 - змішана ін'єкція; 2) виділення з кон'юнктивальної порожнини: 0–виділення відсутні; 1–слизові помірні виділення; 2–слизові виражені виділення; 3–слизово-гнійні виділення.

При огляді рогівки визначали локалізацію пошкодження, наявність набряку та васкуляризації рогівки за наступною шкалою: 1) набряк рогівки: 0 – відсутній; 1 – наявний в зоні пошкодження; 2 – локальний набряк з

переходом на поверхневі шари стромі; 2) васкуляризація рогівки: 0 – відсутня; 1 – наявна.

Флюоресцеїнова проба проводилася з застосуванням одноразових стерильних паперових смужок Fluo Strip, що містить 1 мг fluorescein sodium. В кон'юнктивальну порожнину закладали тестові полоски, змоченні фізіологічним розчином. При морганні барвник поширюється по рогівці і забарвлює дефект епітелію. При нормальному освітленні ерозія забарвлюється в жовтий колір, а при використанні фільтру з кобальтовим-синім у зелений колір.

Застосовували модифіковані шкали на основі 5-зонної моделі рогівки National Eye Institute та Baylor [12]. Зона 1 відповідає центру рогівки і має круглу форму, а 4 сегмента, що рівномірно розділенні навколо центральної зони, відповідно, зони 2-5 (верхня, темпоральна, назальна та нижня). Ступінь фарбування кожного сектора в 5-зональній моделі рогівки оцінювали за шкалою: 0 – відсутнє фарбування; 1 – поодинокі точкові профарбовування; 2 – множинні точкові профарбовування; 3 – зливне фарбування (максимальна кількість балів – 15).

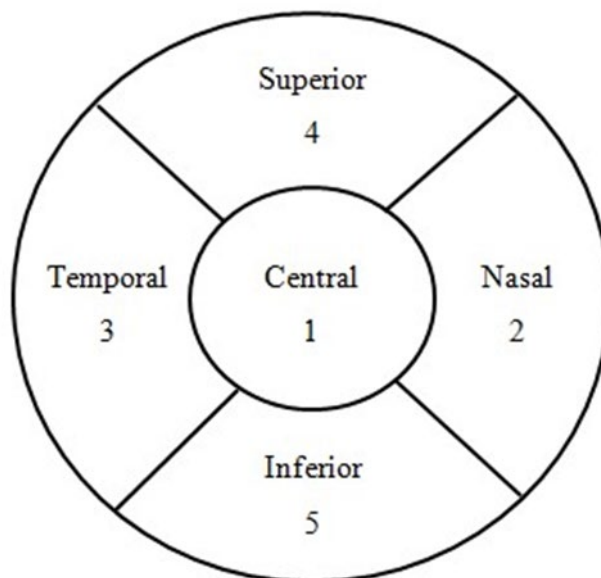


Рис.2.2 Схеми рогівки

Оптико-когерентна томографія(ОКТ) проводилася на апараті Optopol Revo NX 130 безконтактним неінвазивним методом. Зображення рогівки отримували за допомогою спектрального доменна ОКТ, довжиною хвилі 830 нм і 130 000 вимірів в секунду з осьовою роздільною здатністю від 1µм до 3µм. В результаті дослідження оцінювалися морфологічна та анатомо-топографічна структура рогівки, проводяться заміри діаметра та глибини дефекту рогівки, товщину епітелію.

Потрібно відмітити, що при обстеженні проводили співставлення ділянки ураження біомікроскопічно, до і після лікування знімки проводилися в одній і тій самій площині при збереженні протоколу дослідження. Протокол дослідження: число А-сканів 1024*5/20, розмір скану 6*1mm. Критерії оцінки на ОКТ переднього відрізка:

- діаметр ерозії в найбільшому меридіані
- товщина рогівки
- товщина епітелію
- глибина пошкодження

Для аналізу і оцінки структури переднього відрізка ока використовували шаблон відображення рогівки в нормі:

- слізна плівка відображається як гіперрефлекторний шар;
- епітелій представлений слабовідбиваючим шаром;
- базальна мембрана – високорефлективна лінія, між епітелієм і стромою;
- шар Боумена- відображається як гіпорекфлекторна лінія;
- строма представляє гомогенну та однорідну структуру по всій площині;
- десцеметово-ендотеліальний комплекс відображається, як гіперрефлективна лінія, що розташовується одразу під стромою.

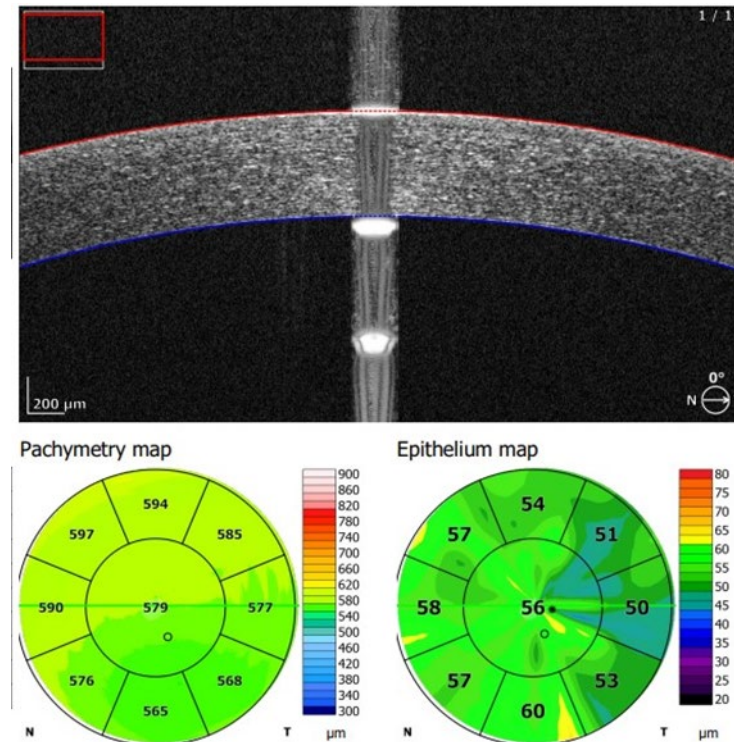


Рис.2.3 Структура нормальної рогівки, пахіметрична та епітеліальна карта рогівки отримана за допомогою AS-ОКТ

2.3. Методи біохімічних досліджень

2.3.1. Збір зразків та підготовка

Зразки сльозової рідини були отримані за допомогою мікропіпетки з одноразовим наконечником. З нижнього меніска без закапування анестетика сльози збирали до стерильної пластикової пробірки типу Епендорф, що містила забуферений фізіологічний розчин (ЗФР) (співвідношення сльоза: буфер – 1:5) і зберігали за $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ перед лабораторними дослідженнями.

Загальний вміст білка в зразках сльозової рідини визначали спектрофотометрично, вимірюючи поглинання на довжині хвилі 280 та 320 нм [Stoscheck CM]. Зразки слізної рідини центрифугували 30 хв. при 10 тис. g за $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ для видалення тканинного дебрису та фібринових згустків. Супернатант змішували з буфером Леммлі у співвідношенні: 2:1. Склад буферу: 62,5 мМ Tris-HCl, pH 6,8, 0,1% SDS, 10% β -меркаптоетанол, 10% гліцерол, 0,001%

бромфеноловий синій, Після ретельного перемішування на вортексі суміш прогрівали за 95 °С протягом 5 хв.

2.3.2. Гель-електрофорез та вестерн блот-аналіз.

За допомогою денатуруючого електрофорезу в 10% поліакриламідному гелі (РААГ) білки сльозової рідини розділяли за молекулярною масою, наносячи зразок із розрахунку 50 мкг загального білка на доріжку гелю. Електрофорез проводили за допомогою камери для вертикального гель-електрофорезу BioRad (США). Для полімеризації акриламиду при формуванні концентруючого (рН 6,8) та розділяючого гелів (рН 8,8) використовували TEMED та 10%-й розчин персульфату амонію. В якості електрофоретичного буфера використовували 25 мМ tris, рН 8,3, який складається з 0,192 М гліцин та 0,1% SDS. При напрузі 30-35 В (15-18 мА) проводили концентрування зразків, та при 45-50 В (30-35 мА) розділення зразків. Після закінчення електрофоретичного розділення гелі обережно виймали з камери та промивали у 25 мМ tris-буфері, рН 8,3, що містив 25% метанолу та 3 М сечовину, що використовувався для проведення імуноблот-аналізу (трансфер-буфер).

Метод імуноблотингу є різновидом твердофазного імунохімічного аналізу. На відміну від імуноферментного аналізу імуноблот дозволяє визначати молекулярну масу досліджуваних протеїнів, що дає додаткову інформацію стосовно утворення міжмолекулярних комплексів або про наявність продуктів протеолітичного розщеплення білка. Імуноблотинг дає змогу проводити напівкількісний аналіз вмісту білків, оскільки інтенсивність імунозабарвлення і площа білкової зони пропорційна вмісту білка у зразку.

Імуноблот-аналіз досліджуваних протеїнів сльози пацієнтів проводили за стандартною методикою, описаною Towbin та ін. [199]. Після електрофоретичного розділення протеїни з гелю переносили на нітроцелюлозну мембрану (діаметр пор 0,45 мкм) за допомогою електроблоту, використовуючи трансфер-буфер. Напруга при переносі становила 45 В при

силі струму 240 мА. Перенос проводили протягом 2 год. у камері з охолодженням. Після переносу білків місця неспецифічного зв'язування антитіл на мембрані блокували 5% розчином знежиреного сухого молока у ЗФР, що містив 0,05% Triton X-100 (ЗФРТ), протягом 90 хв. за 37 °С, після чого мембрани інкубували з відповідними первинними антитілами, взятими у розведеннях згідно з рекомендаціями виробника. У роботі використовували наступні первинні антитіла: антитіла до ангіостатинів та ММР-9. Для детекції лактоферину в імуноблоті використовували кролячі поліклональні антитіла, які отримували згідно з описаною методикою [200]. Імунохімічний аналіз церулоплазміну проводили з використанням мишачих моноклональних антитіл виробництва Santa Cruz Biotechnology, США (кат. номер sc-365205). Інкубацію з первинними антитілами проводили протягом 16 год. за 4 °С з наступною відмивкою від неспецифічно зв'язаних антитіл у шести змінах PBST. Після промивки мембрани інкубували з відповідними антивидовими вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрому (anti-rabbit IgG у розведенні 1:6000 та anti-mouse IgG у розведенні 1:8000, виробництва Invitrogen, USA, каталожні номери G-21234 та G-31430 відповідно) протягом 2 год за 37°С. Після відмивки від неспецифічно зв'язаних антитіл імунореактивні зони візуалізували за допомогою підсиленої хемілюмінесценції (ECL), використовуючи 0,25 М розчин люмінолу у ДМСО, 0,09 М розчин кумарової кислоти у ДМСО та 0,0035% H₂O₂, розчинених у 0,1 М трис-НСl (рН 8,5), авторадіографією на рентгенівських плівках, як описано раніше (Alegria-Schaffer, 2014). У залежності від інтенсивності сигналу хемілюмінесценції час експозиції мембрани на плівці становив від 5 секунд до 10 хв. Для проявлення плівок їх обробляли комерційними розчинами проявлення та фіксажу. Після проявлення плівки сканували, напівкількісний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою денситометрії забарвлених імунореактивних зон, використовуючи програмне забезпечення TotalLab (TL120, Nonlinear Inc, США). Молекулярну масу протеїнів у зразках

визначали, порівнюючи їхню міграцію з розташуванням на нітроцелюлозній мембрані забарвлених маркерів Page Ruler™ Plus Prestained Protein Ladder (ThermoScientific, Литва, кат. № 26619) у діапазоні 10-230 кДа. Інтенсивність імунозабарвлення і площа білкової зони є пропорційними вмісту білка у зразку і виражалася в умовних одиницях (у. о.) оптичної густини.

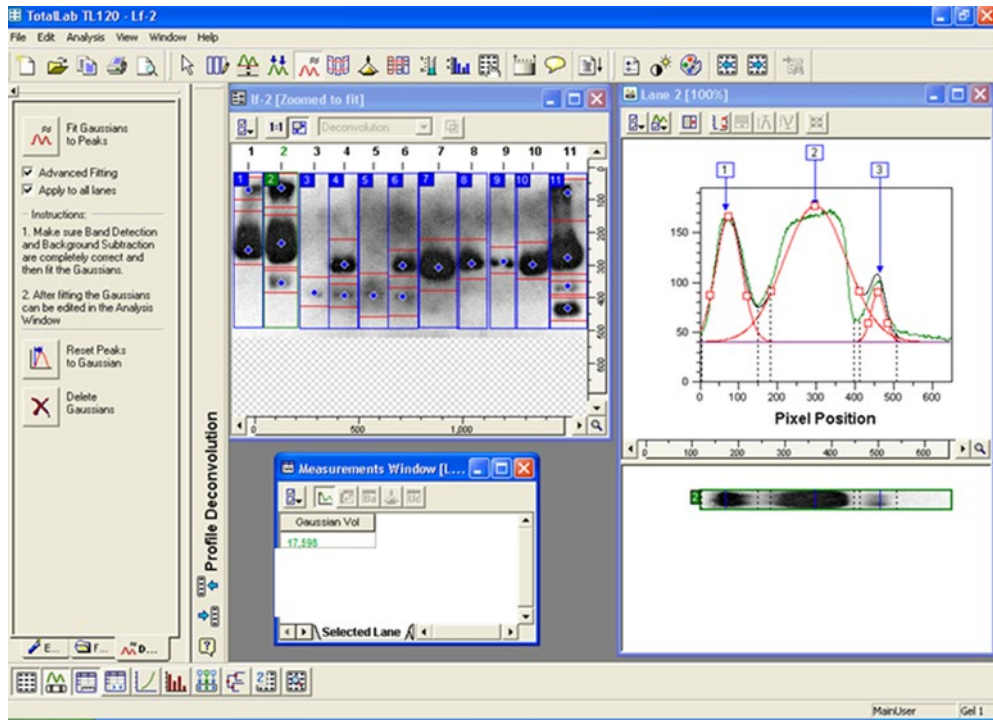


Рис.2.4 Приклад денсометрії за допомогою забезпечення TotalLab (TL120, Nonlinear Inc, США)

2.3.3. Желатинова зимографія.

Активні форми MMP-9 (желатиназа В) у зразках сльозової рідини виявляли за допомогою желатинової зимографії з використанням сополімеру 8% ПААГ з желатином (3 мг/мл) у присутності 0,1% SDS за умов проведення гель-електрофорезу, описаних у п. 2.3.3. Концентрація протеїну у зразках слізної рідини становила 50 мкг на лунку. Після закінчення електрофорезу гель відмивали у холодній бідистильованій воді, а потім в охолоджену 2,5% водному розчині Triton X-100 для видалення залишків SDS та ренатурації протеїнів, а потім у п'яти змінах холодної бідистильованої води. Для розвитку протеолітичної активності проводили інкубацію гелю при 37 °C протягом 16

год. у розчині наступного складу: 0,05 мМ трис-НСІ (рН 7,6), 0,15 М NaCl, 0,01М CaCl₂, 0,05 М ZnCl₂, 0,05% Tween-20 та 0,02% NaN₃. У ході інкубації желатинази, що мігрували в гелі, здійснювали гідроліз субстрату. Далі гелі забарвлювали Coomassie Brilliant Blue R-250, розчиненого у водному розчині 10% оцтової кислоти та 30% етанолу. Знебарвлення гелів проводили у розчині, що не містив барвника. Наявність активних ММР визначали за проявленням світлих смуг на темнозабарвленому тлі, при цьому інтенсивність та площа смуг є пропорційними активності ензимів. Молекулярну масу ММР визначали за міграцією стандартних маркерів молекулярної ваги.

2.4.Методи статистичної обробки

Статистичний аналіз результатів клінічних досліджень проводили за допомогою пакета програм MedStat V5.2; EZR (R-Statistics).

Для представлення результатів дослідження використовували методи описової статистики. Кількісні зміни представленні середніми величинами зі стандартним відхиленням ($\text{mean} \pm \text{SEM}$). Нормальність розподілу змінних перевіряли тестом Шапіро-Вілка. Для оцінки вірогідності отриманих результатів використовували t-критерій Стьюдента (у випадку нормального розподілу значень кількісної змінної) та непараметричні критерії оцінки вірогідності (у випадку відмінного від нормального розподілу значень первинних даних). При порівнянні трьох та більше груп використовувався Н-критерій Крускала-Уолліса (Kruskal-Wallis test), який призначався для оцінки відмінностей одночасно між трьома і більше вибірками за рівнем якої-небудь ознаки. Цей критерій може розглядатися як непараметричний аналог методу дисперсійного однофакторного аналізу для незв'язаних вибірок. Для порівняння частот категоріальних змінних використовували непараметричні критерії χ^2 Пірсона. Так, зокрема, для визначення вірогідності різниці між середніми величинами, отриманими в незалежних сукупностях використовували критерій Манна-Уїтні. Статистичну значущість результатів

оцінювали за заданим граничним рівнем похибки першого роду не більше за 5% ($p < 0,05$).

Статистичну значущість результатів оцінювали за заданим граничним рівнем похибки першого роду не більше за 5% ($p < 0,05$).

РОЗДІЛ 3. КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПОШКОДЖЕНЬ РОГІВКИ

Непроникаючі поранення рогівки зустрічаються у 80% випадків звернень за невідкладною офтальмологічною допомогою пов'язаних з травмою ока. Травматична ерозія рогівки – це дефект епітеліального шару, що виникає внаслідок різноманітних механічних, фізичних та хімічних факторів. Поверхневі ерозії рогівки епітелізуються протягом 24-48 годин завдяки швидкій регенерації багат шарового неороговівшого епітелію з відновленням морфологічної структури та функції ока. В окремих випадках відбувається порушення епітелізації рогівки, яке призводить до хронічного перебігу, характеризується поліетіологічним запальним процесом, з періодами ремісії та спонтанними рецидивами ерозій. За даними літератури близько 65% зареєстрованих випадків рецидивуючої ерозії пов'язані з попередньою травмою ока [22,27].

В даному розділі наводяться результати клініко-морфологічних особливостей перебігу непроникаючих поранень ока (травматичних ерозій рогівки) та рецидивуючої ерозії. Розподіл пацієнтів за групами представлений в розділі 2, підрозділі 2.1.

3.1. Клініко-морфологічні особливості непроникаючих поранень рогівки

У першій групі під нашим спостереженням знаходилося 76 пацієнтів з непроникаючими пораненнями рогівки (травматична ерозія рогівки), з них 47 чоловіків (61,8%) та 29 жінок (38,2%), середній вік пацієнтів 39 ± 9 років.

Пацієнти при зверненні пред'являли наступні скарги: затуманення та зниження зору (100%), відчуття стороннього тіла (97,4%), світлобоязнь (84,2%), почервоніння ока (71%), біль в оці 97,4%.

Середня тривалість від отримання травми до звернення пацієнтів за спеціалізованою допомогою становила $2,42 \pm 0,15$ дні. У першу добу травми звернулося 23 хворих (30,3%), з 2 по 4 день 46 хворих (60,5%), більше 5 днів з моменту отримання травми – 7 хворих (9,2%).

При первинному зверненні гострота зору (коригована гострота зору) пацієнтів складала від 0,1-0,2 у 11 пацієнтів (14,5%), 0,3-0,4, у 18 (23,7%), 0,5-0,6 у 20 пацієнтів (26,3%), 0,7-0,8 у 17 пацієнтів (22,4%), вище 0,8 у 10 пацієнтів (13,1%).

Таблиця 3.1

**Показники гостроти зору у пацієнтів з травматичними ерозіями рогівки
абс., %.**

Гострота зору	Кількість n= 76	100%
0,02-0,08	-	-
0,1 – 0,2	11	14,5%
0,3 – 0,4	18	23,7 %
0,5 – 0,6	20	26,3%
0,7 – 0,8	15	19,7%
вище 0,8	12	15,8%

При травматичних ерозіях дефект епітелію рогівки розподілився відповідно на центральну локалізацію 36 ока (47,4%), парацентрально – 32 очей (42,1%) та периферичну – 8 очей (10,5%). У пацієнтів з центральною локалізацією пошкодження гострота зору до лікування складала в середньому $0,32 \pm 0,02$, при парацентральної локалізації в середньому $0,68 \pm 0,02$ та при периферичній локалізації у середньому $0,9 \pm 0,02$. Як бачимо, при обстеженні пацієнтів даної групи, найчастіше локалізація пошкодження зустрічається у центральній оптичній зоні рогівки, що призводить до значного зниження гостроти зору, впливає на подальший перебіг та наслідки захворювання.

При біомікроскопії гіперемія та ін'єкція кон'юнктиви спостерігалася у переважної більшості – 66 пацієнтів (86,8%), так як виділення з кон'юнктиви лише у 20 пацієнтів (26,3%). Вираженість запального процесу при травматичному пошкодженні рогівки у вигляді набряку рогівки та інфільтрації спостерігалася у 21 пацієнта (27,6%). З них 33,3% пацієнти звернулися пізніше 5 дня з моменту отримання травми та 66,7% пацієнтів пізніше 2 доби з моменту травми. Розподіл даних об'єктивних ознак в залежності від періоду звернення наведено у таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Розподіл клінічних показників у пацієнтів з травматичною ерозією рогівки в залежності від періоду звернення

Клінічні ознаки		Період звернення			Усього пацієнтів
		1-ша доба	2-4 доба	Після 5 доби	
Ін'єкція очного яблука					
Кількість пацієнтів	n	13	46	7	66
	%	56,5%	100%	100%	86,8%
Виділення з кон'юнктиви					
Кількість пацієнтів	n	-	14	6	20
	%	-	30,4%	85,7%	26,3%
Набряк та інфільтрація рогівки					
Кількість пацієнтів	n	-	14	7	21
	%	-	30,4%	100%	27,6%

При зверненні пацієнтів на першу добу отримання травми при обстеженні прояви рогівкового синдрому становили $2,13 \pm 0,16$ балів, гіперемія та ін'єкція кон'юнктиви $1,7 \pm 0,16$ балів, фарбування рогівки $5,6 \pm 0,48$ балів.

При зверненні пацієнтів з 2 по 4 добу при обстеженні встановлено наявність рогівкового синдрому відповідало $1,98 \pm 0,11$ балів, ін'єкція очного

яблука – $1,7 \pm 0,16$ балів, набряк рогівки – $0,41 \pm 0,1$ балів та фарбування рогівки – $5,7 \pm 0,35$ балів.

У тих випадках, коли пацієнти звернулися пізніше 5 дня з моменту отримання травми спостерігався виражений рогівковий синдром на рівні $2,9 \pm 0,14$ балів, ін'єкція очного яблука $2,6 \pm 0,2$ балів, набряк рогівки $1,6 \pm 0,2$ балів та фарбування рогівки $7,0 \pm 0,5$ балів.

З наведених результатів обстеження, при травматичній ерозії рогівки важливим є період звернення за медичною допомогою з моменту отримання травми. Термін звернення після 2-4 доби призводить до більш важкого перебігу захворювання та вираженої клінічної картини, тривалого періоду лікування та виникнення морфо-функціональних наслідків травми.

При дослідженні пацієнтів даної групи за даними AS-OCT у 76 пацієнтів (100%) візуалізувався дефект епітелію, неправильної форми та з нерівними краями, неправильна змішана передня поверхня строми, неоднорідна відбивна здатність строми та стоншення рогівки. Тоді як нерівномірність базальної мембрани спостерігалася у 21 пацієнта (27,6%). Серед змін у структурі базальної мембрани відмічали у вигляді поодиноких мікророзривів – 11 пацієнтів (52,4%), множинних мікророзривів – 4 пацієнти (19%) та нерівномірності базальної мембрани у вигляді потовщення у 3 пацієнтів (14,3%) та стоншення у 3 пацієнтів (14,3%).

При побудові епітеліальної карти, товщина епітелію в зоні пошкодження коливалася в середніх межах при центральній локалізації $45,1 \pm 0,35$ мкм, при парацентральної $48,2 \pm 0,12$ мкм, та при периферичній локалізації $52 \pm 1,0$ мкм. Товщина рогівки до лікування при центральному розташуванні ерозії в середньому становила $481,9 \pm 14,2$ мкм, при парацентральної локалізації $484,2 \pm 9,2$ мкм, та при периферичній $504,1 \pm 17,1$ мкм. Визначали глибину дефекту пошкодження при зверненні, що в середньому становив $49,9 \pm 3,6$ мкм в центральній зоні, $57,6 \pm 5,6$ мкм при парацентральної та при периферичній локалізації – $55,4 \pm 4,3$ мкм.

3.2.Клініко-морфологічні особливості рецидивуючої ерозії рогівки

У другій групі знаходилося під спостереженням 44 пацієнтів з діагнозом рецидивуюча ерозія рогівки, з них 18 чоловіків (40,9%) та 26 жінок (59,1%), середній вік пацієнтів складав 40 ± 8 років.

Розподіл скарг пацієнтів був наступний: затуманення та зниження зору (81,8%), відчуття стороннього тіла (95,5%), світлобоязнь (88,6%), почервоніння ока (81,8%), біль в оці (95,5%), раптовий біль вранці після пробудження (90,9%).

Середня тривалість від виникнення симптомів до звернення пацієнтів за спеціалізованою допомогою становив $3,46\pm 0,22$ дні. У першу добу захворювання звернулося 6 пацієнтів (13,6%), з 2 по 4 – 28 пацієнтів (63,6%), після 5 доби – 10 пацієнтів (22,7%). Найбільша частота звернень припадає в період з 2 по 4 добу, це пояснюється тим, що на початку виникнення захворювання у пацієнтів не завжди спостерігаються вираженні симптоми.

В залежності від кількості рецидивів в анамнезі розподіл пацієнтів був наступний: 1-й епізод – 23 пацієнти (52,3%), 2 епізоди 10 пацієнтів (22,7%), 3 епізоди 6 пацієнтів (13,6%) та більше 4 епізодів – 5 пацієнтів (11,4%).

При первинному зверненні коригована гострота зору пацієнтів складала від 0,1-0,2 у 7 пацієнтів (15,9%), 0,3-0,4 у 8 пацієнтів (18,2%), 0,5-0,6 у 16 пацієнтів (36,4%), 0,7-0,8 у 13 пацієнтів (29,5%).

Таблиця 3.3

**Показники гостроти зору у пацієнтів з рецидивуючими ерозіями рогівки
абс., %.**

Гострота зору	Кількість n= 44	100%
0,02-0,08	-	-
0,1 – 0,2	7	15,9%
0,3 – 0,4	8	18,2%
0,5 – 0,6	16	36,4%
0,7 – 0,8	13	29,5%
вище 0,8	-	-

При РЕР за локалізацією дефекту розподіл пацієнтів наступний: в центральній зоні – 18 очей (40,9%), парацентрально – 26 очей (59,1%%), периферична локалізація не виявлено. Як бачимо, з наведених даних, характерним для РЕР є розташування ерозії парацентрально, що співпадає з даними літератури. У пацієнтів з центральною локалізацією гострота зору до лікування складала в середньому $0,28 \pm 0,04$, при парацентральної локалізації в середньому $0,64 \pm 0,02$.

Проведення обстеження за допомогою біомікроскопії пацієнтів даної групи діагностували дефект епітелію у вигляді мікроерозій у 10 пацієнтів (22,7%), макроерозій у 30 пацієнтів (68,2%), «відбитків пальців» у 1 пацієнта (2,3%) та малюнка «географічні карти» у 3 пацієнтів (6,8%). Виявлена ін'єкція очного яблука у 40 пацієнтів (90,9%), незначні серозні виділення з кон'юнктиви лише у 4 пацієнтів (9,1%), набряк та інфільтрація рогівки діагностовано у 21 пацієнта (47,7%). Розподіл даних об'єктивних ознак в залежності від періоду звернення наведено у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

**Розподіл клінічних показників у пацієнтів з рецидивуючою ерозією
рогівки в залежності від періоду звернення**

Клінічні ознаки		Період звернення			Усього пацієнтів
		1-ша доба	2-4 доба	Після 5 доби	
Ін'єкція очного яблука					
Кількість пацієнтів	n	4	26	10	40
	%	66,7%	92,9%	100%	90,9%
Виділення з кон'юнктиви					
Кількість пацієнтів	n	-	1	3	4
	%	-	3,6%	30%	9,1%
Набряк та інфільтрація рогівки					
Кількість пацієнтів	n	1	10	10	21
	%	16,7%	35,7%	100%	47,7%

При зверненні пацієнтів на першу добу виникнення симптомів встановлено прояви рогівкового синдрому $1,67 \pm 0,21$ балів, ін'єкція очного яблука $0,83 \pm 0,3$ балів, фарбування рогівки $5,5 \pm 0,92$ балів, набряк рогівки $0,17 \pm 0,2$ бали.

У випадку звернення пацієнтів з 2 по 4 добу при обстеженні встановлено наявність рогівкового синдрому – $1,9 \pm 0,16$ балів, ін'єкція очного яблука – $2,2 \pm 0,13$ балів, набряк рогівки – $0,46 \pm 0,33$ балів та фарбування рогівки – $5,7 \pm 0,35$ балів.

У пацієнтів які звернулися пізніше 5 дня з моменту отримання травми спостерігалось виражений рогівковий синдром $2,9 \pm 0,14$ балів, ін'єкція очного яблука $2,6 \pm 0,2$ балів, набряк рогівки $1,8 \pm 0,13$ балів та фарбування рогівки $7,0 \pm 0,5$ балів.

При дослідженні пацієнтів даної групи за даними AS-ОСТ візуалізувався дефект епітелію, неправильної форми та з нерівними краями та гіперрефлексивністю передньої строми у 44 пацієнтів (100%). Нерівномірність базальної мембрани спостерігалася у 44 пацієнтів (100%), у вигляді множинних мікророзривів у 32 пацієнтів (72,7%), стоншення базальної мембрани у 7 випадків (15,9%) та потовщення у 5 випадках (11,4%). Отриманні результати співсталяються з гістологічними описами рецидивуючої ерозії за даними літератури.

При побудові епітеліальної карти, товщина епітелію в зоні пошкодження коливалася в середніх межах при центральній локалізації $49,1 \pm 0,35$ мкм, при парацентральної $54,2 \pm 0,14$ мкм. Товщина рогівки до лікування при центральному розташуванні рецидивуючої ерозії в середньому становила $495,9 \pm 12,2$ мкм, при парацентральної локалізації $503,2 \pm 10,2$ мкм. Визначали глибину дефекту пошкодження при зверненні, що в середньому становив $46,1 \pm 2,5$ мкм в центральній зоні, $59,6 \pm 3,6$ мкм при парацентральної.

Таким чином, клінічна картина травматичних та рецидивуючих ерозій, схожа за суб'єктивними та об'єктивними характеристиками, але має певні особливості. Порівняльний аналіз клінічних показників пацієнтів двох груп показав, що у пацієнти з РЕР звертаються на $1,04 \pm 0,15$ дні пізніше ніж при ТЕР.

Узагальнені середні значення основних клінічних показників наведенні в таб. 3.5.

Таблиця 3.5

Клінічні показники пацієнтів з травматичними ерозіями та рецидивуючими ерозіями до початку лікування (при зверненні)

Клінічні показники	Середнє значення, бали, М±m	Середнє значення, бали, М±m
Гострота зору	0,57±0,03	0,49±0,03
Період звернення, дні	2,42±0,15	3,46±0,22
Корнеальний синдром	2,12±0,09	1,86±0,1
Ін'єкція очного яблука	1,64±0,1	1,66±0,14
Виділення	0,74±0,09	0,14±0,07
Фарбування рогівки	6,59±0,29	5,77±0,31
Набряк рогівки	0,43±0,09	0,68±0,12

Резюме до розділу 3

Як видно з отриманих результатів обстеження пацієнтів в групі РЕР гострота зору знижена до 0,49±0,03, тоді як при ТЕР на рівні 0,57±0,03 балів, що пов'язано з більш вираженим набряком рогівки при РЕР на рівні 0,68±0,12, тоді як при первинній травматичній ерозії набряк рогівки спостерігався на рівні 0,43±0,09 балів. Важливим є оцінка фарбування рогівки флюоресцеїном, що свідчить про порушення цілісності епітелію та ділянки деепітелізації, які при ТЕР спостерігаються на рівні 6,59±0,29 балів, що є більше на 0,82±0,02 бали, ніж при РЕР та свідчить, що при рецидиві захворювання профарбовується ділянка менша за площею, яка відповідає зоні нещільного прикріплення епітелію при РЕР.

Дані цього розділу висвітленні в публікації:

1. [213] Gavrylyak IV, Zhaboiedov DG, Greben NK. Experience of using optical coherence tomography in corneal injuries. Med Sci Ukraine. 2023;19(4):3-8. doi: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.4.2023.01>.

РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ММР-9, АНГІОСТАТИНІВ ТА ФАКТОРІВ ГОСТРОГО ЗАПАЛЕННЯ У СЛІЗНІЙ РІДИНІ ПАЦІЄНТІВ З ТРАВМАТИЧНИМИ ТА РЕЦИДИВУЮЧИМИ ЕРОЗІЯМИ

Травматичне пошкодження рогівки запускає складний процес заживлення рани рогівки, що складається з апоптозу, міграції, проліферації, диференціації клітин та ремоделювання матриксу. Важливим на всіх етапах заживлення рани є баланс між ангіогенними (ангіостатинів) та проангіогенними (ММР-9) факторами, завдяки якому підтримується аваскулярність та прозорість рогівки [24,36].

З іншої сторони клітини рогівки здатні виробляти імунологічні компоненти з протизапальною та антибактеріальною активністю, які відіграють активну роль у специфічному та неспецифічному імунному захисті. Одним з таких білків для підтримання імунопривілейованого статусу рогівки є ЛФ, який епітеліальні клітини рогівки та кон'юнктиви виробляють в достатній кількості. Встановлено, що ЛФ здатний утворювати комплекс з церулоплазміном як *in vivo*, так і *in vitro*, що запускає механізм антиоксидантних процесів при пошкодженні. У даному випадку ЦР виступає протеїном гострої фази запалення та відповідає за захист від вільних радикалів при пошкодженні та пригнічує утворення активних форм кисню [110,119].

Внаслідок пошкодження тканин рогівки, виникає гіпоксія, яка призводить до порушення клітинного гомеостазу та біохімічних змін слізної рідини. Дослідження протеїнів слезової рідини, що відповідають за ангіогенез та регенерацію рогівки, гострофазових білків запалення дозволяють зрозуміти патофізіологічні механізми, що лежать в основі загоєння ран рогівки та порушенні регуляції даного процесу.

У цьому розділі наводимо результати дослідження рівнів протеїнів сльози MMP-9, ангіостатинів, лактоферину та церулоплазміну при травматичних ерозіях рогівки та рецидивуючих ерозіях рогівки.

Для визначення активності даних протеїнів додатково до дослідження було включено контрольну групу, що складало 36 пацієнтів (36 очей) 18 чоловіків і 18 жінок, віком від 18 до 45 років (29 ± 8), без ознак і симптомів синдрому сухого ока та хірургічних втручань.

Технологію забору матеріалу, а також методику дослідження рівнів ангіостатинів, MMP-9, лактоферину та церулоплазміну описано в розділі 2.3.

4.1. Визначення рівнів MMP-9 та ангіостатинів при травматичних та рецидивуючих ерозіях рогівки.

За допомогою желатинової зимографії було визначено підвищення активності MMP-9 в сльозовій рідині пацієнтів з травматичним пошкодженням рогівки, тоді як у групі контролю не виявлено ферментативної активності MMP, як показано на рис.4.1.1.

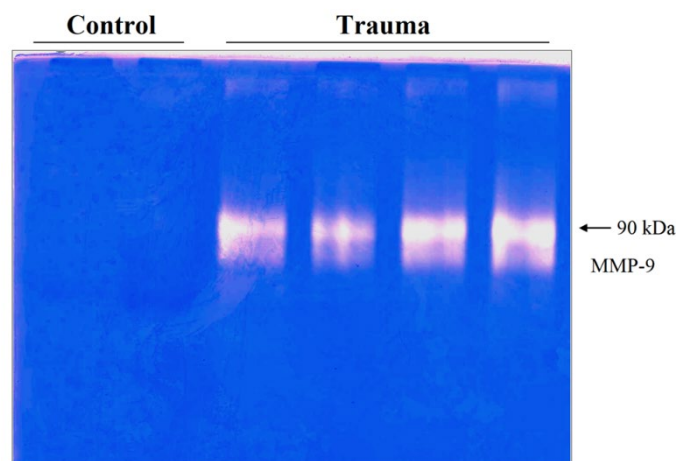


Рис. 4.1. Репрезентативна желатинова зимографія MMP-9 у слізній рідині контроль (Control) та пацієнтів з непроникаючими пораненнями рогівки (Trauma).

При травматичному пошкодженні рогівки, встановили значне підвищення рівня білка MMP-9 за допомогою вестрн-блот аналізу сльозової рідини пацієнтів з травматичною ерозією рогівки в порівнянні з контрольною групою (у 105 разів, $P < 0,001$) (рис. 4.1.2).

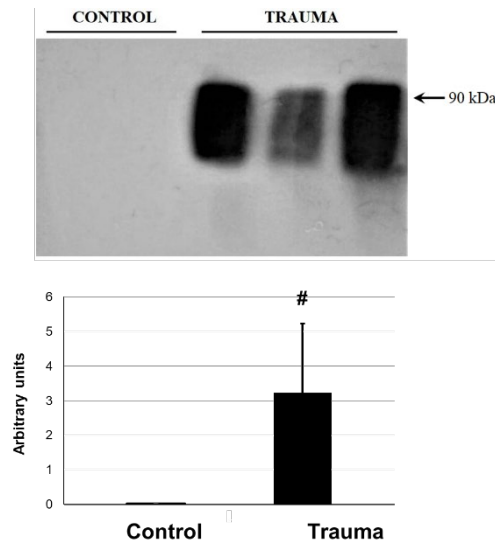


Рис.4.2.Репрезентативні блотограми рівнів MMP-9 у контрольній групі (Control) та пацієнтів з травматичними ерозіями # – $p < 0,001$ порівняно з контролем.

У здоровій рогівці MMP-9 відповідають за точну організацію колагенових фібрил у стромі рогівки, що важливо для підтримки прозорості рогівки та належної гідратації стромы. MMP-9 також відповідають за тонку регуляцію ангіогенезу як у здоровій, так і пошкодженій рогівці шляхом утворення ангіостатинів шляхом обмеженого протеолізу плазміногену. Таким чином, процес загоєння ран рогівки характеризується збільшенням вироблення MMP-9, що відповідає за клітинне ремоделювання та впливає на деградацію базальної мембрани. Завдяки збільшенню рівнів MMP-9 зменшується адгезія клітин та посилюється їхня міграція вздовж пошкодженої ділянки.

Як показано на рис. 4.3 у зразках сльозової рідини пацієнтів з травматичними ерозіями було виявлено дві основні ангіостатиноподібні

ізоформи зі значеннями M_r близько 50 і 35 кДа, що відповідають ангіостатинам K1-4,5 і K1-3. Денситометричний аналіз блоттингу показав підвищення рівня ангіостатину в слізозовій рідині пацієнтів з травматичними ерозіями у 5,8 рази порівняно з добровольцями контролю ($p < 0,05$).

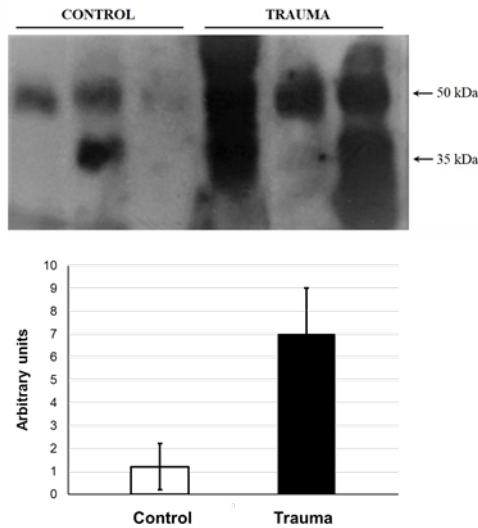


Рис.4.3.Репрезентативні блотограми рівнів ангіостатинів у контрольній групі (Control) та пацієнтів з травматичними ерозіями, $p < 0,05$ порівняно з контролем.

Тоді як, у пацієнтів групи контролю ангіостатини були присутні у незначній кількості і в середньому становили $1,2 \pm 0,26$ у.о., та при травмі визначаються на рівні $7,01 \pm 0,44$ у.о ($p < 0,05$). Раніше було показано, що ангіостатини постійно утворюються епітелієм рогівки і беруть участь у підтримці прозорості рогівки, протидіють проангіогенній передачі сигналів VEGF і пригнічують васкуляризацію під час травми рогівки та запалення. Було виявлено, що цистеїнові катепсини разом з MMP розщеплюють ендogenousний пул плазміногену і відповідають за утворення ангіостатину в рогівці. Таким чином, ангіостатини можуть мати важливе значення для запобігання неоваскуляризації в умовах пошкодження.

У слізозі пацієнтів з PER за допомогою вестерн-блот аналізу встановлено збільшення активності MMP-9 на рівні $2,92 \pm 0,37$ у.о., що у 97 раз більше порівняно з групою контролю ($p < 0,001$). На рис 4.4 представленні

рівні активності MMP-9 у пацієнтів групи 1 (з травматичними ерозіями) та групи 2 (рецидивуючої ерозії) в порівнянні з групою контролю ($p < 0,001$).

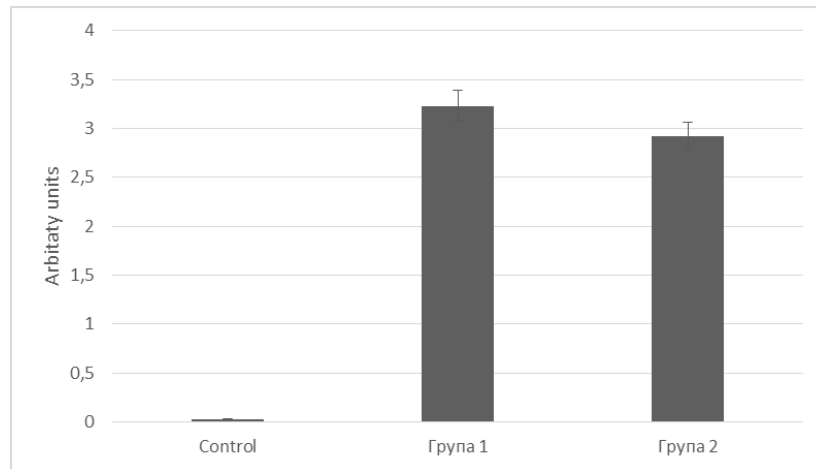


Рис.4.4. Рівні активності MMP-9 в залежності від групи спостереження, $p < 0,001$ порівняно з контролем.

При визначенні активності ангіостатинів в сльозі пацієнтів з РЕР за допомогою вестерн-блот аналізу встановлено збільшення активності на рівні $5,39 \pm 0,46$ у.о., що у 4,5 раз більше порівняно з групою контролю ($p < 0,05$). На рис 4.5 наведенні результати активності ангіостатинів а пацієнтів з травматичною ерозією (група 1) та рецидивуючою ерозією (група 2).

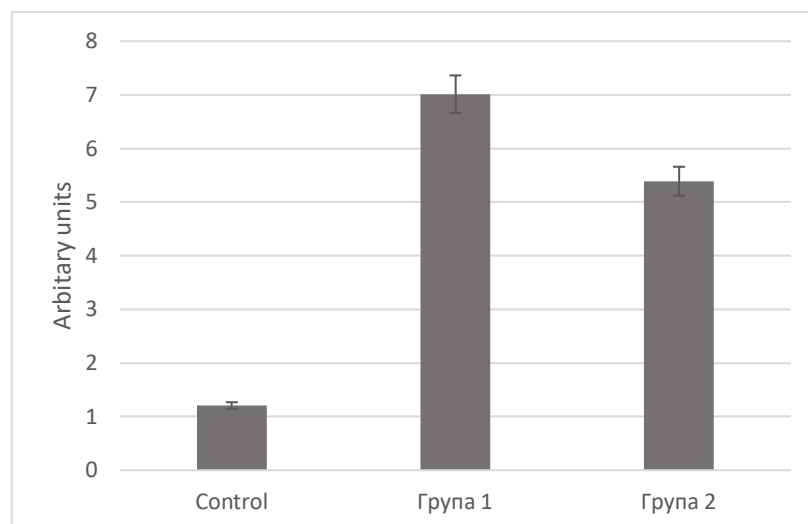


Рис.4.5. Рівні активності ангіостатинів в залежності від групи спостереження, $p < 0,05$ порівняно з контролем.

Таким чином, одним із пускових ланок виникнення РЕР є надмірне підвищення активності ММР-9, що може призвести до аномальної деградації позаклітинного матриксу та базальної мембрани, пригнічення репаративного ангиогенезу через масивну деградацію плазміногену. Внаслідок цього відбувається утворення надмірного рівня ангиостатину, що перешкоджає належному загоєнню ран рогівки, порушення епітелізації та виникненню рецидиву ерозій.

4.2. Визначення рівнів лактоферину та церулоплазміну при травматичній та рецидивуючій ерозії рогівки.

В балансі між проангіогенними та ангіогенними факторами важливу роль також відіграє лактоферин, який завдяки своїм протизапальним властивостям, може зменшувати вивільнення деяких прозапальних білків (включаючи ІЛ-6, ІЛ-1В та ІЛ-8) та сприяти експресії протизапальних цитокінів (ІЛ-4 або ІЛ-10).

Результати визначення рівнів лактоферину у пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями при зверненні представлені на рис.3.2.1.

У сльозі пацієнтів з травматичною ерозією при зверненні відмічається зниження рівня ЛФ рівень ЛФ – $3,94 \pm 0,45$ у.о., порівняно з контрольною групою здорових добровольців на $6,45 \pm 0,05$ у.о. менше ($p < 0,05$). Так як, ЛФ відіграє важливу роль в активації антиоксидантних та імунних захисних механізмів, моделює імунну відповідь на проникнення вірусів та бактерій після травматичного пошкодження, зменшення його концентрації в сльозі призводить до зниження захисної функції та порушення гомеостазу очної поверхні.

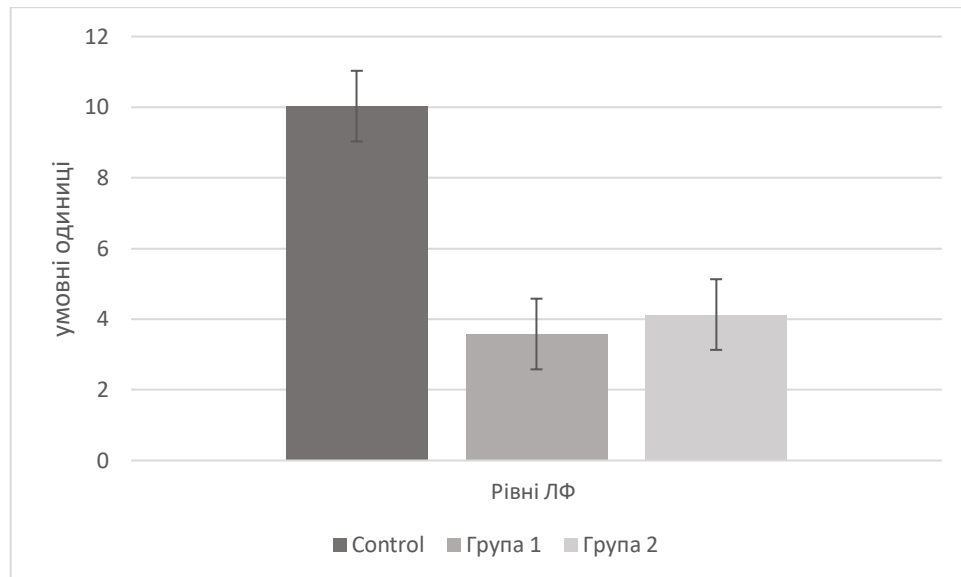


Рис.4.6. Рівні лактоферину у пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями при зверненні, $p < 0,05$ порівняно з контролем

Як бачимо, з отриманих результатів у групі пацієнтів з РЕР при зверненні також визначається низький рівень ЛФ $4,13 \pm 0,4$ у.о., що на $5,9 \pm 0,01$ у.о. менше ніж у здорових добровольців ($p < 0,05$). Отриманні дані свідчать, що при порушенні епітелізації роги́вки та виникненні рецидивів, ключову роль відіграють стан антиоксидатної системи. Рівень ЛФ може виступати як діагностичний та прогностичний маркер відновлення цілісності роги́вки.

Білок другої лінії антиоксидантного захисту та гострофазового запалення - це церулоплазмін, який здатний утворювати комплекси з ЛФ, відповідає за окислення прооксидантних іонів двовалентного заліза. Результати визначення рівнів церулоплазміну у пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями при зверненні представлені на рис.4.7.

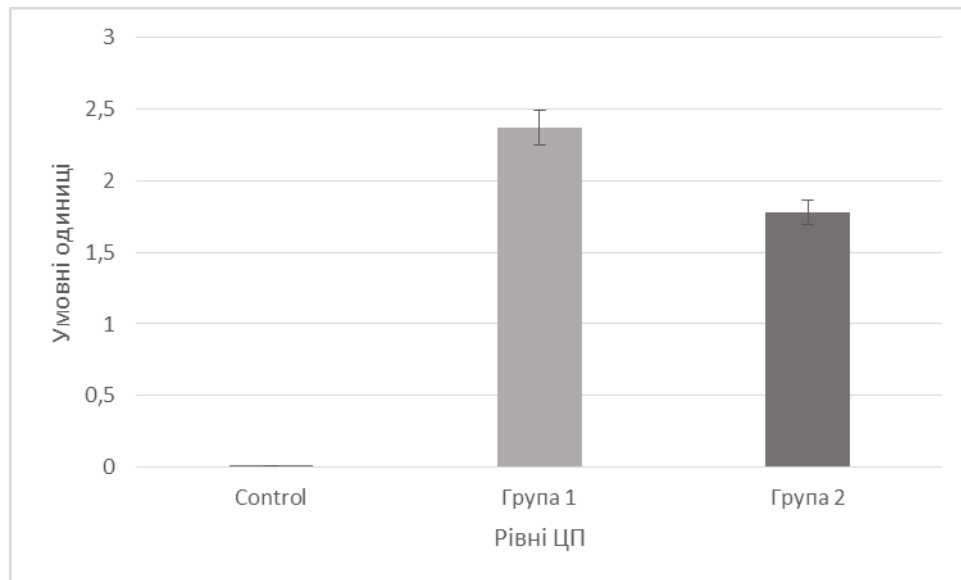


Рис.4.7. Рівні церулоплазміну у пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями при зверненні, $p < 0,05$ порівняно з контролем

Отриманні нами результати вказують на підвищення рівнів церулоплазміну у слюзі пацієнтів з травматичними ерозіями та становить $2,37 \pm 0,25$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем, де ЦП міститься у слідових кількостях.

Поява ЦП в слюзі на ранніх етапах після травми свідчить про активацію гострого запального процесу та запускає систему антиоксидантного захисту. У пацієнтів з РЕР спостерігається також підвищення рівня ЦП при зверненні та становить $1,78 \pm 0,2$ у.о. порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Це підтверджує гіпотезу, що РЕР виникає внаслідок хронічного запалення, яке виникає після травми і призводить до оксидативного стресу.

Резюме до розділу 4

Результати нашого дослідження вказують на різке підвищення рівня білка MMP-9 у слізній рідині пацієнтів з травматичною ерозією в порівнянні з групою контролю у 105 разів ($p < 0,001$), так і в пацієнтів з рецидивуючою ерозією у 97 раз більше порівняно з групою контролю ($p < 0,001$), що свідчить про підвищення колагенолітичної активності при травмі та рецидиві ерозії.

Таким чином, під час епітелізації відбувається ремоделювання клітинного матриксу та зміни протеомного складу слізної рідини. Активація вироблення протеолітичних ферментів, таких як MMP-9, впливає на посилення міграції клітин епітелію та зменшення їх адгезії, що ініціює закриття рани.

З іншого боку, MMP-9 відповідають за регуляцію ангиогенезу шляхом утворення ангиостатинів, які відграють важливу роль у аваскулярності в умовах гіпоксії та підтримці оптичної прозорості рогівки. Це співпадає з отриманими нами результатами дослідження, де рівні ангиостатинів при травматичній ерозії визначаються на рівні $7,01 \pm 0,44$ у.о. ($p < 0,05$) та при рецидивуючій ерозії $5,39 \pm 0,46$ у.о. ($p < 0,05$), порівняно з контролем $1,2 \pm 0,26$ у.о., що свідчить про активацію ангиостатинів при загоєнні ран рогівки.

Тоді як надмірне підвищенні активності MMP-9 може призвести до аномальної деградації позаклітинного матриксу та руйнуванні базальної мембрани, пригнічення репаративного ангиогенезу та утворення надмірного рівня ангиостатину, що перешкоджає належному загоєнню ран рогівки.

В балансі між проангіогенними та ангіогенними факторами важливу роль також відіграє лактоферин, який завдяки своїм протизапальним властивостям, може зменшувати вивільнення деяких прозапальних білків (включаючи IL-6, IL-1B та IL-8) та сприяти експресії протизапальних цитокінів (IL-4 або IL-10). У нашому дослідженні встановлено зниження рівня лактоферину при травматичній ерозії на $6,45 \pm 0,05$ у.о. менше ($p < 0,05$) порівняно з контролем, та при рецидиві ерозії на що на $5,9 \pm 0,01$ у.о. ($p < 0,05$) менше порівняно з контролем. Зменшення його рівня в слізній рідині призводить до зниження захисної функції, порушення гомеостазу очної поверхні та активації запалення. У нашому дослідженні встановлено збільшення рівня церулоплазмину – гострофазового білка запалення, що забезпечує активацію антиоксидантного захисту. Так при травматичній ерозії

він зростає до $2,37 \pm 0,25$ у.о. ($p < 0,05$) та при РЕР до $1,78 \pm 0,2$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем, де він визначається в слідових кількостях.

Отриманні результати, щодо балансу між ангіогенними та проангіогенними маркерами, стану процесів ремоделювання позаклітинного матриксу при загоєнні ран рогівки потребують подальшого узагальнення для визначення додаткових патогенетично обґрунтованих терапевтичних засобів. Також моніторинг досліджувальних показників у слізній рідині може бути корисною як основа для неінвазивної діагностики та належної оцінки загоєння ран рогівки.

Дані цього розділу висвітленні в публікації:

1.[205]Gavrylyak IV, Grebin NK, Bilous VL, Korsa VV, Zhaboedov DG, Aḡca CA, et al. The levels of hypoxia- and angiogenesis-related regulators and matrix metalloproteinase 9 activity in tear fluid of patients with non-penetrating ocular traumas. Мед. перспективи. 2022;27(4):168-76. doi: 10.26641/2307-0404.2022.4.271217.

РОЗДІЛ 5. ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ЛІКУВАННЯ ТРАВМАТИЧНИХ ТА РЕЦИДИВУЮЧИХ ЕРОЗІЦ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ЛАКТОФЕРИНУ

Лікування травматичних пошкоджень рогівки потребує комплексного підходу та додаткової корекції порушень, які направлені на покращення метаболізму, регенерації епітелію та відновлення слізної плівки. В останні десятиліття широко вивчається можливість застосування альтернативних препаратів на основі біологічно активних сполук, які є фізіологічною складовою біологічних тканин та рідин. Віддається перевага препаратам, що впливають на декілька ланок патогенезу захворювання одночасно та поєднують декілька механізмів впливу.

Одним з таких препаратів є лактоферин, якому притаманна широка антимікробна, антибактеріальна, противірусна, протигрибкова, протизапальна, імуномодулююча та антиоксидантна дія. Місцеве застосування лактоферину може відігравати вирішальну роль у підтримці здорової системи поверхні ока шляхом компенсації дефіциту цього білка в слізній плівці, який виникає внаслідок пошкодження та патологічних станів передньої поверхні ока [116,122]. На основі отриманих нами даних про зниження вмісту лактоферину при травматичних та рецидивуючих ерозіях, запропоновано комплексне лікування з застосуванням очних крапель на основі лактоферину.

Ефективність комплексного лікування вивчена окремо в групах пацієнтів з ТЕР та РЕР. 60 пацієнтів (60 очей), з них 38 пацієнтів (38 очей) з ТЕР (підгрупа 1) та 22 пацієнта (22 ока) з РЕР (підгрупа 2) отримували отримувала загальноприйнятую стандартну терапію: антибіотик класу хінолонів (ципрофлоксацин гідрохлорид) в очних краплях з частотою інстиляції 4 рази на день протягом 7 днів та декспантенол (у формі очного гелю) з частотою інсталяцій 6 раз на добу протягом 7 днів. 60 пацієнтів (60

очей), з них 38 пацієнтів (38 очей) з ТЕР (підгрупа 1Б) та 22 пацієнта (22 ока) з РЕР (підгрупа 2Б) отримувала додатково до стандартної терапії отримувала очні краплі з основною діючою речовиною лактоферин, з частотою інсталяцій 4 рази в день протягом 7 днів, потім 2 рази на день 7 днів. При розподілі пацієнтів використано принцип рандомізації. Обидві групи були ідентичні за клініко-демографічними показниками.

5.1. Вплив комплексного лікування на клініко- морфологічні показники при травматичній ерозії

Проводилася оцінка суб'єктивних скарг та клініко-морфологічних характеристик пацієнтів з ТЕР в динаміці лікування на 1,3,7 добу по групах. Динаміка зміни суб'єктивних скарг пацієнтів наведена у таб 5.1. При оцінці суб'єктивних скарг пацієнтів враховували основні ознаки корнеального синдрому (відчуття стороннього тіла в оці, світлобоязнь, блефароспазм, сльозотеча) та почервоніння ока.

Таблиця 5.1

Динаміка суб'єктивних скарг пацієнтів з ТЕР в залежності від способу лікування

Скарга	Ступінь вираженості	Підгрупа 1 n=38		Підгрупа 2 n=38	
		До	Після	До	Після
Відчуття стороннього тіла	Немає	1 (2,6%)	30(79%)	-	36(94,7%)
	Слабо виражена	5 (13,1%)	4(10,5%)	8(21%)	-
	Помірно	20 (52,7%)	4(10,5%)	15(39,5%)	2(5,3%)
	Виражена	12 (31,6%)	-	14(36,8%)	-
Світлобоязнь	Немає	2(5,3%)	28 (73,7%)	2(5,3%)	36(94,7%)
	Слабо виражена	10(26,3%)	6(15,8%)	12(31,6%)	2(5,3%)
	Помірно	18(47,4%)	4(10,5%)	14(36,8%)	-
	Виражена	8 (21%)	0	10(26,3%)	-
Блефароспазм	Немає	13(34,2%)	32(84,2%)	12(31,6%)	38(100%)
	Слабо виражений	15(39,5%)	6	13(34,2%)	-
	Помірно	6(15,8%)	-	8(21%)	-
	Виражена	4(10,5%)	-	5(13,2%)	-
Сльозотеча	Немає	2(5,3%)	31(81,6%)	3(7,9%)	38(100%)
	Слабо виражений	8(21%)	5(13,1%)	8(21%)	-
	Виражена	10(26,3%)	2(5,3%)	9(23,7%)	-

	Сильно виражена	18(47,4%)	-	18(47,4%)	-
--	--------------------	-----------	---	-----------	---

Як бачимо з наведених даних, у групу ТЕР при застосуванні лактоферину після лікування відчуття стороннього тіла та світлобоязнь зберігалося у 2 пацієнтів (5,3%), тоді як сльозотеча та блефароспазм у всіх 38 пацієнтів (100%) були відсутні. Отже, аналіз динаміки показників суб'єктивного скарг пацієнтів з ТЕР свідчить про ефективність терапії в обох групах, але ефект був більш виражений в основній групі, де в комплексному лікуванні застосовували лактоферин.

При динамічному об'єктивному обстеженні пацієнтів визначення ефективності лікування у групах визначалася на основі оцінки стану рогівки в балах. Отриманні дані наведені у таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Клінічні показники пацієнтів з ТЕР в динаміці в залежності від способу лікування

Клінічна ознака	Підгрупа 1 n=38			Підгрупа 2 n=38		
	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
Корнеальний синдром	1,89 ±0,12	1,53 ±0,12**	0,42 ±0,08**	1,97 ±0,1	1,33 ±0,12* **	0,33 ±0,08*
Ін'єкція кон'юнктиви	1,64 ±0,13	1,25 ±0,1*	0,64 ±0,08*	1,75 ±0,16	0,67 ±0,09*	0,55 ±0,08*
Виділення з кон'юнктиви	0,44 ±0,15	0,53 ±0,1*	0	0,38 ±0,13	0,33 ±0,09*	0
Набряк рогівки	0,47 ±0,13	0,34 ±0,1*	0,17 ±0,06*	0,52 ±0,15	0,19 ±0,06*	0
Фарбування рогівки	6,58 ±0,33	4,58 ±0,2*	0,92 ±0,17*	6,19 ±0,38	3,83 ±0,18*	0,75 ±0,14*
Сумарний показник в балах	11,03 ±0,7	8,23± 0,57*	2,14 ±0,29*	10,83 ±0,78	6,36 ±0,44*	1,77 ±0,23*

Примітка *- $p < 0,05$ різниця достовірна відносно показника групи контролю та з результатами до лікування

Як видно, з наведених результатів вже на третю добу спостереження в підгрупі 2 ми спостерігаємо зниження корнеального синдрому у пацієнтів,

зменшення набряку рогівки на $0,15\pm 0,04$ бали ($p<0,05$) та профарбовування рогівки на $0,75\pm 0,07$ балів ($p<0,05$). На сьому добу спостереження у підгрупі 2 відсутній набряк рогівки у всі пацієнтів та оцінка профарбовування рогівки знизилася на $0,17\pm 0,03$ бали ($p<0,05$). За сумарним бальним показником побудовано графік оцінки стану рогівки, який представлений на рис.5.1.

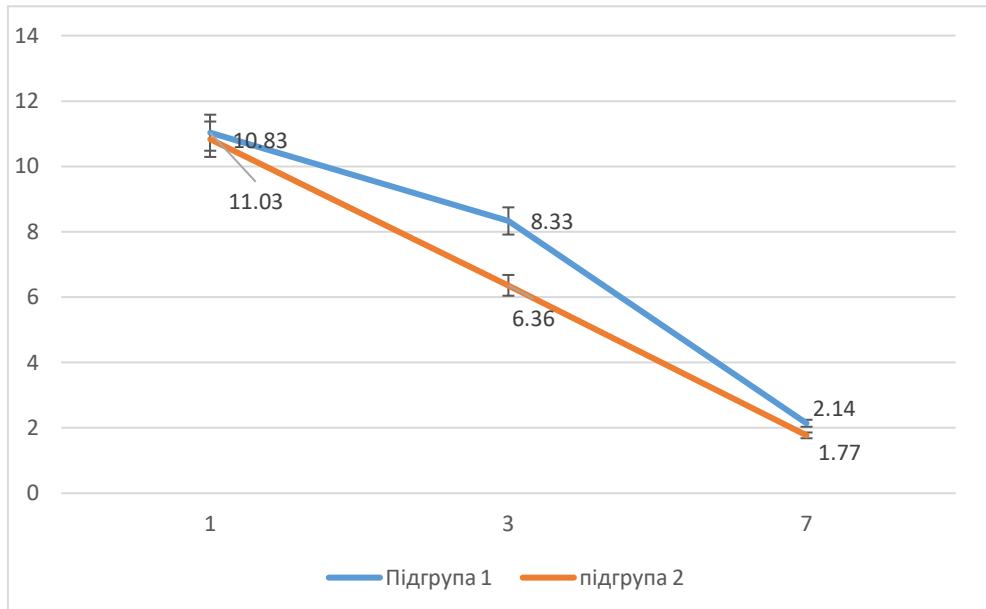


Рис.5.1. Сумарний бальний показник оцінки стану рогівки при травматичній ерозії, бали

При застосуванні ЛФ в комплексному лікуванні вже на третю добу відмічаємо зниження сумарного бального показника оцінки на $1,97\pm 0,13$ балів ($p<0,05$) порівняно з групою контролю, до сьомої доби відмічається достовірне покращення стану поверхні ока при епітелізації рогівки та складає в сумарному бальному показнику на $0,37\pm 0,06$ балів ($p<0,05$) менше порівняно з групою контролю.

Динаміка гостроти зору в підгрупі 1 на третю добу становила $0,65\pm 0,03$ ($p=0,005$ порівняно з даними до лікування) та на сьому добу – $0,89\pm 0,02$ ($p<0,001$) та відповідно в підгрупі 2 на третю добу гострота зору в середньому складала $0,71\pm 0,04$ ($p=0,003$ порівняно з даними до лікування) та на сьому добу – $0,95\pm 0,01$ ($p<0,001$). В підгрупі 2 відбулося відновлення гостроти зору на сьому добу лікування, що співпадає з клінічними даними оцінки рогівки, такі

як зменшення набряку та повна епітелізація рогівки. Тоді як в підгрупі 1 ми спостерігали у пацієнтів залишкові явища набряку рогівки в 13,2% випадків, що відповідає отриманим даним зниження гостроти зору.

Морфологічні ознаки моніторингу епітелізації рогівки оцінювалися за допомогою AS-ОСТ за критеріями товщини рогівки та епітелію. У підгрупі 1 на третю добу лікування ми відмічали потовщення епітелію до $45,9 \pm 0,3$ мкм ($p < 0,05$) та на сьому добу відновлення епітелію до $51,3 \pm 0,2$ мкм ($p < 0,05$), порівняно першою добою при зверненні, що становило в середньому $43,2 \pm 0,5$ мкм. Товщина рогівки в динаміці на третю добу складала $520,2 \pm 2,1$ мкм ($p < 0,05$), та на сьому добу $549,6 \pm 3,13$ мкм ($p < 0,05$), тоді як до лікування становила $490 \pm 1,88$ мкм. Регрес мікророзривів базальної мембрани на сьому добу ми спостерігали у 15,8% випадків, тоді як при зверненні у 28,9% випадків встановлено було нерівномірність базальної мембрани, та у 23,7% випадків зберігалася гіперрефлексивність передньої строми.

У підгрупі 2 товщина епітелію складала на третю добу $47,5 \pm 0,3$ мкм ($p < 0,05$) та відповідно на сьому добу становило $53,5 \pm 0,2$ мкм ($p < 0,05$), порівняно з даними до лікування $44,3 \pm 0,5$ мкм. У підгрупі 2 при проведенні AS-ОСТ на третю добу лікування товщина рогівки складала $527,4 \pm 2,3$ мкм ($p < 0,05$) та на сьому добу $555,6 \pm 3,1$ мкм ($p < 0,05$), тоді як до лікування становила $490,3 \pm 1,9$ мкм. На сьому добу мікророзриви у 10,5% випадків, тоді як до лікування зустрічалося у 26,3% випадків, при цьому гіперрефлекторність передньої строми у 18,4%.

Період лікування пацієнтів у підгрупі 1 становив $7,6 \pm 0,43$ днів та у підгрупі 2 відповідно $6,0 \pm 0,23$ днів ($p = 0,05$). З метою оцінки виникнення рецидивів на фоні травматичного пошкодження пацієнтам проводився огляд після клінічного одужання через 1,3, 6 місяців. В підгрупі 1 діагностовано 9 рецидивів (23,7% випадків), тоді як в підгрупі 2 встановлено 4 випадки рецидиву (10,5% випадків).

Виходячи з отриманих даних, рекомендоване комплексне лікування з застосуванням лактоферину знизило суб'єктивні скарги пацієнтів на сьому добу лікування. При комплексній бальній оцінці вже на третю добу відмічаємо зниження сумарного бального показника оцінки рогівки на $1,97 \pm 0,13$ ($p < 0,05$) балів порівняно з групою порівняння, до 7 доби відмічається достовірне покращення стану поверхні ока при епітелізації рогівки та складає в сумарному бальному показнику оцінки рогівки на $0,37 \pm 0,06$ балів ($p < 0,05$) менше порівняно з групою порівняння, та зменшення періоду лікування відповідно на $1,6 \pm 0,16$ днів ($p < 0,05$).

5.2. Вплив комплексного лікування на клініко- морфологічні показники при рецидивуючій ерозії

При РЕР суб'єктивних скарги пацієнтів до та після лікування наведені в таблиці 5.3. У пацієнтів з РЕР у підгрупі 1 зберігаються скарги на відчуття стороннього тіла у 12 пацієнтів (54,5%), світлобоязнь у 8 пацієнтів (36,4%), блефароспазм та сльозотеча у 4 пацієнтів (18,2%). Наявність суб'єктивних скарг у пацієнтів з підгрупи 1 з РЕР після 7 днів лікування свідчить про необхідність продовження терапії у даній групі пацієнтів, для зменшення проявів корнеального синдрому.

Таблиця 5.3.

Динаміка суб'єктивних скарг пацієнтів з РЕР в залежності від способу лікування

Скарга	Ступінь вираженості	Підгрупа 1 n=22		Підгрупа 2 n=22	
		До	Після	До	Після
Відчуття стороннього тіла	Немає	1 (4,5%)	10(45,5%)	2 (9%)	17(77,3%)
	Слабо виражена	6 (27,3%)	10(45,5%)	4(18,2%)	4(18,2%)
	помірно	8 (36,4%)	2(9%)	8(36,4%)	1(4,5%)
	Виражена	7(31,8%)	-	8(36,4%)	-
Світлобоязнь	Немає	2(5,3%)	14(%)	2(9%)	18(%)
	Слабо виражена	6(26,3%)	8(%)	7(%)	4(%)
	Помірно	6(47,4%)	0	6(%)	-
	Виражена	8(21%)	0	7(%)	-
Блефароспазм	Немає	2(%)	18(%)	2(%)	22(100%)
	Слабо виражений	6(%)	4	5(%)	-
	Помірно	8(%)	-	10(%)	-
	Виражений	6(%)	-	5(%)	-
Сльозотеча	Немає	2(%)	18(%)	2(%)	22(100%)
	Слабо виражений	8(%)	4(%)	7(%)	-
	Помірно	8(%)	-	8(%)	-
	Виражений	4(%)	-	5(%)	-

Отриманні результати на сьому добу лікування показали ефективний вплив комплексного лікування з застосуванням лактоферину на суб'єктивні скарги пацієнтів. У підгрупі 2 на сьому добу лікування відчуття стороннього тіла в оці спостерігається у 5 пацієнтів (22,7%), світлобоязнь у 4 пацієнтів (18,2%), тоді як сльозотеча та блефароспазм відсутні у всіх 22 пацієнтів (100%).

В динаміці обстеження пацієнтів з РЕР за основними об'єктивними ознаками та бальною оцінкою наведена в таблиці 5.4.

Таблиця.5.4.

Клінічні показники пацієнтів з РЕР в динаміці в залежності від способу лікування

Клінічна ознака	Підгрупа 1 n=22			Підгрупа 2 n=22		
	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба
Корнеальний синдром	1,95 ±0,14	0,68 ±0,14*	0,64 ±0,12*	1,77 ±0,13	0,59 ±0,13*	0,36 ±0,1*
Ін'єкція очного яблука	1,68 ±0,22	1,23 ±0,13*	0,5 ±0,1*	1,63 ±0,17	1,18 ±0,1*	0,45 ±0,11*
Виділення з кон'юнктиви	0,18 ±0,13	0	0	0,14 ±0,1	0	0
Набряк рогівки	0,77 ±0,16	0,68 ±0,14*	0,18 ±0,08*	0,69 ±0,18	0,45 ±0,13*	0
Фарбування рогівки	7,14 ±0,37	5,73 ±0,3*	2,09 ±0,24*	7,05 ±0,4	4,27 ±0,24*	1,41 ±0,2*
Сумарний показник в балах	11,73 ±0,74	8,27 ±0,61*	3,46 ±0,39*	11,18 ±0,73	6,5 ±0,5*	2,22 ±0,13*

Примітка *- $p < 0,05$ різниця достовірна відносно показника групи порівняння та відносно показника до лікування

Достовірно зниження корнеального синдрому у пацієнтів з РЕР спостерігається на третю добу лікування, у підгрупі 1 становить $0,68 \pm 0,14$ балів ($p < 0,05$), та в підгрупі 2 – $0,59 \pm 0,13$ балів ($p < 0,05$). Тоді як на сьому добу корнеальний синдром у пацієнтів підгрупи 2 зменшується порівняно з підгрупою 1 на $0,28 \pm 0,02$ балів ($p < 0,05$). Зменшення набряку рогівки в підгрупі 2 на третю добу лікування на $0,23 \pm 0,01$ бали ($p < 0,05$) нижча порівняно з підгрупою 1, та на сьому добу на $0,09 \pm 0,02$ балів ($p < 0,05$). Профарбовування рогівки на на сьому добу в підгрупі 1 становило $2,09 \pm 0,24$ бали ($p < 0,05$), тоді як у підгрупі 2 в середньому показник складав $1,41 \pm 0,2$ бали ($p < 0,05$).

За бальними показниками побудовано графік сумарного бального показника оцінки стану рогівки по підгрупам в залежності від способу лікування та представлено на рис.5.2.

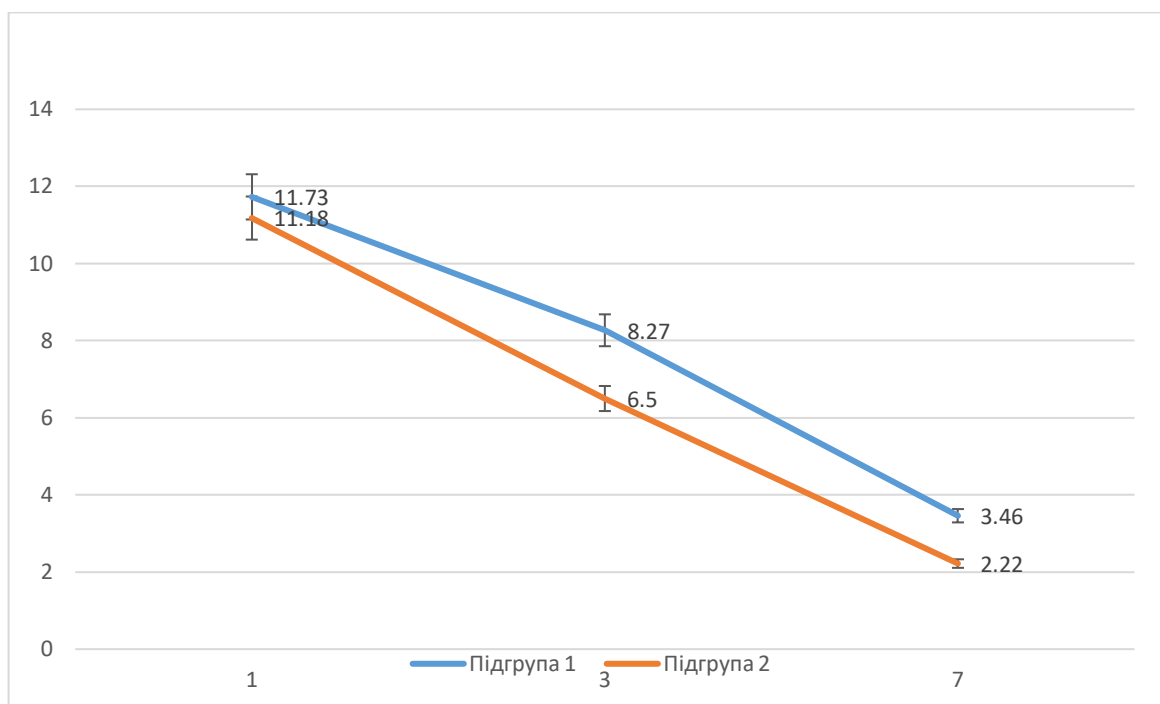


Рис.5.2. Сумарний бальний показник оцінки стану рогівки при рецидивуючій ерозії, бали

У підгрупі 2, де застосовували ЛФ в комплексному лікуванні, вже на третю добу спостерігаємо зниження сумарного бального показника на $1,77 \pm 0,11$ балів ($p < 0,05$) порівняно з групою 1. На сьому добу при епітелізації рогівки сумарний бальний показник в підгрупі 2 менший на $1,24 \pm 0,07$ балів ($p < 0,05$) порівняно з підгрупою 1, що свідчить про позитивну динаміку епітелізації рогівки.

Гострота зору в підгрупі 1 на третю добу лікування складала $0,48 \pm 0,05$ ($p < 0,001$ порівняно з даними до лікування) та на сьому добу $0,8 \pm 0,03$ ($p < 0,001$). В підгрупі 1 на сьому добу лікування ми спостерігали набряк рогівки у 18,8% випадків, що пояснює зниження гостроти зору. Відповідно в підгрупі 2 на третю добу гострота зору складала $0,64 \pm 0,04$ ($p < 0,001$) та на сьому добу становила $0,95 \pm 0,02$ ($p < 0,001$). Як бачимо відновлення гостроти зору у підгрупі 2 відбулося на сьому добу лікування, що співпадає з клінічними даними отриманими при обстеженні рогівки, де відмічалася епітелізація рогівки та відсутність набряку.

За даними AS-ОСТ у підгрупі 1 на третю добу $508,7 \pm 2,28$ мкм ($p < 0,05$), та на сьому добу відповідно $538,9 \pm 3,8$ мкм ($p < 0,05$), порівняно з товщиною рогівки до лікування, що становила $484,8 \pm 2,66$ мкм. Відновлення товщини епітелію рогівки на третю добу складало $44,7 \pm 0,41$ мкм ($p < 0,05$) та на сьому добу $50,23 \pm 0,34$ мкм ($p < 0,05$), тоді як при зверненні $41,36 \pm 0,52$ мкм.

Динаміка товщини рогівки за даними AS-ОСТ у підгрупі 2 на третю добу $509,3 \pm 2,17$ мкм ($p < 0,05$) та на сьому добу $543,2 \pm 2,71$ мкм ($p < 0,05$), тоді як до лікування $485,1 \pm 2,53$ мкм ($p < 0,05$). Товщина епітелію рогівки в підгрупі 2 на третю добу збільшилися до $46,7 \pm 0,3$ мкм ($p < 0,05$) та на сьому добу $52,5 \pm 0,28$ мкм ($p < 0,05$), тоді як при зверненні складала $40,72 \pm 0,44$ мкм.

Період лікування пацієнтів у підгрупі 1 становив $8,25 \pm 0,74$ днів та у підгрупі 2 відповідно $6,6 \pm 0,56$ днів відповідно ($p < 0,05$). В період динамічного спостереження після клінічного одуження (1,3 та 6 місяців) в підгрупі 1

діагностовано 10 випадків рецидивів (45,5%) та у підгрупі 2 встановлено 6 випадків рецидивів (22,7%).

5.3. Оцінка комплексного лікування на основі визначення активності MMP-9/ангіостатинів та лактоферину/церулоплазміну

Для оцінки ефективності лікування у сльозі пацієнтів визначали активність MMP-9/ангіостатинів, як маркерів ангіогенезу та ремоделювання міжклітинного матриксу, та рівні лактоферину/церулоплазміну, як маркерів гострофазового запалення.

Динаміка зміни MMP-9 та ангіостатинів по групах в залежності від лікування представлені на рис. 5.3.

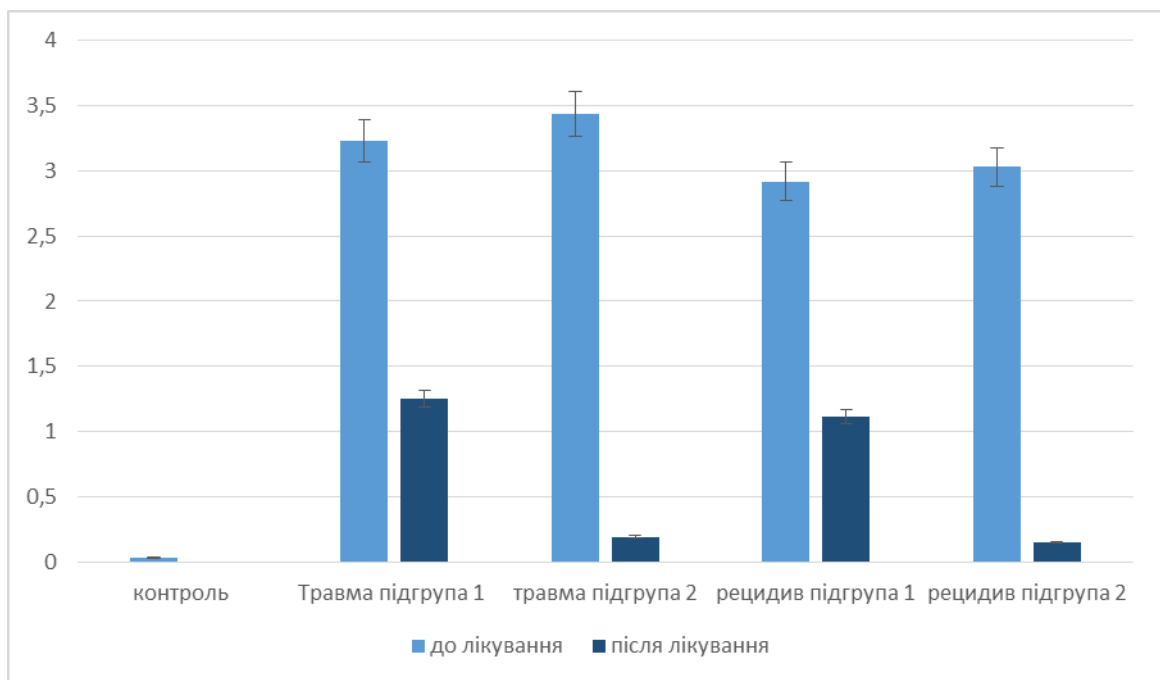


Рис.5.3. Динаміка рівня MMP-9 у пацієнтів з травматичною та рецидивуючою ерозією в залежності від лікування

При травматичній ерозії у підгрупі 1 до лікування рівень MMP-9 становив $3,23 \pm 0,24$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування визначався на рівні $1,25 \pm 0,18$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Тоді як у підгрупі 2 до лікування рівень MMP-

9 становив $3,44 \pm 0,27$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування визначався на рівні $0,19 \pm 0,08$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

При PER у підгрупі 1 до лікування визначається підвищена активність MMP-9 на рівні $2,92 \pm 0,27$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування складає $1,11 \pm 0,09$ у.о. ($p < 0,05$). Тоді як у підгрупі 2 до лікування визначається на рівні $3,03 \pm 0,24$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування складає $0,15 \pm 0,04$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

З іншої сторони, MMP приймають участь в ангиогенезі, шляхом розчеплення плазміногену та утворення ангиостатинів. Ангиостатини відіграють важливу роль у підтримці аваскулярності рогівки після пошкодження, так і при хронічних запальних станах. Визначення рівнів ангиостатинів в динаміці лікування наведена на рис.5.4.

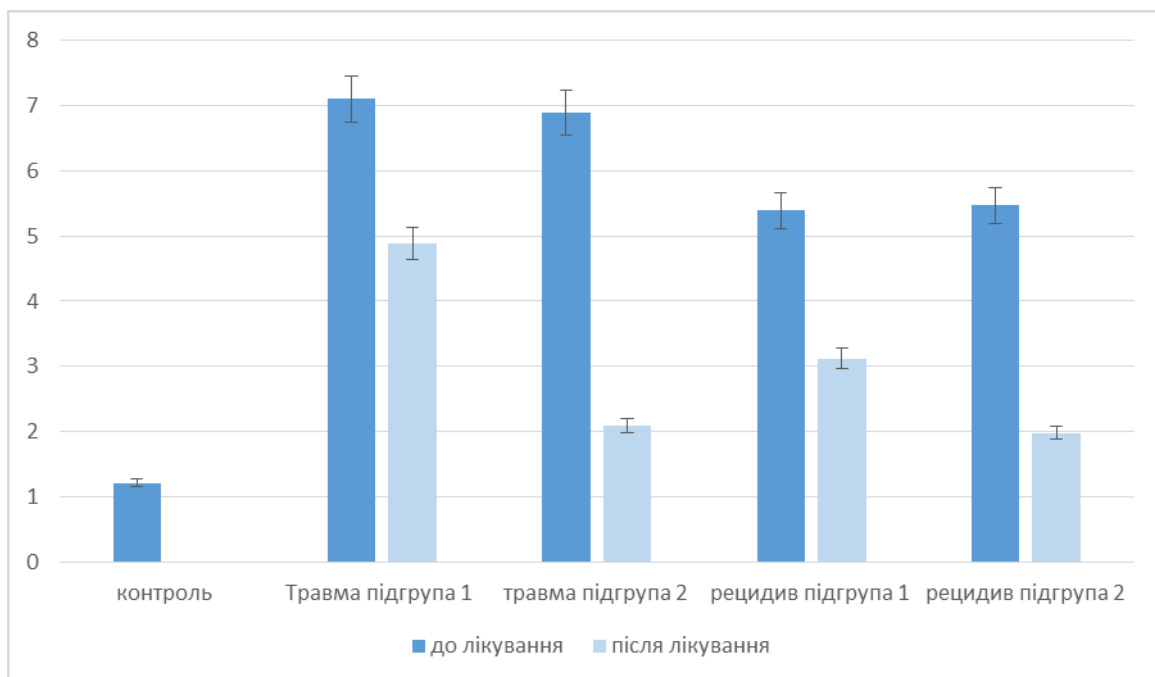


Рис.5.4.Динаміка рівнів ангиостатинів у пацієнтів з травматичною та рецидивуючою ерозією в залежності від лікування

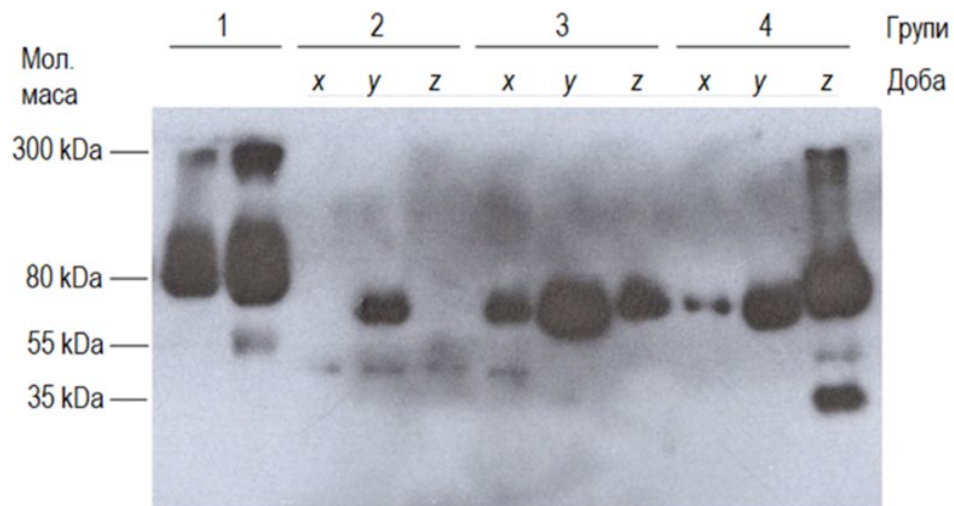
При травматичній ерозії до лікування відбувається підвищення рівня ангиостатинів відповідно у підгрупі 1 до $7,11 \pm 0,42$ у.о. ($p < 0,05$) та в підгрупі 2 до $6,89 \pm 0,42$ у.о. ($p < 0,05$). Тоді як після лікування у підгрупі 1 рівень

ангіостатинів сягав $4,89 \pm 0,21$ у.о. ($p < 0,05$) та у підгрупі 2 становив $2,09 \pm 0,08$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Дослідження рівнів ангіостатинів при PER до лікування у підгрупі 1 складало $5,39 \pm 0,34$ у.о. ($p < 0,05$) та у підгрупі 2 визначалася на рівні $5,47 \pm 0,37$ у.о. ($p < 0,05$). Після лікування відмічаємо зниження рівня ангіостатинів у підгрупі 1 до $3,12 \pm 0,22$ у.о. ($p < 0,05$) та у підгрупі 2 відповідно до $1,98 \pm 0,16$ у.о. ($p < 0,05$).

Як бачимо, з отриманих результатів у підгрупі 2 при комплексному лікуванні з включенням лактоферину відбувається достовірне зниження рівня MMP-9 та ангіостатинів як у групі з травматичною, так і рецидивуючою ерозією. Застосування крапель з лактоферином сприяє значному зниженню вмісту цих протеаз, що свідчить про інгібування запальних процесів, надмірного ремоделювання матриксу, ангіонезу та завершення епітелізації рогівки. Аналогічно при рецидиві ерозії, лактоферин сприяє швидкому зниженню активності MMP-9 та ангіостатинів, що призводить до епітелізації рогівки та зниження хронічного запалення на фоні якого виникає PER.

Динаміка визначення рівня ЛФ в залежності від лікування по групах показана на рис.5.5.



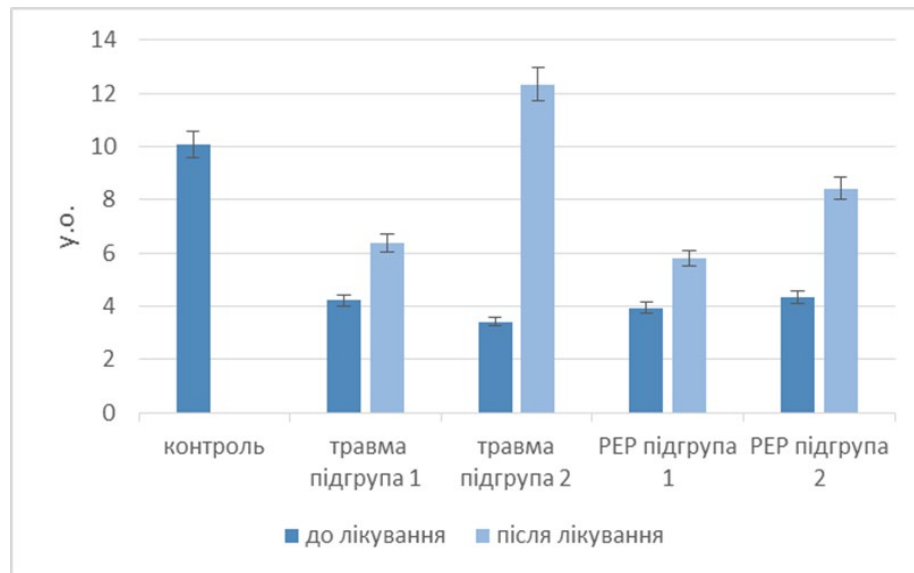


Рис. 5.5. Динаміка рівня лактоферину в слізній рідині пацієнтів: А) приклад детекції лактоферину методом імуноблотингу-репрезентативні блотограми (1 – контроль (здорові добровольці), 2-4 травматична ерозія рогівки; x – до лікування, y – третя доба, z – сьома доба); В) результати денситометричного аналізу лактоферину в слізній рідині пацієнтів з травмою рогівки та рецидивуючою ерозією рогівки ($p < 0,05$).

У підгрупі 1 рівень ЛФ до лікування в середньому складав $4,08 \pm 0,45$ у.о. та після проведеного лікування середнє значення становило $6,38 \pm 0,55$ у.о. ($p < 0,05$). Тоді як у підгрупі 2 відповідно до лікування рівень ЛФ складав $3,94 \pm 0,45$ та після лікування $12,23 \pm 0,6$ у.о. ($p < 0,05$).

У групі хворих з PEP на початкових стадіях захворювання також демонструється низький рівень ЛФ $4,28 \pm 0,4$ у.о., що на $6,02 \pm 0,01$ у.о. менше ніж у здорових добровольців ($p < 0,05$). У підгрупі 1 рівень ЛФ відновлюється до $5,81 \pm 0,34$ у.о. ($p < 0,05$), тоді як у пацієнтів підгрупи 2 рівень ЛФ складав $8,43 \pm 0,8$ у.о. ($p < 0,05$).

Динаміка визначення рівня ЦПІ по групам в залежності від лікування представлена на рис.5.6.

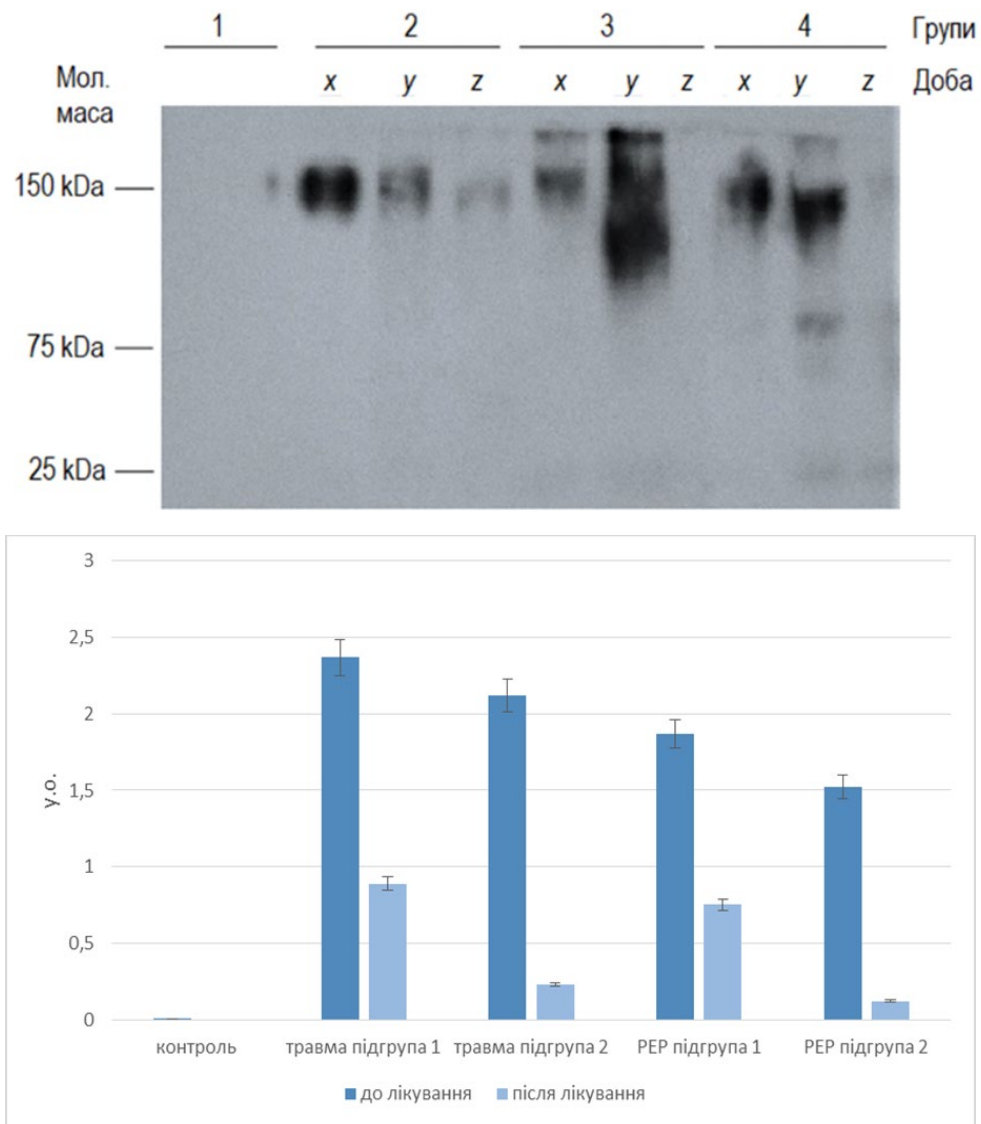


Рис.5.6. Зміни рівня ЦП в слізній рідині пацієнтів: А) приклад детекції методом імуноблотингу – репрезентативні блотограми (1 – контроль (здорові добровольці), 2-4 – травматична ерозія рогівки; х – до лікування, у – третя доба, z – сьома доба); В) результати денситометричного аналізу церулоплазміну в слізній рідині пацієнтів з травмою рогівки та рецидивуючою ерозією рогівки ($p < 0,05$).

При травматичній ерозії в підгрупі 1 ЦП до лікування складає $2,38 \pm 0,24$ у.о. ($p < 0,05$ порівняно з контролем) та після лікування знижується до $0,87 \pm 0,08$ у.о. ($p < 0,05$). Тоді як у підгрупі 2 при травматичній ерозії ЦП до лікування складає $2,19 \pm 0,14$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування знижується до $0,31 \pm 0,04$ у.о. ($p < 0,05$).

При PER в підгрупі 1 до та після лікування ЦП визначався на рівні $1,84 \pm 0,15$ у.о. ($p < 0,05$ порівняно з контролем) та $0,72 \pm 0,08$ у.о. ($p < 0,05$). А в підгрупі 2 складав до лікування $1,51 \pm 0,11$ у.о. ($p < 0,05$ порівняно з контролем) та після лікування знижувався до $0,14 \pm 0,03$ у.о. ($p < 0,05$).

Як бачимо, при комплексному лікуванні з застосуванням ЛФ у сльозі пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями відбувається достовірне збільшення рівня ЛФ, та відповідно зменшення рівня ЦП. Отриманні дані підтверджують те, що лактоферин зменшує запалення при пошкодженні рогівки, забезпечує антиоксидантну дію та сприяє зниженню запалення у тканинах.

Резюме до розділу 5

Оцінка ефективності комплексного лікування була проведена на основі об'єктивних даних та морфологічних змін, оцінці проявів суб'єктивних скарг пацієнтів. Таким чином в клінічній оцінці встановлено позитивний вплив комплексного лікування, що підтверджується зменшенням суб'єктивних скарг (проявів корнеального синдрому), об'єктивно покращення показників бальної оцінки рогівки та морфологічних ознак епітелізації рогівки за даними AS-OCT. Загалом комплексне лікування з включенням лактоферину призвело до прискорення клінічного одужання пацієнтів як у групі травматичних, так і рецидивуючих ерозій відповідно. Застосування лактоферину в лікуванні травматичних і рецидивуючих ерозій рогівки дозволило зменшити термін їх лікування на $1,6 \pm 0,16$ і $1,65 \pm 0,65$ днів відповідно до групи порівняння ($p < 0,05$). Після клінічного одужання при динамічному спостереженні встановлено зменшення кількості рецидивів на 13,2% в групі травматичних ерозій та на 22,8% в групі PER.

У нашому дослідженні біохімічні зміни у сльозі відповідали клінічній картині епітелізації рогівки, відновленню структури та прозорості рогівки, зменшення суб'єктивних проявів рогівкового синдрому. Під впливом лікування ЛФ як у групі травматичних, так і рецидивуючих ерозій

відбувається зменшення активності ММР-9/ангіостатинів, ЦП та достовірне збільшення ЛФ, що співставляється з даними відновлення морфології рогівки.

Дані цього розділу висвітленні в публікації:

1. [211] Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Вплив лактоферину на епітелізацію рогівки при непроникних травмах ока. Архів офтальмології України. 2022;10(3):14-8. doi: <https://doi.org/10.22141/2309-8147.10.3.2022.301>.
2. [214] Гавриляк ІВ, Жабоедов ДГ, Гребень НК, Тихомиров АО. Рівень лактоферину й церулоплазміну в сльозі пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями рогівки. Офтальмол. журн. 2024;(1):8-14. doi: <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh20241814>.

РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) кожного року реєструється 55 мільйонів випадків травми ока [1-5]. Провідне місце в структурі звернення за невідкладною офтальмологічною допомогою з приводу травми ока займають пошкодження рогівки, зокрема на травматичні ерозії рогівки припадає близько 45% звернень. Поширеність травм рогівки вища серед людей працездатного віку, що призводить до тимчасової втрати працездатності і становить важливу медико-соціальну проблему[11-17].

Внаслідок травми виникають різного ступеню морфологічні зміни у рогівці, в залежності від величини клітинної та молекулярної реакції на пошкодження. Тип травми та ступінь пошкодження рогівки впливає на інтенсивність реакції загоєння рани. З іншого боку, пошкодження рогівки може призвести до порушення процесів регенерації та репарації, зокрема до таких станів відносять рецидивуючу ерозію рогівки[3,19, 21].

Загоєння рани рогівки є динамічним процесом, який включає каскадні механізми клітинної міграції, проліферації, диференціації та ремоделювання позаклітинного матриксу. За фізіологічних умов, епітеліальний шар рогівки відновлюється протягом 7-14 днів, та процес загоєння рани рогівки завершується прикріпленням регенованого епітеліального шару до базальної мембрани через систему гемідесмосоми [21, 32]. Дефект епітеліальної адгезії, дефіцит базальної мембрани або аномалія гемідесмосом призводить до порушення епітелізації рогівки [3, 19, 32].

Зокрема, таким несприятливим станом є виникнення рецидивуючої ерозії рогівки, яка призводить до втрати працездатності від декількох днів до тижнів, потребує тривалого консервативного лікування, а в деяких випадках і хірургічних методів корекції. РЕР переважно вражає дорослих у віці від 30 до

80 років, з найбільшою поширеністю у віці від 30 до 40 років, більш характерно для жінок [21,27,28].

Попередня травма рогівки є найпоширенішою причиною виникнення PEP, що становить за даними різних авторів від 45-69% випадків, тоді як дистрофія епітеліальної базальної мембрани складає лише 20-25% [29-31].

За даними досліджень попередніх років, важливим пусковим фактором загоєння ран рогівки при травматичному пошкодженні є вивільнення матриксної металопротеїнази, зокрема її ізоформи MMP-9, яка запускає каскад змін у системі клітина-клітина та клітина-матрикс, що призводить до ремоделювання міжклітинного матриксу [75, 76, 78]. Надмірна експресія MMP-9 сприяє розщепленню колагену типів IV, V, VII і X, які є структурними компонентами базальної мембрани та призводить до порушення в системі гемідесмосом. Важливим на всіх етапах заживлення рани є баланс між ангіогенними (ангіостатинів) та проангіогенними (MMP-9) факторами, завдяки якому підтримується аваскулярність та прозорість рогівки.

З іншої сторони клітини рогівки здатні виробляти імунологічні компоненти з протизапальною та антибактеріальною активністю, які відіграють активну роль у специфічному та неспецифічному імунному захисті. Одним з таких білків для підтримання імунопривілейованого статусу рогівки є ЛФ, який епітеліальні клітини рогівки та кон'юнктиви виробляють в достатній кількості [98, 103, 104, 109-112].

Поглиблене вивчення патогнетичних механізмів, що лежать в основі загоєння рани рогівки, зокрема, травматичних ерозій рогівки, а також порушення регуляції даного процесу, як у випадку рецидивуючих ерозій рогівки, повинно дозволити розробити комплексний підхід у лікуванні, спрямований на прискорення процесу загоєння ран рогівки.

Тому метою нашого дослідження було покращити ефективність лікування непроникаючих пошкоджень рогівки шляхом вивчення процесу заживлення ран рогівки на основі визначення рівнів маркерів гострофазового

запалення, ангіогенезу та ремоделювання у слізній рідині та розробка комплексної медикаментозної корекції даних змін.

Відповідно до поставлених завдань нами було виконано: визначення рівнів MMP-9, ангіостатинів, лактоферину та церулоплазміну у слезовій рідині при травматичних ерозіях рогівки та рецидивуючих ерозіях до та в динаміці лікування; дослідження та оцінка клініко-морфологічних особливостей рогівки при травматичних та рецидивуючих ерозіях рогівки на основі клінічних даних та оптико-когерентної томографії переднього відділу ока до лікування та в динаміці в залежності від методу лікування.

Для вирішення поставлених задач нами було обстежено 120 пацієнтів віком від 19 до 65 років (39 ± 9), з них 71 чоловік (59,2%) та 49 жінок (40,8%). В залежності від клінічних проявів пацієнти розподіленні на дві групи. До першої групи включено 76 пацієнти (76 очей) з вперше встановленим діагнозом травматична ерозія рогівки (ТЕР). До другої групи включено 46 пацієнтів (46 очей) з діагнозом – рецидивуюча ерозія рогівки (РЕР). До дослідження було включено пацієнтів з рецидивуючою ерозією рогівки після попередньої травми ока.

При дослідження біохімічних змін в слезовій рідині було включено у дослідження контрольну групу. До контрольної групи входили 36 людей (36 очей) – 18 чоловіків і 18 жінок, віком від 18 до 45 років (29 ± 8), без ознак і симптомів синдрому сухого ока та хірургічних втручань на очах в анамнезі.

Усім пацієнтам проводилося комплексне офтальмологічне обстеження на першу, третю, сьому добу яке включало збір анамнезу, візіометрію, авторефрактометрію, біомікроскопію, профарбовування рогівки флюоресцеїном, бальна оцінка, AS-OCT. Забір слізної рідини проводили за допомогою мікропіпетки з одноразовим наконечником. З нижнього меніска без закапування анестетика слези збирали до стерильної пластикової пробірки типу Епендорф, що містила забуферений фізіологічний розчин (ЗФР)

(співвідношення сльоза:буфер - 1:5) і зберігали за $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ перед лабораторними дослідженнями.

Активні форми ММП-9 (желатиназа В) у зразках слізної рідини виявляли за допомогою желатинової зимографії з використанням сополімеру 8% ПААГ з желатином (3 мг/мл) у присутності 0,1% SDS за умов проведення гель-електрофорезу. Наявність активних ММП визначали за проявленням світлих смуг на темнозбарвленому тлі, при цьому інтенсивність та площа смуг є пропорційними активності ензимів. Молекулярну масу ММП визначали за міграцією стандартних маркерів молекулярної ваги.

Імуноблот-аналіз досліджуваних протеїнів сльози пацієнтів проводили за стандартною методикою. У роботі використовували наступні первинні антитіла: антитіла до ангіостатинів та ММП-9. Для детекції лактоферину в імуноблоті використовували кролячі поліклональні антитіла, які отримували згідно з описаною методикою [200]. Імунохімічний аналіз церулоплазміну проводили з використанням мишачих моноклональних антитіл виробництва Santa Cruz Biotechnology, США (кат. номер sc-365205). Молекулярну масу протеїнів у зразках визначали, порівнюючи їхню міграцію з розташуванням на нітроцелюлозній мембрані забарвлених маркерів Page Ruler™ Plus Prestained Protein Ladder (ThermoScientific, Литва, кат. № 26619) у діапазоні 10-230 кДа. Інтенсивність імунозбарвлення і площа білкової зони є пропорційними вмісту білка у зразку і виражалася в умовних одиницях (у. о.) оптичної густини.

При вивченні патофізіологічних механізмів епітелізації рогівки на основі дослідження протеїнів сльозової рідини, що відповідають за ангіогенез та регенерацію рогівки, гострофазових білків запалення ми отримали наступні результати.

При травматичному пошкодженні рогівки, встановили значне підвищення рівня ММП-9 у слізній рідині пацієнтів з травматичною ерозією рогівки в порівнянні з контрольною групою у 105 разів ($p < 0,001$). Тоді як при

PER за допомогою вестерн-блот аналізу встановлено збільшення активності MMP-9 у 97 раз більше порівняно з групою контролю ($p < 0,001$).

Таким чином, процес загоєння ран рогівки характеризується збільшенням вироблення MMP-9, що відповідає за клітинне ремоделювання та впливає на деградацію базальної мембрани. Завдяки збільшенню рівнів MMP-9 зменшується адгезія клітин, посилюється їхня міграція вздовж пошкодженої ділянки та відбувається закриття дефекту епітелію. Також MMP-9 відповідають за чітку регуляцію ангиогенезу як у здоровій, так і пошкодженій рогівці шляхом утворення ангиостатинів, які вситупають одним з основних антиангіогенних факторів.

Денситометричний аналіз блоттингу показав підвищення рівня ангиостатину в сльозовій рідині пацієнтів з травматичними ерозіями у 5,8 рази порівняно зі здоровими особами ($p < 0,05$), тоді як при PER у 4,5 раз більше порівняно зі здоровими особами ($p < 0,001$).

Попередніми дослідженнями було показано, що ангиостатини постійно утворюються епітелієм рогівки і беруть участь у підтримці прозорості рогівки, протидіють проангіогенній передачі сигналів VEGF і пригнічують васкуляризацію під час травми рогівки та запалення [67,74].

Однак надмірне підвищення активності MMP-9 може призвести до аномальної деградації позаклітинного матриксу та базальної мембрани, пригнічення репаративного ангиогенезу через масивну деградацію плазміногену. Внаслідок цього відбувається утворення надмірного рівня ангиостатину, що перешкоджає належному загоєнню ран рогівки, порушення епітелізації та виникненню рецидиву ерозій [64,67].

В балансі між проангіогенними та ангиогенними факторами важливу роль також відіграє лактоферин, який завдяки своїм протизапальним властивостям, може зменшувати вивільнення деяких прозапальних білків та сприяти експресії протизапальних цитокінів [110, 120]. Ми встановили зниження рівня лактоферину при травматичній ерозії на $6,45 \pm 0,05$ у.о. менше

($p < 0,05$) порівняно з контролем, та при рецидиві ерозії на що на $5,9 \pm 0,01$ у.о. ($p < 0,05$) менше порівняно з контролем. Зменшення його рівня в слъзовій рідині призводить до зниження захисної функції, порушення гомеостазу очної поверхні та активації запалення.

У нашому дослідженні встановлено збільшення рівня церулоплазміну - гострофазового білка запалення, що забезпечує активацію антиоксидантного захисту при пошкодженні. Так при травматичні ерозії він зростає до $2,37 \pm 0,25$ у.о. ($p < 0,05$) та при РЕР до $1,78 \pm 0,2$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем, де він визначається в слідових кількостях.

При динамічному об'єктивному обстеженні пацієнтів визначення ефективності лікування у групах визначалася на основі бальної оцінки рогівки, показників гостроти зору та оцінки морфофункціональних змін на основі AS-ОСТ.

У групі ТЕР при застосуванні ЛФ в комплексному лікуванні вже на третю добу відмічаємо зниження сумарного бального показника оцінки рогівки на $1,97 \pm 0,13$ балів ($p < 0,05$) порівняно з групою порівняння, до сьомої доби відмічається достовірне покращення стану поверхні ока при епітелізації рогівки та складає в сумарному бальному показнику на $0,37 \pm 0,06$ балів ($p < 0,05$) менше порівняно з групою порівняння.

В підгрупі 2 відбулося відновлення гостроти зору на сьому добу лікування до $0,95 \pm 0,01$ ($p < 0,001$), що співпадає з клінічними даними оцінки рогівки, такі як зменшення набряку та повна епітелізація рогівки. Тоді як в підгрупі 1 ми спостерігали у пацієнтів залишкові явища набряку рогівки в 13,2% випадків, що відповідає отриманим даним зниження гостроти зору до $0,89 \pm 0,02$ ($p < 0,001$).

Морфологічні ознаки моніторингу епітелізації рогівки оцінювалися за допомогою AS-ОСТ за критеріями товщини рогівки та епітелію. У підгрупі 1 сьому добу відновлення епітелію до $51,3 \pm 0,2$ мкм ($p < 0,05$), порівняно першою

добою при зверненні, що становило в середньому $43,2 \pm 0,5$ мкм. Товщина рогівки на сьому добу $549,6 \pm 3,13$ мкм ($p < 0,05$), тоді як до лікування становила $490 \pm 1,88$ мкм. Регрес мікророзривів базальної мембрани на сьому добу ми спостерігали у 15,8% випадків, тоді як при зверненні у 28,9% випадків встановлено було нерівномірність базальної мембрани, та у 23,7% випадків зберігалася гіперрефлексивність передньої строми.

У підгрупі 2 товщина епітелію складала на третю добу $47,5 \pm 0,3$ мкм ($p < 0,05$) та відповідно на сьому добу становило $53,5 \pm 0,2$ мкм ($p < 0,05$), порівняно з даними до лікування $44,3 \pm 0,5$ мкм. У підгрупі 2 при проведенні AS-ОСТ на третю добу лікування товщина рогівки складала $527,4 \pm 2,3$ мкм ($p < 0,05$) та на сьому добу $555,6 \pm 3,1$ мкм ($p < 0,05$), тоді як до лікування становила $490,3 \pm 1,9$ мкм. На сьому добу мікророзриви у 10,5% випадків, тоді як до лікування зустрічалося у 26,3% випадків, при цьому гіперрефлекторність передньої строми у 18,4%.

Період лікування пацієнтів у підгрупі 1 становив $7,6 \pm 0,43$ днів та у підгрупі 2 відповідно $6,0 \pm 0,23$ днів ($p = 0,05$). З метою оцінки виникнення рецидивів на фоні травматичного пошкодження пацієнтам проводився огляд після клінічного одужання через 1, 3, 6 місяців. В підгрупі 1 діагностовано 9 рецидивів (23,7% випадків), тоді як в підгрупі 2 встановлено 4 випадки рецидиву (10,5% випадків).

У групі PER при застосовуванні ЛФ в комплексному лікуванні, вже на третю добу спостерігаємо зниження сумарного бального показника оцінки рогівки на $1,77 \pm 0,11$ балів ($p < 0,05$) порівняно з підгрупою 1. На сьому добу при епітелізації рогівки сумарний бальний показник оцінки рогівки в підгрупі 2 менший на $1,24 \pm 0,07$ балів ($p < 0,05$) порівняно з підгрупою 1, що свідчить про позитивну динаміку епітелізації рогівки.

Гострота зору в підгрупі 1 на сьому добу становила $0,8 \pm 0,03$ ($p < 0,001$), клінічно діагностовано набряк рогівки у 18,8% випадків, що корелює зі

зниженням гостроти зору. Відповідно в підгрупі 2 гострота зору на сьому добу становила $0,95 \pm 0,02$ ($p < 0,001$), що співпадає з клінічними даними отриманими при обстеженні рогівки, де відмічалася епітелізація рогівки та відсутність набряку.

За даними AS-OCT у підгрупі 1 на сьому добу відновлюється товщина рогівки до $538,9 \pm 3,8$ мкм ($p < 0,05$), порівняно з товщиною рогівки до лікування, що становила $484,8 \pm 2,66$ мкм. Відновлення товщини епітелію рогівки на сьому добу $50,23 \pm 0,34$ мкм ($p < 0,05$), тоді як при зверненні складала $41,36 \pm 0,52$ мкм. Динаміка товщини рогівки за даними AS-OCT у підгрупі 2 на сьому добу відновилося до $543,2 \pm 2,71$ мкм ($p < 0,05$), тоді як до лікування складала $485,1 \pm 2,53$ мкм ($p < 0,05$). Товщина епітелію рогівки в підгрупі 2 на збільшилися до $52,5 \pm 0,28$ мкм ($p < 0,05$), тоді як при зверненні складала $40,72 \pm 0,44$ мкм.

Період лікування пацієнтів у підгрупі 1 становив $8,25 \pm 0,74$ днів та у підгрупі 2 відповідно $6,6 \pm 0,56$ днів відповідно ($p < 0,05$). В період динамічного спостереження після клінічного одуження (1, 3 та 6 місяців) в підгрупі 1 діагностовано 10 випадків рецидивів (45,5%) та у підгрупі 2 встановлено 6 випадків рецидивів (22,7%).

При травматичні ерозії у підгрупі 1 до лікування рівень MMP-9 становив $3,23 \pm 0,24$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування визначався на рівні $1,25 \pm 0,18$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Тоді як у підгрупі 2 до лікування рівень MMP-9 становив $3,44 \pm 0,27$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування визначався на рівні $0,19 \pm 0,08$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

При PER у підгрупі 1 до лікування визначається підвищена активність MMP-9 на рівні $2,92 \pm 0,27$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування складає $1,11 \pm 0,09$ у.о. ($p < 0,05$). Тоді як у підгрупі 2 до лікування визначається на рівні $3,03 \pm 0,24$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування складає $0,15 \pm 0,04$ у.о. ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

У підгрупі 1 рівень ЛФ до лікування в середньому складав $4,08 \pm 0,45$ у.о. та після проведеного лікування середнє значення становило $6,38 \pm 0,55$ у.о. ($p < 0,05$). Тоді як у підгрупі 2 відповідно до лікування рівень ЛФ складав $3,94 \pm 0,45$ та після лікування $12,23 \pm 0,6$ у.о. ($p < 0,05$).

У групі хворих з PER на початкових стадіях захворювання також демонструється низький рівень ЛФ $4,28 \pm 0,4$ у.о., що на $6,02 \pm 0,01$ у.о. менше ніж у здорових добровольців ($p < 0,05$). У підгрупі 1 рівень ЛФ відновлюється до $5,81 \pm 0,34$ у.о. ($p < 0,05$), тоді як у пацієнтів підгрупи 2 рівень ЛФ складав $8,43 \pm 0,8$ у.о. ($p < 0,05$).

При травматичній ерозії в підгрупі 1 ЦП до лікування складає $2,38 \pm 0,24$ у.о. ($p < 0,05$ порівняно з контролем) та після лікування знижується до $0,87 \pm 0,08$ у.о. ($p < 0,05$). Тоді як у підгрупі 2 при травматичній ерозії ЦП до лікування складає $2,19 \pm 0,14$ у.о. ($p < 0,05$) та після лікування знижується до $0,31 \pm 0,04$ у.о. ($p < 0,05$).

При PER в підгрупі 1 до та після лікування ЦП визначався на рівні $1,84 \pm 0,15$ у.о. ($p < 0,05$ порівняно з контролем) та $0,72 \pm 0,08$ у.о. ($p < 0,05$). А в підгрупі 2 складав до лікування $1,51 \pm 0,11$ у.о. ($p < 0,05$ порівняно з контролем) та після лікування знижувався до $0,14 \pm 0,03$ у.о. ($p < 0,05$).

З отриманих результатів можна зробити заключення, що у підгрупі 2 при комплексному лікуванні з включенням лактоферину відбувається достовірне зниження рівня MMP-9 та ангіостатинів як у групі з травматичною, так і рецидивуючою ерозією. Застосування крапель з лактоферином сприяє значному зниженню вмісту цих протеаз, що свідчить про інгібування запальних процесів, надмірного ремоделювання матриксу, ангіонезу та завершення епітелізації рогівки. Аналогічно при рецидиві ерозії, лактоферин сприяє швидкому зниженню активності MMP-9 та ангіостатинів, що призводить до епітелізації рогівки та зниження хронічного запалення на фоні якого виникає PER.

Динаміка кількісних змін ЛФ та ЦП у сльозі пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями показує достовірне збільшення рівня ЛФ, та відповідно зменшення рівня ЦП під впливом лікування. Отриманні дані підтверджують те, що лактоферин прискорює зменшення запалення у пошкодженому оці, забезпечує антиоксидантну дію, сприяє зменшенню впливу оксидативного стресу та запалення у тканинах. Біохімічні зміни у сльозі відповідали клінічній картині епітелізації рогівки, відновленню структури та прозорості рогівки, зменшення суб'єктивних проявів рогівкового синдрому. Отриманні результати співпадають з експериментальними дослідженнями, що до впливу ЛФ на епітелізацію рогівки та зменшення ознак запалення.

На основі отриманих нами результатів дослідження та їх аналізу розроблено схему комплексного лікування травматичних та рецидивуючих ерозій з застосуванням очних крапель на основі лактоферину, що забезпечує скорочення періоду лікування даних груп пацієнтів, мінімізує наслідки травми та кількість рецидивів.

ВИСНОВКИ

1. В структурі первинного звернення за невідкладною офтальмологічною допомогою провідне місце займають травми пов'язані з пошкодженням рогівки. Близько 45% випадків звернень припадає на травматичні ерозії рогівки. Поширеність травм рогівки вища серед людей працездатного віку, що призводить до тимчасової втрати працездатності і становить важливу медико-соціальну проблему. Навіть незначне травматичне пошкодження рогівки може призвести до морфологічних змін та порушити її властивості. Таким чином проблема загоєння ран рогівки є актуальним питанням сучасної офтальмології, що зумовлює необхідність подальшого вивчення даної теми і розробки нових методів лікування.

2. Дослідження активності матриксної металопротеїнази (ММР-9) у сльозовій рідині пацієнтів показало підвищення рівня ММР-9 у 105 та 97 разів у хворих з травматичною та рецидивуючою ерозією рогівки відповідно, порівнюючи із здоровими особами ($p < 0,001$). Аналіз регулятора ангіогенезу шляхом денситометричного аналізу блоттингу показав підвищення рівня ангіостатину в сльозовій рідині пацієнтів з травматичними ерозіями у 5,8 рази, порівняно зі здоровими особами ($p < 0,05$), тоді як при рецидивуючій ерозії рогівки у 4,5 раз більше порівняно зі здоровими особами ($p < 0,001$).

3. Встановлено зниження рівня лактоферину при травматичній ерозії на $6,45 \pm 0,05$ у.о. та при рецидиві ерозії на $5,9 \pm 0,01$ у.о. порівняно зі здоровими особами ($p < 0,05$). Рівень церулоплазміну збільшується до $2,37 \pm 0,25$ у.о. та $1,78 \pm 0,2$ у.о. відповідно при травматичній та рецидивуючій ерозіях рогівки порівняно зі здоровими особами, де він визначається в слідових кількостях ($p < 0,05$).

4. Застосування в комплексному лікуванні очних крапель на основі лактоферину дозволило досягнути покращення клініко-морфологічних характеристик, а саме зменшення сумарного бального показника рогівки на

0,37±0,06 балів ($p<0,05$) у групі хворих із травматичними ерозіями та на 1,24±0,07 балів ($p<0,05$) у групі хворих з рецидивуючими ерозіями.

5. При застосуванні комплексного лікування встановлено зменшення рівня ММР-9 та активності ангіостатинів до рівнів 0,19±0,08 у.о. та 2,09±0,08 у.о. і 0,15±0,04 та 1,98±0,16 у.о. при травматичних та рецидивуючих ерозіях рогівки відповідно ($p<0,05$). Відновився рівень лактоферину до 12,23±0,6 у.о. при травматичних ерозіях рогівки та до 8,43±0,8 у.о. при рецидивуючих ерозіях рогівки ($p<0,05$). Знизився рівень церулоплазміну до 0,31±0,04 у.о. ($p<0,05$) при травматичній ерозії та до 0,14±0,03 у.о. при рецидивуючій ($p<0,05$).

6. В підгрупах з застосуванням лактоферину термін лікування скоротився на 1,6±0,16 і 1,65±0,65 днів при травматичних та рецидивуючих ерозіях рогівки відповідно ($p<0,05$). А кількість рецидивів після клінічного одужання скоротилась на 13,2% в групі хворих із травматичними ерозіями та на 22,8% в групі рецидивуючих ерозій.

7. Отриманні дані доводять, що антиоксидантні властивості лактоферину редукують вплив окисного стресу та хронічного запалення прискорюючи репарацію рогівки. Отже, зниження рівня активності ММР-9, гострофазових білків запалення та регуляторів ангіогенезу у сльозовій рідині лікованих хворих відповідали клінічній картині епітелізації рогівки, зменшенню суб'єктивних проявів рогівкового синдрому, відновленню структури та прозорості рогівки.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Рекомендується для впровадження в практичну діяльність очних відділень, районних та міських лікарень, відділень обласних лікарень, а також приватних офтальмологічних закладів застосування в комплексному лікуванні лактоферину місцевої дії при епітелізації рогівки, як у групі травматичних, так і рецидивуючих ерозій, на основі вивчення клініко-морфологічних показників та вивчення експресії протеїнів слюзової рідини.

Запропоновано визначення маркерів гострофазового запалення, ангіогенезу та ремоделювання матриксу у слюзовій рідині для оцінки пошкодження та моніторингу епітелізації рогівки (MMP-9, ангіостатинів, лактоферину та церулоплазміну).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Wilson SE, Sampaio LP, Shiju TM, Hilgert GSL, deOliveira RC. Corneal opacity: cell biological determinants of the transition from transparency to transient haze to scarring fibrosis, and resolution, after injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2022 Jan 3;63(1):22. doi: 10.1167/iovs.63.1.22.
2. Rahman S, Hossain A, Alam S, Rahman A, Sultana C, Islam S, et al. Mechanical eye trauma epidemiology, prognostic factors, and management controversies – an update. *Open J Ophthalmol.* 2021;11(4):348-63. doi: 10.4236/ojoph.2021.114029.
3. Barrientez B, Nicholas SE, Whelchel A, Sharif R, Hjortdal J, Karamichos D. Corneal injury: Clinical and molecular aspects. *Exp Eye Res.* 2019 Sep;186:107709. doi: 10.1016/j.exer.2019.107709.
4. Asadi F, Ramezanghorbani N, Almasi S, Rangraz MH. Eye injury registries: a review on key registry processes. *Iran J PublicHealth.* 2021 Dec;50(12):2495-508. doi: 10.18502/ijph.v50i12.7922.
5. Iftikhar M, Latif A, Farid UZ, Usmani B, Canner JK, Shah SMA. Changes in the incidence of eye trauma hospitalizations in the United States from 2001 through 2014. *JAMA Ophthalmol.* 2019 Jan 1;137(1):48-56. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2018.4685.
6. Choovuthayakorn J, Worakriangkrai V, Patikulasila D, Watanachai N, Kunavisarut P, Chaikitmongkol V, et al. Epidemiology of eye injuries resulting in hospitalization, a referral hospital-based study. *Clin Ophthalmol.* 2020 Jan 6;14:1-6. doi: 10.2147/OPTH.S234035.
7. Пасечнікова, Н. В., Дрожжина, Г. І., Гайдамака, Т. Б., Аліфанова, Т. А., Серєда, К. В., Осташевський, В. Л. Основні аспекти трансплантації рогівки в Україні та світі: аналіз потреб, види кератопластики та

- перспективи розвитку. Трансплантація та штучні органи. 2021.1(02), с.42-54. https://doi.org/10.30702/transpaorg/02_21.3103/0455-68/08-085
8. Риков С. О., Петренко О. В., Герасімова Т. П., Прусак О. І. Особливості організації надання допомоги пацієнтам з бойовою травмою органа зору. «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`2022»: науково-практична конференція з міжнародною участю 20-21 жовтня 2022 року: збірник праць / за редакцією член-кореспондента НАМН України, професора С. О. Рикова // Київ. - 2022. - с.102
 9. Красновид ТА. Офтальмотравматология в современных условиях. В: Матеріали наук.-практ. конф. офтальмологів Чернівець., Івано-Франків., Терноп., Хмельниц. обл. України Актуальні питання офтальмології; 2017 Верес 20-21; Чернівці. Одеса; 2017. с. 38-42.
 10. Перепелична РЯ, редактор. Основні показники інвалідності та діяльності медико-соціальних експертних комісій України за 2020 рік: аналіт.-інформ. довід. Дніпро: Акцент ПП; 2021. 187 с.
 11. Красновид ТА, Сидак-Петрецькая ОС, Грубник НП, Мирненко ВВ, Исько ЕД, Тычина НП, и др. Особенности структуры и характер глазных повреждений в зоне АТО на востоке Украины. Офтальмология. Вост. Европа. 2017;7(1):60-4.
 12. Iftikhar M, Canner JK, Latif A, Shah SMA, Justin GA, Woreta FA. Epidemiology of ophthalmic trauma in the United States from 2009-2018: A Nationwide Emergency Department Sample Analysis. Injury. 2024 Mar;55(3):111209. doi: 10.1016/j.injury.2023.111209.
 13. Ng HR, Chee SF, Chai KS, Chong MF, Mustapha M. The epidemiological profile of open globe injuries and prognostic factors in a Tertiary Care Centre. Cureus. 2021 Jun 22;13(6):e15846. doi: 10.7759/cureus.15846.
 14. Morris DS, Willis S, Minassian D, Foot B, Desai P, MacEwen CJ. The incidence of serious eye injury in Scotland: a prospective study. Eye (Lond). 2014 Jan;28(1):34-40. doi: 10.1038/eye.2013.213.

15. Lee BWH, Samarawickrama C. Closed globe and adnexal eye injuries: Epidemiology, clinical and surgical outcomes, and an economic cost analysis. *Clin Exp Ophthalmol*. 2023 Jul;51(5):425-36. doi: 10.1111/ceo.14232.
16. Sliwiski AL, Orringer K. Corneal Abrasions. *Pediatr Rev*. 2023 Jun 1;44(6):343-345. doi: 10.1542/pir.2022-005537
17. Cro S, Partington G, Cornelius VR, Banerjee PJ, Zvobgo TM, Casswell EJ, et al. Presenting clinical characteristics of open globe injuries in ocular trauma: baseline analysis of cases in the ASCOT national clinical trial. *Eye (Lond)*. 2023 Jun;37(8):1732-40. doi: 10.1038/s41433-022-02206-z.
18. Bremond-Gignac D, Copin H, Benkhalifa M. Corneal epithelial stem cells for corneal injury. *Expert Opin Biol Ther*. 2018 Sep;18(9):997-1003. doi: 10.1080/14712598.2018.1508443.
19. Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res*. 2015 Nov;49:17-45. doi: 10.1016/j.preteyeres.2015.07.002.
20. Dupps WJ Jr, Wilson SE. Biomechanics and wound healing in the cornea. *Exp Eye Res*. 2006 Oct;83(4):709-20. doi: 10.1016/j.exer.2006.03.015.
21. Miller DD, Hasan SA, Simmons NL, Stewart MW. Recurrent corneal erosion: a comprehensive review. *Clin Ophthalmol*. 2019 Feb 11;13:325-35. doi: 10.2147/OPHTH.S157430.
22. Laibson PR. Recurrent corneal erosions and epithelial basement membrane dystrophy. *Eye Contact Lens*. 2010 Sep;36(5):315-7. doi: 10.1097/ICL.0b013e3181f18ff7.
23. Katzman LR, Jeng BH. Management strategies for persistent epithelial defects of the cornea. *Saudi J Ophthalmol*. 2014 Jul;28(3):168-72. doi: 10.1016/j.sjopt.2014.06.011.
24. Vaidyanathan U, Hopping GC, Liu HY, Somani AN, Ronquillo YC, Hoopes PC, et al. Persistent corneal epithelial defects: a review article. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol*. 2019 Fall;8(3):163-76.
25. Wilson SE, Medeiros CS, Santhiago MR. Pathophysiology of corneal scarring

- in persistent epithelial defects after PRK and other corneal injuries. *J Refract Surg.* 2018 Jan 1;34(1):59-64. doi: 10.3928/1081597X-20171128-01.
26. Jan RL, Tai MC, Ho CH, Chu CC, Wang JJ, Tseng SH, et al. Risk of recurrent corneal erosion in patients with diabetes mellitus in Taiwan: a population-based cohort study. *BMJ Open.* 2020 Jun 21;10(6):e035933. doi: 10.1136/bmjopen-2019-035933.
27. Lin SR, Aldave AJ, Chodosh J. Recurrent corneal erosion syndrome. *Br J Ophthalmol.* 2019 Sep;103(9):1204-1208. doi: 10.1136/bjophthalmol-2019-313835.
28. Suri K, Kosker M, Duman F, Rapuano CJ, Nagra PK, Hammersmith KM. Demographic patterns and treatment outcomes of patients with recurrent corneal erosions related to trauma and epithelial and bowman layer disorders. *Am J Ophthalmol.* 2013 Dec;156(6):1082-1087.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2013.07.022.
29. Chen S, Chu X, Zhang C, Jia Z, Yang L, Yang R, et al. Safety and efficacy of the phototherapeutic keratectomy for treatment of recurrent corneal erosions: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmic Res.* 2023;66(1):1114-27. doi: 10.1159/000533160.
30. Watson SL, Lee MH, Barker NH. Interventions for recurrent corneal erosions. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Sep 12;(9):CD001861. doi: 10.1002/14651858.CD001861.pub3.
31. Lisch W, Weiss JS. Clinical and genetic update of corneal dystrophies. *Exp Eye Res.* 2019 Sep;186:107715. doi: 10.1016/j.exer.2019.107715.
32. Zhang R, Wang Q, Li J, Sun L, Jhanji V, Jiang J, et al. Transepithelial phototherapeutic keratectomy for post-traumatic recurrent corneal erosions. *Indian J Ophthalmol.* 2022 Apr;70(4):1186-9. doi: 10.4103/ijo.IJO_2340_21.
33. Song MY, Chung JL, Kim KY, Hwang KY, Kwon YA, Song SW, Kim BY, Koh K. Combined Phototherapeutic Keratectomy and Peripheral Anterior Stromal Puncture for the Treatment of Recurrent Corneal Erosion

- Syndrome. *Korean J Ophthalmol.* 2020 Aug;34(4):297-303. doi: 10.3341/kjo.2020.0023.
34. Bukowiecki A, Hos D, Cursiefen C, Eming SA. Wound-healing studies in cornea and skin: parallels, differences and opportunities. *Int J Mol Sci.* 2017 Jun 12;18(6):1257. doi: 10.3390/ijms18061257.
35. Wilson SE. Corneal wound healing. *Exp Eye Res.* 2020 Aug;197:108089. doi: 10.1016/j.exer.2020.108089.
36. Fortingo N, Melnyk S, Sutton SH, Watsky MA, Bollag WB. Innate immune system activation, inflammation and corneal wound healing. *Int J Mol Sci.* 2022 Nov 29;23(23):14933. doi: 10.3390/ijms232314933.
37. Yu FS, Yin J, Xu K, Huang J. Growth factors and corneal epithelial wound healing. *Brain Res Bull.* 2010 Feb 15;81(2-3):229-35. doi: 10.1016/j.brainresbull.2009.08.024.
38. Chi C, Trinkaus-Randall V. New insights in wound response and repair of epithelium. *J Cell Physiol.* 2013 May;228(5):925-9. doi: 10.1002/jcp.24268.
39. Torricelli AA, Singh V, Santhiago MR, Wilson SE. The corneal epithelial basement membrane: structure, function, and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Sep 27;54(9):6390-400. doi: 10.1167/iovs.13-12547.
40. Saikia P, Medeiros CS, Thangavadivel S, Wilson SE. Basement membranes in the cornea and other organs that commonly develop fibrosis. *Cell Tissue Res.* 2018 Dec;374(3):439-53. doi: 10.1007/s00441-018-2934-7.
41. Di Girolamo N, Bobba S, Raviraj V, Delic NC, Slapetova I, Nicovich PR, et al. Tracing the fate of limbal epithelial progenitor cells in the murine cornea. *Stem Cells.* 2015 Jan;33(1):157-69. doi: 10.1002/stem.1769.
42. Marquez EB, De Ortueta D, Royo SB, Martinez-Carpio PA. Epidermal growth factor receptor in corneal damage: update and new insights from recent reports. *Cutan Ocul Toxicol.* 2011 Mar;30(1):7-14. doi: 10.3109/15569527.2010.498398.
43. Kempuraj D, Mohan RR. Autophagy in extracellular matrix and wound

- healing modulation in the cornea. *Biomedicines*. 2022 Feb 1;10(2):339. doi: 10.3390/biomedicines10020339.
44. Tarvestad-Laise KE, Ceresa BP. Modulating growth factor receptor signaling to promote corneal epithelial homeostasis. *Cells*. 2023 Nov 29;12(23):2730. doi: 10.3390/cells12232730.
45. Eghrari AO, Riazuddin SA, Gottsch JD. Overview of the cornea: structure, function, and development. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2015;134:7-23. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.04.001.
46. Griffith M, Alarcon EI, Brunette I. Regenerative approaches for the cornea. *J Intern Med*. 2016 Sep;280(3):276-86. doi: 10.1111/joim.12502.
47. Medeiros CS, Santhiago MR. Corneal nerves anatomy, function, injury and regeneration. *Exp Eye Res*. 2020 Nov;200:108243. doi: 10.1016/j.exer.2020.108243.
48. Yang AY, Chow J, Liu J. Corneal innervation and sensation: the eye and beyond. *Yale J Biol Med*. 2018 Mar 28;91(1):13-21.
49. Pham TL, Kakazu AH, He J, Jun B, Bazan NG, Bazan HEP. Novel RvD6 stereoisomer induces corneal nerve regeneration and wound healing post-injury by modulating trigeminal transcriptomic signature. *Sci Rep*. 2020 Mar 12;10(1):4582. doi: 10.1038/s41598-020-61390-8.
50. Fogagnolo P, Melardi E, Tranchina L, Rossetti L. Topical citicoline and vitamin B12 versus placebo in the treatment of diabetes-related corneal nerve damage: a randomized double-blind controlled trial. *BMC Ophthalmol*. 2020 Aug 1;20(1):315. doi: 10.1186/s12886-020-01584-w.
51. Cortina MS, He J, Li N, Bazan NG, Bazan HE. Recovery of corneal sensitivity, calcitonin gene-related peptide-positive nerves, and increased wound healing induced by pigment epithelial-derived factor plus docosahexaenoic acid after experimental surgery. *Arch Ophthalmol*. 2012 Jan;130(1):76-83. doi: 10.1001/archophthalmol.2011.287.
52. Pal-Ghosh S, Pajooresh-Ganji A, Tadvalkar G, Stepp MA. Removal of the

- basement membrane enhances corneal wound healing. *Exp Eye Res.* 2011 Dec;93(6):927-36. doi: 10.1016/j.exer.2011.10.012.
53. Torricelli AA, Singh V, Agrawal V, Santhiago MR, Wilson SE. Transmission electron microscopy analysis of epithelial basement membrane repair in rabbit corneas with haze. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Jun 10;54(6):4026-33. doi: 10.1167/iovs.13-12106.
54. Chen S, Mienaltowski MJ, Birk DE. Regulation of corneal stroma extracellular matrix assembly. *Exp Eye Res.* 2015 Apr;133:69-80. doi: 10.1016/j.exer.2014.08.001.
55. Pouw AE, Greiner MA, Coussa RG, Jiao C, Han IC, Skeie JM, et al. Cell-matrix interactions in the eye: from cornea to choroid. *Cells.* 2021 Mar 20;10(3):687. doi: 10.3390/cells10030687.
56. Ellenberg D, Azar DT, Hallak JA, Tobaigy F, Han KY, Jain S, et al. Novel aspects of corneal angiogenic and lymph angiogenic privilege. *Prog Retin Eye Res.* 2010 May;29(3):208-48. doi: 10.1016/j.preteyeres.2010.01.002.
57. He Y, Ma BS, Zeng JH, Ma DJ. Corneal optical density: Structural basis, measurements, influencing factors, and roles in refractive surgery. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023 Apr 6;11:1144455. doi: 10.3389/fbioe.2023.1144455.
58. Sharif Z, Sharif W. Corneal neovascularization: updates on pathophysiology, investigations & management. *Rom J Ophthalmol.* 2019 Jan-Mar;63(1):15-22.
59. Peral A, Mateo J, Dominguez-Godinez CO, Carracedo G, Gomez JA, Crooke A, et al. Therapeutic potential of topical administration of siRNAs against HIF-1 α for corneal neovascularization. *Exp Eye Res.* 2022 Jun;219:109036. doi: 10.1016/j.exer.2022.109036.
60. Di Zazzo A, Gaudenzi D, Yin J, Coassin M, Fernandes M, Dana R, et al. Corneal angiogenic privilege and its failure. *Exp Eye Res.* 2021 Mar;204:108457. doi: 10.1016/j.exer.2021.108457.

61. Ramakrishnan S, Anand V, Roy S. Vascular endothelial growth factor signaling in hypoxia and inflammation. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2014 Mar;9(2):142-60. doi: 10.1007/s11481-014-9531-7.
62. Di Zazzo A, Lee SM, Sung J, Niutta M, Coassin M, Mashaghi A, et al. Variable responses to corneal grafts: insights from immunology and systems biology. *J Clin Med.* 2020 Feb 21;9(2):586. doi: 10.3390/jcm9020586.
63. Coppini LP, Visniauskas B, Costa EF, Filho MN, Rodrigues EB, Chagas JR, et al. Corneal angiogenesis modulation by cysteine cathepsins: In vitro and in vivo studies. *Exp Eye Res.* 2015 May;134:39-46. doi: 10.1016/j.exer.2015.03.012.
64. Abdelfattah NS, Amgad M, Zayed AA, Hussein H, Abd El-Baky N. Molecular underpinnings of corneal angiogenesis: advances over the past decade. *Int J Ophthalmol.* 2016 May 18;9(5):768-79. doi: 10.18240/ijo.2016.05.24.
65. Wahl ML, Kenan DJ, Gonzalez-Gronow M, Pizzo SV. Angiostatin's molecular mechanism: aspects of specificity and regulation elucidated. *J Cell Biochem.* 2005 Oct 1;96(2):242-61. doi: 10.1002/jcb.20480.
66. Chen P, Yin H, Wang Y, Wang Y, Xie L. Inhibition of VEGF expression and corneal neovascularization by shRNA targeting HIF-1 α in a mouse model of closed eye contact lens wear. *Mol Vis.* 2012;18:864-73.
67. Bilous VL, Kapustianenko LG, Tykhomyrov AA. Production and application of angiostatins for the treatment of ocular neovascular diseases. *Biotechnologia Acta.* 2021;14(1):5-24. doi: 10.15407/biotech14.01.005.
68. Lee D, Miwa Y, Kunimi H, Ibuki M, Shoda C, Nakai A, et al. HIF inhibition therapy in ocular diseases. *Keio J Med.* 2022 Mar 25;71(1):1-12. doi: 10.2302/kjm.2021-0004-IR.
69. McKay TB, Hjortdal J, Priyadarsini S, Karamichos D. Acute hypoxia influences collagen and matrix metalloproteinase expression by human keratoconus cells in vitro. *PloS One.* 2017 Apr 20;12(4):e0176017. doi:

- 10.1371/journal.pone.0176017.
70. Onochie OE, Onyejose AJ, Rich CB, Trinkaus-Randall V. The role of hypoxia in corneal extracellular matrix deposition and cell motility. *Anat Rec (Hoboken)*. 2020 Jun;303(6):1703-16. doi: 10.1002/ar.24110.
71. Lee A, Karamichos D, Onochie OE, Hutcheon AEK, Rich CB, Zieske JD, et al. Hypoxia modulates the development of a corneal stromal matrix model. *Exp Eye Res*. 2018 May;170:127-37. doi: 10.1016/j.exer.2018.02.021.
72. Su W, Sun S, Tian B, Tai PWL, Luo Y, Ko J, et al. Efficacious, safe, and stable inhibition of corneal neovascularization by AAV-vectored anti-VEGF therapeutics. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2021 Jun 24;22:107-21. doi: 10.1016/j.omtm.2021.06.007.
73. Patnam M, Dommaraju SR, Masood F, Herbst P, Chang JH, Hu WY, et al. Lymphangiogenesis guidance mechanisms and therapeutic implications in pathological states of the cornea. *Cells*. 2023 Jan 14;12(2):319. doi: 10.3390/cells12020319.
74. Sugioka K, Fukuda K, Nishida T, Kusaka S. The fibrinolytic system in the cornea: A key regulator of corneal wound healing and biological defense. *Exp Eye Res*. 2021 Mar;204:108459. doi: 10.1016/j.exer.2021.108459.
75. Caban M, Owczarek K, Lewandowska U. The role of metalloproteinases and their tissue inhibitors on ocular diseases: focusing on potential mechanisms. *Int J Mol Sci*. 2022 Apr 12;23(8):4256. doi: 10.3390/ijms23084256.
76. Petznick A, Madigan MC, Garrett Q, Sweeney DF, Evans MD. Contributions of ocular surface components to matrix-metalloproteinases (MMP)-2 and MMP-9 in feline tears following corneal epithelial wounding. *PLoS One*. 2013 Aug 19;8(8):e71948. doi: 10.1371/journal.pone.0071948.
77. Garcia-Lopez C, Rodriguez-Calvo-de-Mora M, Borroni D, Sanchez-Gonzalez JM, Romano V, Rocha-de-Lossada C. The role of matrix metalloproteinases in infectious corneal ulcers. *Surv Ophthalmol*. 2023 Sep-Oct;68(5):929-39. doi: 10.1016/j.survophthal.2023.06.007.

- 78.Varkoly G, Bencze J, Hortobagyi T, Modis L. [The corneal wound healing and the extracellular matrix]. *Orv Hetil.* 2016 Jun 19;157(25):995-9. Hungarian. doi: 10.1556/650.2016.30475.
- 79.Du HT, Du LL, Tang XL, Ge HY, Liu P. Blockade of MMP-2 and MMP-9 inhibits corneal lymphangiogenesis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017 Aug;255(8):1573-9. doi: 10.1007/s00417-017-3651-8.
- 80.Quintero-Fabian S, Arreola R, Becerril-Villanueva E, Torres-Romero JC, Arana-Argaez V, Lara-Riegos J, et al. Role of matrix metalloproteinases in angiogenesis and cancer. *Front Oncol.* 2019 Dec 6;9:1370. doi: 10.3389/fonc.2019.01370.
- 81.Feizi S, Azari AA, Safapour S. Therapeutic approaches for corneal neovascularization. *Eye Vis (Lond).* 2017 Dec 10;4:28. doi: 10.1186/s40662-017-0094-6.
- 82.Campochiaro PA. Ocular neovascularization. *J Mol Med (Berl).* 2013 Mar;91(3):311-21. doi: 10.1007/s00109-013-0993-5.
- 83.Wongvisavavit R, Parekh M, Ahmad S, Daniels JT. Challenges in corneal endothelial cell culture. *Regen Med.* 2021 Sep;16(9):871-91. doi: 10.2217/rme-2020-0202.
- 84.Couture C, Zaniolo K, Carrier P, Lake J, Patenaude J, Germain L, et al. The tissue-engineered human cornea as a model to study expression of matrix metalloproteinases during corneal wound healing. *Biomaterials.* 2016 Feb;78:86-101. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.11.006.
- 85.Shoari A, Kanavi MR, Rasae MJ. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 for the treatment of dry eye syndrome; a review study. *Exp Eye Res.* 2021 Apr;205:108523. doi: 10.1016/j.exer.2021.108523.
- 86.Jamerson EC, Elhusseiny AM, El Sheikh RH, Eleiwa TK, El Sayed YM. Role of matrix metalloproteinase 9 in ocular surface disorders. *Eye Contact Lens.* 2020 Mar;46 Suppl 2:S57-S63. doi: 10.1097/ICL.0000000000000668.
- 87.Wolf M, Clay SM, Oldenburg CE, Rose-Nussbaumer J, Hwang DG,

- Chan MF. Overexpression of MMPs in corneas requiring penetrating and deep anterior lamellar keratoplasty. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019 Apr 1;60(5):1734-47. doi: 10.1167/iovs.18-25961.
88. Singh A, Maurya OP, Jagannadhan MV, Patel A. Matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) activity in corneal ulcer and ocular surface disorders determined by gelatin zymography. *J Ocul Biol Dis Infor.* 2012 Dec 29;5(2):31-5. doi: 10.1007/s12177-012-9096-8.
89. Sakimoto T, Shoji J, Yamada A, Sawa M. Upregulation of matrix metalloproteinase in tear fluid of patients with recurrent corneal erosion. *Jpn J Ophthalmol.* 2007 Sep-Oct;51(5):343-6. doi: 10.1007/s10384-007-0455-0.
90. Петренко ОВ, Дранко ММ, Корнієнко ВВ, Грицай ЛВ. Моніторинг матриксних металопротейназ 2 і 9 в травматичних ранах допоміжного апарату ока. *Офтальмол. журн.* 2021;(5):10-3.
91. Pflugfelder SC, Stern ME. Biological functions of tear film. *Exp Eye Res.* 2020 Aug;197:108115. doi: 10.1016/j.exer.2020.108115.
92. Chao C, Lattery L, Qin G, Kamat M, Basso K, Lakkis C, et al. Tear proteomics of children and young adult soft contact lens, orthokeratology and spectacle wearers – a pilot study. *Curr Eye Res.* 2022 Jun;47(6):832-42. doi: 10.1080/02713683.2022.2047206.
93. Alotaibi S, Markoulli M, Ozkan J, Papas E. Bio-chemical markers of chronic, non-infectious disease in the human tear film. *Clin Exp Optom.* 2022 Mar;105(2):166-76. doi: 10.1080/08164622.2021.1974282.
94. Zhou L, Beuerman RW. The power of tears: how tear proteomics research could revolutionize the clinic. *Expert Rev Proteomics.* 2017 Mar;14(3):189-91. doi: 10.1080/14789450.2017.1285703.
95. Bachhuber F, Huss A, Senel M, Tumani H. Diagnostic biomarkers in tear fluid: from sampling to preanalytical processing. *Sci Rep.* 2021 May 12;11(1):10064. doi: 10.1038/s41598-021-89514-8.
96. Versura P, Campos E. Disease update on human tear proteome. *Eur*

- Ophthalmic Rev. 2013;7(1):36-41. doi: 10.17925/EOR.2013.07.01.36.
97. Robciuc A, Rantamäki AH, Jauhiainen M, Holopainen JM. Lipid-modifying enzymes in human tear fluid and corneal epithelial stress response. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014 Jan 2;55(1):16-24. doi: 10.1167/iovs.13-12577.
98. Masoudi S. Biochemistry of human tear film: A review. *Exp Eye Res*. 2022 Jul;220:109101. doi: 10.1016/j.exer.2022.109101.
99. Kumar NR, Praveen M, Narasimhan R, Khamar P, D'Souza S, Sinha-Roy A, et al. Tear biomarkers in dry eye disease: Progress in the last decade. *Indian J Ophthalmol*. 2023 Apr;71(4):1190-202. doi: 10.4103/IJO.IJO_2981_22.
100. Dor M, Eperon S, Lalive PH, Guex-Crosier Y, Hamedani M, Salvisberg C, et al. Investigation of the global protein content from healthy human tears. *Exp Eye Res*. 2019 Feb;179:64-74. doi: 10.1016/j.exer.2018.10.006.
101. Nattinen J, Aapola U, Nukareddy P, Uusitalo H. Looking deeper into ocular surface health: an introduction to clinical tear proteomics analysis. *Acta Ophthalmol*. 2022 Aug;100(5):486-98. doi: 10.1111/aos.15059.
102. Ma JYW, Sze YH, Bian JF, Lam TC. Critical role of mass spectrometry proteomics in tear biomarker discovery for multifactorial ocular diseases (Review). *Int J Mol Med*. 2021 May;47(5):83. doi: 10.3892/ijmm.2021.4916.
103. Fu R, Klinngam W, Heur M, Edman MC, Hamm-Alvarez SF. Tear proteases and protease inhibitors: potential biomarkers and disease drivers in ocular surface disease. *Eye Contact Lens*. 2020 Mar;46 Suppl 2(Suppl 2):S70-S83. doi: 10.1097/ICL.0000000000000641.
104. Hagan S, Martin E, Enriquez-de-Salamanca A. Tear fluid biomarkers in ocular and systemic disease: potential use for predictive, preventive and personalised medicine. *EPMA J*. 2016 Jul 13;7(1):15. doi: 10.1186/s13167-016-0065-3.
105. Jones G, Lee TJ, Glass J, Rountree G, Ulrich L, Estes A, et al. Comparison of different mass spectrometry workflows for the proteomic analysis of tear fluid. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 19;23(4):2307. doi:

- 10.3390/ijms23042307.
106. Заволока ОВ, Бездітко ПА, Абрамова ЛП, Векшин ВО. Імунологічні аспекти бактеріальних кератитів у хворих на цукровий діабет. *Архів офтальмології України*. 2021;9(2):11-4.
107. Пантелєєв ПГ, Гайдаш ІС. Імунокомплексні зміни у слізній рідині і сироватці крові хворих на герпесвірусні кератокон'юнктивіти та їхня корекція. *Медицина сьогодні і завтра*. 2020;(4):20-7.
108. Рафалюк СЯ. Ефективність патогенетично обґрунтованого лікування хворих на герпетичний кератит з синдромом сухого ока (експериментально-клінічне дослідження) [автореферат]. Одеса: Ін-т очних хвороб і тканин. терапії ім. В.П. Філатова НАМН України; 2020. 19 с.
109. Wang B, Timilsena YP, Blanch E, Adhikari B. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2019;59(4):580-96. doi: 10.1080/10408398.2017.1381583.
110. Vagge A, Senni C, Bernabei F, Pellegrini M, Scorcio V, Traverso CE, et al. Therapeutic effects of lactoferrin in ocular diseases: from dry eye disease to infections. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 12;21(18):6668. doi: 10.3390/ijms21186668.
111. Kell DB, Heyden EL, Pretorius E. The biology of lactoferrin, an iron-binding protein that can help defend against viruses and bacteria. *Front Immunol*. 2020 May 28;11:1221. doi: 10.3389/fimmu.2020.01221.
112. Singh J, Sharma M, Jain N, Aftab I, Vikram N, Singh TP, et al. Lactoferrin and its nano-formulations in rare eye diseases. *Indian J Ophthalmol*. 2022 Jul;70(7):2328-34. doi: 10.4103/ijo.IJO_303_22.
113. Lepanto MS, Rosa L, Paesano R, Valenti P, Cutone A. Lactoferrin in aseptic and septic inflammation. *Molecules*. 2019 Apr 3;24(7):1323. doi: 10.3390/molecules24071323.
114. Pastori V, Tavazzi S, Lecchi M. Lactoferrin-loaded contact lenses: eye

- protection against oxidative stress. *Cornea*. 2015 Jun;34(6):693-7. doi: 10.1097/ICO.0000000000000435.
115. Higuchi A, Inoue H, Kaneko Y, Oonishi E, Tsubota K. Selenium-binding lactoferrin is taken into corneal epithelial cells by a receptor and prevents corneal damage in dry eye model animals. *Sci Rep*. 2016 Nov 11;6:36903. doi: 10.1038/srep36903.
116. Ohradanova-Repic A, Prazenicova R, Gebetsberger L, Moskalets T, Skrabana R, Cehlar O, et al. Time to kill and time to heal: the multifaceted role of lactoferrin and lactoferricin in host defense. *Pharmaceutics*. 2023 Mar 24;15(4):1056. doi: 10.3390/pharmaceutics15041056.
117. Regueiro U, Lopez-Lopez M, Varela-Fernandez R, Sobrino T, Diez-Feijoo E, Lema I. Immunomodulatory effect of human lactoferrin on toll-like receptors 2 expression as therapeutic approach for keratoconus. *Int J Mol Sci*. 2022 Oct 15;23(20):12350. doi: 10.3390/ijms232012350.
118. Bohm EW, Buonfiglio F, Voigt AM, Bachmann P, Safi T, Pfeiffer N, et al. Oxidative stress in the eye and its role in the pathophysiology of ocular diseases. *Redox Biol*. 2023 Dec;68:102967. doi: 10.1016/j.redox.2023.102967.
119. Bonaccorsi di Patti MC, Cutone A, Polticelli F, Rosa L, Lepanto MS, Valenti P, et al. The ferroportin-ceruloplasmin system and the mammalian iron homeostasis machine: regulatory pathways and the role of lactoferrin. *Biomaterials*. 2018 Jun;31(3):399-414. doi: 10.1007/s10534-018-0087-5.
120. Lemos CN, da Silva LECM, Faustino JF, Fantucci MZ, Murashima AAB, Adriano L, et al. Oxidative stress in the protection and injury of the lacrimal gland and the ocular surface: are there perspectives for therapeutics? *Front Cell Dev Biol*. 2022 Mar 11;10:824726. doi: 10.3389/fcell.2022.824726.
121. Burcel MG, Constantin M, Ionita G, Dascalescu D, Ionescu C, Stanila D, et al. Levels of lactoferrin, lysozyme and albumin in the tear film of

- keratoconus patients and their correlations with important parameters of the disease. *Rev Rom Med Lab.* 2020 Apr;28(2):153-61. doi: 10.2478/rrlm-2020-0018.
122. Дрожжина ГІ, Рязанова ЛЮ, Храменко НІ, Величко ЛМ. Рівень лактоферину в сльозі хворих на хронічний кон'юнктивіт та вплив очних крапель “Лакто” в комплексному лікуванні цієї патології. *Офтальмол. журн.* 2023;(1):39-45.
123. Liu Z, Wang M, Zhang C, Zhou S, Ji G. Molecular functions of ceruloplasmin in metabolic disease pathology. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2022 Mar 3;15:695-711. doi: 10.2147/DMSO.S346648.
124. Orzheshkovskiy VV, Trishchynska MA. Ceruloplasmin: its role in the physiological and pathological processes. *Neurophysiology.* 2019;51:141-9. doi: <https://doi.org/10.1007/s11062-019-09805-9>.
125. Шмир СМ, Кліщ ІМ. Стан протеїназо-інгібіторної системи крові кролів з механічною непроникаючою травмою рогівки та за її корекції з використанням строми ксенорогівки, отриманої методом децелюляризації. *Вісн. проблем біології і медицини.* 2023;(3):343-8.
126. Thompson MW. Regulation of zinc-dependent enzymes by metal carrier proteins. *Biometals.* 2022 Apr;35(2):187-213. doi: 10.1007/s10534-022-00373-w.
127. Pattamatta U., Willcox M., Stapelton, F., Garrett, Q. Bovine lactoferrin promotes corneal wound healing and supresses IL-1 expression in alkali wounded mouse cornea. *Curr. Eye Res.* 2013, 38 (11), 1110–1117. doi.:10.3109/02713683.2013.811259
128. Trentini A, Maritati M, Cervellati C, Manfrinato MC, Gonelli A, Volta CA, et al. Vaginal lactoferrin modulates PGE₂, MMP-9, MMP-2, and TIMP-1 amniotic fluid concentrations. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:3648719. doi: 10.1155/2016/3648719.
129. Nakayama K, Otsuki K, Yakuwa K, Hasegawa A, Sawada M,

- Mitsukawa K, et al. Recombinant human lactoferrin inhibits matrix metalloproteinase (MMP-2, MMP-3, and MMP-9) activity in a rabbit preterm delivery model. *J Obstet Gynaecol Res.* 2008 Dec;34(6):931-4. doi: 10.1111/j.1447-0756.2008.00827.x.
130. Ikeda SI, Kurihara T, Toda M, Jiang X, Torii H, Tsubota K. Oral bovine milk lactoferrin administration suppressed myopia development through matrix metalloproteinase 2 in a mouse model. *Nutrients.* 2020 Dec 5;12(12):3744. doi: 10.3390/nu12123744.
131. Koca CG, Yildirim B, Ozmen O, Dikilitas A, Cicek MF, Simsek AT, et al. Effect of single-dose locally applied lactoferrin on autograft healing in peri-implant bone in rat models. *Injury.* 2022 Mar;53(3):858-67. doi: 10.1016/j.injury.2021.11.065.
132. Thompson MW. Ceruloplasmin binds and inactivates matrix metalloproteinase-2. *FASEB J.* 2012;26(S1):557.3. doi: 10.1096/fasebj.26.1_supplement.557.3.
133. Heath Jeffery RC, Dobes J, Chen FK. Eye injuries: Understanding ocular trauma. *Aust J Gen Pract.* 2022 Jul;51(7):476-82. doi: 10.31128/AJGP-03-21-5921.
134. Martin R. Cornea and anterior eye assessment with slit lamp biomicroscopy, specular microscopy, confocal microscopy, and ultrasound biomicroscopy. *Indian J Ophthalmol.* 2018 Feb;66(2):195-201. doi: 10.4103/ijo.IJO_649_17.
135. Сакович ВМ. Динаміка інтегральних показників об'єктивних клінічних симптомів при лікуванні пацієнтів з травматичним кератитом. *Офтальмол. журнал.* 2018;(3):17-21.
136. Dang DH, Riaz KM, Karamichos D. Treatment of Non-Infectious Corneal injury: review of diagnostic agents, therapeutic medications, and future targets. *Drugs.* 2022 Feb;82(2):145-67. doi: 10.1007/s40265-021-01660-5.

137. Berger T, Flockerzi E, Daas L, Hamon L, Khattabi Z, Berger M, et al. [Modern corneal diagnostics as the key for the correct classification of the disease and optimal treatment decisions]. *Ophthalmologie*. 2023 Dec;120(12):1238-50. German. doi: 10.1007/s00347-023-01919-0.
138. Ahmed F, House RJ, Feldman BH. Corneal abrasions and corneal foreign bodies. *Prim Care*. 2015 Sep;42(3):363-75. doi: 10.1016/j.pop.2015.05.004.
139. Chapter 2: Examination techniques for the external eye and cornea [Internet]. [cited 2024 Mar 04]. Available from: <https://www.aao.org/education/bcscsnippetdetail.aspx?id=ce1ab280-11ac-46a1-95ba-f2a25c7f9b47>
140. Morreale RJ. Corneal diagnostic procedures. *Clin Tech Small Anim Pract*. 2003 Aug;18(3):145-51. doi: 10.1016/s1096-2867(03)90010-7.
141. Miller WL. *Cornea: fundamentals, diagnosis and management*, 4th ed. *Optom Vis Sci*. 2018 Jul;95(7):625-6. doi: 10.1097/OPX.0000000000001247.
142. Rio-Cristobal A, Martin R. Corneal assessment technologies: current status. *Surv Ophthalmol*. 2014 Nov-Dec;59(6):599-614. doi: 10.1016/j.survophthal.2014.05.001.
143. Amparo F, Wang H, Yin J, Marmalidou A, Dana R. Evaluating corneal fluorescein staining using a novel automated method. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017 May 1;58(6):BIO168-BIO173. doi: 10.1167/iovs.17-21831.
144. Wilson G, Ren H, Laurent J. Corneal epithelial fluorescein staining. *J Am Optom Assoc*. 1995 Jul;66(7):435-41.
145. Bandamwar KL, Papas EB, Garrett Q. Fluorescein staining and physiological state of corneal epithelial cells. *Cont Lens Anterior Eye*. 2014 Jun;37(3):213-23. doi: 10.1016/j.clae.2013.11.003.
146. Chen M, Miki M, Lin S, Yung Choi S. Sodium fluorescein staining of the corneaf or the diagnosis of dry eye: a comparison of three eye solutions.

- Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol. 2017 Winter;6(4):105-9.
147. Woods J, Varikooty J, Fonn D, Jones LW. A novel scale for describing corneal staining. *Clin Ophthalmol*. 2018 Nov 19;12:2369-75. doi: 10.2147/OPTH.S178113.
148. Pellegrini M, Bernabei F, Moscardelli F, Vagge A, Scotto R, Bovone C, et al. Assessment of corneal fluorescein staining in different dry eye subtypes using digital image analysis. *Transl Vis Sci Technol*. 2019 Dec 12;8(6):34. doi: 10.1167/tvst.8.6.34.
149. Sall K, Foulks GN, Pucker AD, Ice KL, Zink RC, Magrath G. Validation of a modified National Eye Institute grading scale for corneal fluorescein staining. *Clin Ophthalmol*. 2023 Mar 7;17:757-67. doi: 10.2147/OPTH.S398843.
150. Albert DM, Miller JW, Azar DT, Young LH, editors. *Albert and Jakobiec's principles and practice of ophthalmology*. 4th ed. Switzerland: Springer; 2022. 8128 p.
151. Clover J. Slit-lamp biomicroscopy. *Cornea*. 2018 Jun;37 Suppl 1:S5-S6. doi: 10.1097/ICO.0000000000001641.
152. Petropoulos IN, Ponirakis G, Khan A, Gad H, Almuhammad H, Brines M, et al. Corneal confocal microscopy: ready for prime time. *Clin Exp Optom*. 2020 May;103(3):265-77. doi: 10.1111/cxo.12887.
153. Tavakoli M, Hossain P, Malik RA. Clinical applications of corneal confocal microscopy. *Clin Ophthalmol*. 2008 Jun;2(2):435-45. doi: 10.2147/opth.s1490.
154. Ang M, Baskaran M, Werkmeister RM, Chua J, Schmidl D, Aranha Dos Santos V, et al. Anterior segment optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res*. 2018 Sep;66:132-56. doi: 10.1016/j.preteyeres.2018.04.002.
155. Venkateswaran N, Galor A, Wang J, Karp CL. Optical coherence tomography for ocular surface and corneal diseases: a review. *Eye Vis (Lond)*. 2018 Jun 12;5:13. doi: 10.1186/s40662-018-0107-0.

156. Pantaloni A, Pfister M, Aranha Dos Santos V, Sapeta S, Unterhuber A, Pircher N, et al. Ultrahigh-resolution anterior segment optical coherence tomography for analysis of corneal microarchitecture during wound healing. *Acta Ophthalmol.* 2019 Aug;97(5):e761-e771. doi: 10.1111/aos.14053.
157. Bonnet C, Debillon L, Al-Hashimi S, Hoogewoud F, Monnet D, Bourges JL, et al. Anterior segment optical coherence tomography imaging in peripheral ulcerative keratitis, a corneal structural description. *BMC Ophthalmol.* 2020 May 25;20(1):205. doi: 10.1186/s12886-020-01466-1.
158. Armarnik S, Mimouni M, Goldenberg D, Segev F, Meshi A, Segal O, et al. Characterization of deeply embedded corneal foreign bodies with anterior segment optical coherence tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2019 Jun;257(6):1247-52. doi: 10.1007/s00417-019-04309-y.
159. Fung SSM, Stewart RMK, Dhallu SK, Sim DA, Keane PA, Wilkins MR, et al. Anterior segment optical coherence tomographic angiography assessment of acute chemical injury. *Am J Ophthalmol.* 2019 Sep;205:165-74. doi: 10.1016/j.ajo.2019.04.021.
160. Wylegala E, Dobrowolski D, Nowinska A, Tarnawska D. Anterior segment optical coherence tomography in eye injuries. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2009 Apr;247(4):451-5. doi: 10.1007/s00417-008-0937-x.
161. Oliveira MA, Rosa A, Soares M, Gil J, Costa E, Quadrado MJ, et al. Anterior segment optical coherence tomography in the early management of microbial keratitis: a cross-sectional study. *Acta Med Port.* 2020 May 4;33(5):318-25. doi: 10.20344/amp.12663.
162. Салдан ЮЙ. Діагностична значимість спектральної оптичної когерентної томографії при захворюваннях рогівки. *Вісн. морфології.* 2013;19(1):115-8.
163. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science.* 1991 Nov 22;254(5035):1178-81. doi: 10.1126/science.1957169.

164. Izatt JA, Hee MR, Swanson EA, Lin CP, Huang D, Schuman JS, et al. Micrometer-scale resolution imaging of the anterior eye in vivo with optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol*. 1994 Dec;112(12):1584-9. doi: 10.1001/archopht.1994.01090240090031.
165. Sella R, Zangwill LM, Weinreb RN, Afshari NA. Repeatability and reproducibility of corneal epithelial thickness mapping with spectral-domain optical coherence tomography in normal and diseased cornea eyes. *Am J Ophthalmol*. 2019 Jan;197:88-97. doi: 10.1016/j.ajo.2018.09.008.
166. Shan J, De Boer C, Xu BY. Anterior segment optical coherence tomography: applications for clinical care and scientific research. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2019 March April 01;8(2):146-57. doi: 10.22608/APO.201910.
167. Hezekiah JDK, Chacko S. A Review on cornea imaging and processing techniques. *Curr Med Imaging*. 2020;16(3):181-92. doi: 10.2174/1573405615666181204125406.
168. Garcia Marin YF, Alonso-Caneiro D, Vincent SJ, Collins MJ. Anterior segment optical coherence tomography (AS-OCT) image analysis methods and applications: A systematic review. *Comput Biol Med*. 2022 Jul;146:105471. doi: 10.1016/j.combiomed.2022.105471.
169. Gupta N, Varshney A, Ramappa M, Basu S, Romano V, Acharya M, et al. Role of AS-OCT in managing corneal disorders. *Diagnostics (Basel)*. 2022 Apr 7;12(4):918. doi: 10.3390/diagnostics12040918.
170. Uyar E, Saribas F. Evaluating depth and width of corneal wounds using anterior segment optical coherence tomography after foreign body removal. *Semin Ophthalmol*. 2022 Aug;37(6):774-9. doi: 10.1080/08820538.2022.2100712.
171. Diez-Feijoo E, Duran JA. Optical coherence tomography findings in recurrent corneal erosion syndrome. *Cornea*. 2015 Mar;34(3):290-5. doi: 10.1097/ICO.0000000000000334.

172. Menghini M, Knecht PB, Kaufmann C, Kovacs R, Watson SL, Landau K, et al. Treatment of traumatic corneal abrasions: a three-arm, prospective, randomized study. *Ophthalmic Res.* 2013;50(1):13-8. doi: 10.1159/000347125.
173. Al-Saleh GS, Alfawaz AM. Management of traumatic corneal abrasion by a sample of practicing ophthalmologists in Saudi Arabia. *Saudi J Ophthalmol.* 2018 Apr-Jun;32(2):105-9. doi: 10.1016/j.sjopt.2017.10.007.
174. Verma A, Khan FH. Corneal abrasion. Medscape [Internet]. 2023 Apr Available from: <https://emedicine.medscape.com/article/1195402-overview>
175. Asbell PA, Sanfilippo CM, Sahm DF, De Cory HH. Trends in antibiotic resistance among ocular microorganisms in the United States from 2009 to 2018. *JAMA Ophthalmol.* 2020 May 1;138(5):439-50. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2020.0155.
176. Grzybowski A, Brona P, Kim SJ. Microbia flora and resistance in ophthalmology: a review. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017 May;255(5):851-62. doi: 10.1007/s00417-017-3608-y.
177. Miller D. Update on the Epidemiology and Antibiotic Resistance of Ocular Infections. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 2017 Jan-Mar;24(1):30-42. doi: 10.4103/meajo.MEAJO_276_16.
178. Asbell PA, Pandit RT, Sanfilippo CM. Antibiotic resistance rates by geographic region among ocular pathogens collected during the ARMOR Surveillance Study. *Ophthalmol Ther.* 2018;7(2):417-429. doi:10.1007/s40123-018-0141-y.
179. André C, Lebreton F, Van Tyne D, Cadorette J, Boody R, Gilmore MS, Bispo PJM. Microbiology of Eye Infections at the Massachusetts Eye and Ear: An 8-Year Retrospective Review Combined With Genomic Epidemiology. *Am J Ophthalmol.* 2023 Nov;255:43-56. doi: 10.1016/j.ajo.2023.06.016.
180. Kowalski RP, Nayyar SV, Romanowski EG, Jhanji V. Anti-infective treatment and resistance is rarely problematic with eye infections. *Antibiotics*

- (Basel). 2022 Feb 6;11(2):204. doi: 10.3390/antibiotics11020204.
181. Mantelli F, Di Zazzo A, Sacchetti M, Dianzani C, Lambiase A, Bonini S. Topical azithromycin as a novel treatment for ocular rosacea. *Ocul Immunol Inflamm.* 2013 Oct;21(5):371-7. doi: 10.3109/09273948.2013.801991.
182. Rodrigues-Braz D, Zhao M, Yesilirmak N, Aractingi S, Behar-Cohen F, Bourges JL. Cutaneous and ocular rosacea: Common and specific physiopathogenic mechanisms and study models. *Mol Vis.* 2021 May 13;27:323-53.
183. Feizi S, Masoudi A, Hosseini SB, Kanavi MR, Javadi MA. Microbiological evaluation of bandage soft contact lenses used in management of persistent corneal epithelial defects. *Cornea.* 2019 Feb;38(2):146-50. doi: 10.1097/ICO.0000000000001810.
184. Wang AS, Armstrong EJ, Armstrong AW. Corticosteroids and wound healing: clinical considerations in the perioperative period. *Am J Surg.* 2013 Sep;206(3):410-7. doi: 10.1016/j.amjsurg.2012.11.018.
185. Calder LA, Balasubramanian S, Fergusson D. Topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs for corneal abrasions: meta-analysis of randomized trials. *Acad Emerg Med.* 2005 May;12(5):467-73. doi: 10.1197/j.aem.2004.10.026.
186. Wakai A, Lawrenson JG, Lawrenson AL, Wang Y, Brown MD, Quirke M, et al. Topical non-steroidal anti-inflammatory drugs for analgesia in traumatic corneal abrasions. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 May 18;5(5):CD009781. doi: 10.1002/14651858.CD009781.pub2.
187. Ulusoy DM, Kahraman N, Balcioğlu E, Duru Z. Comparison of the inhibitory effect of topical cyclosporine A 0.1% and topical anti-VEGF application in an experimental model of corneal neovascularization. *Arq Bras Oftalmol.* 2022 Jan-Feb;85(1):19-24. doi: 10.5935/0004-2749.20220004.
188. Lee YK, Lin YC, Tsai SH, Chen WL, Chen YM. Therapeutic outcomes

- of combined topical autologous serum eye drops with silicone-hydrogel soft contact lenses in the treatment of corneal persistent epithelial defects: A preliminary study. *Cont Lens Anterior Eye*. 2016 Dec;39(6):425-30. doi: 10.1016/j.clae.2016.06.003.
189. Morishige N, Uemura A, Morita Y, Nishida T. Promotion of corneal epithelial wound healing in diabetic rats by the fibronectin-derived peptide PHSRN. *Cornea*. 2017 Dec;36(12):1544-8. doi: 10.1097/ICO.0000000000001344.
190. Han X, Chen X, Liu Y, Kam WR, Zhang Y, Sullivan DA, et al. The effect of human growth hormone on corneal wound healing in mice. *EC Ophthalmol*. 2018;9(3):87-93.
191. Singh RB, Naderi A, Cho W, Ortiz G, Musayeva A, Dohlman TH, Chen Y, Ferrari G, Dana R. Modulating the tachykinin: Role of substance P and neurokinin receptor expression in ocular surface disorders. *Ocul Surf*. 2022 Jul;25:142-153. doi: 10.1016/j.jtos.2022.06.007.
192. Graca MFP, Miguel SP, Cabral CSD, Correia IJ. Hyaluronic acid-Based wound dressings: A review. *Carbohydr Polym*. 2020 Aug 1;241:116364. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116364.
193. Marinho A, Nunes C, Reis S. Hyaluronic Acid: A Key Ingredient in the Therapy of Inflammation. *Biomolecules*. 2021 Oct 15;11(10):1518. doi: 10.3390/biom11101518.
194. Egger SF, Huber-Spitzy V, Alzner E, Scholda C, Vecsei VP. Corneal wound healing after superficial foreign body injury: vitamin A and dexpanthenol versus a calf blood extract. A randomized double-blind study. *Ophthalmologica*. 1999;213(4):246-9. doi: 10.1159/000027429.
195. Barequet IS, Harizman N, Ziv H, Rosner M. Healing rate of corneal erosions: comparison of the effect of chloramphenicol eye drops and ointment and high-concentration hyaluronic acid in an animal model. *Cornea*. 2014 Oct;33(10):1080-2. doi: 10.1097/ICO.0000000000000215.

196. Zhong J, Deng Y, Tian B, Wang B, Sun Y, Huang H, et al. Hyaluronate acid-dependent protection and enhanced corneal wound healing against oxidative damage in corneal epithelial cells. *J Ophthalmol.* 2016;2016:6538051. doi: 10.1155/2016/6538051.
197. Carlson E, Kao WWY, Ogundele A. Impact of Hyaluronic Acid-Containing Artificial Tear Products on Reepithelialization in an In Vivo Corneal Wound Model. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2018 May;34(4):360-364. doi: 10.1089/jop.2017.0080.
198. Stoscheck CM. Quantitation of protein. *Methods Enzymol.* 1990;182:50-68. doi: 10.1016/0076-6879(90)82008-p.
199. Taylor SC, Posch A. The design of a quantitative western blot experiment. *Biomed Res Int.* 2014;2014:361590. doi: 10.1155/2014/361590.
200. Tykhomyrov A, Yusova O, Kapustianenko L, Bilous V, Drobotko T, Gavryliak I, et al. Production of anti-lactoferrin antibodies and their application in analysis of the tear fluid in health and corneal injuries. *Biotechnologia Acta.* 2022;15(5):31-40. doi: <https://doi.org/10.15407/biotech15.05.031>.
201. Zeitler AF, Gerrer KH, Haas R, Jimenez-Soto LF. Optimized semi-quantitative blot analysis in infection assays using the Stain-Free technology. *J Microbiol Methods.* 2016 Jul;126:38-41. doi: 10.1016/j.mimet.2016.04.016.
202. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1979 Sep;76(9):4350-4. doi: 10.1073/pnas.76.9.4350.
203. Gabison E, Chang JH, Hernandez-Quintela E, Javier J, Lu PC, Ye H, et al. Anti-angiogenic role of angiostatin during corneal wound healing. *Exp Eye Res.* 2004 Mar;78(3):579-89. doi: 10.1016/j.exer.2003.09.005.
204. Cejkova J, Cejka C. The role of oxidative stress in corneal diseases and injuries. *Histol Histopathol.* 2015 Aug;30(8):893-900. doi: 10.14670/HH-11.

205. Gavrylyak IV, Grebin NK, Bilous VL, Korsa VV, Zhaboedov DG, Aǵca CA, et al. The levels of hypoxia- and angiogenesis-related regulators and matrix metalloproteinase 9 activity in tear fluid of patients with non-penetrating ocular traumas. *Мед. перспективи.* 2022;27(4):168-76. doi: 10.26641/2307-0404.2022.4.271217.
206. Gavrylyak IV, Bilous VL, Korsa VV, Greben NK. Protein markers of hypoxia and angiogenesis in tear fluid of patients with traumatic corneal injury. *Biotechnologia Acta.* 2022;15(2):53-5. doi: 10.15407/biotech15.02.053.
207. Tykhomyrov A, Yusova O, Kapustianenko L, Bilous V, Drobotko T, Gavryliak I, et al. Production of anti-lactoferrin antibodies and their application in analysis of the tear fluid in health and corneal injuries. *Biotechnologia Acta.* 2022;15(5):31-40. doi: <https://doi.org/10.15407/biotech15.05.031>. вже є в списку
208. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Досвід застосування лактоферину при травматичних пошкодженнях рогівки. Зб. пр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю Рефракційний пленер`22; 2022 Жовт 20-21; Київ. Київ; 2022. с. 29-30.
209. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Значення рівня гіпоксії в патогенезі пошкодження рогівки. В: Зб. пр. наук.-практ. конф. Сучасні проблеми медицини (Практична офтальмологія. Сучасні проблеми екологічної медицини); 2022 Лют 24-26. Київ; 2022. с. 13-4.
210. Гавриляк ІВ. Моніторинг ММП-9 при травматичних пошкодженнях рогівки. В: Сателіт. симп. Спеціальні питання діагностики та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасціальної ділянки та органу зору; 2022 Черв 10. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2022;(Suppl №2):40.
211. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Вплив лактоферину на епітелізацію рогівки при непроникних травмах ока. *Архів офтальмології України.* 2022;10(3):14-8. doi: <https://doi.org/10.22141/2309-8147.10.3.2022.301>.

212. Гавриляк ІВ, Гребень НК. Діагностичні можливості оптико-когерентної томографії переднього відділу ока при травматичних кератитах. В: XV Наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнар. участю Спеціальні питання діагностики та лікування захворювань лор-органів, краніофасціальної ділянки та органу зору; 2023 Квіт 21. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2023;(Suppl №1):94-5.
213. Gavrylyak IV, Zhaboiedov DG, Greben NK. Experience of using optical coherence tomography in corneal injuries. Med Sci Ukraine. 2023;19(4):3-8. doi: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.4.2023.01>.
214. Гавриляк ІВ, Жабоедов ДГ, Гребень НК, Тихомиров АО. Рівень лактоферину й церулоплазміну в сльозі пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями рогівки. Офтальмол. журн. 2024;(1):8-14. doi: <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh20241814>.
215. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Прогностичні методи діагностики порушень епітелізації рогівки при травматичних пошкодженнях. В: Зб. пр. міжнар. наук.-практ. міждисциплінар. конф. Практична офтальмологія. Медичні та екологічні проблеми сучасності; 2024 Лют 22-23. Київ; 2024. с. 23-5.

ДОДАТКИ

Додаток № 1. Список публікацій здобувача.

1. Gavrylyak IV, Grebin NK, Bilous VL, Korsa VV, Zhaboedov DG, Aǧca CA, et al. The levels of hypoxia- and angiogenesis-related regulators and matrix metalloproteinase 9 activity in tear fluid of patients with non-penetrating ocular traumas. Мед. перспективи. 2022;27(4):168-76. doi: 10.26641/2307-0404.2022.4.271217.
2. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Вплив лактоферину на епітелізацію рогівки при непроникних травмах ока. Архів офтальмології України. 2022;10(3):14-8. doi: <https://doi.org/10.22141/2309-8147.10.3.2022.301>.
3. Gavrylyak IV, Zhaboiedov DG, Greben NK. Experience of using optical coherence tomography in corneal injuries. Med Sci Ukraine. 2023;19(4):3-8. doi: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.4.2023.01>.
4. Гавриляк ІВ, Жабоедов ДГ, Гребень НК, Тихомиров АО. Рівень лактоферину й церулоплазмину в сльозі пацієнтів з травматичними та рецидивуючими ерозіями рогівки. Офтальмол. журн. 2024;(1):8-14. doi: <https://doi.org/10.31288/oftalmolzh20241814>.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Гавриляк ІВ. Моніторинг ММП-9 при травматичних пошкодженнях рогівки. В: Сателіт. симп. Спеціальні питання діагностики та лікування захворювань ЛОР-органів, краніофасціальної ділянки та органу зору; 2022 Черв 10. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2022;(Suppl №2):40. (Форма участі – публікація тез, усна доповідь).
6. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Досвід застосування лактоферину при травматичних пошкодженнях рогівки. Зб. пр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю Рефракційний пленер`22; 2022 Жовт 20-21; Київ. Київ; 2022. с. 29-30. (Форма участі – публікація тез).

7. Гавриляк ІВ, Гребень НК, Жабоедов ДГ. Значення рівня гіпоксії в патогенезі пошкодження рогівки. В: Зб. пр. наук.-практ. конф. Сучасні проблеми медицини (Практична офтальмологія. Сучасні проблеми екологічної медицини); 2022 Лют 24-26. Київ; 2022. с. 13-4. (Форма участі – публікація тез, усна доповідь).

8. Гавриляк ІВ. Діагностичні можливості оптико-когерентної томографії переднього відділу ока при травматичних кератитах. В: XV Наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнар. участю Спеціальні питання діагностики та лікування захворювань лор-органів, краніофасціальної ділянки та органу зору; 2023 Квіт 21. Укр. наук.-мед. молодіж. журн. 2023;(Suppl №1):94-5. (Форма участі – публікація тез, усна доповідь).

9. Гавриляк І.В., Гребень Н.К., Жабоедов Д.Г. Прогностичні методи діагностики порушень епітелізації рогівки при травматичних пошкодженнях. Практична офтальмологія. Медичні та екологічні проблеми сучасності: збірник праць наук.-практ. конф. За ред. Федірка П. А., Медведовської Н. В., Максимук О. Ю., Бабенко Т. Ф., Гарькавої Н. А. Київ. 2024; с.23-25. (Форма участі – публікація тез, усна доповідь).

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

10. Gavrylyak I.V., Bilous V.L., Korsa V.V., Greben N.K. Protein markers of hypoxia and angiogenesis in tear fluid of patients with traumatic corneal injury. *Biotechnologia Acta*. 2022; 2(15). P.53-55. <https://doi.org/10.15407/biotech15.02.053>.

11. Tykhomyrov A., Yusova O., Kapustianenko L., Bilous V., Drobotko T., Gavrylyak I., Greben N., Ağca S.A. Production of lactoferrin antibodies and their application in analyses of the tear fluid in health and corneal injuries. *Biotechnologia Acta*. 2022; 5 (15). P.31-40. <https://doi.org/10.15407>.