

Національний університет охорони здоров'я України імені п. Л. Шупика  
Міністерство охорони здоров'я України  
Національний університет охорони здоров'я України імені п. Л. Шупика  
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Жовтоштан Марія Юріївна**

УДК 617.753.2-089.168.1:615.849.19:617.764-008.6-008.811.4-037-07

## **ДИСЕРТАЦІЯ**

### **ЕФЕКТИВНІСТЬ НОВИХ МЕТОДІВ ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ СИНДРОМУ СУХОГО ОКА ПІСЛЯ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ**

222 – «Медицина»

22 – «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття ступеню доктора філософії

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



Жовтоштан М.Ю.

Науковий керівник: Могілевський Сергій Юрійович, доктор медичних наук,  
професор

Київ – 2023

## АНОТАЦІЯ

Жовтоштан М.Ю. Ефективність нових методів прогнозування розвитку синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – «Медицина». Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України, Київ, 2023.

Дисертація присвячена вирішенню актуального завдання сучасної офтальмології – підвищення ефективності ексимерлазерної корекції міопії шляхом розробки нових методів прогнозування розвитку синдрому сухого ока в післяопераційному періоді на підставі дослідження експресії miR-146a-5p, miR-450b-5p та вмісту TGF- $\beta$ 2 в слізній рідині і визначення їх впливу на розвиток синдрому сухого ока.

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Аномалії рефракції відповідно даним Всесвітньої Організації Охорони Здоров'я за 2020 р. спостерігаються у близько 2.6 мільярдів людей у світі, з них 312 мільйонів - люди віком молодше 19 років, у 123 мільйонів є нескориговані рефракційні порушення. Прогнозується збільшення числа міопів у світі з 1.9 мільярдів (2020 р) до 3.6 мільярдів у 2030 р. Такі показники свідчать про велику актуальність проблеми аномалій рефракції та методів її корекції.

Одним із методів корекції аметропії є рефракційна хірургія. Мета рефракційної хірургії, а саме ексимерлазерної корекції (ЕЛК) - забезпечити незалежність від оптичних методів корекцій аметропій,- окулярів або контактних лінз,- та скоригувати рефракційні порушення при неможливості або непереносимості оптичної корекції. Є дані, що на сьогодні об'єм ЕЛК у світі складає 3,6 мільйонів на рік. За даними дослідження PROWL (Symptoms and Satisfaction of Patients in the Patient-Reported Outcomes With Laser In Situ Keratomileusis Studies 2017), проведеного FDA (Food and drug administration),

рівень незадоволеності зором коливався лише від 1% до 4%, а рівень незадоволеності операцією - від 1% до 2%.

Не дивлячись на високий рівень безпеки і прогнозованості процедури, існує певний відсоток ускладнень, характерних для LASIK. Найпоширенішим післяопераційним ускладненням є синдром сухого ока (ССО). ССО після ЕЛК аметропії виявляється у приблизно 60% пацієнтів в перший місяць після операції, з поступовим регресом симптоматики протягом наступних 6 місяців. До 20% пацієнтів мають синдром сухого ока через 6 місяців після операції.

Відомо, що ССО- це мультифакторіальне захворювання поверхні ока, в якому порушення слізної плівки, гіперосмолярність, запалення та подразнення очної поверхні, нейросенсорні порушення є етіологічними факторами. ССО - захворювання, поширеність якого в світі складає 5-50%. Гіперосмолярність слюзи як відправна точка патологічного процесу ССО, яка індукує каскад реакцій в епітеліальних клітинах поверхні ока, що задіює MAP кінази, сигнальні шляхи NF kb та генерацію цитокінів. MicroRNA відіграють роль в декількох фізіологічних процесах і опосередковано в ССО.

Враховуючи поширеність аномалій рефракції, об'єм операцій LASIK у світі, частоту виникнення або прогресування ССО після ЕЛК міопії та потенційний взаємозв'язок даного ускладнення з функціональним результатом, наукові дослідження в обраному нами напрямку актуальні і мають значення для сучасної офтальмології з метою зменшення порушень зору через нескориговані аномалії рефракції за рахунок розширення можливостей для сучасних, високоякісних і адекватних методів корекції аномалій рефракції.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота була виконана на кафедрі офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України і є фрагментом науково-дослідної роботи «Розробка нових методів діагностики, лікування та профілактики рефракційних, запальних, дистрофічних і травматичних захворювань органа зору та їх клініко-експериментальне

обґрунтування» (номер державної реєстрації 01200105324, термін виконання 2020-2025 роки), в яких дисертант був співвиконавцем.

**Мета дослідження:** підвищити ефективність ексимерлазерної корекції міопії на підставі дослідження факторів, що впливають на функціональний результат, шляхом розробки нових методів прогнозування розвитку та прогресування синдрому сухого ока в післяопераційному періоді через дослідження експресії miR-146a-5p, miR-450b-5p та вмісту TGF- $\beta$ 2 в слізній рідині.

**Об'єкт дослідження :** міопія (МКБ-10 : H52.1)

**Предмет дослідження :** синдром сухого ока, індукований ексимерлазерною корекцією міопії; функціональний результат після ЕЛК міопії, виконаної різними методами в найближчі та віддалені терміни; експресію miR-146a-5p, miR-450b-5p в слізній рідині та зв'язок з розвитком ССО після ЕЛК міопії; вміст TGF- $\beta$ 2 в слізній рідині та зв'язок з розвитком ССО після ЕЛК міопії.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити особливості розвитку та клінічного перебігу ССО після ЕЛК міопії, що виконана за технологією LASIK.
2. Дослідити особливості розвитку та клінічного перебігу ССО після ЕЛК міопії, що виконана за технологією FemtoLASIK.
3. Дослідити вплив персистуючого ССО після ЕЛК міопії на стан епітелію рогівки за допомогою профарбовування флуоресцеїном поверхні рогівки, оцінки кератотопографічних даних, а також карт товщини епітелію за даними AS-OCT.
4. Оцінити вплив персистуючого ССО після ЕЛК міопії на рефракційний результат на віддалених термінах спостереження.
5. Визначити в слізній рідині експресію miR-146a-5p і miR-450b-5p та вміст TGF- $\beta$ 2, а також їх зв'язок з розвитком та прогресуванням ССО після ЕЛК міопії через 6 місяців спостереження.

**Методи дослідження :** загальноклінічні; офтальмологічні (візометрія,

авторефрактометрія, авторефрактометрія після циклоплегії, кератометрія, пневмотонометрія, пахіметрія, оптична біометрія, кератотопографія, AS-OCT, пупілометрія, біомікроскопія, офтальмоскопія, час розриву слізної плівки, базальна та рефлекторна сльозопродукція, висота стояння слізного меніску, профарбовування флюоресцеїном поверхні ока); імуноферментні - вміст в слізній рідині TGF- $\beta$ 2; молекулярно-генетичні – відносна експресія в слізній рідині miR-146a-5p і miR-450b-5p; статистичні.

У першому розділі дисертації висвітлено аналіз наукових робіт за останні роки з досліджуваної проблеми. Аналіз сучасної літератури показав актуальність у світі проблеми, на вирішення якої направлене дане дослідження. Існує багато досліджень, які були направлені на визначення ключової ланки патогенезу ССО після ЕЛК міопії, але досі не було чітко розрізнено вплив технології втручання і вплив генетичних та імунологічних факторів слізної рідини, які потенційно могли б бути предикторами виникнення даної патології. Визначено найбільш перспективні напрямки наукових досліджень в даному напрямку.

У другому розділі дисертації представлено дизайн, матеріал і методи дослідження. Спостерігали за 65 пацієнтами (130 очей), яких поділили на 2 групи залежно від методу ЕЛК – LASIK та FemtoLASIK. 40 людей (80 очей) - контрольна група. ЕЛК методом LASIK виконувалась на приладі WaveLight EX500 (Alcon). Рогівковий клапоть формували мікрокератомом Carriazo-Pendular та фемтолазером FS200 (Alcon). Пацієнтам перед операцією і протягом спостереження аналізували маніфестну рефракцію, кератотопографію, AS-OCT. Для діагностики ССО оцінювали стан поверхні ока, сльозопродукцію, стабільність слізної плівки. Термін спостереження – 12 місяців. В розділі представлений повний опис методів дослідження та лікування. Підрозділ статистичної обробки отриманих результатів містить різноманітний ряд статистичних показників, методів та засобів обчислення даних, які дозволяють ретельно перевірити і підтвердити статистичну значущість отриманих результатів.

У третьому розділі наведено результати дослідження, в якому було оцінено вплив різних технологій ексимерлазерної корекції міопії на розвиток синдрому сухого ока у ранні та віддалені терміни спостереження. Проведені клінічні дослідження встановили, що до операції у частини пацієнтів 1-ї та 2-ї груп ССО виявили легкого ступеню. Частота ССО через 1 місяць після ЕЛК зростає на 75,5% і на 76,5%, через 3 місяці на 63% і на 64,9% в 1-й і 2-й групах. Через 6 місяців у 1-й групі частота ССО знизилась на 38,7% і на 40% у 2-й групі порівняно з результатами попереднього обстеження. Зафіксовано 10% пацієнтів з персистуючим ССО після ЕЛК, які не мали проявів ССО до операції. Методи ЕЛК - Lasik та Femto Lasik, здійснюють вплив на розвиток ССО, але він більшою мірою тимчасовий.

Четвертий розділ дисертації присвячено оцінці впливу персистуючого синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії та віддалені функціональні результати. Був встановлений зв'язок між персистуючим ССО і регресом рефракційного результату після ЕЛК міопії. В 10,7% випадків рефракційного регресу після ЕЛК міопії було зафіксовано персистуючий ССО. Потовщення епітелію в центрі рогівки після ЕЛК у пацієнтів без ССО менше на 37,5%, ніж у пацієнтів з персистуючим ССО за результатами AS-OCT. Товщина епітелію рогівки менша при міопії на 6,4%, ніж при відсутності аметропій. Кератотопографічні дані виявляють нерегулярний астигматизм при ССО, який знижує якість зору, і пов'язані зі змінами товщини епітелію, рефракційним регресом після ЕЛК міопії. Профарбовування поверхні рогівки можна визначити як доказ пошкодження епітелію рогівки при персистуючому ССО після ЕЛК міопії.

У п'ятому розділі роботи наведенні результати вивчення експресії miR-146a-5p і miR-450b-5p та вмісту TGF- $\beta$ 2 в слізній рідині та їх вплив на розвиток ССО через 6 місяців спостереження. Встановлено, що вивчені показники мають вирішальне значення у виникненні ССО через 6 місяців після ЕЛК міопії та визначені критичні пороги прогнозування ССО.

У шостому розділі виконано узагальнюючий аналіз отриманих результатів роботи, їх співставлення з існуючими науковими даними. Доведена наукова та практична цінність отриманих результатів, виявлені шляхи їх подальшого використання у наступних дослідженнях.

### **Наукова новизна**

Доповнені наукові дані щодо впливу ЕЛК міопії на розвиток та прогресування ССО. Частота ССО після виконання ЕЛК методами LASIK та Femto LASIK статистично значимо зросла через 1 місяць на 75.5% і на 76.5%, через 3 - на 63% і на 64.9% відповідно і не залежала від методу. Серед пацієнтів, у яких не було ССО до операції, 10% мали персистуючий ССО після ЕЛК міопії.

Доведена залежність між персистуючим ССО після ЕЛК міопії і регресом рефракційного результату. У 10,7% випадків регресу рефракційного результату після ЕЛК міопії були зафіксовані ознаки персистуючого ССО, що впливало на потовщення рогівкового епітелію. Потовщення епітелію в центрі рогівки після ЕЛК у пацієнтів, які мали персистуючий ССО, було більше на 37,5%, ніж у пацієнтів без діагностованого ССО.

Встановлено, що при персистуючому ССО ознаками пошкодження епітелію рогівки і взаємозв'язку його гіперплазії з рефракційним регресом після ЕЛК міопії було профарбовування флуоресцеїном поверхні рогівки, кератотопографічні дані, а також карти товщини епітелію рогівки за даними AS-OCT.

Доповнені наукові дані щодо значення експресії miR-146a-5p, визначеної у сльозі пацієнтів до ЕЛК міопії, за наявності ССО через 6 місяців після лікування; вона була зменшена у 3,6 рази; ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з групою контролю та пацієнтами, в яких ССО не виникло. Експресія miR-450b-5p була збільшеною у 2,5 рази у порівнянні з контролем та у 2,0 рази - з пацієнтами без ССО ( $p < 0,001$ ).

Вміст TGF- $\beta$ 2 у сльозі пацієнтів до ЕЛК міопії за наявності ССО був зменшеним у 1,6 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з пацієнтами, в яких ССО не було

діагностовано.

**Практичне значення.** Розроблено і впроваджено в практику методи прогнозування розвитку синдрому сухого ока після різних технологій ексимерлазерної корекції аметропії на підставі його детальної діагностики на доопераційному етапі.

Визначено вплив ексимерлазерної корекції міопії, виконаної різними методами, на розвиток синдрому сухого ока в ранні та віддалені терміни спостереження.

Оцінено вплив персистуючого синдрому сухого ока після ЕЛК міопії, виконаного різними технологіями (LASIK та FemtoLASIK), на функціональні результати у віддалені терміни спостереження.

Доведено вплив персистуючого ССО на рефракційний результат після різних методів ЕЛК міопії, а також деталізовано характерні для нього структурні зміни епітелію рогівки за допомогою вивчення карт епітелію рогівки за результатами AS-OCT, аналізу кератотопограм і профарбовування поверхні рогівки флуоресцеїном.

Було встановлено, що практичне значення має визначення межових значень рівня експресії мікроРНК для виникнення ССО через 6 місяців після ЕЛК міопії: критичний поріг виникнення ССО для відносної експресії miR-146a-5p становив  $\leq 0,85$ , експресії miR-450b-5p –  $> 1,95$ , менше 1755 пг/мл ( $p < 0,001$ ).

*Ключові слова:* міопія, ексимерлазерна корекція, синдром сухого ока, прогнозування, рефракційний результат, експресія мікроРНК, miR-146a-5p, miR-450b-5p, TGF- $\beta$ 2.



## Список публікацій здобувача за темою дисертації.

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Оцінка впливу ексимерлазерної корекції міопії на розвиток синдрому сухого ока: ранні та віддалені терміни спостереження. Офтальмологічний журнал. 2022;(5):23–29. doi.org/10.31288/oftalmolzh202252329
2. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Бушуєва О.В. Персистуючий синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії та віддалені функціональні результати. Офтальмологічний журнал. 2023;(1):19–26. doi.org/10.31288/oftalmolzh202311926
3. Зяблицев С.В., Жовтоштан М.Ю. Прогностична роль мікроРНК та TGF- $\beta$ 2 при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Архів офтальмології України. 2023; 11(2): 51-56. doi.org/10.22141/2309-8147.11.2.2023.329

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

4. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Ексимерлазерна корекція міопії як фактор ризику синдрому сухого ока Науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`21» (Київ, Україна 28-30.10.2021 р.) с 38-39.
5. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. ІХ наук-практ. конф. дитячих офтальмол. з міжнар. участю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити. 2021 Чер 10-12; Бугаз Одеської обл. 2021, с. 118-20.
6. Zhovtoshtan M. The relationship between excimer laser correction of ametropia and dry eye disease. Scientific Collection «InterConf», (62): with the Proceedings of the 9 th International Scientific and Practical Conference «Scientific Research

- in XXI Century» (June 18-19, 2021). Ottawa, Canada: Methuen Publishing House, 2021, p.358-360.
7. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Ступінь міопії та синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання офтальмології», 22-23 вересня 2021 р. Миколаїв / Ред. кол. – Одеса: ФОП Бондаренко М. О., 2021, с. 74-77
  8. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Синдром сухого ока як ускладнення ексимерлазерної корекції у ранні та віддалені терміни післяопераційного спостереження Науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`22» (Київ, Україна 2022 р.) с 58-60.
  9. Жовтоштан М.Ю. Ексимерлазерна корекція міопії та синдром сухого ока: віддалені терміни післяопераційного спостереження. Науково-практична онлайн конференція з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 4.0»(30.05.2022р.). doi: 10.5281/zenodo.6814418 с 84-85.
  10. Жовтоштан М. Ю., Могілевський С. Ю., Усенко К. О. Вплив різних видів ексимерлазерної корекції міопії на розвиток і прогресування синдрому сухого ока Науково-практична конференція дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити. 2022 Чер 11; Київ. 2022, с. 20-21.
  11. Zhovtoshtan M. Evaluation of the corneal epithelium changes due to persistent DES after ELC of myopia by LASIK and Femto-LASIK methods using epithelial maps performed on AS-OCT, RMS of total HOA according to the results of corneal topography, and their relationship with refractive regression. 14<sup>th</sup> EUCornea, 26-28 May 2023 in Barcelona.
  12. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії на різних термінах післяопераційного спостереження. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 196-199.

13. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Зміни маніфестної рефракції та показників кератотопографії внаслідок персистуючого синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 199-201.
14. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Гіперплазія епітелію рогівки при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії: вплив на рефракційний результат. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 201-204.
15. Zhovtoshtan M. mirna expression tgf- $\beta$ 2 content as factors for prediction of dry eye syndrome after excimerlaser myopia correction II International Scientific and Practical Conference «Creation of new ideas of learning in modern conditions», Bordeaux, France (September 25-27, 2023).

## ABSTRACT

Zhovtoshtan M.Y. Effectiveness of new methods for predicting the development of dry eye syndrome after excimer laser correction of myopia. - Qualifying scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in speciality 222 – "Medicine". Shupyk National Healthcare University of Ukraine of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Kyiv, 2023.

The dissertation is devoted to solving an urgent problem of modern ophthalmology – increasing the effectiveness of excimer laser correction of myopia by developing new methods for predicting the development of dry eye syndrome in the postoperative period based on the study of the expression of miR-146a-5p, miR-450b-5p and the content of TGF- $\beta$ 2 in the lacrimal fluid.

**Justification for the choice of research topic.** According to the World Health Organization for 2020, refractive errors are observed in about 2.6 billion people in the world, of which 312 million are people under the age of 19, and 123 million have uncorrected refractive errors. The myopes' number is projected to increase from 1.9 billion (2020) to 3.6 billion in 2030 in the world.

One of the methods of correcting ametropia is refractive surgery. The refractive surgery purpose, namely excimer laser correction (ELC), is to ensure independence from optical methods of correction of ametropia - glasses and or contact lenses - and to correct refractive errors in case of impossibility or intolerance of optical correction. There is evidence that the volume of ELC in the world is 3.6 million per year. According to the PROWL (Symptoms and Satisfaction of Patients in the Patient-Reported Outcomes With Laser In Situ Keratomileusis Studies 2017) study conducted by the FDA (Food and Drug Administration), the level of vision dissatisfaction ranged from only 1% to 4%, and the level of dissatisfaction with surgery ranged from 1% to 2%.

Despite the high level of safety and predictability of the procedure, there is a certain percentage of complications characteristic of LASIK. The most common postoperative complication is dry eye syndrome (DES). The DES after ELC

ametropia is detected in approximately 60% of patients in the first month after surgery, with gradual regression of symptoms over the next 6 months. Up to 20% of patients have dry eye syndrome 6 months after surgery.

It is known that DES is a multifactorial disease of the eye surface, in which disorders of the tear film, hyperosmolarity, inflammation and irritation of the ocular surface, and neurosensory disorders are etiological factors. The DES is a disease, the prevalence of which in the world is 5-50%. Tear hyperosmolarity is the starting point of the pathological process of DES, which induces a cascade of reactions in the epithelial cells of the ocular surface, involving MAP kinases, NF kb signalling pathways and cytokine generation. MicroRNAs play a role in several physiological processes and indirectly in DES.

Given the prevalence of refractive errors, the volume of LASIK surgeries worldwide, the incidence or progression of DES after ELC of myopia, and the potential relationship between this complication and the functional outcome, scientific research in our chosen area is relevant and important for modern ophthalmology to reduce visual impairment due to uncorrected refractive errors by expanding the possibilities for modern, high-quality, and adequate methods of correction of refractive errors.

Connection of the work with scientific programs, plans, and topics.

The dissertation was carried out at the Department of Ophthalmology of the Shupyk National Healthcare University of Ukraine of the Ministry of Healthcare of Ukraine and is a fragment of the research work "Development of new methods of diagnosis, treatment and prevention of refractive, inflammatory, dystrophic and traumatic diseases of the eye and their clinical and experimental justification" (state registration number 01200105324, deadline 2020-2025), in which the dissertation was a coauthor.

**The aim of the study:** to increase the effectiveness of excimer laser correction of myopia based on the study of factors influencing the functional outcome, by developing new methods for predicting the development and progression of dry eye

syndrome in the postoperative period through the study of the expression of miR-146a-5p, miR-450b-5p and the content of TGF- $\beta$ 2 in the lacrimal fluid.

**The object of study:** myopia (ICD-10: H52.1)

**The subject of research:** dry eye syndrome induced by excimer laser correction; functional outcome after ELC of myopia performed by various methods in the near and long-term follow-up; expression of miR-146a-5p, miR-450b-5p in lacrimal fluid and association with the development of DES after ELC of myopia; content of TGF- $\beta$ 2 in lacrimal fluid and association with the development of DES after ELC of myopia.

**Objectives of the study:**

1. To investigate the features of the development and clinical course of DES after ELC of myopia, performed using LASIK technology.
2. To investigate the features of the development and clinical course of DES after ELC of myopia, performed using FemtoLASIK technology.
3. To investigate the effect of persistent DES after ELC of myopia on the state of the corneal epithelium using fluorescein staining of the corneal surface, assessment of keratotopographic data, as well as epithelial thickness maps according to AS-OCT data.
4. To assess the effect of persistent DES after myopia ELC on the refractive outcome at long-term follow-up.
5. To determine the expression of miR-146a-5p and miR-450b-5p and the content of TGF- $\beta$ 2 in the lacrimal fluid, as well as their association with the development and progression of DES after ELC of myopia after 6 months of follow-up.

**Research methods:** general clinical; ophthalmic (visometry, autorefractometry, autorefractometry after cycloplegia, keratometry, pneumotonometry, pachymetry, optical biometry, keratotopography, AS-OCT, pupilometry, biomicroscopy, ophthalmoscopy, tear film rupture time, basal and reflex lacrimal production, lacrimal meniscus height, fluorescein staining of the eye surface); enzyme-linked immunosorbent - the content TGF- $\beta$ 2 in lacrimal fluid;

molecular genetic – relative expression of miR-146a-5p and miR-450b-5p in lacrimal fluid; Statistical.

The first section of the dissertation highlights the analysis of scientific papers in recent years on the problem under study. The analysis of modern literature has shown its relevance in the world of the problem, the solution of which is aimed at this study. Many studies have been aimed at determining the key link in the pathogenesis of DES after ELC of myopia, but so far there has not been a clear distinction between the influence of intervention technology and the influence of genetic and immunological factors of lacrimal fluid, which could potentially be predictors of the occurrence of this pathology. The most promising directions of scientific research in this direction are determined.

The second section of the dissertation presents the design, material, and methods of research. 65 patients (130 eyes) were observed, who were divided into 2 groups depending on the ELC method – LASIK and FemtoLASIK. 40 people (80 eyes) -control group. ELC using the LASIK method was performed on the WaveLight EX500 (Alcon) device. The corneal flap was performed with Carriazo-Pendular microkeratome and FS200 femtolasar (Alcon). Patients before surgery and during observation were analyzed for manifest refraction, keratotopography, and AS-OCT. To diagnose the DES, we performed tests to evaluate the condition of the eye surface, tear production, and the stability of the tear film. The observation period is 12 months. The section provides a complete description of research and treatment methods. The subdivision of statistical processing of the obtained results contains a diverse range of statistical indicators, methods and means of calculating data, which allow you to carefully check and confirm the statistical significance of the results obtained.

The third section presents the results of a study that evaluated the impact of various technologies of excimer laser correction of myopia on the development of dry eye syndrome in the early and long-term follow-up periods. Clinical studies have shown that before surgery, some patients of the 1st and 2nd groups of DES were found to have a mild degree. The incidence of DES at 1 month after ELC increased

by 75.5% and 76.5%, after 3 months by 63% and by 64.9% in groups 1 and 2. After 6 months, the incidence of DES decreased by 38.7% in group 1 and by 40% in group 2 compared to the results of the previous examination. 10% of the patients were recorded with persistent DES after ELC, who did not have signs of DES before surgery. ELC methods - Lasik and Femto Lasik, have an impact on the development of DES, but it is mostly temporary.

The fourth section of the thesis is devoted to the assessment of the impact of persistent dry eye syndrome after excimer laser correction of myopia and long-term functional results. A link has been established between persistent DES and regression of the refractive outcome after ELC myopia. In 10.7% of cases of refractive regression after ELC myopia, persistent DES was recorded. Thickening of the epithelium in the centre of the cornea after ELC in patients without DES is 37.5% less than in patients with persistent DES according to AS-OCT results. The thickness of the corneal epithelium is 6.4% less in myopia than in the absence of ametropia. Keratotopographic findings reveal irregular astigmatism in DES, which reduces the quality of vision and is associated with changes in epithelial thickness, and refractive regression after ELC of myopia. Corneal surface staining can be identified as evidence of corneal epithelial damage in persistent DES after ELC of myopia.

The fifth section of the work presents the results of the study of the expression of miR-146a-5p and miR-450b-5p and the content of TGF- $\beta$ 2 in the lacrimal fluid and their effect on the development of DES after 6 months of follow-up. It was found that the studied indicators are crucial in the occurrence of DES 6 months after myopia ELC and critical thresholds for the prediction of DES were determined.

In the sixth section, a generalized analysis of the results of the work is carried out, and their comparison with existing scientific data. The scientific and practical value of the obtained results has been proven, and the ways of their further use in subsequent studies have been identified.

### **Originality**

Supplemented scientific data on the effect of ELC of myopia on the development and progression of DES. The incidence of DES after ELC of myopia



performed by LASIK and Femto LASIK methods increased statistically significantly after 1 month by 75.5% and 76.5%, after 3 months - by 63% and 64.9%, respectively, and did not depend on the method. Among patients who did not have DES before surgery, 10% had persistent DES after ELC of myopia.

The relationship between persistent DES after ELC of myopia and regression of the refractive outcome has been proven. In 10.7% of cases of regression of the refractive outcome after ELC of myopia, signs of persistent DES were recorded, which affected the thickening of the corneal epithelium. The thickening of the epithelium in the centre of the cornea after ELC was 37.5% greater in patients with persistent DES than in patients without diagnosed DES.

It was found that in persistent DES, signs of damage to the corneal epithelium and the relationship of its hyperplasia with refractive regression after ELC of myopia were fluorescein staining of the corneal surface, keratotopographic data, as well as maps of the thickness of the corneal epithelium according to AS-OCT data.

Supplemented scientific data on the value of miR-146a-5p expression determined in patients' tears to ELC of myopia, in the presence of DES 6 months after treatment; it was reduced by 3.6 times; ( $p < 0.001$ ) compared with controls and patients who did not develop DES. The expression of miR-450b-5p was increased 2.5-fold compared to controls and 2.0-fold increased in patients without DES ( $p < 0.001$ ).

The content of TGF- $\beta$ 2 in the tears of patients with ELC of myopia in the presence of DES was reduced by 1.6-fold ( $p < 0.001$ ) compared to patients in whom DES was not diagnosed.

**Practical value.** Methods for predicting the development of dry eye syndrome after various technologies of excimer laser correction of ametropia based on a detailed diagnosis of dry eye syndrome at the preoperative stage have been developed and put into practice.

The influence of excimer laser correction of myopia, performed by various methods, on the development of dry eye syndrome in the early and long-term follow-up period has been determined.

The effect of persistent dry eye syndrome after excimer laser correction of myopia, performed by various technologies - LASIK and FemtoLASIK, according to functional results in the long term of observation was evaluated.

The effect of persistent DES on the refractive outcome after various methods of myopia ELC was proved, as well as the structural changes of the corneal epithelium characteristic of it were detailed by studying corneal epithelial maps based on AS-OCT results, analysis of keratotopograms and staining of the corneal surface with fluorescein.

It was found that the determination of the boundary values of the level of expression of microRNAs for the occurrence of DES 6 months after ELC of myopia is of practical importance: the critical threshold for the occurrence of DES for the relative expression of miR-146a-5p was  $\leq 0.85$ , the expression of miR-450b-5p was  $> 1.95$ , the content of TGF- $\beta$ 2 was less than 1755 pg/ml ( $p < 0.001$ ).

**Keywords:** myopia, excimer laser correction, dry eye syndrome, forecasting, refractive result, expression of microRNA, miR-146a-5p, miR-450b-5p, TGF- $\beta$ 2.

## ЗМІСТ

<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ .....</b>	<b>20</b>
<b>ВСТУП.....</b>	<b>23</b>
<b>РОЗДІЛ 1. АНАЛІЗ РОЛІ І ЕФЕКТИВНОСТІ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ ДЛЯ СУЧАСНОЇ ОФТАЛЬМОЛОГІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....</b>	<b>31</b>
1.1. Міопія – сучасна медико-соціальна проблема .....	31
1.2. Сучасні методи корекції аномалій рефракції .....	34
1.2.1. Оптичні методи корекції аномалій рефракції .....	34
1.2.2. Хірургічні методи корекції міопії .....	36
1.3. Ексимерлазерна корекція аномалій рефракції .....	37
1.4. Синдром сухого ока .....	42
1.5. Синдром сухого ока після LASIK.....	47
<b>РОЗДІЛ 2. ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ .....</b>	<b>53</b>
2.1 Дизайн. Загальна характеристика роботи .....	53
2.2 Методи офтальмологічного обстеження.....	56
2.3 Методи ексимерлазерної корекції .....	61
2.4 Передопераційна підготовка .....	61
2.5 ЕЛК методом LASIK.....	62
2.6 ЕЛК методом Femto LASIK.....	63
2.7 Післяопераційне лікування.....	63
2.8 Методи лабораторних досліджень.....	64
2.9 Методи статистичного аналізу та математичної обробки результатів дослідження .....	72
<b>РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ РІЗНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ НА РОЗВИТОК І ПРОГРЕСУВАННЯ СИНДРОМУ СУХОГО ОКА В РАННІ ТА ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ СПОСТЕРЕЖЕННЯ .....</b>	<b>74</b>

3.1 Вплив LASIK ексимерлазерної корекції міопії на розвиток і прогресування синдрому сухого ока в ранні та віддалені терміни спостереження .....	75
3.2 Вплив FemtoLASIK ексимерлазерної корекції міопії на розвиток і прогресування синдрому сухого ока в ранні та віддалені терміни спостереження .....	76
3.3 Порівняльний аналіз впливу різних технологій ексимерлазерної корекції міопії.....	77
<b>РОЗДІЛ 4 ВПЛИВ ПЕРСИСТУЮЧОГО СИНДРОМУ СУХОГО ОКА ПІСЛЯ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ НА РЕФРАКЦІЙНИЙ РЕЗУЛЬТАТ .....</b>	<b>89</b>
<b>РОЗДІЛ 5 ЕКСПРЕСІЯ мікроРНК ТА ВМІСТ ТРАНСФОРМУЮЧОГО ФАКТОРУ РОСТУ-<math>\beta</math>2 (TGF-<math>\beta</math>2) У СЛІЗНІЙ РІДИНІ ПРИ СИНДРОМІ СУХОГО ОКА ПІСЛЯ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ.....</b>	<b>105</b>
5.1 Експресія мікрорнк mir-146a-5p і mir-450b-5p та вміст трансформуючого фактору росту- $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2).....	105
5.2 Прогнозування ризику виникнення ССО за експресією мікроРНК miR-146a-5p і miR-450b-5p та вмістом трофобластичного фактору росту- $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2).....	111
<b>РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ .....</b>	<b>117</b>
<b>ВИСНОВКИ.....</b>	<b>128</b>
<b>ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....</b>	<b>130</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....</b>	<b>132</b>
<b>ДОДАТКИ.....</b>	<b>161</b>
Додаток 1. Акти впровадження в наукову і практичну діяльність.....	161
Додаток 2. Список публікацій здобувача за темою дисертації.....	167

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ЕЛК	- Ексимерлазерна корекція
ІОЛ	- інтраокулярні лінзи
EGF	- Epidermae Growth Factor,
ССО	- Синдром сухого ока
LASIK	- Лазерний кератомілез in situ
Femto LASIK	- Femtosecond Laser-Assisted LASIK
LASEK	- лазерна субепітеліальна кератектомія
SMILE	- small incision lenticule extraction
PRK	- фоторефракційна кератектомія
AD	- аутосомно-домінантна спадковість
AR	- аутосомно-рецесивна спадковість
XL	- Х-зчеплена рецесивна спадковість
BCVA	- найкраще корегована гострота зору
МКЛ	- м'які контактні лінзи
CL	- контактні лінзи
CLIDE	- CL-індукована сухість ока
CLADE	- CL-асоційована сухість ока
FDA	- Food and Drug Administration
ДЛК	- дифузний ламелярний кератит
DEWS 2	- Dry Eye Workshop II
IL-1	- Interleukin-1
IL-6	- Interleukin-6
TNF-a	- Tumour necrosis factor a
TGF-β2	- Transforming Growth Factor β2
MAP кінази	- кінази mitogen-activated protein kinase
NF kb	- nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
IgA	- імуноглобулін А
IgM	- імуноглобулін М
IgG	- імуноглобулін G
MUC1	- Муцин-1
MUC4	- Муцин-4
MUC16	- Муцин-16
iPHK	- інформаційна РНК
AS-OCT	- Anterior Segment Spectral Domain OCT
CIM	- CornealIrregularityMeasurement
SE	- сферо еквівалент
BSS	- Balanced Salt Solution
TBUT	- Tear breakup time
JAK-STAT	- Janus kinase/signal transducer and activator of transcription

МКГЗ/НКГЗ	- максимальна коригована гострота зору вдалину/ некоригована гострота зору
OCT	- Optical Coherence Tomography
RMS	- Root mean square
LINE	- LASIK-індукована нейротрофічна епітеліопатія
PROWL	- Symptoms and Satisfaction of Patients in the Patient-Reported Outcomes With Laser In Situ Keratomileusis Studies

## ВСТУП

### **Обґрунтування вибору теми дослідження.**

Міопія – одна з найбільш поширених причин зниження зору у світі. Більше ніж 2 млрд людей у всьому світі мають короткозорість, 15% з яких мають короткозорість високого ступеню. У 2020 році 161 млн людей у всьому світі були сліпими або мали помірне або тяжке порушення зору через нескориговану аномалію рефракції. Очікується, що до 2050 року поширення міопії зросте до 5 млрд, що становить більше половини прогнозованого населення планети [2].

Міопія, є найпоширенішим захворюванням очей людини у світі, яке вражає від 25% до 50% дорослого населення у світі (США та Європа) і від 85% до 90% молодих людей у деяких азіатських країнах, таких як Сінгапур і Тайвань. Економічні витрати на короткозорість оцінюються в 268 мільярдів доларів США щорічно у всьому світі [2,48-51].

Тягар міопії є найвищим у Східній Азії та країнах Азіатсько-Тихоокеанського регіону з високим рівнем доходу (51,6% та 53,4% поширеність відповідно у 2020 році), але поширеність також висока в Європі (Західна Європа: 36,7%, Центральна Європа: 34,6% і Східна Європа: 32,2%) [1, 3, 8, 35, 37]. Попередній метааналіз п'ятнадцяти популяційних когорт дорослих і перехресні дослідження по всій Європі визначили стандартизовану за віком поширеність короткозорості в 30,6% [3,7,37]. Пікова поширеність короткозорості була виявлена у віковій групі 25–29 років (47,2%), хоча поширеність короткозорості високого ступеню в Європі була відносно низькою, а стандартизована за віком оцінка становить 2,7% [3,7].

За останніми даними ДЗ "Центр медичної статистики МОЗ України" щодо кількості зареєстрованих випадків міопії серед всього населення поширеність міопії склала 1341,9 на 100 тис. населення, захворюваність - 253,6 на 100 тис. населення [5, 6].

Одним із методів корекції міопії є рефракційна хірургія. Мета

рефракційної хірургії, а саме ексимерлазерної корекції (ЕЛК) - забезпечити незалежність від оптичних методів корекцій аметропій - окулярів та/або контактних лінз - та скоригувати рефракційні порушення при неможливості або непереносимості оптичної корекції [93]. В декількох нерандомізованих дослідженнях серед пацієнтів, які перенесли LASIK, 95% були задоволені своїми результатами і якість життя після операції стала вищою в порівнянні з якістю життя до операції [59, 60, 87, 88]. Є дані, що на сьогодні об'єм ЕЛК у світі складає 3,6 мільйонів на рік [52].

Синдром сухого ока (ССО) - одне з найбільш поширених ускладнень ЕЛК за рахунок механізмів, притаманних цій процедурі [82,83,108-113]. ССО після ЕЛК аметропії виявляється у приблизно 60% пацієнтів в перший місяць після операції, з поступовим регресом симптоматики протягом наступних 6 місяців. До 20% пацієнтів мають синдром сухого ока в строк понад 6 місяців від операції [9].

Кількість діагностованих випадків ССО серед населення України складає 2.1 млн., а число людей, що мають симптоми ССО – 18 млн.[85]. Ланцюг реакцій, що призводять до нестабільності слізної плівки може бути ініційований гіперосмолярністю сльози, а також викликається кількома різноманітними захворюваннями, наприклад, запаленням поверхні ока внаслідок місцевих алергічних реакцій, токсичної дією консерванта в очних краплях, втрати бокаловидних клітин кон'юнктиви або зменшення експресії муцинів і може бути індукований виконанням ЕЛК [95,149,150,192]. Гіперплазія епітелію внаслідок персистуючого ССО після LASIK може бути пов'язана з міопічним рефракційним регресом, якщо потовщення епітелію в центральних ділянках переважає середньопериферійні, що еквівалентно додаванню опуклої лінзи на передню поверхню рогівки.

Зменшення зростаючого суспільного тягаря некоригованої короткозорості потребує поєднання методів профілактики з розширеними можливостями для надання високоякісних, доступних і адекватних методів корекції аномалій рефракції [2,174]. Отже, для більш ретельного відбору



пацієнтів і тим самим покращення результатів ЕЛК міопії для сучасної офтальмології є дуже актуальним визначення ранніх предикторів ССО, як одного з найпоширеніших ускладнень методу [105,107,108,113,116,152].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота була виконана на кафедрі офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика МОЗ України і є фрагментом науково-дослідної роботи «Розробка нових методів діагностики, лікування та профілактики рефракційних, запальних, дистрофічних і травматичних захворювань органа зору та їх клініко-експериментальне обґрунтування» (номер державної реєстрації 01200105324, термін виконання 2020 -2025 роки), в яких дисертант був співвиконавцем.

**Мета дослідження:** підвищити ефективність ексимерлазерної корекції міопії на підставі дослідження факторів, що впливають на функціональний результат, шляхом розробки нових методів прогнозування розвитку та прогресування синдрому сухого ока в післяопераційному періоді через дослідження експресії miR-146a-5p, miR-450b-5p та вмісту TGF- $\beta$ 2 в слізній рідині.

**Об'єкт дослідження :** міопія (МКБ-10 : H52.1)

**Предмет дослідження :** синдром сухого ока, індукований ексимерлазерною корекцією міопії; функціональний результат після ЕЛК міопії, виконаної різними методами в найближчі та віддалені терміни; експресію miR-146a-5p, miR-450b-5p в слізній рідині та зв'язок з розвитком ССО після ЕЛК міопії; вміст TGF- $\beta$ 2 в слізній рідині та зв'язок з розвитком ССО після ЕЛК міопії.

**Завдання дослідження:**

1. Дослідити особливості розвитку та клінічного перебігу ССО після ЕЛК міопії, що виконана за технологією LASIK.
2. Дослідити особливості розвитку та клінічного перебігу ССО після ЕЛК міопії, що виконана за технологією FemtoLASIK.
3. Дослідити вплив персистуючого ССО після ЕЛК міопії на стан епітелію

рогівки за допомогою профарбовування флуоресцеїном поверхні рогівки, оцінки кератотопографічних даних, а також карт товщини епітелію за даними AS-OCT.

4. Оцінити вплив персистуючого ССО після ЕЛК міопії на рефракційний результат на віддалених термінах спостереження.
5. Визначити в слізній рідині експресію miR-146a-5p і miR-450b-5p та вміст TGF- $\beta$ 2, а також їх зв'язок з розвитком та прогресуванням ССО після ЕЛК міопії через 6 місяців спостереження.

**Методи дослідження** : загальноклінічні; офтальмологічні (візометрія, авторефрактометрія, авторефрактометрія після циклоплегії, кератометрія, пневмотонометрія, пахіметрія, оптична біометрія, кератотопографія, AS-OCT, пупілометрія, біомікроскопія, офтальмоскопія, час розриву слізної плівки, базальна та рефлекторна сльозопродукція, висота стояння слізного меніску, профарбовування флуоресцеїном поверхні ока); імуноферментні - вміст в слізній рідині TGF- $\beta$ 2; молекулярно-генетичні - експресія в слізній рідині miR-146a-5p, miR-450b-5p; статистичні.

### **Наукова новизна**

Доповнені наукові дані щодо впливу ЕЛК міопії на розвиток та прогресування ССО. Частота ССО після виконання ЕЛК методами LASIK та Femto LASIK статистично значимо зросла через 1 місяць на 75.5% і на 76.5%, через 3 - на 63% і на 64.9% відповідно і не залежала від методу. Серед пацієнтів, у яких не було ССО до операції, 10% мали персистуючий ССО після ЕЛК міопії.

Доведена залежність між персистуючим ССО після ЕЛК міопії і регресом рефракційного результату. У 10,7% випадків регресу рефракційного результату після ЕЛК міопії були зафіксовані ознаки персистуючого ССО, що впливало на потовщення рогівкового епітелію. Потовщення епітелію в центрі рогівки після ЕЛК у пацієнтів, які мали персистуючий ССО, було більше на 37,5%, ніж у пацієнтів без діагностованого ССО.

Встановлено, що при персистуючому ССО ознаками пошкодження

епітелію рогівки і взаємозв'язку його гіперплазії з рефракційним регресом після ЕЛК міопії було профарбовування флуоресцеїном поверхні рогівки, кератотопографічні дані, а також карти товщини епітелію рогівки за даними AS-OCT.

Доповнені наукові дані щодо значення експресії miR-146a-5p, визначеної у сльозі пацієнтів до ЕЛК міопії, за наявності ССО через 6 місяців після лікування; вона була зменшена у 3,6 рази; ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з групою контролю та пацієнтами, в яких ССО не виникло. Експресія miR-450b-5p була збільшеною у 2,5 рази у порівнянні з контролем та у 2,0 рази - з пацієнтами без ССО ( $p < 0,001$ ).

Вміст TGF- $\beta$ 2 у сльозі пацієнтів до ЕЛК міопії за наявності ССО був зменшеним у 1,6 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з пацієнтами, в яких ССО не було діагностовано.

**Практичне значення.** Розроблено і впроваджено в практику методи прогнозування розвитку синдрому сухого ока після різних технологій ексимерлазерної корекції аметропії на підставі його детальної діагностики на доопераційному етапі.

Визначено вплив ексимерлазерної корекції міопії, виконаної різними методами, на розвиток синдрому сухого ока в ранні та віддалені терміни спостереження.

Оцінено вплив персистуючого синдрому сухого ока після ЕЛК міопії, виконаного різними технологіями (LASIK та FemtoLASIK), на функціональні результати у віддалені терміни спостереження.

Доведено вплив персистуючого ССО на рефракційний результат після різних методів ЕЛК міопії, а також деталізовано характерні для нього структурні зміни епітелію рогівки за допомогою вивчення карт епітелію рогівки за результатами AS-OCT, аналізу кератотопограм і профарбовування поверхні рогівки флуоресцеїном.

Було встановлено, що практичне значення має визначення межових значень рівня експресії мікроРНК для виникнення ССО через 6 місяців після

ЕЛК міопії: критичний поріг виникнення ССО для відносної експресії miR-146a-5p становив  $\leq 0,85$ , експресії miR-450b-5p –  $> 1,95$ , менше 1755 пг/мл ( $p < 0,001$ ).

**Впровадження в практику.** Розроблені наукові положення дисертації впроваджені в навчальний процес на:

- кафедрі офтальмології Національного університету охорони здоров'я України МОЗ України;
- кафедрі офтальмології Дніпровського державного медичного університету;
- кафедрі офтальмології факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Практичні розробки впроваджені в діяльність:

- медичного центру «ЛАЗЕР Плюс» (ПП «Львів Сапфір», м. Львів);
- медичного центру ТОВ «ОК Новий Зір» (м. Київ);
- медичного центру «Візекс» (м. Львів).

### **Особистий внесок здобувача.**

Дисертація є особистою науковою роботою здобувача.

У співпраці з науковим керівником д.мед.н., професором С.Ю. Могілевським визначена тема дисертації, спрямованість, мета та завдання, методологія проведення дослідження.

Дисертантка самостійно провела інформаційний та патентний пошук, а також аналіз сучасної наукової літератури з досліджуваної проблеми.

Обстеження, клінічне спостереження та участь у оперативних втручаннях у складі хірургічної бригади, подальший огляд у найближчі та віддалені строки спостереження було проведено здобувачем.

Дисертантка приймала участь у складі хірургічної бригади у 130 процедурах ЕЛК пацієнтів з міопією різного ступеню. На 68 очах було виконано ЕЛК методом LASIK за технологією «Thin flap» та на 62 очах ЕЛК методом Femto LASIK за технологією «Thin flap».

Забір слізної рідини в ході спостереження було виконано особисто дисертанткою.

Імуноферментні та молекулярно-генетичні дослідження були виконані в Науково-дослідному інституті експериментальної та клінічної медицини (директор – д.мед.н., професор Л.В. Натрус) Національного медичного університету імені О.О.Богомольця МОЗ України при консультативній допомозі д.мед.н., професора С. В. Зябліцева.

Здобувачем особисто створено базу даних досліджуваних показників у пацієнтів з міопією, яким було проведено ЕЛК різними технологіями, за допомогою комп'ютерних технологій обробки.

Статистична обробка отриманих результатів клінічних, імуноферментних та молекулярно-генетичних досліджень була виконана дисертантом особисто при консультативній допомозі доцента кафедри менеджменту охорони здоров'я Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, к.фіз.-мат.н., доцента Гур'янова В.Г.

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

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: науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`21» (Київ, Україна 28-30.10.2021 р.); ІХ науково-практична конференція дитячих офтальмологів з міжнародною участю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити 2021 Чер 10-12 (Бугаз Одеської обл); Scientific Collection «InterConf», (62): with the Proceedings of the 9 th International Scientific and Practical Conference «Scientific Research in

XXI Century» (June 18-19, 2021). Ottawa, Canada: Methuen Publishing House, 2021; Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання офтальмології», 22-23 вересня 2021 р. Миколаїв; науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`22» (Київ, Україна 2022 р.); науково-практична онлайн конференція з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 4.0» (30.05.2022р.); науково-практична конференція дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити. 2022 Чер 11; Київ. 2022; 14<sup>th</sup> EUCornea 26-28 May 2023 in Barcelona; науково-практична конференція з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023; II International Scientific and Practical Conference «Creation of new ideas of learning in modern conditions», Bordeaux, France (September 25-27, 2023).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 15 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 3 статті, 2 з яких у виданні, що індексується у наукометричній базі Scopus, 12 – тези у матеріалах науково-практичних конференцій, з'їздів, симпозіумів, в тому числі іноземних, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена українською мовою, на 170 сторінках комп'ютерного тексту, складається з анотацій, вступу, 6 розділів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури (обсягом 30 сторінок), що налічує 256 найменування (з них 17 – кирилицею і 239 – латиницею), 2 додатків. Дисертаційна робота містить таблиць та ілюстрована рисунками (1 на окремому аркуші), що розміщені по тексту.

# РОЗДІЛ 1

## АНАЛІЗ РОЛІ І ЕФЕКТИВНОСТІ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ ДЛЯ СУЧАСНОЇ ОФТАЛЬМОЛОГІЇ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

### 1.1 Міопія – сучасна медико-соціальна проблема

Міопія широко визнана важливою соціальною проблемою охорони здоров'я, оскільки є поширеною причиною втрати зору та фактором ризику для цілого ряду серйозних очних захворювань. Порушення зору зменшує активність, впливає на психічне здоров'я, посилює ризик деменції, збільшує ймовірність падінь і дорожньо-транспортних пригод, збільшує потребу в соціальній допомозі і в кінцевому підсумку призводить до підвищення рівня смертності. Поширеність міопії зростає у глобальному масштабі, і причини цього, як і раніше, незрозумілі. Це робить міопію та вдосконалення методів корекції аномалій рефракції пріоритетним напрямом наукових досліджень [3].

Вважається, що генетика відіграє велику роль у визначенні рефракції дитини [29,30,49]. Монозиготні близнюки мають значно сильнішу кореляцію аномалій рефракції, ніж дизиготні близнюки [9,10,47], а також генетичні фактори більше відповідають за мінливість рефракції, ніж фактори навколишнього середовища [20-27]. Аналіз родоводу широко використовується в дослідженнях міопії та міопії високого ступеню. Короткозорість високого ступеню часто передається за менделівськими моделями, включаючи аутосомно-домінантну (AD), аутосомно-рецесивну (AR) і X-зчеплену рецесивну (XL) спадковість. Однак, жоден хромосомний локус не асоціюється з короткозорістю [28-31].

На сьогоднішній день виявлено понад 600 генетичних локусів рефракції та короткозорості [4, 9]. Кілька генів вторинної синдромної короткозорості перекриваються з генами загальної короткозорості. Анотовані гени мають широкий спектр функцій, і всі шари сітківки, вважається, є місцями експресії

[4, 9, 10, 37]. Аналіз шляхів вказав на світло-індукований сигнальний шлях від сітківки до склери для розвитку короткозорості [16,17,18,36]. Виявилось, що залучені гени відіграють роль у синаптичній передачі, адгезії клітини-клітини, зв'язуванні іонів кальцію, активності катіонних каналів та функції плазматичної мембрани. Багато з них залежать від світла і пов'язані з клітинним циклом і процесами росту [4, 9].

Вторинні синдромні форми високої короткозорості, такі як синдром Марфана, вроджена стаціонарна нічна сліпота, синдром Стіклера та синдром Донна-Барроу, успадковуються переважно за менделівським способом [9,10,29, 30,39]. Ці форми короткозорості зустрічаються рідко. Крім того, деякі дистрофії сітківки мають фенотип короткозорості [30].

Короткозорість спричинена складною взаємодією між генетичними факторами та факторами навколишнього середовища [11-17,24,26,38]. Олігогенні та полігенні показники ризику вказують на те, що особи з високим генетичним ризиком мають до 40 разів більший ризик короткозорості в порівнянні з особами з низьким генетичним ризиком [4, 7, 21,34].

Фактори зовнішнього середовища: збільшення часу перебування на свіжому повітрі повідомляє про зниження частоти короткозорості на 25–50%, хоча точні механізми цих ефектів ще не зрозумілі [33,46].

Нарешті, оптичні методи корекції, такі як окуляри та контактні лінзи, зменшують розфокусування зображення на сітківці та уповільнюють прогресування короткозорості [34]. Також було показано, що такі фармакологічні методи лікування, як низькі дози атропіну, сповільнюють прогресування короткозорості, хоча основний механізм неясний [45]. Немає варіантів лікування міопічної макулярної дегенерації, хоча лікування одного з її основних ускладнень - міопічної хоріоїдальної неоваскуляризації, покращилося завдяки anti-VEGF терапії [25,40].

Міопія - порушення рефракції, при якому промені світла, що потрапляють в око паралельно зоровій осі, фокусуються перед сітківкою при розслабленій акомодатії. Зазвичай це обумовлено занадто великим передньо-заднім



розміром очного яблука, але може бути викликано надмірно вигнутою рогівкою та/або кришталиком із аномально високою оптичною силою [31].

Міопію можна диференціювати на рефракційну, при якій оптична сила рогівки та/або кришталика аномально висока в очах з нормальною довжиною оптичної осі (22-24,5мм), яка зустрічається найчастіше, на осьову міопію, при якій оптична вісь надто довга по відношенню до заломлюючої рогівки та кришталика, або комбінацію цих двох типів.

Рефракція  $\leq -0.50$  D визначається як доказовий поріг для встановлення діагнозу міопії. Пропонуються наступні кількісні визначення, що не залежать від методики вимірювання і стосуються одного ока.

Міопія - стан, при якому аномалія рефракції у сферичному еквіваленті  $\leq -0.5$  D при релаксації акомодатії ока. Зараз у світі розрізняють міопію низького ступеня - аномалія рефракції у сферичному еквіваленті  $\leq -0.5$  і  $\geq -6.0$  D та міопію високого ступеня - аномалія рефракції у сферичному еквіваленті  $\leq -6.00$  D [27,31].

Міопія високого ступеню часто пов'язана з низкою структурних змін у задньому сегменті ока (в пігментному епітелії сітківки (ПЕМ), мембрані Бруха, хоріоїдеї, диску зорового нерва, перипапільрній області, зоровому нерві та склері, що може призвести до зниження гостроти зору з найкращою оптичною корекцією [25, 31,37]. Патологічна міопія іноді прирівнюється до міопії високого ступеня, і її описи можуть включати граничне значення рефракції (наприклад,  $-6.00$  D,  $-5.00$  D або навіть  $-4.00$  D у дітей) або довжини осі ока (наприклад,  $> 25.5$  або  $26.5$  мм ). Важливо відмітити, що це визначення стосується лише структурних змін у задньому сегменті ока та їх наслідків для зору. У багатьох дослідженнях показано, що міопічна макулопатія може зустрічатися на очах з міопією нижче  $-5.00$  або  $-6.00$  D, хоча поширеність цього набагато нижча. Недавнє дослідження з Тайваню показує, що задню стафілому можна знайти в очах із довжиною осі менше  $26.5$  мм [4,31,44]. Включення рефракції в концепцію патологічної міопії також створює проблеми по відношенню до очей з високим ступенем міопії, які зазнали рефракційних

процедур, таких як ЕЛК, факічні інтраокулярні лінзи (ІОЛ), екстрація прозорого кришталика або катаракти з імплантацією ІОЛ. У цих випадках рефракція ока може бути нормальною, але ризик патологічної міопії лишається. Ускладнення патологічної міопії впливають на ряд структур і клінічно являють собою діагностичні форми, що чітко відрізняються один від одного. Таким чином, потрібен ряд визначень для всіх цих станів патологічної міопії, включаючи міопічну макулодегенерацію, тракційну макулопатію міопічного генезу і структурні ускладнення патологічної міопії немакулярного генезу, такі як перипапільярна атрофія, косий вхід диска зорового нерва [37, 40-45].

У більшості пацієнтів корегована гострота зору знаходиться на рівні 20/20 до 20/25 або краще, але не завжди можливо досягти цього рівня гостроти зору у пацієнтів з аномалією рефракції високого ступеня, навіть при оптимальній корекції рефракції. Для деяких пацієнтів це може бути пов'язано зі зменшенням розміру зображення, викликаного максимальною корекцією міопії. В інших випадках причиною є рефракційна амбліопія. Проте, слід виключити патологічну основу зниження найкраще коригованої гостроти зору (BCVA).

Більшість людей мають певний ступінь астигматизму. Можливе поєднання будь-якого астигматизму із загальною фокусною силою ока як сферичний еквівалент у діоптріях [4-7].

## **1.2 Сучасні методи корекції аномалій рефракції**

### **1.2.1 Оптичні методи корекції аномалій рефракції**

Окуляри є найпростішим і надійним засобом виправлення рефракції, тому окуляри повинні бути першим способом корекції, перед призначенням контактних лінз або рефракційної хірургії. Слід зауважити, лінзи в окулярах можуть призвести до сферичної і хроматичної аберації. Пацієнти з високими порушеннями рефракції та симптоматичною анізетропією не можуть переносити повну корекцію аметропії. Неповна корекція може призводити до

розвитку рефракційної амбліопії, а також може дещо прискорювати прогресування короткозорості [5,6].

Контактні лінзи можуть виправити широкий спектр порушень рефракції, діючи в якості вихідної поверхні рефракції ока. Найчастіше використовують м'які гідрогелеві контактні лінзи, силікон-гідрогелеві контактні лінзи з більшою проникністю кисню або жорсткі газопроникні контактні лінзи. Багато пацієнтів, які користуються контактними лінзами, мають краще поле зору, відчувають більший комфорт та/або поліпшення якості зору, порівняно з корекцією окулярами. Деякі пацієнти досягають оптимальної зорової функції тільки при використанні контактних лінз. До них можуть належати пацієнти з високими порушеннями рефракції, симптоматичною анізометропією, анізейконією або іррегулярною поверхнею рогівки [56,57,59]. Використання контактних лінз для корекції рефракції не може бути доцільним при наявності значних аномалій повік, слизової оболонки або поверхні ока. Хоча контактні лінзи мають велику користь для зору, їх використання дійсно несе деякий ризик ускладнень зі сторони ока. Найбільш серйозним ризиком використання контактних лінз є розвиток мікробного кератиту, що може призвести до втрати зору, навіть за умови його повноцінного лікування [55]. Інші ускладнення, пов'язані з використанням усіх типів контактних лінз включають реакції гіперчутливості, такі як гігантський папілярний кон'юнктивіт, проблеми слизової оболонки ока, такі як поверхневий кератит, рецидивуючі ерозії, вузликова дистрофія рогівки Зальцмана, субепітеліальний фіброз, субепітеліальне помутніння і лімбальний дефіцит стовбурових клітин, а також неоваскуляризація рогівки, стерильні інфільтрати і викривлення рогівки. Часто виникає минучий субклінічний набряк строми, а також повідомлялося про потоншення епітелію і строми рогівки під час носіння контактних лінз [6,53,56-59]. Можливі ендотеліальні зміни, в тому числі полімегатизм, плеоморфізм і, рідше, зменшення щільності ендотеліальних клітин. Носіння МКЛ часто пов'язане з ССО. Для підтримки поточної інтерпретації літератури запропоновано два визначення сухості, пов'язаної з носінням контактних

лінз(CL): CL-індукована сухість ока (CLIDE) і CL-асоційована сухість ока (CLADE) [54,96].

### 1.2.2 Хірургічні методи корекції міопії

Оптичні методи забезпечують тимчасову корекцію короткозорості. Хірургічні процедури були розроблені для того, щоб назавжди виправити короткозорість [60,62].

Метою рефракційної хірургії є безпечне та передбачуване створення стабільного та бажаного стану рефракції, не викликаючи нових оптичних проблем. Щоб виправити короткозорість, необхідно зменшити заломлюючу здатність ока або шляхом збільшення переднього радіусу кривизни рогівки (згладжування кривизни передньої поверхні рогівки), або шляхом введення синтетичної інтраокулярної лінзи (ІОЛ) відповідної потужності. Існує кілька хірургічних методів лікування короткозорості. Загалом ці методи поділяються на дві групи: ті, що включають операції на рогівці (рефракційна хірургія рогівки) і операції на кришталику (лентикулярна рефракційна хірургія) [62-67,91].

Міопію та інші порушення рефракції можна виправити різними методами. Процедури на рогівці включають лазерну корекцію зору, інцизійні операції та тканинні або синтетичні імплантати. Усі процедури на рогівці спрямовані на виправлення аномалій рефракції шляхом зміни форми рогівки. ЕЛК включає лазерний кератомілез in situ (LASIK), фоторефракційну кератектомію (PRK), лазерну субепітеліальну кератектомію (LASEK) та ері-LASIK [64, 65, 66, 75, 83]. Останнім часом для корекції міопії та міопічного астигматизму також використовується новий метод рефракційної хірургії - SMILE (small incision lenticule extraction). Він передбачає, що фемтосекундним лазером Visumax Carl Zeiss Meditec створюється стромальний лентикул, необхідної товщини і діаметру, який потім мануально відсепарується від прилеглої строми та видаляється через розріз 2-3 мм [65, 81, 82, 83]. Інцизійні

процедури на рогівці включають радіальні та астигматичні кератотомії, при яких хірургічне лезо робить надрізи (розрізи) на рогівці [91, 62]. Тканинні імплантати використовуються при епікератофакії та кератофакії, коли тканину рогівки донора людини пересаджують на нативну рогівку пацієнта для корекції аномалій рефракції. Синтетичні імплантати, такі як внутрішньорогівкові кільця, також можна імплантувати в рогівку, щоб змінити її форму і таким чином виправити похибку рефракції. Втручання, що впливають на природний кришталік, включають рефракційну заміну кришталіка та імплантацію факічної інтраокулярної лінзи. При рефракційній заміні кришталіка природний кришталік видаляється і може бути замінений штучним інтраокулярним імплантатом. При імплантації факічної інтраокулярної лінзи штучна ІОЛ імплантується перед нативним кришталіком в передній або задній камері [6, 62, 91].

### **1.3 Ексимерлазерна корекція аномалій рефракції**

ЕЛК при короткозорості працює шляхом видалення стромы рогівки за допомогою ексимерного лазера, щоб зменшити заломлюючу силу рогівки та перевести зображення об'єкта, що розглядається, у фокус на сітківці, а не перед нею [70].

Багато досліджень включно з великими рандомізованими і метааналізом показують, що від 90% до 95% пацієнтів після ЕЛК досягають гостроти зору 20/20 або краще [70].

Ексимерний лазер використовує збуджені газу аргону і фтору для утворення нестійких подвійних молекул нейтрального газу і галагеніду - димерів, що генерують при своєму розпаді кванти ультрафіолетового випромінення з довжиною хвилі 193 нм та енергією, достатньою для розриву зв'язків С-С та С-N і досягнення ефекту фотоабляції. Один імпульс ексимерного лазера випаровує тканину приблизно на 0,25 мкм, що дозволяє точно розрахувати глибину абляції для корекції аметропій. [67]

Trokel і Puliafito у 1985р були першими, хто продемонстрував точне випаровування тканини рогівки за допомогою ексимерного лазера.

З моменту схвалення FDA 25 років тому спостерігається прогресування технологічних удосконалень, які призводять до кращих результатів, і ЕЛК зараз є однією з найбезпечніших хірургічних процедур. Лазерна корекція зору, особливо LASIK, залишається методом вибору для пацієнтів з аномаліями рефракції, які бажають позбутися залежності від окулярів і контактних лінз [70].

Альтернативою LASIK є різні методи поверхневої абляції, які включають PRK, трансепітеліальна PRK, LASEK та ері-LASIK [64,65,70,75,194-198]. Поверхнева абляція не передбачає створення стромального клаптя. При PRK епітелій механічно зішкрібається лезом скальпеля, у LASEK створюється тонкий епітеліальний клапоть, тому відбувається більш контрольоване видалення епітелію на фіксованій глибині та діаметрі. LASEK є модифікацією PRK. При LASEK спирт використовується для розрихлення епітелію та підйому епітеліального клаптя; спирт не використовується за стандартної методики PRK [65,91]. Вважається, що механічне видалення епітелію створює зазубрини на мембрані Боумена і частково епітелій залишається, а використання спирту для розпушування епітелію створює гладку поверхню мембрани. Таким чином, багато авторів вважають, що LASEK зменшує біль і ризику утворення хейзу порівняно з PRK, а оскільки епітеліальний клапоть, створений під час процедури LASEK, не вторгається в строму, біомеханічна стабільність рогівки зберігається [64-66,70]. Трансепітеліальна PRK є іншим підходом до поверхневої абляції, де сам ексимерний лазер використовується для видалення центрального епітелію перед абляцією строми [70, 194-198]. Pallikaris та співавтори описали ері-LASIK, використовуючи автоматизоване лезо для механічного видалення епітелію рогівки без застосування спирту. За їхніми припущеннями, ця методика повинна забезпечувати більший комфорт і зменшити ризику утворення хейзу в порівнянні з PRK, а гістологічні дослідження показують краще збереження епітеліального шару рогівки в

порівнянні з LASEK. [64-66, 70, 75, 77, 83].

LASIK вперше було виконано на людському оці в 1991 році [61]. Метод ЕЛК, що передбачає наступну технологію. Спочатку мікрокератом або фемтосекундним лазером створюють стромальний клапот, який включає зовнішні шари рогівки, а саме епітелій, мембрану Боумена і передню строму, діаметром від 7,8 мм до 9,8 мм і товщиною від 90 мкм до 180 мкм [78]. Мікрокератоми (осцилююче механічне лезо) фіксують до очного яблука за допомогою вакуумного кільця, а лезо переміщується за допомогою ручного або автоматизованого механізму [67]. Фемтосекундні лазери – це твердотільні фокусуєчі фотодеструктивні лазери, що мають коротку тривалість імпульсу - 10-15 секунд і працюють в інфрачервоному спектрі приблизно від 1000 до 1053 нм. Поріг фотодеструкції виникає, коли високоінтенсивний, сфокусований лазерний промінь поглинається тканиною-мішенню. Це іонізує тканину, вивільняючи вільні електрони та створюючи плазму. Залежно від інтенсивності енергії відбувається займання плазми, що розділяє тканину. Зрештою лазером створюється необхідна геометрична форма зрізу або площина, яку потім розділяють вручну для завершення процесу [63, 78]. Далі клапот відхиляють назад в ділянці перешийка і ексимерним лазером проводять випаровування тканини з відкритого стромального ложа, змінюючи форму рогівки. Далі клапот укладають на місце [78].

Показаннями для втручання є досягнення певного віку - здебільшого 18 років (в деяких країнах з 21 року), стабільні показники рефракції (допустимі коливання в межах 0,5 D на рік), непереносимість або бажання відмовитись від оптичних методів корекції. Межі доступних для ЕЛК аномалій рефракції залежать від обладнання. Різні устаткування має різні межові значення. На сьогоднішній день є перелік безпечних дозволених систем за FDA, який і надалі доповнюється. Середні і найпоширеніші значення аметропій, доступних для ЕЛК на різному устаткуванні, визначають в межах - sph +4 -12 cyl 6D [5, 6, 67-69, 91]. Важливим показником є товщина рогівки, яка повинна бути не менше 450 мкм і залишкова строма має складати не менше 250 мкм, але на практиці як

межове значення визначають 300 мкм [67]. Ці параметри враховують через ризик розвитку кератоектазії після ЕЛК на тонких рогівках [75].

Протипоказання для виконання ЕЛК враховують офтальмологічні та системні стани та захворювання. До абсолютних загальних протипоказань належать вагітність, лактація, системні колагенози, неконтрольований цукровий діабет та СНІД. Серед офтальмологічних визначають кератоконус (та інші види ектазій), субклінічний кератоконус, синдром сухого ока важкого ступеню, герпетичний кератит в анамнезі, катаракта, єдине зряче око. З відносних протипоказань виділяють наступні: контрольований цукровий діабет, синдром сухого ока середнього ступеню, глаукома, опероване відшарування сітківки, дистрофії базальної мембрани епітелію рогівки, ендотеліальна дистрофія Фукса [62-67,152]. Передопераційний офтальмологічний огляд дозволяє виявити патологію, яка може бути протипоказанням до ЕЛК.

Наявність системного аутоімунного захворювання асоціюється з розплавленням рогівки після PRK, отже, може підвищити ризики і для LASIK, хоча не так багато є рецензованої літератури на цю тему. Гідратація рогівки під час вагітності та лактації може бути причиною коливань рефракції, а також впливати на процеси загоєння, тому в даних випадках рекомендовано відкласти втручання. Ендотеліальна дистрофія рогівки Фукса асоціюється з поганою адгезією клаптя та декомпенсацією рогівки [91].

Незважаючи на безпечність і прогнозованість процедури ЕЛК, можуть виникати ускладнення як в ході втручання так і в післяопераційному періоді [63-67,188,189]. Повідомляється, що частота інтраопераційних ускладнень LASIK становить 0,7-6,6%, найчастіше пов'язаних з клаптем, сформованим мікрокератомом або фемтосекундним (FS) лазером [152,187].

Є специфічні ускладнення, пов'язані з формуванням клаптя мікрокератомом [63-67,79,187]. Серед таких виділяють перфорацію клаптя («петлиця»). Утворення петель на клапті зазвичай викликано вигином рогівки під час створення клаптя. Це відбувається переважно на крутих рогівках. Інші фактори ризику включають втрату вакууму, дефект леза, аномальне просування



леза. Можуть виникати “Free cap”, викликані недостатністю захопленої тканини у вакуумному кільці. Вони зустрічаються переважно при пласкій рогівці. Щоб запобігти “Free cap”, використовується більше вакуумне кільце. Неповні, короткі або іррегулярні клапті, виникають через неадекватний вакуум або несправність мікрокератома. Перфорація рогівки є рідкісним, але загрозливим ускладненням. Повідомлялося про це в старій моделі механічних мікрокератомів, коли вони були неправильно зібрані або пластина глибини була неправильно розміщена. Це також може виникнути під час лазерної абляції на надзвичайно тонкій рогівці [152, 153].

При формуванні клаптів фемтосекундним лазером також можуть виникати ускладнення [78]. Може статися вертикальний прорив газу, що призводить до виходу бульбашок газу з площини розсічення в субепітеліальний простір. Причиною можуть бути тонкий клапоть або розрив шару Боумена. Непрозорий шар бульбашок - це більш поширене ускладнення і зазвичай не заважає створенню клаптя. Це викликано бульбашками газу і створюється фотодеструктивним механізмом фемтосекундного лазера, що інфільтрують стромальні пластинки рогівки над і під площиною розрізу. Бульбашки газу в передній камері можуть виникати під час створення клаптя за допомогою FS лазера, що призводить до виходу бульбашок газу з площини розтину через Шлемов канал у передню камеру. Бульбашки у передній камері можуть заважати відстеженню зіниць, але зазвичай вони розсмоктуються протягом короткого періоду часу [ 67, 78, 80, 152].

Також визначають ускладнення, пов'язані з клаптем, спільні для обох методик. Дефект епітелію рогівки під час LASIK може виникнути при наявності факторів ризику, серед яких виділяють старший вік, попередню травму рогівки, цукровий діабет, дистрофію базальної мембрани епітелію (EBMD) та тип мікрокератома. Дефект епітелію може призвести до затримки загоєння, дифузного ламелярного кератиту (ДЛК), вродження епітелію, стрій клаптів та інфекційного кератиту. Лімбальна кровотеча трапляється у двох випадках: наявність паннуса рогівки, це часто зустрічається у тих, хто тривалий

час користувався контактними лінзами, при використанні невідповідного розміру або положення вакуумного кільця, що призводить до проходження леза по судинах лімба або кон'юнктиви. Трапляються мікрровключення в інтерфейсі, джерелами яких є виділення мейбомієвих залоз, частинки губки, тальк з рукавичок, металеві фрагменти леза, еритроцити, епітеліальні клітини [67, 79, 152, 153]

Серед можливих післяопераційних ускладнень методу визначають (вказана частота виникнення ускладнення у відсотках) [73, 74, 152, 153]: дифузний ламелярний кератит (1-2%); травматична дислокація лоскута (1,4%); вrostання епітелію (<0,2%); гіпертонічна кератопатія на фоні стероїдної терапії (7-10%); синдром сухого ока (10-20%); недокорекція/гіперкорекція (3-5%); оптичні аберації (гало ефекти) (40%), значний дискомфорт, пов'язаний з оптичними абераціями (<1%); інфекційні кератити (0.03%); макрострії та микрострії (0,5%); кератоектазія (0,6%).

#### 1.4 Синдром сухого ока

Синдром сухого ока (ССО) – захворювання поверхні ока, поширеність якого сягає 5-50% світової популяції. Порушення слізної плівки, гіперосмолярність, запалення та подразнення очної поверхні, нейросенорні порушення є етіологічними факторами в розвитку ССО [94,123].

Критеріями для встановлення діагнозу ССО за DEWS 2 є наявність симптоматики та клінічних ознак. Оцінюють стабільність слізної плівки за часом розриву слізної плівки з флюоресцеїном (проба Норна) або неінвазивним тестом; слъозопродукцію за тестом Ширмера та Джонса, меніскометрією; пошкодження поверхні ока профарбовуванням кон'юнктиви та рогівки барвником, наявність паралельних складок кон'юнктиви [103, 112, 121, 151, 157, 209]. Наявність специфічних симптомів визначають за допомогою стандартизованих анкет, які також уточнюють вплив специфічних факторів навколишнього середовища, медикаментів (системних або топічних), загальних

захворювань, здатних провокувати або посилювати ССО [96,145].

Класифікація ССО за DEWS 2 [94].

- I. Асимптоматичний ССО
  - Клінічні ознаки ССО
    - Нейротрофічні порушення
    - Схильність до розвитку ССО
- II. Симптоматичний ССО
  - Клінічні ознаки ССО
    - ССО
    - Інші захворювання поверхні ока
  - Немає клінічних ознак
    - Доклінічна стадія ССО
    - Нейропатичний біль

Етіопатогенетична класифікація за DEWS 2

- I. Синдром сухого ока з дефіцитом вологи
  - ССО асоційований з синдромом Шагрена
  - ССО не асоційований з синдромом Шагрена
- II. Синдром сухого ока з підвищеним випаровуванням
  - Пов'язаний зі станом повік
  - Пов'язаний зі станом поверхні ока

Незалежно від типу ССО їх поєднує один патофізіологічний механізм. Органічне ураження одного типу може поєднуватись з функціональними порушеннями іншого, де гіперосмолярність та каскад запальних реакцій утворюють замкнене коло ССО [95, 100, 123]. Як тільки ССО стає достатньо вираженим, щоб викликати передчасний розрив слізної плівки в інтервалі кліпання, випаровувальний компонент буде вбудований в будь-яку форму ССО. Передбачають, що рівні слізних білків лізоцима, лактоферину, пероксидази залишатимуться в нормі, там де первинний механізм був випаровування, а не

дефіцит вологи [95, 100].

Слізна плівка покриває зовнішню поверхню ока і відповідає за лубрифікацію епітелію рогівки та кон'юнктиви, захист від різноманітних зовнішніх агресивних подразників, зокрема від інфекцій, травм і т.п. Також відповідає за рівномірність оптичної поверхні ока. Сльоза первинно була описана, як структура, яка складається з трьох шарів, а саме:

- поверхневий шар – ліпідний, який є найтоншим;
- середній шар – водний;
- внутрішній - муциновий.

Останнім часом запропоновано вважати, що існує тільки 2 шари, з яких перший – ліпідний та другий – суміш водного і муцинового шарів. Муциновий шар являється гідрогелем (мукогелем), в якому концентрація муцину збільшується в залежності від приближення до епітелію рогівки та кон'юнктиви. Дані шари описуються окремо тільки для спрощення їх вивчення.

Ліпідний шар – зовнішній, має досить складну структуру. Найбільш поверхнево знаходяться з гідрофобні ліпіди, які перешкоджають випаровуванню слюзи. Під ним знаходиться так званий сурфактант, який безпосередньо зв'язаний з мукогелем. Він складається з гідрофільних ліпідів таких, як есфінгомієлін, фосфатидилхолін і фосфатидилетаноламін, секреція яких забезпечується мейбомієвими залозами. Цей процес контролюється нервовими імпульсами, гормонами і механічно активується про кліпанні. Однією з головних причин сухого ока є випаровування слюзи при зменшенні чи відсутності ліпідного шару.

Водний шар – продукується слюзними залозами і складається з близько 60 протеїнів, електролітів і води. Лізоцим є найбільш лужним протеїном і його концентрація найбільш висока (20-40%). Лактоферин, схожий до лізоцима, являється гліколітичним ензимом з антибактеріальними (здатен руйнувати бактеріальні стінки) і антиоксидантними властивостями. Також присутні різноманітні фактори росту такі, як фактор росту епідемісу (Epidermal Growth Factor, EGF), який є фундаментальним для підтримки та регенерації клітин

поверхні ока, трансформуючий фактор росту  $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ , TGF $\beta$ ) – володіє протизапальними якостями. Vit A перешкоджає метаплазії (ороговінню) і підвищує клітинну диференціацію. Vit C відіграє антиоксидантну роль. IgA, IgM і IgG мають захисну дію [169, 173].

Муциновий шар – внутрішній шар слізної плівки і складається в основному з муцинів. На даний час, відомо 21 ген різноманітних муцинів (муцини з 1 по 19, 3A, 3B, 5AC і 5B) [115, 143, 162]. З них в оці описано муцини, які знаходяться на кон'юнктиві: 1, 2, 4, 5AC, 7, 3, 15, 16 і 17. На рогівці: 1,4 і 16. Муцини 2 і 5AC виробляються бокаловидними клітинами кон'юнктиви [99, 162, 169]. Ці клітини кон'юнктиви містять рецептори “purinergic” P2Y2, які при стимуляції підвищують продукцію муцинів [169]. Гликокаликс епітелію рогівки містить трансмембранні муцини (MUC1, MUC4, MUC16), що перешкоджають проникненню патогенних мікроорганізмів в тканину рогівки і забезпечують гладкість очної поверхні, дозволяючи кон'юнктиві повик ковзати по епітелію рогівки з мінімальним тертям під час моргання і інших рухів очей. Трансмембранні муцини взаємодіють з розчинними, гелеутворюючими муцинами, які вільно переміщуються в слізній плівці та функціонують як очищуючі білки [95, 98, 99, 149].

Секреція сльози забезпечується основною слізною залозою та додатковими слізними залозами. Базальна секреція є основною у формуванні слізної плівки. Водний шар слізної плівки продукують залози Краузе, залози Вольфрінга, залози півмісяцевої складки і слізного м'яся, ліпідний шар забезпечується мейбомієвими залозами, залозами Цейса, залозами Молля, муциновий - келихоподібними клітинами, кон'юнктивальними епітеліоцитами, криптами Хенлі тарзальної частини кон'юнктиви, залозами Манца лімбальної кон'юнктиви. Рефлекторна секреція забезпечується основною сльозною залозою. Це додаткова секреція, що виникає в результаті психогенної стимуляції або рефлекс при засвіті сітківки, подразненні поверхні ока або слизової носа [95, 167, 171].

Порушення осмолярності слізної плівки - центральний фактор в

патогенезі як ССО з дефіцитом вологи, так і з випаровуванням. Запалення, викликане нестабільністю і гіперосмолярністю слізної плівки також сприяє нейрогенному хронічному запалення і збільшення тяжкості захворювання [100,124,178]. Значення осмолярності в нормі  $302 \pm 9,7$  мОсм / л на основі даних декількох досліджень і, що важливо, відмінності між правим і лівим оком невеликі ( $6,9 \pm 5,9$  мОсм / л) [95, 156, 171-173]. Математичне моделювання передбачає наявність невеликої різниці осмолярності між сльозами і слізними менісками. Так в нормі осмолярність слізної плівки вище, ніж у меніска. Це може відноситися до співвідношення товщини слізної плівки [102, 120, 139, 156]

Гіперосмолярність сльози як відправна точка патологічного процесу, яка індукує каскад реакцій в епітеліальних клітинах поверхні ока, що задіює MAP кінази, сигнальні шляхи NF kb та генерацію цитокінів (провокує вивільнення IL1a, IL1b, IL2, що в свою чергу індукують підвищення рівнів інтерлейкінів IL6, IL8 ), TNF –a, а також протеази , такі як MMP9 [95,163, 171,173]. Це призводить до зниження експресії муцинів глікокалікса, що ініціює апоптоз епітеліальних клітин та ураження бокаловидних клітин. Втрата бокаловидних клітин – характерна ознака для будь-якого типу ССО, що відображається в зниженні експресії муцинів сльози [115, 143]. Зменшення експресії муцинів впливає на стабільність слізної плівки та ініціює її передчасний розрив між кліпаннями, підвищує осмолярність сльози і замикає хибне коло [98-100].

Крім того, гіперосмолярність провокує сквамозну метаплазію, втрату келихоподібних клітин і запалення в епітелії кон'юнктиви [173]. Ці явища зменшують вироблення муцину для змашування епітелію рогівки, а зменшення муцину посилює сухість ока [95, 151, 167]. Гістологічні ознаки сухості ока у пацієнтів із синдромом Шегрена та у пацієнтів, які використовують імуносупресори, як, наприклад, після трансплантації кісткового мозку, повідомлялося про зменшення келихоподібних клітин, збільшення запальних клітин у рогівці та кон'юнктиві та запалення з фіброзом слізної залози [180].

## 1.5 Синдром сухого ока після LASIK

Синдром сухого ока (ССО) - одне з найбільш поширених ускладнень після ЕЛК за рахунок механізмів, притаманних цій процедурі. Вважається, що метод LASIK частіше ніж PRK викликає розвиток ССО [107,108]. Існує думка, що це пов'язано з пошкодженням нервових волокон, порушенням сенсорної іннервації рогівки, і, як наслідок, зниженням частоти моргань, також частково зі зниженням сльозопродукції та порушенням складу та стабільності слізної плівки [105,107,108,110,113,116].

ССО може клінічно проявлятися больовим синдромом, почервонінням, відчуттям стороннього тіла в оці, зниженням зору, точковою кератопатією на рогівковому клапті. ССО після ЕЛК аметропії виявляється у приблизно 60% пацієнтів в перший місяць після операції, з поступовим регресом симптоматики протягом наступних 6 місяців [97,200]. До 20% пацієнтів мають ССО в строк понад 6 місяців від операції. Точкова кератопатія – LASIK-індукована нейротрофічна епітеліопатія або LINE (уражений лише лоскут, епітелій в ділянці перешийка інтактний) підтверджує механізм сенсорної денервації рогівки в розвитку ССО [109, 110, 111,193,201]. Також вважається, що NGF, субстанція Р, CGRP можуть бути ключовими в розвитку цього синдрому [89]. Стандартний механізм розвитку ССО та LINE не є взаємовиключаючими в розвитку ССО після ексимерлазерної корекції зору [95]. Персистуючий ССО після ЕЛК здатний викликати регрес рефракційного результату внаслідок гіперплазії епітелію та ремоделювання строми рогівки [181].

Визначення сухості ока за допомогою тестів, які вимірюють об'єм або швидкість секреції сльози може бути несуттєвим [167]. Склад цитокінів і гормонів сліз може бути більш актуальним у діагностиці та класифікації ССО. Повідомлялося, що гіперосмолярний стрес може індукувати апоптоз і сприяти секреції різноманітних прозапальних цитокінів [148, 149, 150, 157]. Ймовірно, що цитокіни виробляються в слізній залозі або слізною залозою у відповідь на запалення [126, 167].

В декількох фізіологічних процесах відіграють роль microRNA і опосередковано вони задіяні у виникненні ССО. Вони пригнічують експресію генів, блокуючи мРНК. Відомо, що такі захворювання, як синдром Шегрена, неоплазія очної поверхні, інфекції, знижують або підвищують експресію певних видів microRNA. Ці microRNA мають визначальну роль в розвитку запалення, диференціюванні клітин та регенераційних процесах поверхні ока. Через величезний регуляторний потенціал як фізіологічних і патологічних процесів, мікроРНК знаходяться в центрі уваги біофармацевтичних досліджень майбутнього [131, 138].

Дослідження показали, що мРНК для IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , рецептора IL-2, IL-6, TGF- $\beta$  і TNF- $\alpha$  можна виявити в слізних залозах у самок мишей зі змодельованим генералізованим аутоімунним захворюванням MRL/lpr [131, 156]. Ці фактори також можуть потрапляти в слізну рідину і доставлятися на поверхню ока. Вони можуть викликати запалення очної поверхні, яке спостерігається, наприклад, на ранній стадії синдрому Шагрена [144]. Багато IL беруть участь у запаленні ССО, включаючи IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 та IL-13. Рівні цих IL у сльозах пацієнта з ССО обернено корелювали з результатами TBUT та тесту Ширмера. Введення IL-1 може спричинити оборотний дефіцит слізної рідини, запалення слізної залози та проліферацію ацинарних і протокових клітин у слізній залозі миші [145,154-156]. Крім того, у мишей з дефіцитом рецептора IL-1 (IL-1R1) (КО) з експериментальною хворобою сухого ока, експресія запальних цитокінів TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  та IL-6 в епітелії рогівки та кон'юнктиви була значно менша, що вказує на те, що передача сигналів IL-1 частково відповідає за вивільнення запальних цитокінів [146]. Рівні IL-6 у сльозах пацієнтів з ССО обернено корелювали з такими параметрами очної поверхні, як наявність симптомів, час розриву слізної плівки та сльозопродукція за тестом Ширмера I [147]. IL6 відомий як репрезентативний цитокін із підвищеною експресією у сльозі та кон'юнктивальному епітелії очей із ССО [144].

Зв'язок між епітеліальними клітинами кон'юнктиви та IL6 був описаний в



багатьох дослідженнях - підвищена експресія IL-1 $\beta$ , IL8, IL6 і TNF- $\alpha$  в епітеліальних клітинах кон'юнктиви та слізній рідині у пацієнтів із ССО та підвищення IL-1 $\beta$ , IL8 і, особливо, IL6 в мазках [139, 143, 146, 147, 148]. Ці дослідження показали, що ураження епітеліальних клітин кон'юнктиви може посилювати сухість ока, а IL6 відіграє важливу роль у патогенезі ССО. Цитокіни, такі як IL6, можуть активувати сигнальний шлях JAK-STAT [139, 140-146, 157]. Сімейство білків тирозинкінази Янус (JAK) було ідентифіковано як вирішальні білки в передачі сигналу, ініційованої широким спектром мембранних рецепторів. Серед білків цього сімейства JAK2 був пов'язаний з важливими нижніми білками, включаючи перетворювачі сигналів і активатори транскрипції (STAT), які, у свою чергу, регулюють експресію різноманітних білків, що беруть участь в індукції або запобіганні апоптозу. IL6 може бути активований за допомогою рецептора IL6, зв'язаного з мембраною (класичний шлях) або розчинного типу рецептора IL6 (транс-сигналізація). IL6, приєднаний до рецептора, може ініціювати каскад через активацію JAK, а активований фосфорилат кінази JAK індукує утворення димеру шляхом фосфорилування STAT3. Цей сигнальний шлях сприяє проліферації, диференціації, міграції та апоптозу клітин [140, 141]. Вестерн-блот показав, що 500 mOsm сприяє експресії STAT3 (прямий сигнал), ERK і mTOR (непрямий сигнал), а IL6 зменшує підвищену експресію. BAX і каспаза-3 як маркери апоптозу показали вищу експресію в гіперосмолярному стані (500 mOsm), яка була пригнічена блокуванням IL6. Також виявлено зворотну картину експресії Bcl-2, пов'язану з IL6 та гіперосмолярністю [157-159]. Це дозволило припустити, що сигнальний шлях апоптозу JAKSTAT пов'язаний з IL6. IL6 може бути одним із важливих цитокінів, що впливають на патогенез сухого ока [146].

TNF- $\alpha$ , в основному секретується макрофагами, відіграє ключову роль у багатьох фізіологічних і патологічних процесах, таких як запальна відповідь, клітинний імунітет та імунітет пухлин. Біологічні ефекти TNF- $\alpha$  були індуквані взаємодією з одним із двох різних рецепторів, рецептором TNF 1 (TNFR1) і рецептором 2 (TNFR2) на поверхні клітини [144, 176]. Обидва

рецептори запускають кілька шляхів передачі сигналу, включаючи апоптоз, опосередкований каспазами, активацію NF- $\kappa$ B і JNK опосередковану TRAF [144, 177, 178, 179]. TNFR1 і TNFR2 виконують свої функції спільно, а не незалежно. Існують різні механізми регулювання, що існують у 3 шляхах передачі сигналу, які сприяють координаційний ефект TNF- $\alpha$ . Висока експресія TNF- $\alpha$  може ініціювати серію запальних реакцій на поверхні ока, індукуючи виникнення та розвиток ССО. Серійні дослідження продемонстрували, що TNF- $\alpha$  збільшувався в сльозах і кон'юнктиві епітелію пацієнтів, які страждають на ССО, і рівні TNF- $\alpha$  суттєво корелювали з параметрами стану очної поверхні та тестом Ширмера I [180]. Крім того, деякі дослідники припускають, що блокатори TNF- $\alpha$  можуть ефективно пригнічувати запалення слізної залози та рогівки шляхом придушення інших цитокінів [168].

З моменту першого опису мікроРНК (microRNA) у 1990-х роках понад 60 робіт описували роль мікроРНК на поверхні ока та слізної залози (LG). МікроРНК (міРНК) — це велике сімейство коротких, некодуючих одноланцюгових РНК, які регулюють експресію однієї третини людських генів [130, 131, 165]. Таким чином, вони відіграють вирішальну роль у більшості фізіологічних і патологічних процесів, включаючи ріст і диференціацію клітин, метаболізм, імунітет, рак та аутоімунні розлади [131, 132]. У цитоплазмі клітини мікроРНК регулюють експресію генів після транскрипції шляхом зв'язування з комплементарними послідовностями в кодуючій, 5'- або 3'-нетрансльованій області (UTR) цільової мРНК, яка або замовчується, або деградує [131]. Крім того, зараз відомо, що мікроРНК керують міжклітинною сигналізацією через асоціацію з позаклітинними везикулами, які захищають їх від деградації та дозволяють ефективно проникати в сусідні клітини, де вони регулюють експресію цільових мРНК [131, 133, 134]. Цікаво, що позаклітинні мікроРНК також здійснюють регуляцію від клітини до клітини за допомогою нетрадиційного механізму, який полягає у взаємодії з сенсорами РНК вродженого імунітету, такими як Toll-подібні рецептори 7 і 8 (TLR7 і TLR8) [131, 135, 136, 137].

Є клінічні дослідження, які підтверджують, що miR-450b-5p, miR-1283 і miR-3671 можуть впливати на експресію TGF- $\beta$ 2. Концентрації miR-450b-5p, miR-1283 і miR-3671 у слюзі підвищується у пацієнтів із ССО, порівняно зі здоровими, а концентрація TGF- $\beta$ 2 – знижується [161].

Фактори росту виконують різноманітні функції і розподіляються по всьому організму. У слізній залозі було виявлено ряд, наприклад, EGF, FGF-2,3 TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , і HGF. У багатьох тканинах FGF-2 і TGF- $\beta$  мають зворотний функціональні відносини. FGF-2, що вивільняється у відповідь на пошкодження тканин, активує протеази, які функціонують у деградації молекул позаклітинного матриксу. TGF- $\beta$ , що вивільняється на пізніх стадіях відновлення тканин, інгібує протеази, стабілізуючи тим самим молекули позаклітинного матриксу [181].

## Резюме до розділу 1

Таким чином на підставі аналізу сучасної літератури з досліджуваної в дисертації проблеми ми зробили висновок, що міопія є найпоширенішим захворюванням очей людини, яке вражає від 25% до 50% дорослого населення у світі (США та Європа) та від 85% до 90% молодих людей у деяких азіатських країнах, таких як Сінгапур і Тайвань.

Оптичні методи забезпечують тимчасову корекцію міопії та мають масу недоліків. Хірургічні процедури були розроблені для того, щоб назавжди виправити короткозорість. Метою рефракційної хірургії є безпечне та передбачуване створення стабільного та бажаного стану рефракції, не викликаючи нових оптичних проблем. Є дані, що на сьогодні об'єм ЕЛК у світі складає 3,6 мільйонів на рік. В дослідженнях серед пацієнтів, які перенесли LASIK, 95% були задоволені своїми результатами і якість життя після операції стала вищою в порівнянні з якістю життя до операції.

Синдром сухого ока (ССО) - одне з найбільш поширених ускладнень після ЕЛК за рахунок механізмів, притаманних цій процедурі. ССО після ЕЛК аметропії виявляється у приблизно 60% пацієнтів в перший місяць після операції, з поступовим регресом симптоматики протягом наступних 6 місяців. До 20% пацієнтів мають синдром сухого ока в строк понад 6 місяців від операції. Відомо, що синдром сухого ока - це мультифакторіальне захворювання поверхні ока, в якому порушення слізної плівки, гіперосмолярність, запалення та подразнення очної поверхні, нейросенорні порушення є етіологічними факторами.

Дослідження нових етіологічних та патогенетичних чинників розвитку ССО після ЕЛК міопії є актуальною задачею сучасної офтальмології.

## РОЗДІЛ 2

### ДИЗАЙН ДОСЛІДЖЕННЯ. МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

#### 2.1 Дизайн. Загальна характеристика роботи

Клінічні дослідження проводились на клінічних базах Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика в медичному центрі «Новий зір» (ТОВ «ОК Новий зір» м. Київ) і медичному центрі «ЛАЗЕР Плюс» (ПП «Львів Сапфір», м. Львів).

Дослідження було проспективне, обсерваційне, інтервенційне клінічне за типом «випадок-контроль»; рівень доказовості Шв.

Всі дослідження проведені з дотриманням основних біоетичних норм та вимог Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964 року, з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 року) та чинних нормативно-правових актів України: «Основам законодавства України про охорону здоров'я» (1993), «Про лікарські засоби» (1996), «Про захист персональних даних» (2010), «Про вищу освіту» (2017), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1977 р.), відповідного положення ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, міжнародного кодексу медичної етики (1983 р.) та Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. та з дозволу комісії з питань біоетики Національного університету охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, (протокол №11 від 16.11.2021р).

Всі пацієнти дали інформовану добровільну згоду на участь в дослідженні.

Проводили спостереження за 65 пацієнтами (130 очей). Серед них були 30 чоловіків і 35 жінок, віком 19-44 роки, яких поділили на дві групи залежно від методу ЕЛК – LASIK та Femto LASIK.

Міопія слабого ступеню була на 58 очах (44,6%), на 44 очах (33,8%) діагностована міопія середнього ступеню, на 28 очах (21,5%) – високого. На 40 очах (30,7%) був складний міопічний астигматизм до 2 дптр. Середня передопераційна маніфестна (суб'єктивна) рефракція за сферо еквівалентом (SE) становила  $-3,12 \pm 0,4D$  (від  $-1,0$  до  $-7,5D$ ).

Для визначення впливу аномалій рефракції на морфологічні зміни рогівки було прийнято рішення включити у дослідження контрольну групу. До контрольної групи входили 40 людей (80 очей) – 17 чоловіків і 23 жінки, віком від 18 до 45 років, без аномалій рефракції, без ознак і симптомів ССО та хірургічних втручань на очах в анамнезі.

*Загальні критерії включення:*

- чоловіки і жінки віком від 19 до 44 років;
- пацієнти з міопією від  $-1,0$  до  $-7,5 D$ ;
- зі складним міопічним астигматизмом до  $2 D$ ;
- мають стабільні показники рефракції протягом року в межах  $0,5 D$ .
- пацієнти, що обрали ексимерлазерну корекцію для корекції аномалій рефракції
- не мають соціальних та професійних протипоказань для застосування даних технологій ЕЛК (LASIK та Femto LASIK)

*Загальні критерії виключення:*

- пацієнти віком  $<18$  років;
- пацієнти віком  $>45$  років;
- вагітні жінки;
- жінки в період лактації;
- пацієнти з діагностованим цукровим діабетом;
- пацієнти з захворюваннями сполучної тканини;
- пацієнти з клінічно значущим atopічним захворюванням;

- пацієнти, що проходять лікування одним або декількома препаратами з зазначених груп: препарати для гормонозамісної терапії (естроген), системні ретиноїди, антигістамінні препарати, деконгестанти, антидепресанти, нестероїдні протизапальні препарати, системні кортикостероїди, інгаляційні кортикостероїди, цитостатики, анальгетики, петльові діуретики, антигіпертензивні препарати (адреноблокатори), холінолітики;
- пацієнти з хронічними інфекційними хворобами;
- пацієнти з ВІЛ та СНІД;
- пацієнти з максимальною коригованою гостротою зору нижче ніж 20/20 за таблицею Снелена;
- пацієнти з єдиним зрячим оком;
- пацієнти, у яких діагностовано кератоконус або субклінічний кератоконус;
- пацієнти з товщиною рогівки меншою ніж 500 мкм;
- пацієнти з катарактою;
- пацієнти зі значенням внутрішньоочного тиску, що перевищує 21 мм рт ст;
- пацієнти, що перенесли офтальмологічне хірургічне втручання;
- пацієнти з хронічними запальними процесами повік;
- пацієнти з рубцевими деформаціями повік;
- пацієнти з перенесеними травмами поверхні ока в анамнезі;
- пацієнти з перенесеними герпетичними кератитами в анамнезі (Herpes simplex/ Herpes zoster);
- пацієнти з дистрофіями рогівки;
- пацієнти, у яких при попередніх розрахунках товщина залишкової стріми рогівки після планованої ексимерлазерної абляції для корекції міопії склала менше 300 мкм;
- пацієнти зі значеннями кератометрії  $> 47,2$  D;
- пацієнти з діагностованим ССО середнього та важкого ступеню.

## 2.2 Методи офтальмологічного обстеження.

Всім пацієнтам перед операцією і в ході динамічного післяопераційного спостереження – на наступний день після втручання, через 1 тиждень, 1, 3, 6 і 12 місяців після ексимерлазерної корекції міопії виконували візіометрію, включаючи оцінку нескоригованої гостроти зору вдалину (НКГЗ) і максимальної коригованої гостроти зору вдалину (МКГЗ), визначали маніфестну рефракцію, рефракцію в умовах циклоплегії, проводили пневмотонометрію, біомікроскопію, кератометрію, кератотопографію, біомікроскопію, ОСТ рогівки.

Всім пацієнтам до втручання та в післяопераційному періоді виконували діагностику ССО.

Такі ж діагностичні процедури проводили контрольній групі.

### *Дослідження гостроти зору та маніфестної рефракції.*

Візіометрію визначали за таблицею Снелена. з урахуванням нескоригованої гостроти зору вдалину (НКГЗ) та з максимальної коригованої гостроти зору (МГЗК). Визначення гостроти зору, рефрактометрію та кератометрію виконували за допомогою автооптометричної системи AOS-2100 (NIDEK, Японія) з використанням авторефератометра ARK-530A (NIDEK, Японія).

Показник маніфестної рефракції визначали без попередньої інстиляції крапель для циклоплегії за допомогою автоматичного фороптера (Refractor RT-5100, Nidek, Japan).

### *Дослідження внутрішньоочного тиску.*

Вимірювання внутрішньоочного тиску здійснювали за допомогою безконтактного пневмотонометра (NT-510, Nidek, Japan).

Середнє значення внутрішньоочного тиску (ВОТ) у загальній популяції серед здорового дорослого населення становить 15-16 мм рт. ст. зі стандартним



відхиленням приблизно 3,0 мм рт. ст. Верхньою межею норми ВОТ є середнє значення ВОТ плюс два стандартні відхилення. ВОТ 21 мм рт. ст. і вище вважаються гіпертензією.

### *Дослідження рогівки*

#### *Кератопографія*

Кератопографію виконували на приладі ATLAS 9000 Carl ZEISS meditec.

Система ATLAS Carl ZEISS meditec — це кератотопограф на основі дисків Пласідо, який проектує серію концентричних інфрачервоних (950 нм) світлових кілець на рогівку ока. Зображення відбитих кілець фіксується цифровою камерою. Система аналізує тисячі точок даних на зображенні, щоб виміряти відстані між кільцями та їх співвідношення одне з одним і відтворити поверхню рогівки. Система відображає різні показники поверхні рогівки, включаючи кривизну, висоту та аберації [182].

Контроль стану поверхні проводили за показником іррегулярності рогівки – СІМ (Corneal Irregularity Measurement). Значення СІМ коливаються від 0,42 до 5,33 мікрометрів (мкм). Результати в межах 0,49-1,68 оцінюються як норма; показники 0,43-0,48, 1,69-3,01 – порогові значення; а показники 0-0,42, 3,02-5,33 визначались як ознака патології [182].

Відомо, що СІМ – це статистичне вимірювання, яке використовує топографічні дані центральної ділянки рогівки та порівнює їх із моделлю поверхні, згенерованою комп'ютером, яка “найбільше підходить”. Він визначає регулярність поверхні рогівки, яка використовується для зору. Вимірювання СІМ визначає, наскільки фактична поверхня рогівки відрізняється від згенерованої комп'ютером еліпсоїдної торичної поверхні як середньоквадратична помилка (RMS) у мікрометрах (мкм).

Чим вищий індекс іррегулярності, тим більш неоднорідна поверхня, таким чином підкреслюючи неправильний астигматизм, який часто супроводжує ССО і може призводити до погіршення якості зору. СІМ

використовує тисячі точок даних у межах перших чотирнадцяти кілець топографічних даних рогівки, щоб визначити різницю елевацій між роگیвкою пацієнта та “ідеальною” моделлю еліпсоїдної торичної рогівки [182].

*Оптична когерентна томографія переднього відрізка ока*

Товщину епітелію рогівки визначали за допомогою Anterior Segment Spectral Domain OCT (AS-OCT) на приладі REVO SOCT Copernicus. Сканування відображало товщину епітелію у трьох зонах різного діаметру – 2 мм, 2-5 мм і 5-7 мм (рис. 2.1). Результати дослідження з показниками якості скану < 7 не були включені в дослідження. Оцінювалась товщина епітелію в центральній 2-міліметровій зоні, середня товщина епітелію в центральній 5-міліметровій зоні, середня товщина периферичного епітелію у восьми різних меридіанах в усіх учасників дослідження, а також різниця між динамічними змінами товщини в різних зонах в основних групах спостереження.

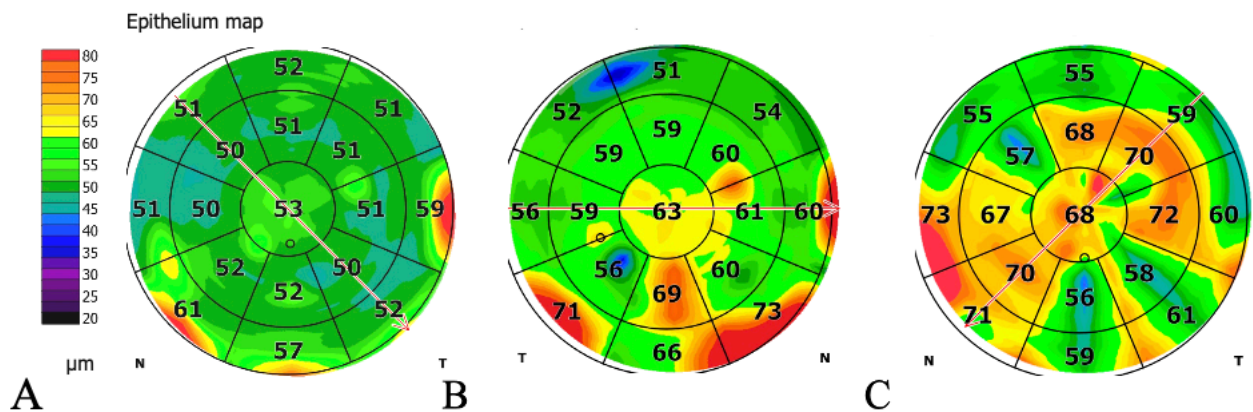


Рис 2.1. Товщина епітелію рогівки у трьох зонах різного діаметру за AS-OCT

*Примітки:* А – результат обстеження пацієнта з групи контролю;  
 В - результат обстеження пацієнта після ЕЛК міопії без ознак ССО;  
 С – результати обстеження пацієнта з персистуючим ССО.

### *Загальний огляд переднього відрізка ока*

Біомікроскопію виконували за допомогою щілинної лампи (SL-1800 (NIDEK, Японія); SL-120; SL-130 (Carl Zeiss)).

### *Дослідження очного дна*

За допомогою щілинної лампи (SL-1800 (NIDEK, Японія); SL-120; SL-130 (Carl Zeiss)) та лінзи для офтальмоскопії (Super Pupil XL, Volk Optical, USA) виконували огляд очного дна.

### *Діагностика синдрому сухого ока*

Для діагностики ССО пацієнтам було проведено оцінку стану поверхні ока, слъозопродукції, стабільності слізної плівки [209].

### *Дослідження стабільності слізної плівки*

Стабільність слізної плівки визначали за часом розриву слізної плівки пробою Норна. Флюоресцеїнову паперову смужку змочували 1 краплею ізотонічного сольового розчину і розміщували за нижню повіку ближче до зовнішнього кута ока. Оцінку результатів проводили з використанням синього фільтру та розсіяного світла при біомікроскопії. Визначали час (у секундах) від останнього моргання до появи розриву слізної плівки, зафарбованої флюоресцеїном. Тест проводили три рази до інстиляцій будь-яких крапель та маніпуляцій з повіками. Обирали середнє значення з отриманих результатів. Нормою вважається розрив слізної плівки через 8-10 секунд після останнього моргання. Час розриву >5 секунд інтерпретують як легкий ступінь, 5-2 секунди – середній, <2 секунд – тяжкий ступінь порушення [209].

### *Дослідження слъозопродукції*

Слъозопродукцію визначали за тестом Ширмера, тестом Джонса та меніскометрією.

Рівень базальної сльозопродукції визначали пробою Джонса. Після інстиляції анестетика за зовнішній край нижньої повіки закладали паперову тест-смужку з міліметровою шкалою 35 мм. Через 5 хвилин оцінювали зволоження паперової тест-смужки за міліметровою шкалою.

Тестом Ширмера без анестетика визначали рефлекторну сльозопродукцію. За зовнішній край нижньої повіки закладали паперову тест-смужку з міліметровою шкалою 35 мм. Через 5 хвилин оцінювали зволоження паперової тест-смужки за міліметровою шкалою.

Результати базальної та рефлекторної сльозопродукції оцінювали таким чином: 0-5 мм - критично знижена сльозопродукція; 5-9 мм - помірно знижена сльозопродукція; 10-14 мм – легке зниження сльозопродукції; 15 і більше – норма.

Також виконували меніскометрію шляхом вимірювання висоти слізного меніску з використанням сканів оптичної когерентної томографії переднього відрізка ока. Показники на рівні 0.3-0.5 мм вважаються нормою [209].

#### *Оцінка стану очної поверхні*

Також проводили оцінку стану очної поверхні з використанням барвника (флюоресцеїну). Використовували флюоресцеїнові смужки за попередньо описаною методикою. В ділянках пошкоджень очної поверхні, які можуть бути при ССО, накопичується барвник. Поверхню рогівки оглядали з використанням синього фільтру та розсіяного світла при біомікроскопії. Накопичення барвника на кон'юнктиві оцінювали за допомогою жовтого фільтру та розсіяного світла [209]. Ступінь пошкодження визначали за Оксфордською шкала профарбовування поверхні ока в ступенях (рис 2.2).

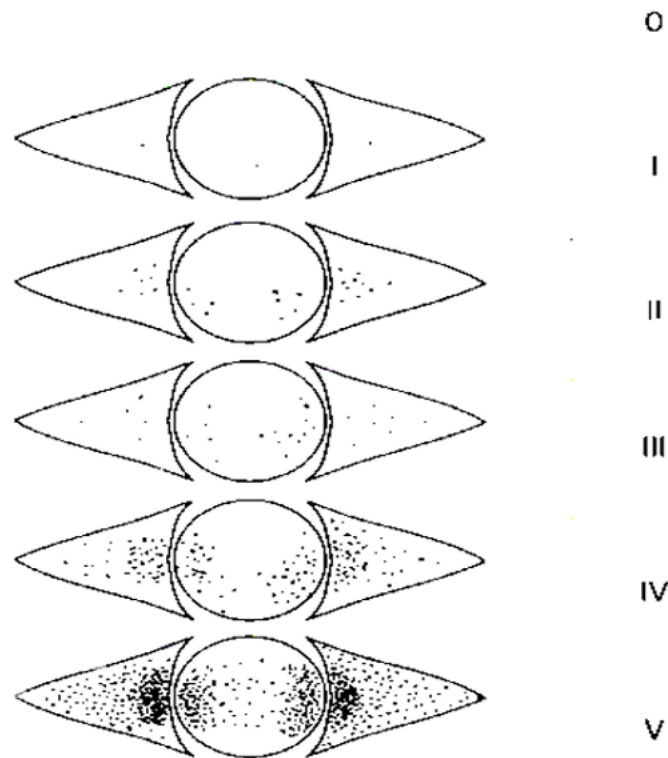


Рис 2.2 Оксфордською шкала профарбовування поверхні ока

## 2.1 Методи ексимерлазерної корекції

Ексимерлазерна корекція міопії технологіями LASIK та Femto LASIK були виконані однією бригадою хірургів під місцевою епібульбарною анестезією. Обидві групи спостереження були статистично однорідними за статтю, віком і ступенем міопії.

## 2.2 Передопераційна підготовка

Пацієнтам було рекомендовано відмовитись від м'яких контактних лінз за 3 дні до ЕЛК. При наявності показань, виявлених в ході офтальмоскопії, за 2 тижні перед запланованою ЕЛК було проведено профілактичну обмежувальну лазеркоагуляцію сітківки. На етапі доопераційної діагностики було виявлено пацієнтів з ССО легкого ступеню. Цим пацієнтам було призначено сльозамісну

терапію безконсервантними сльозозамінниками на термін не менше 2 тижні до запланованої операції.

### 2.3 ЕЛК методом LASIK

Пацієнтам 1-ї групи спостереження (68 очей), серед яких було 20 жінок та 14 чоловіків, виконували ЕЛК методом LASIK за технологією «Thin flap» на приладі Wave Light EX500 (Alcon). У цих пацієнтів була діагностована міопія слабкого ступеню на 30 очах (44,1%), на 25 очах (36,7%) - міопія середнього ступеню, на 13 очах (19,1%) – високого. Складний міопічний астигматизм до 2 дптр був на 20 очах (29,4%). Середня передопераційна маніфестна (суб'єктивна) рефракція за сферо еквівалентом (SE) становила  $-2,87 \pm 0,33D$  (від  $-1,25$  до  $-7,0D$ ). Оптична зона для ексимерлазерної абляції була обрана в межах 6,0-6,5 мм.

Проводили трьохразову епібульбарну анестезію розчином алкаїну 0,5%. Драпірували повіки за допомогою стерильних пластикових клейких смужок, встановлювали повікорозширювач. Обробляли операційне поле розчином хлоргексидину 0,5%. Для точної центрації вакуумного кільця і для правильного розміщення клаптя при репозиції після виконання ексимерлазерної абляції, на рогівці виконували розмітку. Встановлювали вакуумне кільце. Обробляли поверхню розчином BSS. Формували рогівковий клапоть мікрокератомом Carriazo-Pendular, товщиною 110 мкм. Піднімали рогівковий клапоть, відкривали стромальне рогівкове ложе. Виконували ексимерлазерну абляцію. Обробляли поверхню розчином BSS. Здійснювали репозицію клаптя на місце. Промивали підлокутний простір за допомогою канюлі розчином BSS. Адаптували лоскут. Виконували інстиляцію антибіотика фторхінолонового ряду, дексаметазону. Знімали повікорозширювач, драпірувальні смужки з повік.

## 2.4 ЕЛК методом Femto LASIK

ЕЛК методом FemtoLASIK за технологією «Thin flap» на приладі WaveLightEX500 (Alcon) проводили пацієнтам 2-ї групи (62 ока). Серед пацієнтів були 15 жінок та 16 чоловіків, у яких діагностовано міопію слабкого ступеню на 26 очах (42%), міопію середнього ступеню на 22 очах (35,5%), на 14 очах (22,5%) була міопія високого ступеню, на 17 очах (27,4%) - складний міопічний астигматизм. Середнє значення передопераційної маніфестної (суб'єктивної) рефракції за сфероеквівалентом (SE) складало  $3,25 \pm 0,3D$  (від -1,0 до -7,5D).. Діаметр оптичної зони для ексимерлазерної абляції був в межах 6,0-6,5 мм.

Проводили трьохразову епібульбарну анестезію розчином алкаїну 0,5%. Драпірували повіки за допомогою стерильних пластикових клейких смужок, встановлювали повікорозширювач. Обробляли операційне поле розчином хлоргексидину 0,5%. Фемтосекундним лазером FS200 (Alcon) формували рогівковий клапоть товщиною 110 мкм. Піднімали рогівковий клапоть, відкривали стромальне рогівкове ложе. Виконували ексимерлазерну абляцію. Обробляли поверхню розчином BSS. Здійснювали репозицію клаптя на місце. Промивали підлоскутний простір за допомогою канюлі розчином BSS. Адаптували лоскут. Виконували інстиляцію антибіотика фторхінолонового ряду, дексаметазону. Знімали повікорозширювач, драпірувальні смужки з повік.

## 2.5 Післяопераційне лікування

В післяопераційному періоді всім пацієнтам обох груп спостереження призначались інстиляції антибіотика фторхінолонового ряду протягом 1 тижня і дексаметазону протягом 1 місяця за схемою з поступовим зменшенням частоти інстиляцій.

Пацієнтам з ССО призначено безконсервантні форми штучної сльози,

збільшено частоту їх інстиляцій, на відміну від стандартної терапії.

Контроль в післяопераційному періоді здійснювали на наступний день після операції, через 1 тиждень, через 1 місяць, через 3 місяці, через 6 місяців та через 1 рік.

## **2.8 Методи лабораторних досліджень**

У всіх пацієнтів до операції та протягом післяопераційного спостереження, а також у контрольній групі проводили збирання сльозної рідини [183, 184]. Для цього 60 мкл 0,9% фізіологічного розчину закапували в кон'юнктивальний мішок, після чого отриману рідину збирали скляним капіляром та переносили у пластикову пробірку об'ємом 0,5 мл без РНКаз та заморожували при  $-70^{\circ}\text{C}$  до проведення аналізів [185].

Виділення РНК.

Матеріали та реагенти: розчин TRIzol™ Reagent (Thermo Fisher Scientific; США), хлороформ для аналізу EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur (Merck; Німеччина), охолоджений 70% етанол (Sigma-Aldrich; США), вода, оброблена DEPC (Thermo Fisher Scientific; США), ізопропанол (Sigma-Aldrich; США).

Обладнання: Набір мікропіпеток для відбору зразків, наконечники без РНКаз, пробірки для мікроцентрифуг, які не містять РНКази (0,2 мл), мікропробірки без РНКаз (0,5 мл), стерильні пластикові капілярні пробірки, водяна баня, центрифуга з охолодженням.

Процедура: 700 мкл охолодженого розчину TRIzol™ (Thermo Fisher Scientific; США) додавали до пробірок зі зразками, перемішували протягом 5-10 секунд та інкубували при кімнатній температурі протягом трьох хвилин. 200 мкл хлороформу додавали до зразків і добре перемішували протягом 10 секунд струшуванням.

Зразки інкубували на льоду протягом 5 хв. і центрифугували при 12000 об/хв. при  $4^{\circ}\text{C}$  протягом 15 хв. Потім водну фазу обережно переносили в нову пробірку об'ємом 1,5 мл, вільну від РНКази.



Рівний об'єм рідкої фази плюс 100 мкл ізопропанолу (Sigma-Aldrich; США) додавали до пробірок із зразками, обережно промивали та інкубували при  $-20^{\circ}\text{C}$  протягом 45 хв. Потім суміш центрифугували при 12000 об/хв. при  $4^{\circ}\text{C}$  протягом 15 хв. Супернатант обережно видаляли і додавали 1 мл охолодженого льодом 70% етанолу (Sigma-Aldrich; США).

Після цього центрифугували при  $4^{\circ}\text{C}$  при 7500 об/хв. протягом 8 хв. Супернатант обережно відкидали і залишали осад при кімнатній температурі на кілька хвилин для висихання. Осад розчиняли в 30-50 мкл води, обробленої DEPC (Thermo Fisher Scientific; США). Для кращого розчинення осаду пробірку поміщали на 5 хв. у водяну баню з температурою  $55-60^{\circ}\text{C}$ .

Експресію miR-146a-5p і miR450b-5p визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у режимі реального часу [186]. Для визначення експресії мікроРНК використовували набори праймерів і зондів Applied Biosystems™ TaqMan™ Small RNA Assays (США). Аналіз може виявити та кількісно визначити невеликі РНК в кількості 1-10 нг загальної РНК з динамічним діапазоном понад 6 log. В аналізах мікроРНК TaqMan™ використовується праймер зі стовбуровою петлею для зворотної транскрипції та специфічний аналіз секвенцій для ідентифікацій мікроРНК.

Виконання зворотної транскрипції.

Зворотну транскрипцію з отриманням кДНК проводили з використання реактивів TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific; США) і термоциклера 7500 Fast Real-time PCR System, Applied Biosystems (США).

Принцип метода полягає у зворотній транскрипції кодомінантної ДНК (кДНК) з повної РНК за допомогою невеликої РНК-специфічної ніжки – петльового праймеру (рис. 2.3).

Процедура:

1. Готували реакційну суміш (з розрахунку на 10 реакцій) наступним чином: 100mM dNTPs (з dTTP) – 1,65 мкл; MultiScribe Reverse Transcriptase, 50 U/ $\mu\text{L}$  – 11,00 мкл; 10x Reverse Transcription Buffer – 16,50 мкл; RNase Inhibitor, 20 U/ $\mu\text{L}$

– 2,09 мкл; Nuclease-free Water – 45,76 мкл. Загальний об'єм – 77 мкл.

2. Перемішували шляхом струшування та центрифугували для ретельного відбору суміші з дна пробірки. Поміщали реакційну суміш на лід та негайно переходили до наступного етапу.

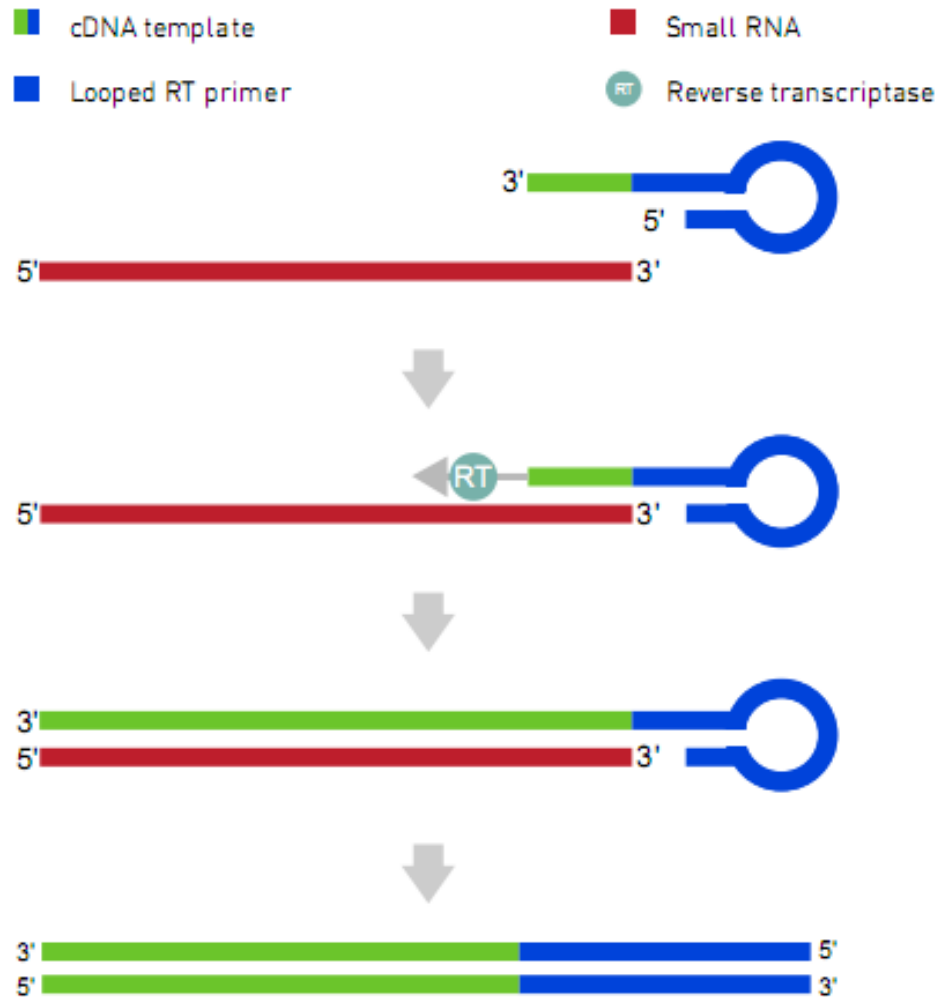


Рис. 2.3. Зворотна транскрипція кодомінантної ДНК (кДНК) з повної РНК за допомогою РНК-специфічної ніжки.

3. В реакційну пробірку додавали 7 мкл реакційної суміші і 5 мкл загальної РНК (5 мкл проби містило до 10 нг загальної РНК).

4. Ретельно перемішували та центрифугували.

5. Додавали 3 мкл 5x RT-праймера в кожную реакційну пробірку, закривали

пробірку та центрифугували. Поміщали на лід і негайно переходили до виконання зворотної транскрипції.

6. Зворотню транскрипцію виконували у наступному режимі: 16°C – 30 хв., 42°C – 30 хв.; стоп-реакція – 85°C – 5 хв., зберігання – 4°C.

ПЛР у реальному часі з кДНК проводили з використанням наборів TaqMan MIRNA Assays miR-146a-5p, miR-450b-5p та Universal PCR Master Mix, у якості контролю використана miR U6 (Thermo Fisher Scientific; США). ПЛР в режимі реального часу проведена із застосуванням термоциклера 7500 Fast Real-time PCR System, Applied Biosystems (США).

Підготовка реакційної суміші для ПЛР.

1. Змішували PCR Master Mix шляхом обережного струшування.
2. Готували реакційну суміш для ПЛР у мікроцентрифужних пробірках відповідного розміру (0,2 мл): TaqMan™ Small RNA Assay (20X) – 1 мкл; PCR Master Mix – 10 мкл; Nuclease-free water – 7,67 мкл. Загальний об'єм складав 18,76 мкл.
3. Пробірки ретельно перемішували на вортексі, потім центрифугували та відбирали рідину з дна пробірки.

Підготовка реакційної плашки для ПЛР.

1. Переносили відповідний об'єм ПЛР-реакційної суміші в кожну лунку планшету (18,76 мкл для стандартного 96-лункового планшету).
2. Додавали 1,33 мкл шаблону кДНК або води, вільної від нуклеази до кожної лунки планшету.
3. Заклеювали плашку оптичною адгезивною плівкою.
4. Готували до роботи та вмикали термоциклер згідно до інструкції користувача приладу.
5. Встановлювали протокол ампліфікації: UNG-активація – 50°C – 2 хвилини; ензимна активація – 95°C – 20 сек., потім 40 циклів у наступному режимі: денатурація – 95°C – 3 сек., відпал праймерів – 60°C – 30 сек.
6. Встановлювали відповідний об'єм реакції (20 мкл).
7. Завантажували планшет в термоциклер та починали ампліфікацію.

Аналіз результатів ампліфікації.

1. У таблиці результатів фіксували значення  $C_t$  для кожної лунки. Використовували порогове значення 0,2.
2. Для аналізу даних використано метод відносного кількісного визначення ( $\Delta\Delta C_t$ ) та відповідну програму розрахунку ExpressionSuite™ Software (<https://www.thermofisher.com/expression-suite>).

Інтенсивність флюоресценції зразка була прямо пропорційна вивільненню зондів TaqMan MGB, які містили репортерний барвник (FAM™) на 5'-кінці зонда та нефлюоресцентний барвник-гасник (NFQ) на 3'-кінці зонда. Барвник NFQ не флуоресціює, що дозволяє системі ПЛР у реальному часі точніше вимірювати внески репортерного барвника. Також до його складу входив зв'язувальний елемент малої канавки (MGB) на 3'-кінці зонда, який підвищує температуру плавлення ( $T_m$ ) без збільшення довжини зонда. На рисунку 2.4 представлені етапи ПЛР у реальному часі з зондами MGB TaqMan™ і аналізу мікроРНК TaqMan™.

Процес 5'-нуклеазного аналізу відбувається під час ПЛР-ампліфікації. Це відбувається в кожному циклі і не перешкоджає експоненціальному накопиченню синтезу продукту реакції. Під час ПЛР прямий і зворотний праймери з'єднуються з комплементарними послідовностями уздовж ланцюгів денатурованої кДНК-матриці (рис. 2.4 А).

Зонд TaqMan™ MGB специфічно з'єднується з комплементарними послідовностями сайтів прямого і зворотного праймерів. Коли зонд знаходиться у незв'язаному з кДНК стані, близькість до барвника-репортера барвнику-гаснику пригнічує репортерну флюоресценцію зонду.

Під час полімеризації ДНК-полімераза розщеплює лише ті зонди, які гібридизуються за цільовою послідовністю нуклеотидів. Розщеплення відокремлює репортерний барвник від зонда, що призводить до збільшення флюоресценції репортером (рис. 2.4 В, С).

Відповідно, це збільшення відбувається лише в тому випадку, якщо зонд є комплементарним до мішені і якщо цільова послідовність ампліфікована під

час ПЛР. Через ці умови неспецифічної ампліфікації не відбувається.

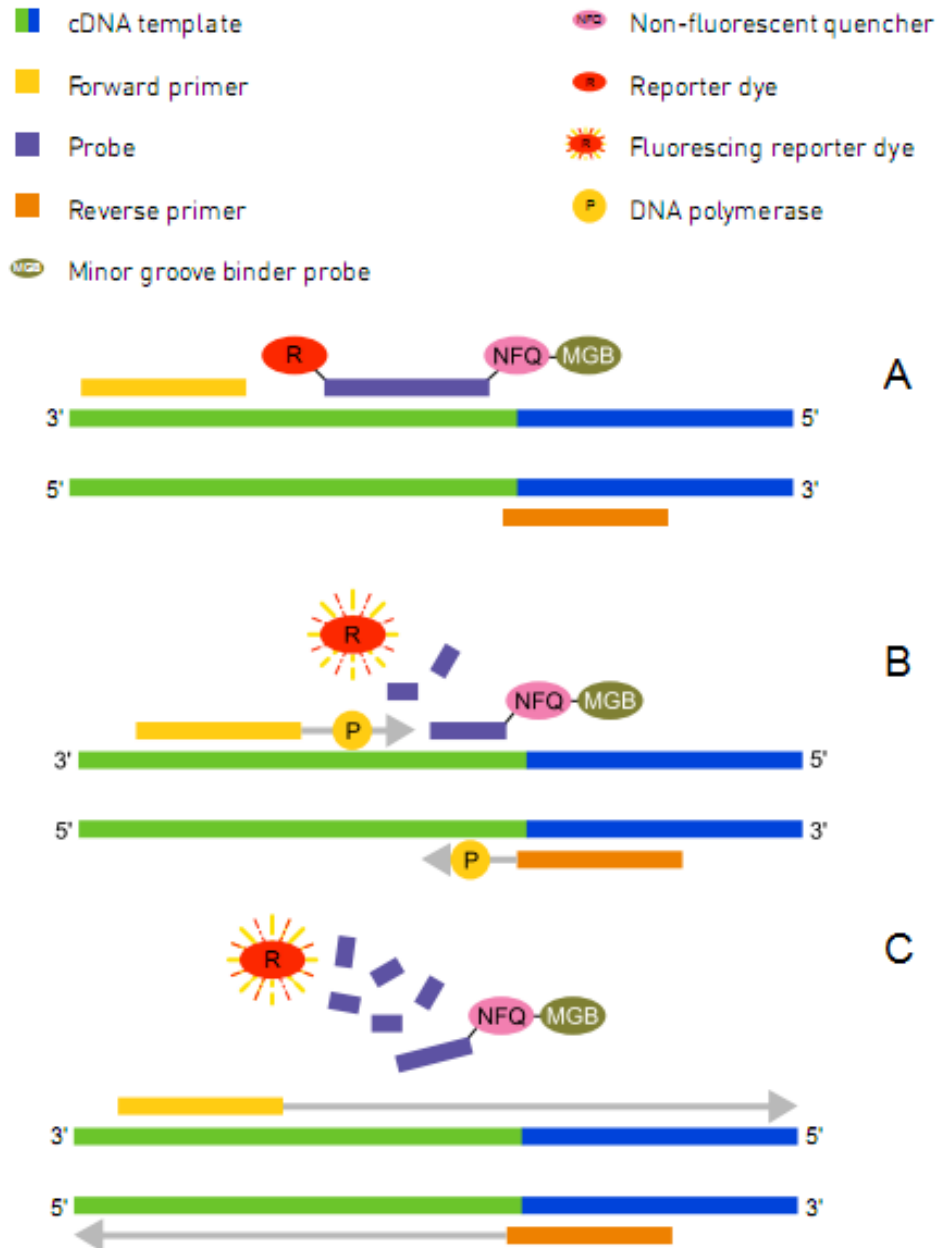


Рис 2.4. Хід ПЛР у реальному часі.

Примітки: А – відпал зондів і праймерів до ланцюгів кДНК або попередньо ампліфікованих ланцюгів кДНК; В – початкова полімеризація та розщеплення репортерного барвника; полімеризація триває, але оскільки 3'-кінець зонда заблокований, під час ПЛР не відбувається надмірного

розширення зонда; С – завершення полімеризації.

Концентрацію TGF- $\beta$ 2 у слюзній рідині досліджували методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-системи «eBioscience» (Австрія) та аналізатору STAT FAX303/Plus (Awareness Technology Inc, США).

Комерційні набори для імуноферментного аналізу побудовані на принципі «сендвіч-методу». На мікропланшті попередньо відбувалася фіксація антитіл, специфічних для TGF- $\beta$ 2. Стандарти з відомими концентраціями аналізу та аліквоти зразків слюзи додавали до лунок мікропланшетів, де вони специфічно зв'язувалися фіксованими на стінках планшету антитілами.

На другому етапі додавали кон'юговане з пероксидазою хрому антитіло, специфічне для TGF- $\beta$ 2. В процесі інкубації утворювалися великі комплекси – «сендвічи» (первинне антитіло – TGF- $\beta$ 2 – вторинне кон'юговане антитіло), які були міцно фіксовані на поверхні планшетів. Після отмивки вільних компонентів додавали розчин субстрату, який руйнувався пероксидазою хрому зі зміною кольору з прозорого до блакитного, але тільки у тих лунках, які містили «сендвічи». Ферментативна реакція припинялася додаванням стоп-розчину, при цьому колір змінювався на жовто-коричневий. Оптичну щільність розчину у лунках планшету вимірювали 8-канальним спектрофотометром з вертикальним променем при довжині хвилі 450 нм. Величина оптичної щільності (від 0 до 2,5 Од) була прямо пропорційна вмісту TGF- $\beta$ 2 у слюзі. При порівнянні оптичної щільності проб зі стандартними кривими розраховували вміст TGF- $\beta$ 2 (пг/мл).

Протокол дослідження.

1. Додавали 50 мкл кожного зразка до відповідних лунок мікропланшету та акуратно перемішували.
2. Накривали клейкою плівкою та інкубували при кімнатній температурі (від 18°C до 25°C) протягом 3 годин на шейкері мікропланшетів при 400 об/хв.
3. Видаляли клейку плівку та спорожнявали лунки. Промивали стріпи мікролунок 3 рази по 400 мкл буфер для промивання з ретельним

відсмоктуванням вмісту мікролунки між промиваннями.

4. Вносили по 100 мкл розчину субстрату в усі лунки, включаючи порожні.

5. Інкубували мікролункові стрипи при кімнатній температурі (18–25°C) 10 хв. При цьому уникайте прямого впливу інтенсивного світла. Стежили за розвитком кольору у лунках та зупиняли реакцію при розвитку інтенсивного забарвлення у лунках з максимальною концентрацією аналізу.

6. Зупиняли ферментативну реакцію, шляхом швидкого додавання 100 мкл стоп-розчину в кожен лунку, включаючи порожні лунки.

7. Зчитували поглинання кожної мікролунки на спектрофотометрі, використовуючи 450 нм як первинну довжину хвилі і 620 нм як еталонну.

8. Підрахунок результатів (рис. 2.5):

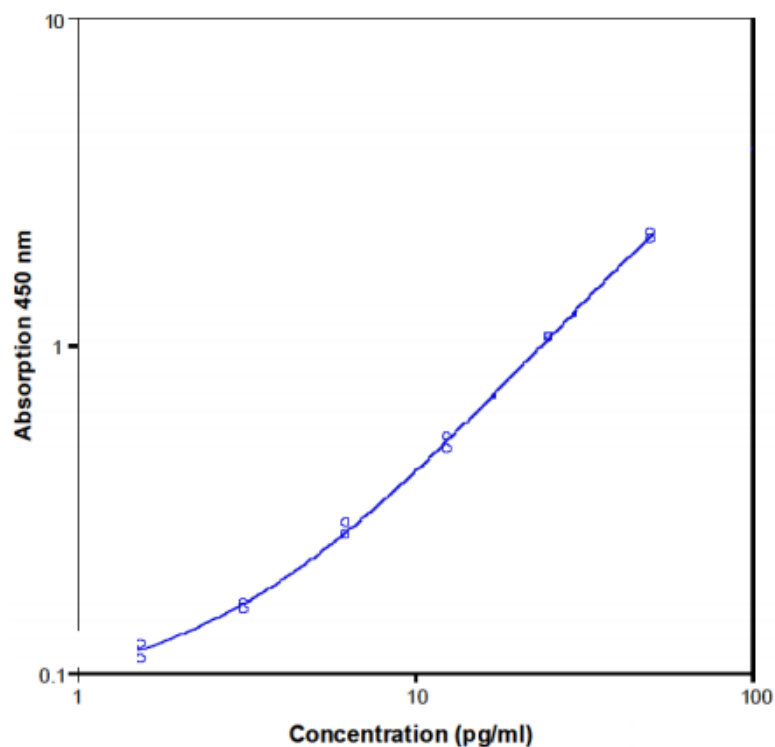


Рис 2.5. Типова стандартна крива для визначення вмісту TGF- $\beta$ 2. По вертикальній осі – оптична щільність (Од), по горизонтальній осі – концентрація TGF- $\beta$ 2 (пг/мл).

8.1. Обчислювали середні значення абсорбції для кожного набору дублікатів

стандартів і зразків. Дублікати мали бути в межах 20 відсотків від середнього значення.

8.2. Створювали стандартну криву, побудувавши середнє значення абсорбції для кожної стандартної концентрації на осі ординат проти концентрації аналізу на осі абсцис. Малювали криву через точки графіку за всіма стандартами.

8.3. За стандартною кривою (див. рис. 2.5) розраховували концентрацію аналізу у зразках.

## **2.9 Методи статистичного аналізу та математичної обробки результатів дослідження**

Статистичний аналіз результатів клінічних досліджень проводили за допомогою пакета програм SPSS 11.0, MedStat. Розраховували середню ( $M$ ) та її стандартне відхилення ( $SD$ ). Для проведення парних порівнянь використовували тест Tukey HSD для нерівних розмірів вибірок та  $t$ -критерій Стьюдента для парних незалежних міжгрупових порівнянь.

Для множинного порівняння використано критерій Фішера ( $F$ ; дисперсійний аналіз). У всіх випадках проведення аналізу критичний рівень значущості був прийнятий рівним 0,05.

Для порівняння структури груп у відсотках ( $P \pm m$ ) використовували метод арксинус перетворення Фішера. Нульову гіпотезу про відсутність ефекту відкидали і відмінності між показниками рахували як статистично значимі при рівні значущості  $p < 0,05$ .

Для побудови прогностичної моделі використана технологія багатофакторної логістичної регресії з покроковим включенням незалежних змінних з програмного пакету GLZ (Statistica 10, StatSoft, Inc. США). В якості залежної змінної рівняння регресії використовували біномінальний ідентифікатор наявності/відсутності прогресії ССО протягом року після операції. Ідентифікатору присвоювали індикаторне значення «0», яке



відповідало стабільному перебігу післяопераційного періоду і – «1», при наявності прогресування ССО.

Відбір оптимальних предикторів з вище позначених здійснювали за методом максимальної правдоподібності. Ефективність відбору оцінювали інтервальним методом на основі статистики

Вальда (Wald), а загальну адекватність моделі – з використанням діаграми операційної характеристики (ROC), за якою розраховували площу під ROC- кривою – AUC, її помилку і 95% вірогідний інтервал (95% ВІ). Оцінювали вірогідність відмінностей від нульової гіпотези.

Використано програмний пакет GLZ (Statistica 10, StatSoft, Inc. USA) та модуль аналізу операційних характеристик регресійних моделей - ROC-діаграм (MedCalc 18.9.1, MedCalc Software, Belgium).

### РОЗДІЛ 3

## **ВПЛИВ РІЗНИХ ТЕХНОЛОГІЙ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ НА РОЗВИТОК І ПРОГРЕСУВАННЯ СИНДРОМУ СУХОГО ОКА В РАННІ ТА ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ СПОСТЕРЕЖЕННЯ**

Ексимерлазерна корекція (ЕЛК) передбачає швидке відновлення зору, досягнення високих зорових функцій і відносно безболісне післяопераційну реабілітацію [5].

Незважаючи на безпечність і прогнозованість процедури ЕЛК, можуть виникати ускладнення як в ході втручання так і в післяопераційному періоді [10, 11, 12].

Дослідження ускладнень ЕЛК, а саме синдрому сухого ока, в післяопераційному періоді видається нам дуже актуальним і сприятиме зменшенню зростаючого суспільного тягаря некоригованої короткозорості за рахунок розширення можливостей для сучасних, високоякісних і адекватних методів корекції аномалій рефракції.

Метою даного дослідження було оцінити вплив ексимерлазерної корекції міопії на розвиток синдрому сухого ока в ранні та віддалені терміни спостереження.

Нами була сформована гіпотеза, що вплив ЕЛК на розвиток і прогресування ССО є більшою мірою тимчасовим, а для виявлення ключових факторів впливу необхідні подальші дослідження змін біохімічного та імунологічного складу слізної рідини.

### **3.1 Вплив LASIK ексимерлазерної корекції міопії на розвиток і прогресування синдрому сухого ока в ранні та віддалені терміни спостереження**

При доопераційному обстеженні у пацієнтів 1-ї групи спостереження клінічні прояви ССО були встановлені у 10 % випадків. За 2 тижні до попередньо запланованого втручання було призначено інстиляції безконсервантних сльозозамінників.

Через тиждень післяопераційного спостереження виявлено ССО легкого ступеню у 26% випадків.

Через 1 місяць після LASIK у пацієнтів 1-ї групи спостерігався ССО легкого ступеню тяжкості у 37,7% випадків, середнього ступеню - у 11,1%.

У пацієнтів після LASIK ССО легкого ступеню тяжкості спостерігався з частотою 27,7%, середнього ступеню – не спостерігався через 3 місяці після втручання.

Через 6 місяців після ексимерлазерної корекції міопії за технологією LASIK у 15% спостерігався ССО легкого ступеню.

У пацієнтів 1-ї групи ССО легкого ступеню тяжкості був зафіксований у 15 % через 9 місяців післяопераційного спостереження.

ССО легкого ступеню після ексимерлазерної корекції міопії, виконаної технологією LASIK, зберігався у 15% випадків через 1 рік післяопераційного спостереження.

Окрім ССО після ЕЛК міопії, з післяопераційних ускладнень у пацієнтів 1-ї групи спостереження було діагностовано мікрострії лоскута на 1 оці. Дане ускладнення не впливало на показники рефракції, не знижувало гостроту зору, не супроводжувалось скаргами з боку пацієнта і не потребувало додаткових хірургічних втручань або корекції схеми лікування.

### **3.2 Вплив FemtoLASIK ексимерлазерної корекції міопії на розвиток і прогресування синдрому сухого ока в ранні та віддалені терміни спостереження**

До операції серед пацієнтів 2-ї групи спостереження ССО легкого ступеню визначався у 10,6%. За 2 тижні до попередньо запланованого втручання було призначено інстиляції безконсервантних сльозозамінників.

На перший день після проведеної ексимерлазерної корекції технологією Femto LASIK відмічався незначний набряк рогівкового клаптя на 4 очах. Післяопераційне лікування в даних випадках проводилось за стандартною схемою. Через тиждень не було відмічено ознак набряку рогівкового клаптя у цих пацієнтів.

Клінічні прояви ССО легкого ступеню було зафіксовано через тиждень післяопераційного спостереження у 25% випадків.

Через 1 місяць у пацієнтів 2-ї групи ССО легкого ступеню було виявлено у 45,8%.

У термін 3 місяці після ексимерлазерної корекції виконаної технологією Femto LASIK спостерігався ССО легкого ступеню тяжкості у 28% випадків, середнього ступеню – не спостерігався.

Серед пацієнтів 2-ї групи спостереження через 6 місяців після ЕЛК міопії ССО легкого ступеню визначався з частотою 16,6%.

Через 9 місяців у пацієнтів 2-ї групи спостерігався ССО легкого ступеню тяжкості у 16,6% випадків.

Через 12 місяців в післяопераційному періоді у 2-й групі спостереження частота ССО легкого ступеню зберігалась на рівні 16,6%.

За весь термін спостереження, з післяопераційних ускладнень ЕЛК міопії, окрім ССО, було діагностовано гіпертонічна кератопатія на фоні стероїдної терапії на 2 очах (3,2%). В даному випадку для нормалізації рівня внутрішньоочного тиску були додатково призначені гіпотензивні краплі з групи селективних в-блокаторів 2 рази на день, а також скорочена схема

інстиляцій дексаметазону після ЕЛК міопії.

### **3.3 Порівняльний аналіз впливу різних технологій ексимерлазерної корекції міопії**

На доопераційному етапі функціональні тести для діагностики ССО виявили у частини пацієнтів 1-ї та 2-ї груп спостереження ССО легкого ступеню. Відхилення від нормальних значень легкого ступеню виявлено пробою Норна в 1-й групі у 10% пацієнтів, 2-й групі- у 12.1%; за пробою Джонса в 1-й групі у 10%; у 2-й групі – 10,6%; пробою Ширмера у 1-й групі- 8,5%; 2-й групі – 10,6%; меніскометрією в 1-й групі у 12,8% ; у 2-й групі - 10,6%; стан очної поверхні (за профарбовуванням флюоресцеїном) у 11.4% пацієнтів 1-ї групи і у 10,6% пацієнтів 2-ї групи був з проявами легкого подразнення. Отже, на підставі результатів виконання вищевказаних проб, було встановлено, що частота ССО в 1-й групі спостереження склала 10%, в 2-й- 10,6%.

При обстеженні пацієнтів через 1 місяць після ЕЛК міопії було встановлено, що частота виникнення ССО в обох групах зросла порівняно з вихідними значеннями на 75,5% в 1-й групі спостереження і на 76,5% у 2-й. Ці пацієнти скаржились на больові відчуття, відчуття стороннього тіла в оці, почервоніння, іноді на зниження гостроти зору, яке коливалось протягом доби, слъзотечу, світлобоязнь.

Стабільність слізної плівки за пробою Норна виявила 34,2% пацієнтів з легким порушенням консистенції і стабільності слъзи та 8,5% з середньо та помірно вираженими відхиленнями значень. Серед пацієнтів 2-ї групи легке порушення стабільності слізної плівки мали 40,9%. Визначення рівня базальної слъзопродукції за тестом Джонса показало, що у 27,1% пацієнтів 1-ї групи було легке зниження слъзопродукції, у 8,5%– помірне. У 37,8% пацієнтів 2-ї групи було виявлено легке зниження базальної слъзопродукції. За пробою Ширмера визначено легке зниження рефлекторної слъзопродукції

у 28,5% пацієнтів 1-ї групи і 7,1%- помірно. 36,4% пацієнтів 2-ї групи мали легке зниження рефлекторної сльозопродукції. Виявлено, що у 35,7% пацієнтів 1-ї групи стан очної поверхні (профарбовування флюоресцеїном) був з легкими проявами подразнення, у 5,7%- з помірними. 31,8% пацієнтів 2-ї групи мали легке подразнення очної поверхні. Висота слізного меніску була нижче норми у 35,7% пацієнтів 1-ї групи, і у 34,8% пацієнтів 2-ї групи.

На 3-му місяці післяопераційного спостереження частота виникнення проявів ССО в обох групах зменшилась. За пробою Норна відсоток пацієнтів 1-ї групи, що мали порушення стабільності слізної плівки зменшився до 31,4% і проявлявся лише у вигляді легкого відхилення від нормальних значень. У 2-ї групі також відмічалось зменшення частоти порушень у складі і консистенції сльози серед пацієнтів, показник знизився до 30,3%. Зниження базальної та рефлекторної сльозопродукції (за пробами Джонса і Ширмера) спостерігалось у 25,7% і 27,1% пацієнтів 1-ї групи відповідно та у 25,8% і 24,2% пацієнтів 2-ї групи, що також порівняно нижче попередніх показників. За результатами меніскометрії відхилення від нормальних визначених критеріїв спостерігалось у 28,5% пацієнтів 1-ї групи та у 27,3% 2-ї. Ознаки подразнення очної поверхні проявлялись у 31,4% в 1-й групі спостереження і у 27,3% в 2-й.

Через 6 місяців спостереження ССО виявлявся порівняно рідше ніж при попередніх післяопераційних обстеженнях. Серед пацієнтів 1-ї групи скорочення часу розриву слізної плівки мали 20% пацієнтів, 2-й групі – 19,7%. Сльозопродукція базальна і рефлекторна була знижена у 15,7% пацієнтів 1-ї групи, 16,6% пацієнтів 2-ї групи. Висота слізного меніску була менше визначеного критерію у 17,1% в 1-й групі і у 16,6% в 2-й групі. Профарбовування очної поверхні спостерігалось у 18,6% пацієнтів 1-ї групи і у 19,7% пацієнтів 2-ї групи.

Через рік після ЕЛК міопії результати функціональних проб для діагностики ССО не мали статистично значимої різниці з попередніми показниками.

Частота ССО в обох групах значно статистично не відрізнялась протягом всього терміну і залишалась стабільною після 6 місяців спостереження.

Динаміка показників рефлекторної сльозопродукції за пробою Ширмера до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) представлена в табл 3.1.

Таблиця 3.1

Динаміка показників рефлекторної сльозопродукції за пробою Ширмера до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) (в мм,  $M \pm m$ )

	До операції		Через 1 місяць після ЕЛК		Через 3 місяці після ЕЛК		Через 6 місяців після ЕЛК		Через 1 рік після ЕЛК	
	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група
проба Ширмера (мм)	18,4 ±3,5	18,3 ±3,8	10,1 ±2,1	10,3 ±1,0	10,4 ±1,8	10,2± 1,2	17,97 ±3,7	17,9 ±3,8	18,0 ±3,8	17,89 ±3,7
	t=0.02 p=0.98		t=0.09 p=0.93		t=0.09 p=0.93		t=0.01 p=0.98		t=0.02 p=0.98	
	<sup>1</sup> t <sub>до опер-1міс</sub> =2.03, p= 0.043; <sup>1</sup> t <sub>до опер-3 міс</sub> =2.03, p= 0.044; <sup>1</sup> t <sub>до опер-6 міс</sub> = 0.08, p= 0.93; <sup>1</sup> t <sub>до опер-1 рік</sub> = 0.08, p= 0.94 <sup>2</sup> t <sub>до опер-1міс</sub> =2.04, p= 0.044; <sup>2</sup> t <sub>до опер-3 міс</sub> =2.03, p= 0.044; <sup>2</sup> t <sub>до опер-6 міс</sub> = 0.07, p= 0.94; <sup>2</sup> t <sub>до опер-1 рік</sub> = 0.08, p= 0.94									

Примітка:  $^1t$  - рівень значущості відмінностей розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента у пацієнтів яким виконано LASIK за технологією «Thin flap»;

$^2t$  - рівень значущості відмінностей розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента у пацієнтів яким виконано Femto LASIK за технологією «Thin flap»;

\* рівень значущості відмінностей у порівнянні з результатами до операції,  $p < 0,05$  між пацієнтами однієї групи розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента.

Як видно з табл 3.1 спостерігалось статистично значуще зниження рефлекторної сльозопродукції в обох групах на ранніх термінах післяопераційного спостереження 1 та 3 місяці. У термін 6 місяців після операції частота зниження сльозопродукції в обох групах спостереження відмічалось статистично значиме підвищення рівня рефлекторної сльозопродукції. При порівнянні результатів двох груп спостереження, статистично значимої різниці між показниками у всі терміни спостереження не відмічалось ( $p < 0.05$ ).

Динаміка показників базальної сльозопродукції за пробою Джонса до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) представлена в табл 3.2.



Таблиця 3.2

Динаміка показників базальної слъзопродукції за пробою Джонса до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) (в мм,  $M \pm m$ )

	До операції		Через 1 місяць після ЕЛК		Через 3 місяці після ЕЛК		Через 6 місяців після ЕЛК		Через 1 рік після ЕЛК	
	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група
проба Джонса (мм)	18,3 ±3,5	18,2 ±3,7	10,2 ±1,8	10,3 ±1,1	10,3 ±1,6	10,2 ±1,2	18 ±3,7	17,9 ±3,8	18,02 ±3,7	17,98 ±3,8
	t=0.02 p=0.98		t=0.04 p=0.97		t=0.05 p=0.96		t=0.02 p=0.98		t=0.02 p=0.98	
	${}^1t_{\text{до опер-1міс}}=2.06, p=0.041; {}^1t_{\text{до опер-3міс}}=2.08, p=0.039;$ ${}^1t_{\text{до опер-6міс}}=0.06, p=0.95; {}^1t_{\text{до опер-1рік}}=0.06, p=0.95$ ${}^2t_{\text{до опер-1міс}}=2.05, p=0.043; {}^2t_{\text{до опер-3міс}}=2.06, p=0.042;$ ${}^2t_{\text{до опер-6міс}}=0.06, p=0.95; {}^2t_{\text{до опер-1рік}}=0.06, p=0.95$									

Примітка:  ${}^1t$  - рівень значущості відмінностей розрахований за допомогою t-критерію Стюдента у пацієнтів яким виконано LASIK за технологією «Thin flap»;

${}^2t$  - рівень значущості відмінностей розрахований за допомогою t-критерію Стюдента у пацієнтів яким виконано Femto LASIK за технологією «Thin flap»;

\* рівень значущості відмінностей у порівнянні з результатами до операції,  $p < 0,05$  між пацієнтами однієї групи розрахований за допомогою t-критерію Стюдента.

За результатами, відображеними в табл 3.2 видно, що фіксувалось статистично значиме зниження рівня базальної сльозопродукції через 1 і 3 місяці після операції. Через 6 місяців відмічалось статистично значиме зростання рівня базальної сльозопродукції. Не було статистично значимої різниці між показниками через 6 місяців і 1 рік після операції з доопераційними. Статистично значимої різниці не було зафіксовано між двома групами спостереження.

Динаміка показників меніскометрії до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) представлена в табл 3.3

Таблиця 3.3

Динаміка показників меніскометрії до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) (в мм,  $M \pm m$ )

	До операції		Через 1 місяць після ЕЛК		Через 3 місяці після ЕЛК		Через 6 місяців після ЕЛК		Через 1 рік після ЕЛК	
	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група
Меніскометрія (мм)	0,42 ±0,1	0,41 ±0,1	0,13± 0,06	0,14± 0,08	0,14 ±0,08	0,15 ±0,08	0,4 ±0,1	0,39 ±0,1	0,40 ±0,1	0,40 ±0,1

продовження табл. 3.3

	t=0.07 p=0.94	t=0.04 p=0.97	t=0 p=1.0	t=0.07 p=0.94	t=0 p=1.0
	${}^1t_{\text{до опер-1міс}}=2.49, p= 0.014; {}^1t_{\text{до опер-3 міс}}=2.19, p= 0.03;$ ${}^1t_{\text{до опер-6 міс}}= 0.14, p= 0.89; {}^1t_{\text{до опер-1 рік}}= 0, p= 0.99;$ ${}^2t_{\text{до опер-1міс}}=2.11, p= 0.036; {}^2t_{\text{до опер-3 міс}}=2.03, p= 0.044;$ ${}^2t_{\text{до опер-6 міс}}= 0, p= 0.99; {}^2t_{\text{до опер-1 рік}}= 0, p= 0.99$				

Примітка:  ${}^1t$  - рівень значущості відмінностей розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента у пацієнтів яким виконано LASIK за технологією «Thin flap»;

${}^2t$  - рівень значущості відмінностей розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента у пацієнтів яким виконано Femto LASIK за технологією «Thin flap»;

\* рівень значущості відмінностей у порівнянні з результатами до операції,  $p < 0,05$  між пацієнтами однієї групи розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента.

За результатами, висвітленими в табл 3.3 можна побачити, що висота слізного меніску була статистично значуще нижчою через 1 і 3 місяці після ЕЛК міопії. На терміні 6 місяців висота слізного меніску відновлювалась до вихідних значень. Статистично значимої різниці між результатами двох груп спостереження відмічно не було.

За результатами проведених нами досліджень спостерігалось зниження сльозопродукції в обох групах на ранніх термінах післяопераційного спостереження – через 1 та 3 місяці, що було статистично значуще. Через 6 місяців частота зниження сльозопродукції в обох групах майже відновились до доопераційного рівня. При порівнянні методик між собою, статистично значимої різниці між показниками у всі терміни спостереження не відмічалось

( $p < 0.05$ ). Слід зазначити, що на розвиток ССО методики ЕЛК – LASIK та FemtoLASIK мали однаковий вплив.

Як було вищезазначено (розділ 1), одним із проявів ССО є зміни складу і консистенції сльози. Методом, що допомагає визначити такі зміни є оцінка стабільності слізної плівки або час розриву слізної плівки (проба Норна).

Динаміка показників стабільності слізної плівки за пробою Норна до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) представлена в табл 3.4.

Таблиця 3.4

Динаміка показників стабільності слізної плівки за пробою Норна до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) (секунди,  $M \pm m$ )

	До операції	Через 1 місяць після ЕЛК	Через 3 місяці після ЕЛК	Через 6 місяців після ЕЛК	Через 1 рік після ЕЛК
1 група	$8,3 \pm 1,0$	$5,2 \pm 1,0^*$	$5,4 \pm 1,0^*$	$8,17 \pm 1,2$	$8,2 \pm 1,1$
	$t_{\text{до опер-1міс}}=2.19, p= 0.03; t_{\text{до опер-3 міс}}=2.05, p= 0.042;$ $t_{\text{до опер-6 міс}}= 0.08, p= 0.93; t_{\text{до опер-1 рік}}= 0.07, p= 0.95$				
2 група	$8,4 \pm 1,0$	$5,6 \pm 0,9^*$	$5,5 \pm 0,9^*$	$8,32 \pm 1,1$	$8,34 \pm 1,0$
	$t_{\text{до опер-1міс}}=2.08, p= 0.039; t_{\text{до опер-3 міс}}=2.16, p= 0.033;$ $t_{\text{до опер-6 міс}}= 0.05, p= 0.96; t_{\text{до опер-1 рік}}= 0.04, p= 0.97$				

Примітка:\* рівень значущості відмінностей у порівнянні з результатами до операції.

$p < 0,05$  між пацієнтами однієї групи розрахований за допомогою t-

критерію Стюдента.

Як видно з табл 3.4, стабільність слізної плівки знижувалась у 1 і 3 місяці після ЕЛК міопії в обох групах порівняно з даними до втручання ( $p < 0.05$ ). Через 6 місяців і 1 рік після втручання спостерігалось поступове зменшення частоти проявів ССО в обох групах.

Динаміка показників пошкодження очної поверхні з профарбовуванням флюоресцеїном (за Оксфордською шкалою профарбовування 0-5 ступінь) до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) представлена в табл 3.5.

Таблиця 3.5

Динаміка показників пошкодження очної поверхні з профарбовуванням флюоресцеїном за Оксфордською шкалою профарбовування до операції, через 1, 3, 6 місяців та через 1 рік після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) (ступені  $M \pm m$ )

	До операції		Через 1 місяць після ЕЛК		Через 3 місяці після ЕЛК		Через 6 місяців після ЕЛК		Через 1 рік після ЕЛК	
	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група
Пошкодження очної поверхні	0,17 $\pm 0,5$	0,2 $\pm 0,5$	2,2 $\pm 0,8$	2,3 $\pm 0,8$	2,3 $\pm 0,8$	2,4 $\pm 0,9$	0,24 $\pm 0,5$	0,25 $\pm 0,5$	0,22 $\pm 0,4$	0,23 $\pm 0,4$
	t=0.04 p=0.97		t=0.09 p=0.93		t=0.08 p=0.93		t=0.01 p=0.99		t=0.02 p=0.99	

	${}^1t_{\text{до опер-1міс}}=2.15, p= 0.033; {}^1t_{\text{до опер-3 міс}}=2.26, p= 0.025;$ ${}^1t_{\text{до опер-6 міс}}= 0.1, p= 0.92; {}^1t_{\text{до опер-1 рік}}= 0.08, p= 0.94;$ ${}^2t_{\text{до опер-1міс}}=2.23, p= 0.027; {}^2t_{\text{до опер-3 міс}}=2.14, p= 0.034;$ ${}^2t_{\text{до опер-6 міс}}= 0.07, p= 0.94; {}^2t_{\text{до опер-1 рік}}= 0.05, p= 0.96$
--	--

Примітка:  ${}^1t$  - рівень значущості відмінностей розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента у пацієнтів яким виконано LASIK за технологією «Thin flap»;

${}^2t$  - рівень значущості відмінностей розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента у пацієнтів яким виконано Femto LASIK за технологією «Thin flap»;

\* рівень значущості відмінностей у порівнянні з результатами до операції,  $p < 0,05$  між пацієнтами однієї групи розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента.

За даними таблиці 3.5 можна відмітити зростання ступеню профарбовування поверхні ока порівняно з доопераційними показниками у 1 і 3 місяці після проведення ЕЛК в обох групах спостереження. Відмічався регрес прояву подразнення очної поверхні через 6 місяців та 1 рік після проведення втручання в обох групах.

### Резюме до розділу 3

В результаті проведеного нами дослідження було встановлено, що частота ССО у пацієнтів з міопічною рефракцією склала 10%.

Частота ССО після виконання ЕЛК методами LASIK та Femto LASIK зросла через 1 місяць на 75.5% і на 76.5%, через 3 місяці на 63% і на 64.9% відповідно і не залежала від методу. Ми відмітили поступовий регрес частоти ССО у віддалені терміни спостереження після LASIK та FemtoLASIK.

Через 6 місяців після ЕЛК міопії у 1-й групі частота ССО знизилась на 38.7%, у 2й групі - на 40% порівняно з результатами спостереження через 3 місяці. Серед пацієнтів, у яких не було проявів ССО до операції, 10% мали персистуючий ССО після ЕЛК міопії.

**Розділ висвітлено в матеріалах публікацій**

1. [206] Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Оцінка впливу ексимерлазерної корекції міопії на розвиток синдрому сухого ока: ранні та віддалені терміни спостереження. Офтальмологічний журнал. 2022;(5):23–29.  
[doi.org/10.31288/oftalmolzh202252329](https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202252329)
2. [208] Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Ексимерлазерна корекція міопії як фактор ризику синдрому сухого ока Науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`21» (Київ, Україна 28-30.10.2021 р.) с 38-39.
3. [225] Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. ІХ наук.-практ. конф. дитячих офтальмол. з міжнар. участю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити. 2021 Чер 10-12; Бугаз Одеської обл. 2021, с. 118-20.
4. [226] Zhovtoshtan M. The relationship between excimer laser correction of ametropia and dry eye disease. Scientific Collection «InterConf», (62): with the Proceedings of the 9 th International Scientific and Practical Conference «Scientific Research in XXI Century» (June 18-19, 2021). Ottawa, Canada: Methuen Publishing House, 2021, p.358-360.
5. [207] Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Ступінь міопії та синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання офтальмології», 22-23 вересня 2021р. Миколаїв / Ред. кол. – Одеса: ФОП Бондаренко М. О., 2021, с. 74-77
6. [253] Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії на різних термінах післяопераційного спостереження. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 196-199.



## РОЗДІЛ 4

### **ВПЛИВ ПЕРСИСТУЮЧОГО СИНДРОМУ СУХОГО ОКА ПІСЛЯ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ НА РЕФРАКЦІЙНИЙ РЕЗУЛЬТАТ У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ СПОСТЕРЕЖЕННЯ**

Відомо, що поверхня рогівки визначається складною взаємодією між слізною рідиною, епітелієм і поверхневою стромою [202, 203]. На топографічних картах рогівки у пацієнтів з ССО визначається нерегулярний астигматизм, такі пацієнти часто відчують значне зниження якості зору. Аномалії слізної плівки можуть посилювати іррегулярність поверхні, викликаючи пошкодження та загибель епітеліальних клітин [204]. Існують дані, які базуються на результатах клінічних досліджень, що персистуючий ССО після ЕЛК здатний викликати гіперплазію епітелію та ремоделювання строми рогівки [71]. Якщо потовщення епітелію центральних областей перевищує середньопериферійні області, це збільшує оптичну силу в центрі, що еквівалентно додаванню опуклої лінзи на передню поверхню рогівки. В такому випадку епітеліальну гіперплазію пов'язують із міопічним рефракційним регресом у пацієнтів після ЕЛК [205].

Метою даного етапу дослідження було дослідити вплив персистуючого синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії на віддалені функціональні результати.

Нами була сформована гіпотеза, що персистуючий ССО може викликати міопічний рефракційний регрес на віддалених термінах спостереження після ЕЛК міопії, виконаного різними технологіями (LASIK та FemtoLASIK), за рахунок гіперплазії епітелію рогівки.

Перед операцією у частини пацієнтів обох груп спостереження було виявлено ССО легкого ступеню. Частота ССО на доопераційному етапі в 1-й групі спостереження склала 10%, в 2-й- 10,6%. В контрольній групі не було виявлено ознак ССО. Профарбовування очної поверхні і оцінка за

Оксфордською шкалою профарбовування була одним із критеріїв для діагностики ССО.

При дослідженні товщини епітелію у пацієнтів основних груп спостереження на передопераційному етапі за результатами сканування AS-OCT, вона коливалась в межах  $50,1 \pm 1,2$  мкм в центральній ділянці і  $57 \pm 1,0$  мкм – на периферичній. У учасників контрольної групи епітелій рогівки в центрі був товщиною  $53,1 \pm 1,2$  мкм, на периферії  $58,2 \pm 1,3$  мкм ( $p < 0,05$ ).

На топографічних картах рогівки показник іррегулярності СІМ був в межах  $1,43 \pm 0,07$  мкм в першій групі і  $1,45 \pm 0,06$  мкм в другій групі спостереження і був статистично значуще вищим, ніж в контрольній групі –  $0,56 \pm 0,05$  мкм ( $p < 0,05$ ).

В післяопераційному періоді через 1 тиждень після ЕЛК міопії епітелій в центрі рогівки у пацієнтів обох основних груп потовщився на  $1,4 \pm 0,5$  мкм, на периферичній частині у пацієнтів першої групи на  $1,0 \pm 0,2$  мкм, у пацієнтів другої групи – на  $1,1 \pm 0,2$  мкм. Через 1 місяць епітелій потовщився в центральній ділянці у пацієнтів обох груп спостереження на  $3,6 \pm 0,4$  мкм, порівняно з даними через тиждень після ЕЛК. При цьому не було зафіксовано статистично значущої різниці між результатами в 2 мм зоні і середнього значення в 5 мм зоні. Через 3 місяці фіксувалось потовщення епітелію на  $2,0 \pm 0,2$  мкм рівномірно на всій поверхні рогівки в обох групах спостереження. Показник товщини епітелію у термін 6 місяців після ЕЛК зріс на  $0,1 \pm 0,03$  мкм в першій групі спостереження і на  $0,05 \pm 0,01$  мкм в другій групі ( $p < 0,05$ ).

За результатами вимірювання СІМ відмічалось зростання показника на 14% в перший місяць після операції в обох групах спостереження і залишалось на одному рівні протягом подальшого спостереження.

Профарбовування поверхні виявлялось через 1 тиждень після ЕЛК міопії у 50% пацієнтів 1-ої групи і 51,6% – 2-ої групи; через 1 місяць у 39,7% пацієнтів 1-ої групи і у 40,3% 2-ої групи. Через 3 місяці 35,3% пацієнтів 1-ої групи і 35,4% 2-ої групи мали профарбовування поверхні ока. У 11% пацієнтів

обох груп спостерігалось профарбовування поверхні ока через 6 місяців після втручання.

Середній показник SE маніфестної рефракції через 6 місяців після операції становив в першій групі –  $+0,12 \pm 0,1D$ , в другій групі –  $+0,11 \pm 0,09D$ .

У пацієнтів, яким було діагностовано ССО в післяопераційному періоді, спостерігався міопічний регрес в межах  $0,5 \pm 0,1 D$ . Його частота серед всіх пацієнтів складала 10,7% через 6 місяців після ЕЛК міопії. У цих пацієнтів маніфестна рефракція за SE через 1 тиждень після операції була у межах  $+0,12 \pm 0,05 D$ .

Було проведено статистичний аналіз динамічних результатів, отриманих у пацієнтів з ССО, у яких виявився міопічний рефракційний регрес.

Товщина епітелію в центрі поступово зростала в післяопераційному періоді. За весь термін спостереження потовщення епітелію відмічалось на  $7,9 \pm 0,25$  мкм в центральній ділянці, на периферичній ділянці в зоні 5-7 мм потовщення епітелію було в межах  $2,0 \pm 0,3$  мкм.

Через тиждень після ЕЛК міопії товщина епітелію всієї поверхні зросла на  $1,3 \pm 0,2$  мкм. Епітеліальний шар в центральній ділянці через 1 місяць після втручання збільшився за товщиною на  $3,9 \pm 0,2$  мкм, але на  $1,0 \pm 0,3$  мкм витончився на периферії. Через 3 місяці показники епітеліальної пахіметрії зросли у центральних ділянках на  $2,2 \pm 0,22$  мкм і на  $1,7 \pm 0,28$  мкм на периферії. У термін 6 місяців після операції товщина епітелію рогівки збільшилась в центрі ще  $0,5 \pm 0,1$  мкм і залишалась незмінною на периферії.

Показник СІМ за результатами кератотопографії у пацієнтів з персистуючим ССО був в межах  $3,01 \pm 0,12$  мкм через 6 місяців після ЕЛК.

Ступінь профарбовування поверхні за Оксфордською шкалою профарбовування виявлявся на рівні  $2,3 \pm 0,09$  ступеню у пацієнтів з ССО на 6 місяці післяопераційного спостереження.

Серед пацієнтів, у яких не було відмічено рефракційного регресу, не було діагностовано ССО, не відмічалось профарбовування поверхні у термін 6 місяців після ЕЛК міопії і показник СІМ був в межах нормальних значеннях.

Приріст товщини епітелію в центрі перевищував приріст пахіметрії епітелію рогівки на периферії не більше, ніж на  $2,5 \pm 0,3$  мкм. Маніфестна рефракція коливалась в межах  $+0,12 \pm 0,1$  D.

Динамічні зміни показників пошкодження очної поверхні за Оксфордською шкалою профарбовування до операції, через 1 тиждень, 1, 3, 6 місяців після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) FemtoLASIK (2 група) та в контрольній групі представлені в табл 4.1.

Таблиця 4.1

Динамічні зміни показників пошкодження очної поверхні за Оксфордською шкалою профарбовування, через 1 тиждень, 1, 3, 6 місяців після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група), FemtoLASIK (2 група) та в контрольній групі (ступені,  $M \pm m$ ).

	До ЕЛК		1 тиждень після ЕЛК		Через 1 місяць після ЕЛК		Через 3 місяці після ЕЛК		Через 6 місяців після ЕЛК		Контрольна група
	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	
Профарбовування очної поверхні	0,22 $\pm 0,08$	0,22 $\pm 0,08$	2,18 $\pm 0,08^*$	2,19 $\pm 0,08^*$	2,2 $\pm 0,08^*$	2,3 $\pm 0,08^*$	1,67 $\pm 0,1$	1,7 $\pm 0,1$	0,22 $\pm 0,07$	0,23 $\pm 0,07$	0,15 $\pm 0,05$
	t=0 p=1.0		t=0.09 p=0.93		t=0.88 p=0.38		t=0.21 p=0.83		t=0.1 p=0.92		

${}^1t_{\text{до ЕЛК -1тиж}}=17.32, p=0.0000;$ ${}^1t_{\text{до ЕЛК -1міс}}=17.5, p=0.0000;$ ${}^1t_{\text{до ЕЛК -3 міс}}=11.32, p= 0.0000$ ${}^1t_{\text{до ЕЛК -6 міс}}=0, p=1.0.$ ${}^2t_{\text{до ЕЛК -1тиж}}=17.41, p=0.0000;$ ${}^1t_{\text{до ЕЛК -1міс}}=18.38, p=0.0000;$ ${}^1t_{\text{до ЕЛК -3 міс}}=11.56, p= 0.0000$ ${}^1t_{\text{до ЕЛК -6 міс}}=0.09, p=0.93.$	${}^1t_{\text{до ЕЛК}}=0.74, p=0.46;$ ${}^1t_{\text{1тиж}}=21.52;p=0.0000$ ${}^1t_{\text{1міс}}=21.73; p=0.0000$ ${}^1t_{\text{3міс}}=13.60; p=0.0000$ ${}^1t_{\text{6міс}}=0.81; p=0.42$ ${}^2t_{\text{до ЕЛК}}=0.74,p=0.46;$ ${}^2t_{\text{1тиж}}=21.62; p=0.0000$ ${}^2t_{\text{1міс}}=22.79; p=0.0000$ ${}^2t_{\text{3міс}}=13.86; p=0.0000$ ${}^1t_{\text{6міс}}=0.93; p=0.35$	
---	--	--

Примітка:  ${}^1t$  – t-критерій Стьюдента у пацієнтів, яким виконано LASIK за технологією «Thinflap»;

${}^2t$  – t-критерій Стьюдента у пацієнтів, яким виконано Femto LASIK за технологією «Thinflap»;

\* – рівень значущості відмінностей у порівнянні з контрольною групою та з результатами до операції,  $p < 0,05$  між пацієнтами однієї групи, розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента

Як видно з табл 4.1, на доопераційному етапі ступінь профарбовування очної поверхні у пацієнтів основних груп був порівняно вищий, ніж в контрольній групі. Відмічається підвищення ступеню профарбовування поверхні ока через 1 тиждень, 1 і 3 місяці після проведення ЕЛК в обох групах спостереження, порівняно з показниками до операції. Через 6 місяців після проведення ЕЛК в обох групах відмічався регрес ступеню профарбовування очної поверхні. Не зафіксовано статистично значимої різниці в результатах між основними групами спостереження. Профарбування флуоресцеїном можна розцінювати як доказ пошкодження епітелію внаслідок розвитку ССО.

Динаміка показників вимірювання іррегулярності рогівки (СІМ) до операції, через 1 тиждень, 1, 3, 6 місяців після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) та в контрольній групі представлені в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

Динаміка показників вимірювання іррегулярності рогівки (СІМ) за кератопографією до операції, через 1 тиждень, 1, 3, 6 місяців після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) та в контрольній групі (мкм,  $M \pm m$ ).

	До ЕЛК		1 тиждень після ЕЛК		Через 1 місяць після ЕЛК		Через 3 місяці після ЕЛК		Через 6 місяців після ЕЛК		Контрольна група
	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	
CIM (Corneal Irregularity Measurement)	1,43 + 0,07	1,45 + 0,06	1,61 + 0,08	1,62 + 0,09	1,63 + 0,1	1,65 + 0,1	1,64 + 0,15	1,65 + 0,13	1,638 + 0,13	1,649 + 0,14	0,56±0,05
	t=0,22 p=0,83		t=0,08 p=0,93		t=0,14 p=0,89		t=0,05 p=0,96		t=0,05 p=0,96		
	$^1t_{\text{до ЕЛК -1тиж}}=1.69, p=0.09;$ $^1t_{\text{до ЕЛК -1міс}}=1.64, p=0.1;$ $^1t_{\text{до ЕЛК -3 міс}}=1.27, p= 0.2;$ $^1t_{\text{до ЕЛК -6 міс}}=1.42, p=0.16.$ $^2t_{\text{до ЕЛК -1тиж}}=1.57, p=0.12;$ $^2t_{\text{до ЕЛК -1міс}}=1.71, p=0.09;$ $^2t_{\text{до ЕЛК -3 міс}}=1.4, p= 0.17;$ $^2t_{\text{до ЕЛК -6 міс}}=1.31, p=0.19.$					$^1t_{\text{до ЕЛК}}=10.11, p=0.0000;$ $^1t_{\text{1тиж}}=11.13; p=0.0000$ $^1t_{\text{1міс}}=9.57; p=0.0000$ $^1t_{\text{3міс}}=6.83; p=0.0000$ $^1t_{\text{6міс}}=7.75; p=0.0000$ $^2t_{\text{доЕЛК}}=11.4, p=0.0000;$ $^2t_{\text{1тиж}}=10.3; p=0.0000$ $^2t_{\text{1міс}}=9.75; p=0.0000$ $^2t_{\text{3міс}}=7.83; p=0.0000$ $^2t_{\text{6міс}}=7.33; p=0.0000$					

Примітка:  $^1t$  – t-критерій Стьюдента у пацієнтів, яким виконано LASIK за технологією «Thinflap»;



продовження табл. 4.3

Товщина епітелію в зоні 2 мм	50,1 ± 1,2	50,3 ± 1,3	51,5 ± 1,3	51,7 ± 1,2	55,1 ± 1,4	55,3 ± 1,6	57,1 ± 2,3	57,3 ± 2,1	57,2 ± 2,2	57,35 ± 2,2	53,1 ± 1,2
	t=0.11 p=0.91		t=0.11 p=0.91		t=0.09 p=0.93		t=0.06 p=0.95		t=0.05 p=0.96		
	<sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -1тиж</sub> =0.79, p=0.43; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -1міс</sub> =2.71, p=0.008; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -3 міс</sub> =2.7, p= 0.08; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -6 міс</sub> =2.83, p=0.005. <sup>2</sup> t <sub>до ЕЛК -1тиж</sub> =0.79, p=0.43; <sup>2</sup> t <sub>до ЕЛК -1міс</sub> =2.43, p=0.02; <sup>2</sup> t <sub>до ЕЛК -3 міс</sub> =2.83, p= 0.005; <sup>2</sup> t <sub>до ЕЛК -6 міс</sub> =2.78, p=0.006.					<sup>*</sup> 1t <sub>до ЕЛК</sub> =1.77, p=0.08; <sup>1</sup> t <sub>1тиж</sub> =0.9, p=0.37; <sup>1</sup> t <sub>1міс</sub> =1.08, p=0.28; <sup>1</sup> t <sub>3 міс</sub> =1.54, p= 0.13; <sup>1</sup> t <sub>6 міс</sub> =1.64, p=0.1. <sup>2</sup> t <sub>до ЕЛК</sub> =1.58, p=0.12; <sup>2</sup> t <sub>1тиж</sub> =0.82, p=0.41; <sup>2</sup> t <sub>1міс</sub> =1.1, p=0.27; <sup>2</sup> t <sub>3 міс</sub> =1.74, p= 0.08; <sup>2</sup> t <sub>6 міс</sub> =1.7, p=0.09.					

Примітка: <sup>1</sup>t – t-критерій Стьюдента у пацієнтів, яким виконано LASIK за технологією «Thinflap»;

<sup>2</sup>t – t-критерій Стьюдента у пацієнтів, яким виконано Femto LASIK за технологією «Thinflap»;

\* – рівень значущості відмінностей у порівнянні з контрольною групою та з результатами до операції, p<0,05 між пацієнтами однієї групи, розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента

Як видно з табл 4.3 відмічається статистично значима різниця між результатами основних груп спостереження і контрольною. Зфіксовано статистично значиме збільшення товщини епітелію рогівки в 2 мм зоні через 1 місяць після операції в обох основних групах, порівняно з контролем і з доопераційними даними. На термінах 3 і 6 місяців післяопераційного спостереження також відмічалось статистично значиме зростання товщини епітелію в обох основних групах спостереження.



Динаміка показників товщини епітелію рогівки в 5 мм зоні за AS-OCT до операції, через 1 тиждень, 1, 3, 6 місяців після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) та в контрольній групі представлені в табл 4.4.

Таблиця 4.4

Динаміка показників товщини епітелію рогівки в 5 мм зоні за AS-OCT до операції, через 1 тиждень, 1, 3, 6 місяців після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) та в контрольній групі (мкм,  $M \pm m$ ).

	До ЕЛК		1 тиждень після ЕЛК		Через 1 місяць після ЕЛК		Через 3 місяці після ЕЛК		Через 6 місяців після ЕЛК		Контроль
	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	
Товщина епітелію в зоні 5 мм	51,1 <sub>±1,1</sub>	51,2 <sub>±1,15</sub>	52,5 <sub>±1,2</sub>	52,8 <sub>±1,2</sub>	56,1 <sub>±1,5</sub>	56,4 <sub>±1,4</sub>	58,2 <sub>±2,1</sub>	58,5 <sub>±2,0</sub>	58,3 <sub>±2,2</sub>	58,52 <sub>±2,15</sub>	54,1 <sub>±1,3</sub>
	t=0.13 p=0.9		t=0.18 p=0.86		t=0.15 p=0.88		t=0.1 p=0.92		t=0.03 p=0.97		
	<sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -1тиж</sub> =0.92, p=0.36; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -1міс</sub> =2.74, p=0.007; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -3 міс</sub> =3.04, p= 0.003; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -6 міс</sub> =2.97,p=0.004. <sup>2</sup> t <sub>до ЕЛК -1тиж</sub> =0.96, p=0.34; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -1міс</sub> =2.87, p=0.005; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -3 міс</sub> =3.16, p= 0.002; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -6 міс</sub> =3.0, p=0.003.					<sup>*</sup> 1t <sub>до ЕЛК</sub> =1.82, p=0.07; <sup>1</sup> t <sub>1тиж</sub> =0.9, p=0.37; <sup>1</sup> t <sub>1міс</sub> =1.01, p=0.31; <sup>1</sup> t <sub>3 міс</sub> =1.66, p= 0.09; <sup>1</sup> t <sub>6 міс</sub> =1.64, p=0.1. <sup>2</sup> t <sub>до ЕЛК</sub> =1.67, p=0.1; <sup>2</sup> t <sub>1тиж</sub> =0.73, p=0.46; <sup>2</sup> t <sub>1міс</sub> =1.2, p=0.23; <sup>2</sup> t <sub>3 міс</sub> =1.84, p= 0.07; <sup>2</sup> t <sub>6 міс</sub> =1.76, p=0.08.					



продовження табл. 4.5

Товщина епітелію в зоні 5-7 мм	57 ±1,0	57,1 ±1,2	58 ±1,3	58,2 ±1,2	58 ±1,7	58,2 ±1,6	60 ±1,9	60,2 ±2,0	60,1 ±2,3	60,25 ±2,2	53,1 ±1,2
	t=0.06 p=0.95		t=0.11 p=0.91		t=0.09 p=0.93		t=0.07 p=0.94		t=0.05 p=0.96		
	<sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -1тиж</sub> =0.61, p=0.54; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -1міс</sub> =0.51, p=0.61; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -3 міс</sub> =1.4, p= 0.16; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -6 міс</sub> =1.24, p=0.22. <sup>2</sup> t <sub>до ЕЛК -1тиж</sub> =0.65, p=0.52; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -1міс</sub> =0.55, p=0.58; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -3 міс</sub> =1.33, p= 0.19; <sup>1</sup> t <sub>до ЕЛК -6 міс</sub> =1.26, p=0.21.					<sup>*</sup> 1t <sub>до ЕЛК</sub> =0.73, p=0.47; <sup>1</sup> t <sub>1тиж</sub> =0.11, p=0.9; <sup>1</sup> t <sub>1міс</sub> =0.09, p=0.93; <sup>1</sup> t <sub>3 міс</sub> =0.78, p= 0.44; <sup>1</sup> t <sub>6 міс</sub> =0.72, p=0.47. <sup>2</sup> t <sub>до ЕЛК</sub> =0.62, p=0.54; <sup>2</sup> t <sub>1тиж</sub> =0, p=1.0; <sup>2</sup> t <sub>1міс</sub> =0, p=1.0; <sup>2</sup> t <sub>3 міс</sub> =0.84, p= 0.4; <sup>2</sup> t <sub>6 міс</sub> =0.8, p=0.42.					

Примітка: <sup>1</sup>t – t-критерій Стюдента у пацієнтів, яким виконано LASIK за технологією «Thinflap»;

<sup>2</sup>t – t-критерій Стюдента у пацієнтів, яким виконано Femto LASIK за технологією «Thinflap»;

\* – рівень значущості відмінностей у порівнянні з контрольною групою та з результатами до операції, p<0,05 між пацієнтами однієї групи, розрахований за допомогою t-критерію Стюдента

Як видно в табл 4.5 товщина епітелію в обох основних групах спостереження статистично значимо зросла через 1, 3 і 6 місяців після ЕЛК міопії, порівняно з даними до операції та контрольною групою.

За результатами на ших досліджень, представлених в табл 4.3, 4.4, 4.5, можна відмітити різницю в товщині епітелію між основними групами і контрольною. Товщина епітелію була менша у пацієнтів з міопією, ніж в контрольній групі. Також ми відмітили збільшення товщини епітелію післяоперації в обох групах дослідження порівняно з доопераційними даними

і з контрольною групою. Найбільші зміни фіксувались через 1 місяць після операції у пацієнтів обох основних груп спостереження. З третього місяця спостереження товщина епітелію у всіх ділянках статистично значуще не змінювалась в обох основних групах. Потовщення епітелію більшою мірою відбувалось в центральній ділянці, ніж на периферії рогівки. Статистично значимої різниці в динамічних змінах товщини епітелію між зоною в 2 мм і 5 мм зоною не відмічалось в обох основних групах спостереження.

Динаміка показників маніфестної рефракції через 1 тиждень, 1, 3, 6 місяців після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) та в контрольній групі представлені в табл 4.6.

Таблиця 4.6

Динаміка показників маніфестної рефракції через 1 тиждень, 1, 3, 6 місяців після проведення ЕЛК міопії методами LASIK (1 група) та FemtoLASIK (2 група) та в контрольній групі (D, M±m).

	1 тиждень після ЕЛК		Через 1 місяць після ЕЛК		Через 3 місяці після ЕЛК		Через 6 місяців після ЕЛК	
	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група	1 група	2 група
Маніфестна рефракція	0,12 ±0,05	0,11 ±0,05	0,1 ±0,05	0,12 ±0,05	0,11 ±0,08	0,12 ±0,08	0,12 ±0,1	0,11 ±0,09
	t=0.14 p=0.89		t=0.28 p=0.78		t=0.09 p=0.93		t=0.07 p=0.94	

Примітка: t – t-критерій Стьюдента у пацієнтів, яким виконано LASIK (1 група) та FemtoLASIK за технологією «Thinflap» (2 група);

\* – рівень значущості відмінностей у порівнянні з результатами в різний термін після операції,  $p < 0,05$  між пацієнтами різних груп, розрахований за допомогою t-критерію Стьюдента.

Як видно з даних таблиці 4.6, у пацієнтів основних груп не відмічалось статистично значущої різниці показників між результатами на різних термінах після операційного спостереження та між основними групами дослідження.

#### Резюме до розділу 4

В результаті проведених нами досліджень був встановлений зв'язок між персистуючим ССО і регресом рефракційного результату після ЕЛК міопії. У 10,7% випадків регресу рефракційного результату після ЕЛК міопії були зафіксовані ознаки персистуючого ССО. Потовщення епітелію в центрі рогівки після ЕЛК у пацієнтів, які мали персистуючий ССО, було більше на 37,5%, ніж у пацієнтів без ССО, що фіксувалось на картах товщини епітелію рогівки за результатами AS-OCT протягом всього терміну спостереження.

Встановлено, що середні значення товщини епітелію рогівки, за даними AS-OCT, менші у пацієнтів з міопією на 6,4%, ніж при відсутності аномалій рефракції. Кератотопографічні дані за показником СІМ виявляють нерегулярний астигматизм при ССО, який в свою чергу спричинює зниження якості зору, і пов'язані зі змінами товщини епітелію, рефракційним регресом після ЕЛК міопії.

Встановлено, що при персистуючому ССО ознаками пошкодження епітелію рогівки і взаємозв'язку його гіперплазії з рефракційним регресом після ЕЛК міопії було профарбовування флуоресцеїном поверхні рогівки, кератотопографічні дані, а також карти товщини епітелію рогівки за даними AS-OCT.

**Розділ висвітлено в матеріалах публікацій**

1. [227] Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Бушуєва О.В. Персистуючий синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії та віддалені функціональні результати. Офтальмологічний журнал. 2023;(1):19–26. doi.org/10.31288/oftalmolzh202311926
2. [228] Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Синдром сухого ока як ускладнення ексимерлазерної корекції у ранні та віддалені терміни післяопераційного спостереження Науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`22» (Київ, Україна 2022 р.) с 58-60.
3. [229] Жовтоштан М.Ю. Ексимерлазерна корекція міопії та синдром сухого ока: віддалені терміни післяопераційного спостереження. Науково-практична онлайн конференція з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 4.0» (30.05.2022р.). doi: 10.5281/zenodo.6814418 с 84-85.
4. [230] Жовтоштан М. Ю., Могілевський С. Ю., Усенко К. О. Вплив різних видів ексимерлазерної корекції міопії на розвиток і прогресування синдрому сухого ока Науково-практична конференція дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити. 2022 Чер 11; Київ. 2022, с. 20-21.
5. [231] Zhovtoshtan M. Evaluation of the corneal epithelium changes due to persistent DES after ELC of myopia by LASIK and Femto-LASIK methods using epithelial maps performed on AS-OCT, RMS of total HOA according to the results of corneal topography, and their relationship with refractive regression. 14<sup>th</sup> EUCornea 26-28 May 2023 in Barcelona.
6. [254] Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Зміни маніфестної рефракції та показників кератотопографії внаслідок персистуючого синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 199-201.

7. [255] Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Гіперплазія епітелію рогівки при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії: вплив на рефракційний результат. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 201-204.



## РОЗДІЛ 5

### **ЕКСПРЕСІЯ мікроРНК ТА ВМІСТ ТРАНСФОРМУЮЧОГО ФАКТОРУ РОСТУ- $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2) У СЛІЗНІЙ РІДИНІ ПРИ СИНДРОМІ СУХОГО ОКА ПІСЛЯ ЕКСИМЕРЛАЗЕРНОЇ КОРЕКЦІЇ МІОПІЇ**

#### **5.1 Експресія мікроРНК miR-146a-5p і miR-450b-5p та вміст трансформуючого фактору росту- $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2)**

Останнім етапом нашого дослідження було встановлення нових патогенетичних чинників розвитку та прогресування синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії.

У останніх опублікованих клінічних дослідженнях вказано про можливість залучення у процесі виникнення ССО мікроРНК (miR). Як відомо, це регуляторні молекули, які задіяні в таких процесах як метаболізм, запалення, гомеостаз, тощо [235, 236]. Також є дані, що TGF- $\beta$  та його рецептори відіграють важливу роль у спрямуванні місцевих запальних реакцій епітеліальних клітин очної поверхні і, у тому числі, при ССО [244].

Тому у нашому дослідженні ми визначали експресію мікроРНК miR-146a-5p і miR-450b-5p та вміст трансформуючого фактору росту- $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2) у сльозі пацієнтів та оцінювали їх вплив на розвиток ССО після операції.

Оскільки за попередніми нашими дослідженнями частота виникнення ССО не залежала від конкретного методу ЕЛК, то в подальшому порівняльний аналіз експресії мікроРНК та вмісту TGF- $\beta$ 2 у сльозі пацієнтів було проведено за наявності або відсутності ССО через 6 місяців після втручання та у пацієнтів контрольній групі [206, 227].

Експресію miR-146a-5p і miR-450b-5p та вміст TGF- $\beta$ 2 у сльозній рідині пацієнтів до операції в залежності від наявності ССО через 6 місяців лікування представлено в табл. 5.1

Таблиця 5.1

Експресія miR-146a-5p і miR-450b-5p та вміст TGF- $\beta$ 2 у слюзній рідині пацієнтів до операції в залежності від наявності ССО через 6 місяців лікування

Показник	Контроль	ССО-	ССО+	p
miR-146a-5p, ум.од.	1,5 (1,33–1,90) <sup>3</sup>	1,47 (1,30–1,62) <sup>3</sup>	0,42 (0,35–0,54) <sup>1,2</sup>	<0,001
miR-450b-5p, ум.од.	1,15 $\pm$ 0,21 <sup>3</sup>	1,41 $\pm$ 0,29 <sup>3</sup>	2,88 $\pm$ 0,34 <sup>1,2</sup>	<0,001
TGF- $\beta$ 2, пг/мл	2117 $\pm$ 396	2261 $\pm$ 74 <sup>3</sup>	1398 $\pm$ 323 <sup>2</sup>	0,01

Примітки: ССО- – пацієнти без ССО; ССО+ – пацієнти з ССО через 6 місяців після ЕЛК міопії; у випадку нормального закону розподілу представлено середнє значення показника  $\bar{X}$  та стандартне відхилення ( $\pm$ SD), у випадку закону розподілу відмінного від нормального представлено медіана (Me) та міжквартильний інтервал. Для порівняння використано ANOVA або критерій Крускала-Уолліса, відповідно; постеріорні порівняння проводились за методом множинних порівнянь:

<sup>1</sup>– відмінність від контролю статистично значуща,  $p < 0,05$ ;

<sup>2</sup>– відмінність від ССО- статистично значуща,  $p < 0,05$ ;

<sup>3</sup>– відмінність від ССО+ статистично значуща,  $p < 0,05$ .

Відносна експресія miR-146a-5p у слюзній рідині пацієнтів без ССО (ССО-), зайого наявності (ССО+) та у контрольній групі представлена на рис. 5.1

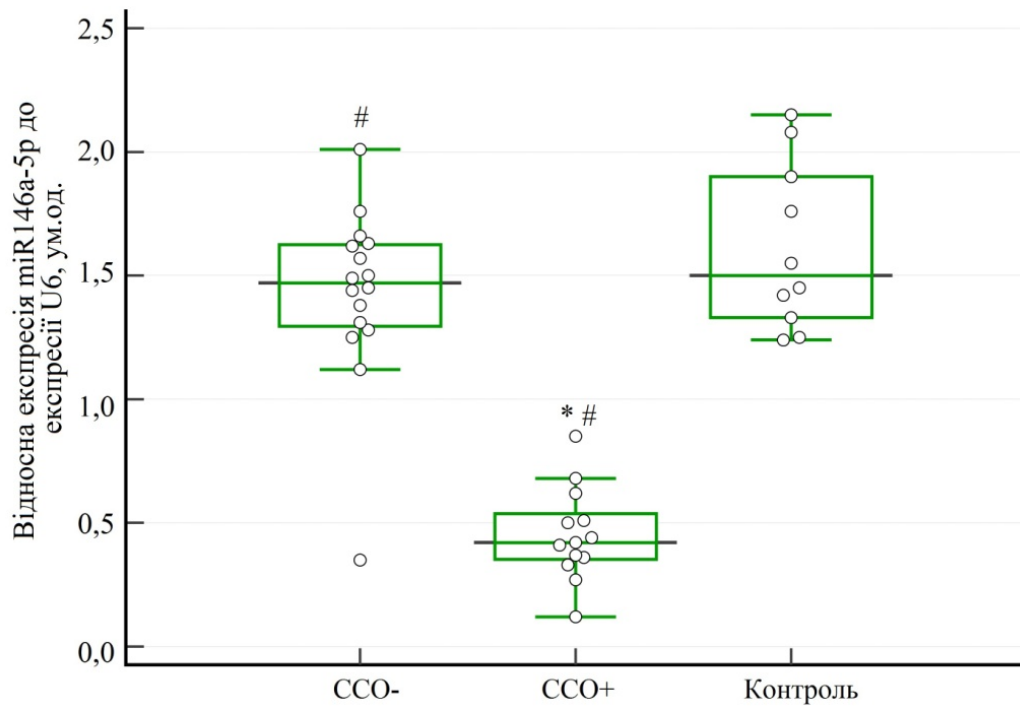


Рис 5.1 Відносна експресія miR-146a-5p у слюзній рідині пацієнтів без ССО (CCO-), за його наявності (CCO+) та у контрольній групі (ум.од. до експресії U6). \* –  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем; # –  $p < 0,05$  у порівнянні між групами.

Визначення експресії miR-146a-5p у слюзі пацієнтів з наявністю ССО через 6 місяців після ЕЛК була статистично значуще (у 3,6 рази;  $p < 0,001$ ) зменшена у порівнянні з контролем та пацієнтами, в яких ССО не виникло (рис. 5.1). Різниця між контролем та даними пацієнтів без ССО за експресією miR-146a-5p виявлено не було ( $p > 0,05$ ).

Відносна експресія miR-450b-5p у слюзній рідині пацієнтів без ССО (CCO-), за його наявності (CCO+) та у контрольній групі представлена на рис 5.2

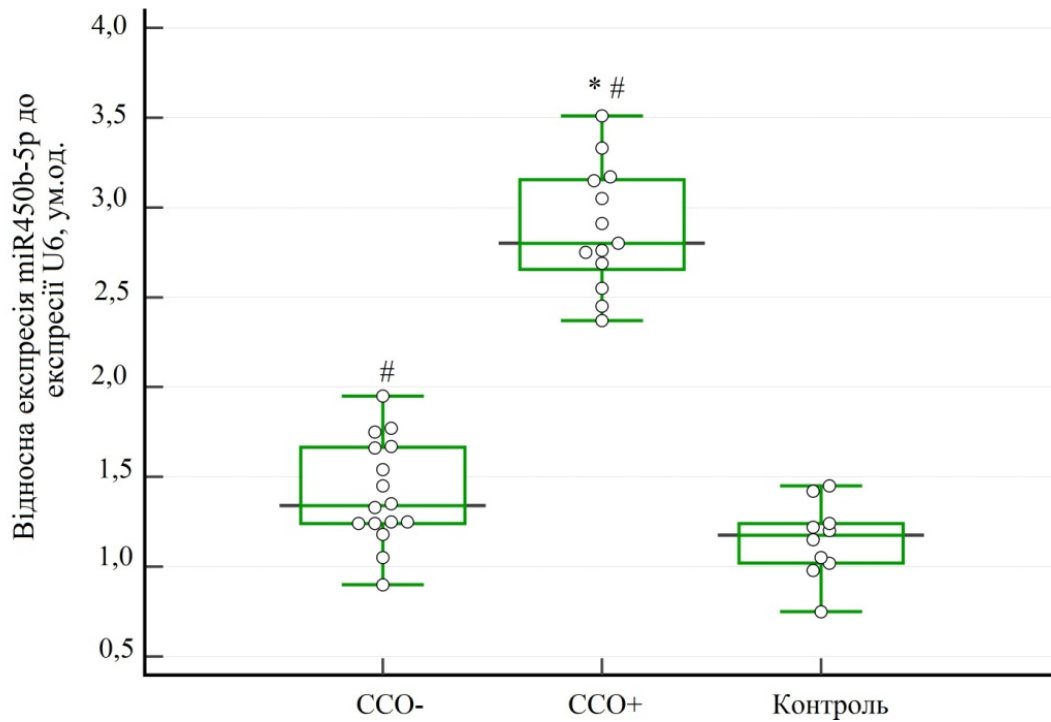


Рис 5.2 Відносна експресія miR-450b-5p у сльозній рідині пацієнтів без ССО (CCO-), за його наявності (CCO+) та у контрольній групі (ум.од. до експресії U6). \* –  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем; # –  $p < 0,05$  у порівнянні між групами.

Експресія miR-450b-5p у пацієнтів мала тенденцію до збільшення (рис. 5.2), що набувало статистичної значущості за наявності ССО – показник перевищував такий у контрольній групі (у 2,5 рази;  $p < 0,001$ ).

При порівнянні пацієнтів за наявності ССО також була виявлена статистично значуща різниця: експресія miR-450b-5p був вищим з наявністю ССО, ніж без такого (у 2,0 рази;  $p < 0,001$ ).

Вміст TGF- $\beta$ 2 у сльозній рідині пацієнтів без ССО (CCO-), за його наявності (CCO+) та у контрольній групі (пг/мл) представлено на рис 5.3

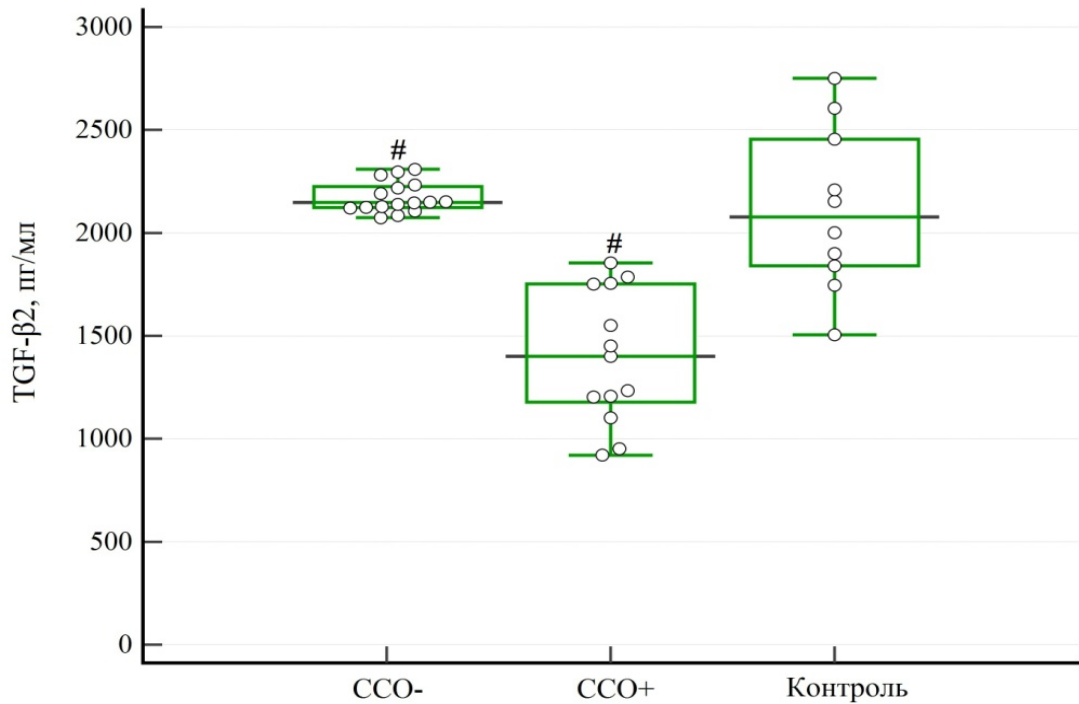


Рис 5.3 Вміст TGF- $\beta$ 2 у слюзній рідині пацієнтів без ССО (ССО-), за його наявності (ССО+) та у контрольній групі (пг/мл). \* –  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем; # –  $p < 0,05$  у порівнянні між групами.

Вміст TGF- $\beta$ 2 у слюзній рідині пацієнтів (рис. 5.3) за наявністю ССО був статистично значуще зниженим у порівнянні з пацієнтами без ССО (у 1,6 рази;  $p < 0,01$ ). Різниця з контролем для обох груп не була статистично значущою ( $p > 0,05$ ).

Вміст у слюзній рідині TGF- $\beta$ 2 у пацієнтів також було нами вивчено й у динаміці спостереження після ЕЛК. У ході виконання цього фрагменту вміст TGF- $\beta$ 2 було оцінено у пацієнтів до проведення ЕЛК (окремо по пацієнтам, які мали ССО та які його не мали) й через 6 місяців після ЕЛК міопії (рис. 5.4).

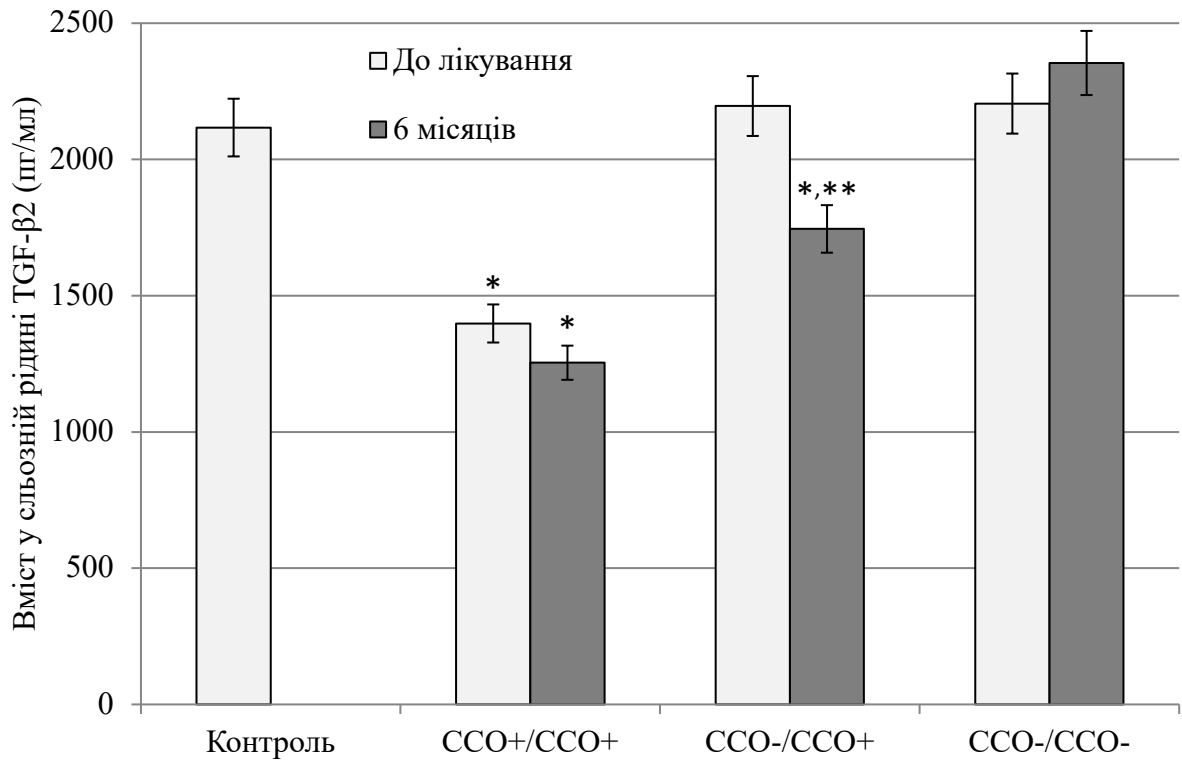


Рис 5.4 Вміст у сльозній рідині TGF-β2 (пг/мл) в контролі та у пацієнтів за наявності ССО до лікування та через 6 місяців після ЕЛК міопії.

Примітки: ССО+/ССО+ – пацієнти з наявністю ССО до та після лікування;  
 ССО-/ССО+ – пацієнти з відсутністю ССО до лікування, в яких через 6 місяців ССО був діагностованим;  
 ССО-/ССО+ – пацієнти з відсутністю ССО до лікування, в яких через 6 місяців був діагностований ССО;

\* –  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем;

\*\* –  $p < 0,05$  у порівнянні з рівнем до лікування у відповідній групі

Як раніше було встановлено, у 10% пацієнтів, що прийняли участь у дослідженні, ССО був діагностований ще до проведення операції ЕЛК. Як виявилось у всіх цих пацієнтів ССО зберігся й через 6 місяців після проведення ЕЛК міопії. Як показано на рис. 5.4 (група ССО+/ССО+), вміст у сльозній рідині TGF-β2 у цих пацієнтів був значно зниженим як до, так і після лікування (відповідно, у 1,51 та у 1,69 рази порівняно з контролем;  $p < 0,05$  для обох

порівнянь).

Натомість у пацієнтів, в яких ССО був діагностований через 6 місяців спостереження (10%; див. рис. 5.4 група ССО-/ССО+) вміст у слюзній рідині TGF- $\beta$ 2 на цей термін був статистично значуще зниженим: у 1,21 рази порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ) та у 1,26 рази порівняно з рівнем у таких пацієнтів до операції ( $p < 0,05$ ).

У переважної більшості пацієнтів ССО не було виявлено як до операції, так і через 6 місяців спостереження. Вміст у слюзній рідині TGF- $\beta$ 2 у цих пацієнтів (див. рис. 5,4 група ССО-/ССО-) фактично не змінювався у порівнянні з контролем ( $p > 0,05$ ).

Отримані дані ще раз підтвердили вже виявлену чітку залежність зниження у слюзній рідині вмісту TGF- $\beta$ 2 і розвитку ССО як до, так і через 6 місяців після лікування.

## **5.2 Прогнозування ризику виникнення ССО за експресією мікроРНК miR-146a-5p і miR-450b-5p та вмістом трансформуючого фактору росту- $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2)**

Отримані результати показали, що виникнення ССО через 6 місяців лікування було прямо пов'язано з доопераційною експресією miR-450b-5p та вмістом TGF- $\beta$ 2 у слюзній рідині. Зворотній зв'язок був виявлений з експресією miR-146a-5p.

Для виявлення зв'язку та прогностичної значущості досліджених показників було проведено аналіз ROC-кривих прогнозування ризику ССО.

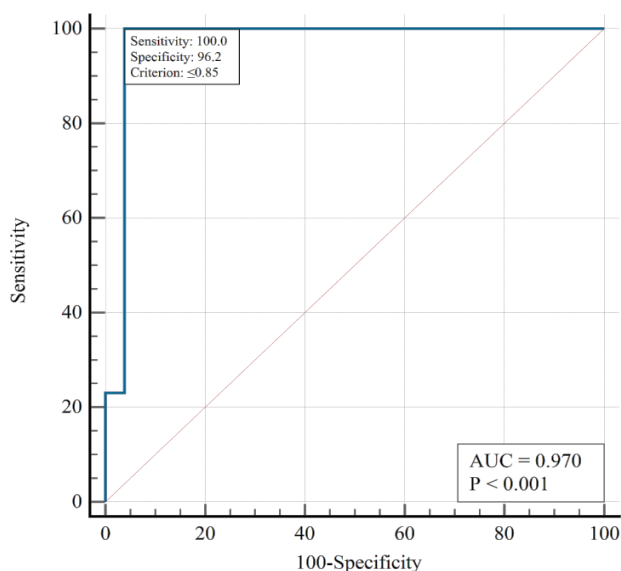


Рис 5.5. ROC-крива прогнозування ризику ССО за експресією miR-146a-5p

Ризик ССО показав дуже сильний зв'язок з експресією miR-146a-5p (див. рис. 5.5).

Площа під кривою операційних характеристик AUC=0,96 (95% ВІ 0,82 – 1,00). При виборі критичного порогу за Youden Index було отримано значення  $Y_{crit}=0,85$  (для рівня  $\leq 0,85$  прогнозується ССО); чутливість тесту склала 100% (95% ВІ 75,3% – 100%), специфічність тесту – 96,2% (95% ВІ 80,4% – 99,9%).

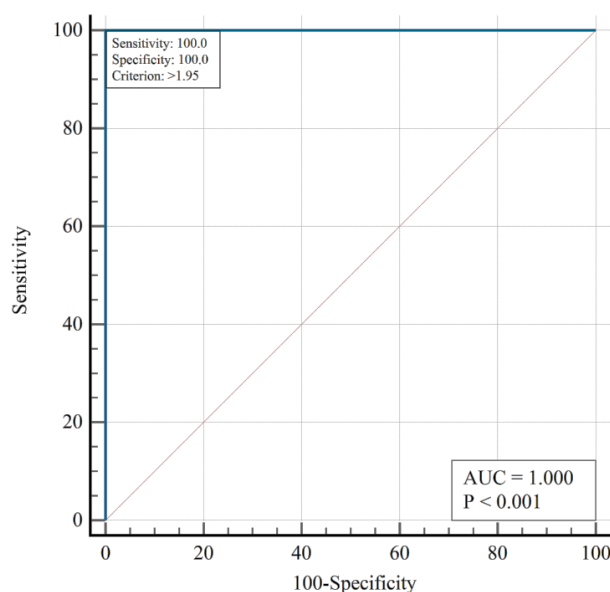


Рис 5.6. ROC-крива прогнозування ризику ССО за експресією miR-450b-5p.



Також сильний зв'язок з ризиком ССО мала експресія miR-450b-5p (див. рис. 5.6).

Площа під кривою операційних характеристик AUC=1,00. При виборі критичного порогу за Youden Index,  $Y_{crit}=1,95$  (для рівня  $>1,95$  прогнозується ССО); чутливість тесту складає 100% (95% ВІ 75,3% – 100%), специфічність тесту – 100% (95% ВІ 86,8% – 100%).

Межовий рівень TGF- $\beta$ 2 у слюзній рідині пацієнтів до виконання ЕЛК міопії, який прогнозує розвиток ССО (ССО+) через 6 місяців представлено на рис. 5.7.

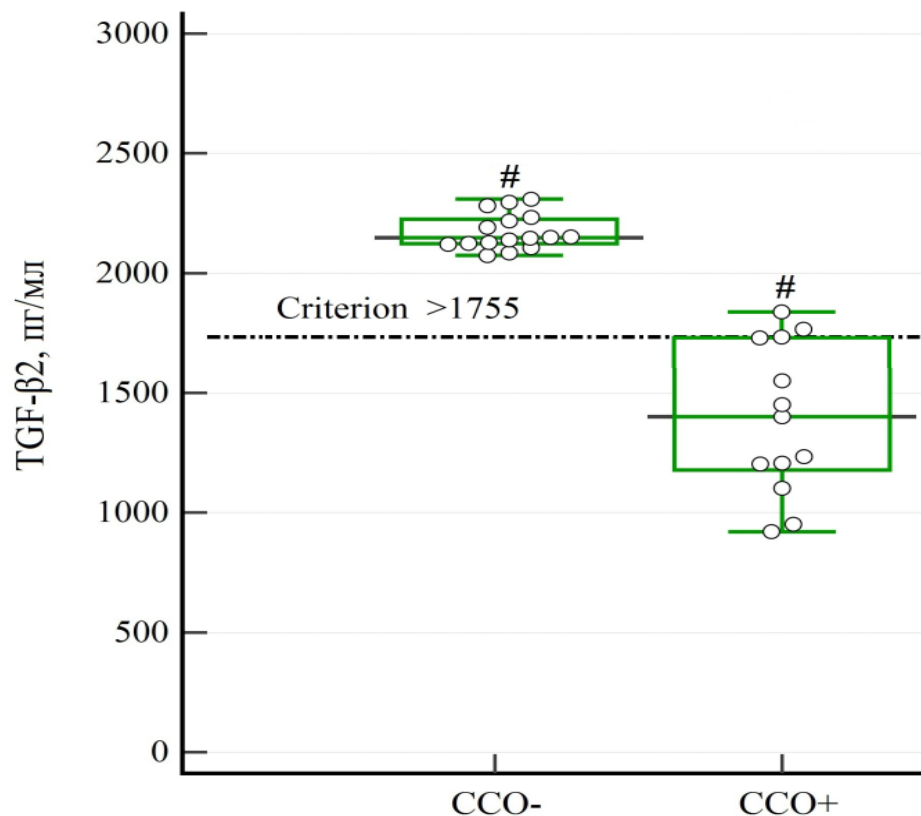


Рис 5.7 Межовий рівень TGF- $\beta$ 2 у слюзній рідині пацієнтів до виконання ЕЛК міопії, який прогнозує розвиток ССО (ССО+) через 6 місяців.

# –  $p < 0,05$  у порівнянні між групами.

При виборі межових значень вмісту TGF- $\beta$ 2 у сльозній рідині, рівень менший за 1755 пг/мл прогнозував розвиток ССО (рис. 5.7). Площа під кривою операційних характеристик цього тесту AUC=0,85 (95% ВІ 0,70 – 0,99), що свідчило про наявність зв'язку ризику ССО з рівнем TGF- $\beta$ 2. При виборі цього порогу чутливість тесту склала 76,9% (95% ВІ 46,2% – 95,0%), специфічність тесту – 92,3% (95% ВІ 74,9% – 99,1%).

Таким чином, було доведено визначальне значення рівня експресії обох мікроРНК у виникненні ССО через 6 місяців після ЕЛК міопії та визначено критичні пороги прогнозування ССО.

### Резюме до розділу 5

В результаті проведеного нами дослідження було встановлено, що експресія miR-146a-5p, визначена у сльозі пацієнтів до ЕЛК міопії, за наявності ССО через 6 місяців після лікування була суттєво (у 3,6 рази;  $p < 0,001$ ) зменшена у порівнянні з контролем та пацієнтами в яких ССО не виникло. Експресія miR-450b-5p, визначена у сльозі пацієнтів до ЕЛК міопії, була збільшеною за наявності ССО у 2,5 рази у порівнянні з контролем та у 2,0 рази у порівнянні з пацієнтами без ССО ( $p < 0,001$ ).

Вміст TGF- $\beta$ 2 у сльозі пацієнтів до ЕЛК міопії за наявності ССО був зменшеним у 1,6 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з пацієнтами, в яких ССО не було. Було доведено визначальне значення рівня експресії мікроРНК у виникненні ССО через 6 місяців після ЕЛК міопії. Критичний поріг виникнення ССО відносної експресії miR-146a-5p становив  $\leq 0,85$ , експресії miR-450b-5 –  $> 1,95$  ( $p < 0,001$ ), вмісту TGF- $\beta$ 2 – менше 1755 пг/мл.

**Розділ висвітлено в матеріалах публікацій**

1. [251] Зяблицев С.В., Жовтоштан М.Ю. Прогностична роль мікроРНК та TGF- $\beta$ 2 при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Архів офтальмології України. 2023; 11(2): 51-56. doi.org/10.22141/2309-8147.11.2.2023.329
2. [252] Zhovtoshtan M. miRNA expression TGF- $\beta$ 2 content as factors for prediction of dry eye syndrome after excimerlaser myopia correction II International Scientific and Practical Conference «Creation of new ideas of learning in modern conditions», Bordeaux, France (September 25-27, 2023) p.115-118.

## РОЗДІЛ 6

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Згідно з проведеним аналізом літератури міопія широко визнана важливою соціальною проблемою охорони здоров'я, оскільки є поширеною причиною втрати зору та фактором ризику для цілого ряду серйозних очних захворювань [2].

Відомо, що оптичні методи забезпечують тимчасову корекцію міопії і мають ряд недоліків. Хірургічні процедури розроблені, щоб назавжди виправити аномалії рефракції.

Метою рефракційної хірургії є безпечне та передбачуване створення стабільної та бажаної рефракції, не викликаючи нових оптичних проблем. На сьогодні ЕЛК вважається однією з найбезпечніших хірургічних процедур [7]. Ексимерлазерна корекція (ЕЛК) передбачає швидке відновлення зору, досягнення високих зорових функцій і відносно безболісне післяопераційне відновлення [5]. З моменту схвалення FDA (Food and Drug Administration) – 25 років тому – спостерігається постійне технологічне удосконалення методу, яке сприяє покращенню результатів [9]. Проведене FDA, дослідження PROWL (Symptoms and Satisfaction of Patients in the Patient-Reported Outcomes With Laser In Situ Keratomileusis Studies) показало високий рівень задоволеності зором після LASIK. Пацієнти, які були незадоволені зором склали від 1% до 4% усіх опитаних, а показник незадоволеності саме операцією був на рівні 1%-2% [87, 88]. Однак, певні ускладнення, характерні для LASIK, існують.

Синдром сухого ока (ССО) після ЕЛК аметропії виявляється у більшості пацієнтів в післяопераційному періоді, з поступовим регресом симптоматики. Є дані в літературі, що близько 20% пацієнтів мають ССО в строк понад 6 місяців після операції [97,191,200,225,226,228-230]. Відомо, що ССО – це мультифакторіальне захворювання поверхні ока, в якому порушення слізної плівки, гіперосмолярність, запалення та подразнення очної поверхні,

нейросенсорні порушення є етіологічними факторами [16, 192,193].

Склад слізної рідини, а саме гормонів і цитокінів, може бути більш інформативним у діагностиці та класифікації ССО, ніж діагностичні тести, які вимірюють об'єм або швидкість секреції сльози [167]. Гіперосмолярний стрес, як відомо, може спричиняти апоптоз і сприяти секреції прозапальних цитокінів [173, 148]. Ймовірно, що цитокіни виробляються слізною залозою у відповідь на запалення [167]. Ці фактори також можуть потрапляти в слізну рідину і викликати запалення очної поверхні. Фактори росту виконують різноманітні функції і розподіляються по всьому організму. У слізній залозі було виявлено EGF, FGF-2, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , HGF. У багатьох тканинах FGF-2 і TGF- $\beta$  мають зворотний функціональні відносини. FGF-2, що вивільняється у відповідь на пошкодження тканин, активує протеази, які функціонують у деградації молекул позаклітинного матриксу. TGF- $\beta$ , що вивільняється на пізніх стадіях відновлення тканин, інгібує протеази, стабілізуючи тим самим молекули позаклітинного матриксу [181]. За даними літератури, в декількох фізіологічних процесах і патофізіологічних процесах, а також в ССО відіграють роль microRNA [130].

На першому етапі ми оцінили вплив різних методів ЕЛК на розвиток ССО на ранніх і віддалених термінах спостереження.

Через місяць після ЕЛК міопії виявлено зростання частоти ССО в 4 рази в обох групах спостереження- до 42.7% у 1-й групі, до 40.9% у 2й групі.

Також нами було відмічено поступове зменшення частоти ССО в обох групах зі збільшенням терміну післяопераційного спостереження. На 3му місяці спостереження частота ССО знизилась на 34.5% у 1-й групі, на 33.2% у 2-й групі відносно даних попереднього післяопераційного огляду. Через 6 місяців частота ССО скоротилась на 38.7% у 1-й групі, на 40% у 2-й групі відносно даних спостереження через 3 місяці. Порівняно з післяопераційними результатами через 1 місяць, частота ССО зменшилась на 61.1% у 1-й групі і на 58.1% у 2-й групі.

Частота ССО через 1 рік статистично значимо не відрізнялась від показників отриманих у термін 6 місяців в обох групах [206, 225-230, 253].

Зафіксовано 10% пацієнтів з персистуючим ССО після ЕЛК, які не мали проявів ССО до операції. Таким чином питання ключового фактору, що індукує ССО, потребує подальшого вивчення [227].

Вважається, що ЕЛК за методом LASIK частіше ніж Photorefractive Keratectomy (PRK) викликає розвиток ССО [108]. Існує думка, що це пов'язано з пошкодженням нервових волокон, порушенням сенсорної іннервації рогівки, і, як наслідок, зниженням частоти моргань, також частково зі зниженням сльозопродукції та порушенням складу та стабільності слізної плівки [110, 116].

Підтвердженням механізму сенсорної денервації рогівки в розвитку ССО може бути точкова кератопатія – LASIK-індукована нейротрофічна епітеліопатія або LINE, коли уражений лише лоскут, а епітелій в ділянці перешийка залишається інтактним [110,201]. В розвитку LINE ключовими вважається NGF, субстанція Р, CGRP [193]. Але стандартний механізм розвитку ССО та LINE не є взаємовиключаючими в виникненні ССО після ексимерлазерної корекції зору. ССО поєднує один патофізіологічний механізм, де гіперосмолярність та каскад запальних реакцій утворюють замкнене коло [95].

Вважається, що ССО може клінічно проявлятися больовим синдромом, почервонінням, відчуттям стороннього тіла в оці, зниженням зору, точковою кератопатією на рогівковому клапті. Це співпадає з отриманими нами даними клінічних спостережень за пацієнтами з ССО після LASIK та FemtoLASIK.

У літературі існують дані, що персистуючий ССО після ЕЛК здатний викликати регрес рефракційного результату внаслідок гіперплазії епітелію та ремоделювання строми рогівки [181].

На противагу теорії нейротрофічного ятрогенного впливу методу LASIK та Femto LASIK на розвиток ССО існують інші клінічні дослідження. Є дані, що серед пацієнтів, яким було проведено PRK, майже 50% мають симптоми

сухості та відчуття стороннього тіла, а 20% - періодичний біль в очах і повіках, що може бути проявом субклінічних мікроерозій за рахунок поганої початкової адгезії клітин епітелію в післяопераційному періоді. Це підтверджено іншими експериментальними дослідженнями [194]. При пошкодженні епітелію вивільняються цитокіни, зокрема інтерлейкін-1 альфа (IL-1a) та FAS ligand, що можуть індукувати апоптоз кератиноцитів, підтримувати хронічне запалення та посилювати ССО [195-197].

Як відправна точка патологічного процесу ССО, гіперосмолярність сльози індукує каскад реакцій в клітинах епітелію очної поверхні, що залучає MAP кінази, сигнальні шляхи NF kb та спричинює секрецію IL1a, IL1b, IL2, які провокують зростання рівня інтерлейкінів IL6, IL8, а також TNF –a та протеаз - MMP9. Це пригнічує експресію муцинів глікокалікса, ініціюючи апоптоз клітин епітелію та пошкоджуючи бокаловидні клітини. Ураження бокаловидних клітин характерне для будь-якого типу ССО. Це в свою чергу впливає на експресію муцинів сльози. Зменшення експресії муцинів створює вплив на стабільність сльозної плівки та провокує скорочення часу розриву слізної плівки. Передчасний розрив слізної плівки між кліпаннями підвищує осмолярність сльози, тим самим замикаючи хибне коло [95, 157, 166, 168, 171-173, 179, 193, 194].

Результати проведеного нами дослідження збігаються з даними літератури [87, 190]. Визначення сухості ока за допомогою тестів, які вимірюють об'єм або швидкість секреції сльози може бути несуттєвим, але дослідження складу цитокінів і гормонів слізної рідини може бути більш актуальним у діагностиці та класифікації ССО.

Є дані, що поверхня рогівки формується внаслідок складної взаємодії між слізною плівкою, епітелієм і поверхневою стромою [202]. У пацієнтів з ССО виявляється нерегулярний астигматизм на топографічних картах рогівки, який часто пов'язаний зі значним зниженням якості зору. Повідомлялося про зростання значень середньоквадратичного відхилення (RMS) аберацій вищого порядку (НОА) у пацієнтів із ССО [231, 232, 233]. Попередні дослідження



показали, що високі значення аберацій вищого порядку (НОА) можуть спричиняти глер та гало ефекти [233]. Аномалії слізної плівки посилюють іррегулярність поверхні рогівки і пов'язані з пошкодженням епітеліальних клітин [204]. За даними літератури, ССО після ЕЛК може спровокувати міопічний регрес маніфестної рефракції за рахунок гіперплазії епітелію та ремоделювання строми рогівки [224].

В результаті проведених нами досліджень було встановлено наступне. Був відмічений зв'язок між персистуючим ССО, рефракційним регресом та збільшенням товщини епітелію рогівки в центрі. Показник СІМ за аналізом кератотопограм був вищий у тих пацієнтів з ССО, у яких були відмічені зміни товщини епітелію. Також у них виявлялось профарбовування флуоресцеїном поверхні рогівки, що можна розцінювати як доказ пошкодження епітелію. Іррегулярність поверхні рогівки за показником СІМ мала зв'язок з рефракційним регресом в обох основних групах спостереження [227, 254, 255].

Клінічні симптоми ССО, такі як подразнення очей, фотосенсибілізація та флюктуація зору, на нашу думку та за даними літератури, можуть бути ознакою пошкодження епітелію рогівки [211]. На ОСТ і кератотопограмі ми фіксували морфологічні зміни, які підтверджували пошкодження поверхневого шару рогівки при персистуючому ССО [227, 255]. Виходячи з цього, ми вважаємо, що пацієнтам з клінічними ознаками ССО до і після ЕЛК доцільно виконувати дослідження товщини епітелію та кератотопографію в динаміці протягом як найменше 6 місяців.

Слід зазначити, що дослідження топографії рогівки при ССО може виявити тонкі аномалії епітелію, які не обов'язково виявляються при дослідженні за допомогою біомікроскопії [182].

Що стосується оптичної когерентної томографії – безконтактного методу, що досить важливо після ЕЛК, то він дозволяє точно визначити товщину епітелію рогівки (СЕТ) завдяки високій аксіальній роздільній здатності [211]. Попередні дослідження повідомляли про хорошу повторюваність вимірювань товщини рогівки та епітелію за допомогою систем візуалізації ОСТ [212,213].

Нами було встановлено, що товщина епітелію рогівки у контрольній групі, що можна визначати як середньостатистичну, склала в центрі  $53,1 \pm 1,2$  мкм, на периферії  $58,2 \pm 1,3$  [227]. Отримані нами дані узгоджувались з результатами інших опублікованих клінічних досліджень. Епітелій в нормі має нерівномірний розподіл товщини по поверхні рогівки в межах від 48 до 60 мкм. Оптична сила епітелію становить  $1,03 D$  і  $0,85 D$  в центральній зоні діаметром 2 мм і 3,6 мм [210, 213, 214]. Є дослідження, де висвітлюється теоретичний розрахунок похибок рефракції відповідно до змін епітеліальних карт рогівки, значення коливаються між  $-1,32$  і  $+1,27 D$  [215]. Рейнштейн зі співавторами (2008 рік) вперше виконали аналіз карт епітеліального шару рогівки за допомогою ультразвукового приладу дуже високої частоти, відомого як Artemis. Вони визначили, що середня товщина епітелію рогівки, за винятком товщини слізної плівки (приблизно  $4,79 \pm 0,88$  мкм), становила в нормі  $53,4 \pm 4,6$  мкм [216].

AS-OCT є цінним методом для вимірювання товщини епітелію на очах після LASIK. За картуванням СЕТ можна отримати інформацію, чи є регрес міопії після ексимерлазерної корекції, спричинений гіперплазією епітелію або біомеханічними змінами рогівки внаслідок ССО [217, 218, 219]. Ми виявили, що середнє потовщення епітелію після LASIK фіксується в межах 5 мкм. У пацієнтів з персистуючим ССО потовщення епітелію в центрі складало  $7,9 \pm 0,25$  мкм. За даними літератури, раніше проводились дослідження, які також виявили, що відбуваються зміни товщини епітелію після рефракційних операцій, які можуть впливати на результат [220]. Це поширене явище, коли ділянки передньої поверхні, сплюснені лазерною абляцією, компенсуються епітеліальним ремоделюванням і потовщенням для підтримки оптичних властивостей рогівки після рефракційної хірургії [220, 221]. Є дані, що після виконання LASIK для корекції міопії епітелій центральних ділянок потовщувався на 5 мкм, відмічався міопічний рефракційний зсув на  $0,39 D$  [221]. Але не завжди потовщення епітеліального шару може призводити до міопічного рефракційного регресу, має значення потовщення епітелію саме в

центральных ділянках. В своєму дослідженні Канеллопулос (2014р.) виявив, що через рік після корекції короткозорості високого ступеню методом LASIK товщина епітелію у центральних областях зросла на 6 мкм, однак у середньо периферичних ділянках його товщина збільшилась приблизно на 10 мкм [222]. Пацієнти з хронічним ССО більш схильні до міопічного рефракційного регресу після ЕЛК, внаслідок гіперплазії епітелію рогівки [224].

Одним із найважливіших критеріїв оцінки результатів ЕЛК міопії є значення маніфестної рефракції. Цей показник визначається без попередньої інстиляції крапель для циклоплегії за допомогою ручного або автоматичного фороптера. За результатами нашого дослідження було виявлено 10,7% пацієнтів з рефракційним регресом в межах  $0,5 \pm 0,1$  D, у цих пацієнтів також були прояви ССО через 6 місяців після ЕЛК міопії та морфологічні зміни епітелію, за даними AS-OCT та кератопограм.

Для покращення результатів ЕЛК аметропії є актуальним визначення ранніх предикторів ССО [234]. Дослідження останніх років показали, що до механізмів виникнення ССО залучені мікроРНК (miR), які служать регуляторними молекулами в різних клітинних шляхах, таких як запалення, метаболізм, гомеостаз тощо [235; 236]. Загалом miR це група некодуючих РНК довжиною 18-25 нуклеотидів, які пригнічують експресію цільового гена шляхом деградації мРНК і інгібування трансляції [237]. miR-146a розташована у другому екзоні гена *LOC285628* на хромосомі 5 людини, є негативним регулятором імунної відповіді та пов'язана з патогенезом аутоімунних захворювань, таких як системний червоний вовчак, ревматоїдний артрит, синдром Шегрена [237]. У складі позаклітинних везикул слізних плівок пацієнтів з ССО виявлені miR, які були пов'язані із запаленням [238]. При цьому селективна регуляція експресії miR може бути новим варіантом для лікування хронічного запалення при ССО [239]. Показано, що miR-146a-5p, яка є ключовим регулятором запальної відповіді, також є перспективним цільовим геном для лікування ССО [240].

Іншою miR, яка може мати важливе значення у патогенезі ССО є

miR450b-5p, ген якої локалізований в екзоні q26.2 на хромосомі 10 [241]. Показано, що експериментальне підвищення регуляція miR-450b-5p блокувало прогресування гострої печінкової недостатності [242]. При ССО miR450b-5p діє через регуляцію трансформуючого фактора росту  $\beta 2$  (TGF- $\beta 2$ ), а з іншого боку показано, що TGF- $\beta 1$  є найпотужнішим інгібітором miR-450b-5p [243]. Крім того, TGF- $\beta$  та його рецептори відіграють важливу роль у спрямуванні місцевих запальних реакцій у епітеліальних клітинах поверхні ока і, у тому числі, при ССО [244].

Таким чином, окремою задачею нашого дослідження було вивчення експресії у сльозі мікроРНК (miR-146a-5p і miR450b-5p) та вмісту TGF- $\beta 2$  з вставленням їх прогностичної ролі при розвитку синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Варто зазначити, що нами не було знайдено опублікованих літературних джерел, які б висвітлювали значення експресії miR-146a-5p і miR-450b-5p, а також вмісту у сльозі TGF- $\beta 2$  для прогнозу ССО після ЕЛК міопії.

Відомо, що при ССО аномалія слізної рідини призводить до зниження стабільності слізної плівки, а до механізмів цього залучені мікроРНК [245]. Так, при ССО експресія miR-146a-5p, яка є ключовим регулятором запальної відповіді, негативно пов'язана з мРНК і вмістом рецептора інтерлейкіну-1 (IRAK1) [240]. При цьому IRAK1 мав позитивну кореляцію з прозапальними цитокінами (IL-6 і TNF- $\alpha$ ) та С-реактивним протеїном. Експресія IRAK1 опосередковується активацією Toll-подібних рецепторів (TLR) та сигнальними шляхами IL-1, які мають вирішальне значення для регуляції імунних реакцій та запальних процесів [246]. Ці результати узгоджуються з нашими дослідженнями, в яких визначено, що за наявності ССО експресія miR-146a-5p ще до операції значно зменшена. Більш того, показник її відносної експресії був визначальним прогностичним критерієм розвитку ССО після ЕЛК міопії.

Залежність розвитку ССО від шляху IRAK1/TAB2/NF- $\kappa B$  і аномальної експресії IL-4, IL-8, IL-10, IL-13, IL-17 і TNF- $\alpha$  була показана у мишачій моделі хвороби сухого ока, спричиненої випаровуванням [247, 248].

На відміну від ССО, у периферичних мононуклеарних клітинах крові пацієнтів із первинним синдромом Шегрена рівень експресії miR-146a був значно підвищений і позитивно корелював із показниками сухості в роті, сухості очей і набряку привушної залози [249], а також активації Т-хелперів 17 (Th17) [250]. На нашу думку, це могло віддзеркалювати втручання інших регуляторів запалення при аутоімунних захворюваннях, а з іншого боку, підтвердило модулюючий характер регуляції мікроРНК на патологічні процеси [235].

Фактори сімейства TGF є найпотужнішими інгібіторами реакцій імунної системи, що має значення при пухлинному рості [243]. На прикладі міогенної диференціації рабдоміосаркоми (RMS) було показано, що деякі мікроРНК пов'язані з TGF і серед них miR-450b-5p значною мірою регулюється TGF- $\beta$ 1.

При дослідженні сльози 138 пацієнтів із ССО та 138 здорових осіб було встановлено, що концентрація miR-450b-5p була значно вищою у пацієнтів із ССО, що супроводжувалося зниженням вмісту TGF- $\beta$ 2 [241]. Математична модель, яка поєднувала вміст miR-450b-5p, miR-1283, miR-3671 і TGF- $\beta$ 2 мала задовільні характеристики прогнозу ССО (AUC=0,907, 95% ВІ 0,876–0,939;  $P < 0,001$ ) з чутливістю і специфічністю 77,7% і 92,7%, відповідно. Ці результати, в цілому, відповідають таким, що отримані у нашому дослідженні та висвітлюють значення мікроРНК у розвитку ССО [251, 252].

Отже, дослідження факторів ризику, етіології та патогенезу ускладнень ЕЛК, а саме синдрому сухого ока в післяопераційному періоді є актуальним і своєчасним та сприятиме покращенню найближчих та віддалених результатів операції.

Аналізуючи дані, отримані в результаті нашого дослідження, можна констатувати, що ЕЛК впливає на розвиток ССО в післяопераційному періоді. Слід зазначити, що цей вплив більшою мірою був тимчасовим і спостерігався в ранні терміни - через 1 і 3 місяці після втручання. Також нами була виявлена тенденція до поступового регресу проявів ССО в обох групах спостереження. Окрім того, ми виявили відсоток випадків, у яких зберігався ССО у термін 6

місяців спостереження після ЕЛК міопії, при цьому до операції ССО не був у них діагностований.

Зараз науковці продовжують вивчати механізми змін рефракції внаслідок пошкодження епітелію при персистуючому ССО після ЕЛК [214, 218, 224, 227, 231]. В результаті проведених нами досліджень було доведено вплив персистуючого ССО на рефракційний результат після виконання ЕЛК міопії різними методами, а також деталізовано характерні для нього структурні зміни епітелію рогівки за допомогою вивчення карт епітелію рогівки за результатами AS-OCT, аналізу кератотопограм і профарбовування поверхні рогівки флуоресцеїном.

Питання визначальних факторів, що індукують ССО, потребує подальшого вивчення. У наших дослідженнях була відмічена закономірність - на тлі різноспрямованої експресії miR-146a-5p (пригнічення) і miR-450b-5p (збільшення) відмічено статистично значиме зниження вмісту TGF- $\beta$ 2 [251, 252]. Такі результати відповідали наявним у літературі даним та обґрунтовували можливість використання таких показників для прогнозу виникнення ССО. Важливо врахувати також, що TGF $\beta$  було давно визнано основним негативним ефектором клітинної проліферації нормальних епітеліальних клітин з різних тканин. В експериментальних дослідженнях, проведених раніше, було доведено, що TGF $\beta$  інгібує також проліферацію епітеліальних клітин рогівки (СЕС). Крім того, інгібуючий ефект TGF- $\beta$ 2 сильніший, ніж TGF- $\beta$ 1 [256]. Тому отримані нами результати лабораторних досліджень, в яких виявлено зниження вмісту TGF $\beta$ 2 у пацієнтів з ССО, цілком можуть пояснити механізм розвитку гіперплазії епітелію рогівки на тлі персистуючого ССО і виникнення регресу рефракційного результату у віддалені терміни після ЕЛК міопії у цих пацієнтів, які ми виявили на клінічному етапі нашого дослідження. Результати цього фрагменту роботи довели визначальне значення рівня експресії обох мікроРНК у виникненні ССО через 6 місяців після ЕЛК міопії та визначили критичні пороги прогнозування ССО.

Ми вважаємо, що найбільш перспективним напрямком наукових досліджень в подальшому є саме дослідження біохімічного та імунологічного складу слізної рідини для виявлення ключових факторів впливу на розвиток ССО після ЕЛК міопії. Саме на цих даних і можуть базуватись нові напрямки профілактики і лікування ССО після ЕЛК і як наслідок передбачатимуть отримання бажанного та стабільного рефракційного результату.

## ВИСНОВКИ

1. Міопія є найпоширенішим захворюванням очей людини, яке вражає від 25% до 50% дорослого населення США та Європи, та від 85% до 90% молодих людей у деяких азіатських країнах. Хірургічні процедури були розроблені для того, щоб назавжди виправити короткозорість. Метою рефракційної хірургії є безпечно та передбачуване створення стабільного та бажаного стану рефракції, не викликаючи нових оптичних проблем. Синдром сухого ока - одне з найбільш поширених ускладнень після ЕЛК за рахунок механізмів, притаманних цій процедурі. До 20% пацієнтів мають синдром сухого ока в строк понад 6 місяців від операції. Дослідження нових етіологічних та патогенетичних чинників ССО розвитку після ЕЛК міопії є актуальною задачею сучасної офтальмології.

2. Встановлено зв'язок ЕЛК міопії з розвитком та прогресуванням ССО. Серед пацієнтів, у яких не було ССО до операції, 10% мали персистуючий ССО після ЕЛК міопії; його частота не залежала від методу. Частота ССО після виконання ЕЛК за методом LASIK статистично значимо зростала через 1 місяць на 75.5%, через 3 - на 63%.

3. Встановлено зв'язок ЕЛК міопії за методом Femto LASIK з розвитком та прогресуванням ССО. Частота ССО після виконання ЕЛК статистично значимо зросла через 1 місяць на 76.5%, через 3 - на 64.9%.

4. Було встановлено, що у пацієнтів з міопічною рефракцією частота ССО складала 10%. Середні значення товщини епітелію рогівки за даними AS-OCT були менші у пацієнтів з міопією на 6,4%, ніж при відсутності аномалій рефракції.

5. Доведена залежність між персистуючим ССО після ЕЛК міопії і регресом рефракційного результату. У 10,7% випадків регресу рефракційного результату після ЕЛК міопії були зафіксовані ознаки персистуючого ССО, що впливало на потовщення рогівкового епітелію. Потовщення епітелію в центрі рогівки після ЕЛК у пацієнтів, які мали персистуючий ССО, було більше на



37,5%, ніж у пацієнтів без діагностованого ССО.

6. Ознаками пошкодження епітелію рогівки і взаємозв'язку його гіперплазії з рефракційним регресом при персистуючому ССО після ЕЛК міопії було профарбовування флуоресцеїном поверхні рогівки, кератотопографічні дані, а також карти товщини епітелію рогівки за даними AS-OCT.

7. Експресія miR-146a-5p, визначена у сльозі пацієнтів до ЕЛК міопії, за наявності ССО через 6 місяців лікування була зменшена (у 3,6 рази;  $p < 0,001$ ) у порівнянні з групою контролю та пацієнтами, в яких ССО не виникло, тоді як експресія miR-450b-5p – збільшеною у 2,5 рази у порівнянні з контролем та у 2,0 рази у порівнянні з пацієнтами без ССО ( $p < 0,001$ ).

8. Вміст TGF- $\beta$ 2 у сльозі пацієнтів до ЕЛК міопії за наявності ССО був зменшеним у 1,6 рази ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з пацієнтами, в яких ССО не було.

9. Доведено визначальне значення рівня експресії мікроРНК у виникненні ССО через 6 місяців після ЕЛК міопії. Критичний поріг виникнення ССО відносної експресії miR-146a-5p становив  $\leq 0,85$ , експресії miR-450b-5 –  $> 1,95$ , вмісту TGF- $\beta$ 2 у сльозній рідині  $< 1755$  пг/мл ( $p < 0,001$ ).

10. Розроблені наукові положення дисертації впроваджені в навчальний процес на кафедрах офтальмології Національного університету охорони здоров'я України МОЗ України, Національного медичного університету імені О.О. Богомольця і Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Практичні розробки впроваджені в діяльність медичного центру «ЛАЗЕР Плюс» (ПП «Львів Сапфір», м. Львів), медичного центру ТОВ «ОК Новий Зір» (м. Київ, м. Дніпро), медичного центру «Візекс» (м. Львів).

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Рекомендовано використовувати в клінічній практиці для відбору пацієнтів для виконання ЕЛК міопії методи прогнозування розвитку синдрому сухого ока після різних технологій ексимерлазерної корекції міопії на підставі детальної діагностики синдрому сухого ока на доопераційному етапі.

2. Також рекомендується враховувати в клінічній практиці доповнені в цій дисертаційній роботі наукові дані щодо впливу ЕЛК на розвиток та прогресування ССО. Частота ССО після виконання ЕЛК методами LASIK та Femto LASIK статистично значимо зростала через 1 місяць на 75.5% і на 76.5%, через 3 - на 63% і на 64.9% відповідно і не залежала від методу. Серед пацієнтів, у яких не було ССО до операції, 10% мали персистуючий ССО після ЕЛК міопії. Доведена залежність між персистуючим ССО після ЕЛК міопії і регресом рефракційного результату. У 10,7% випадків регресу рефракційного результату після ЕЛК міопії були зафіксовані ознаки персистуючого ССО. Потовщення епітелію в центрі рогівки після ЕЛК у пацієнтів, які не мали ССО, було менше на 37,5%, ніж у пацієнтів з персистуючим ССО.

3. Рекомендується включати в обстеження пацієнтів перед ЕЛК та протягом післяопераційного спостереження профарбовування флуоресцеїном поверхні рогівки, кератотопографію (дослідження показника СІМ), а також карти товщини епітелію рогівки за даними AS-OCT. Зміни кератотопографії пов'язані зі змінами товщини епітелію і рефракційним регресом після ЕЛК міопії. Профарбовування флуоресцеїном поверхні рогівки може підтверджувати пошкодження епітелію рогівки і взаємозв'язок його гіперплазії з рефракційним регресом при персистуючому ССО після ЕЛК міопії.

Детальне вивчення змін епітелію рогівки на фоні персистуючого ССО дозволить врахувати індивідуальні особливості впливу на перебіг післяопераційного відновлення, передбачити потенційні ризики погіршення функціонального результату ЕЛК і застосувати адекватні методи для усунення

негативних наслідків у вигляді рефракційного регресу або нерегулярного астигматизму при ССО після ЕЛК міопії

4. Для впровадження в практику рекомендовано враховувати нові фактори ризику розвитку ССО після ЕЛК. Певне практичне значення має встановлення межових значень рівня експресії мікроРНК та вмісту TGF- $\beta$ 2 для виникнення ССО через 6 місяців після ЕЛК міопії.

Критичний поріг при оцінці ризиків виникнення ССО відповідно до відносної експресії miR-146a-5p -  $\leq 0,85$ , експресії miR-450b-5 -  $> 1,95$ , вмісту TGF- $\beta$ 2 – менше 1755 пг/мл. ( $p < 0,001$ ).

Врахування цих факторів ризику для розвитку ССО після ЕЛК міопії на доопераційному етапі дозволить запровадити більш індивідуалізовані алгоритми вибору методів корекції аномалій рефракції для уникнення негативних функціональних результатів при ЕЛК.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. World Health Organisation. *World report of vision*. Geneva, Switzerland: WHO, 2019, p. 154
2. Burton, Matthew J et al. The *Lancet Global Health* Commission on Global Eye Health: vision beyond 2020 *The Lancet Global Health*, Volume 9, Issue 4, e489 - e551
3. Morgan IG, Ohno-Matsui K, Saw S-M. Myopia. *Lancet*. 2012; 379: 1739–1748.
4. Németh, János et al. “Update and guidance on management of myopia. European Society of Ophthalmology in cooperation with International Myopia Institute.” *European journal of ophthalmology* vol. 31,3 (2021): 853-883. Doi:10.1177/1120672121998960
5. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 08.12.2015 по 827 уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої), третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Порушення рефракції та акомодатції: міопія, гіперметропія, астигматизм, анізометропія, пресбіопія, порушення акомодатції, амбліопія, кератоконус, контактна корекція зору
6. Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України порушення рефракції та акомодатції адаптована клінічна настанова, заснована на доказах 2018
7. Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, Jong M, Naidoo KS, Sankaridurg P, Wong TY, Naduvilath TJ, Resnikoff S. Global Prevalence of Myopia and High Myopia and Temporal Trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology*. 2016 May;123(5):1036-42. doi: 10.1016/j.optha.2016.01.006. Epub 2016 Feb 11. PMID: 26875007.
8. Mccrann S, Loughman J, Butler JS, Paudel N, Flitcroft DI. Smartphone use as a possible risk factor for myopia. *Clin Exp Optom*. 2021 Jan;104(1):35-41. doi: 10.1111/cxo.13092. PMID: 32452059.
9. Tedja MS, Haarman AEG, Meester-Smoor MA, Kaprio J, Mackey DA, Guggenheim JA, Hammond CJ, Verhoeven VJM, Klaver CCW; CREAM

Consortium. IMI - Myopia Genetics Report. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019 Feb 28;60(3):M89-M105. doi: 10.1167/iovs.18-25965. PMID: 30817828; PMCID: PMC6892384.

10. Hysi PG, Choquet H, Khawaja AP, Wojciechowski R, Tedja MS, Yin J, Simcoe MJ, Patasova K, Mahroo OA, Thai KK, Cumberland PM, Melles RB, Verhoeven VJM, Vitart V, Segre A, Stone RA, Wareham N, Hewitt AW, Mackey DA, Klaver CCW, MacGregor S; Consortium for Refractive Error and Myopia; Khaw PT, Foster PJ; UK Eye and Vision Consortium; Guggenheim JA; 23andMe Inc.; Rahi JS, Jorgenson E, Hammond CJ. Meta-analysis of 542,934 subjects of European ancestry identifies new genes and mechanisms predisposing to refractive error and myopia. *Nat Genet.* 2020 Apr;52(4):401-407. doi: 10.1038/s41588-020-0599-0. Epub 2020 Mar 30. PMID: 32231278; PMCID: PMC7145443.

11. Huang HM, Chang DS, Wu PC. The Association between Near Work Activities and Myopia in Children-A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2015 Oct 20;10(10):e0140419. doi: 10.1371/journal.pone.0140419. PMID: 26485393; PMCID: PMC4618477.

12. Lau JK, Vincent SJ, Collins MJ, Cheung SW, Cho P. Ocular higher-order aberrations and axial eye growth in young Hong Kong children. *Sci Rep.* 2018 Apr 30;8(1):6726. doi: 10.1038/s41598-018-24906-x. PMID: 29712928; PMCID: PMC5928153.

13. Hiraoka T, Kotsuka J, Kakita T, Okamoto F, Oshika T. Relationship between higher-order wavefront aberrations and natural progression of myopia in schoolchildren. *Sci Rep.* 2017 Aug 11;7(1):7876. doi: 10.1038/s41598-017-08177-6. PMID: 28801659; PMCID: PMC5554292.

14. Kearney S, O'Donoghue L, Pourshahidi LK, Cobice D, Saunders KJ. Myopes have significantly higher serum melatonin concentrations than non-myopes. *Ophthalmic Physiol Opt.* 2017 Sep;37(5):557-567. doi: 10.1111/opo.12396. Epub 2017 Jul 18. PMID: 28721695.

15. Jee D, Morgan IG, Kim EC. Inverse relationship between sleep duration and myopia. *Acta Ophthalmol.* 2016 May;94(3):e204-10. doi: 10.1111/aos.12776. Epub 2015 Jun 1. PMID: 26031352.
16. Cohen Y, Belkin M, Yehezkel O, Solomon AS, Polat U. Dependency between light intensity and refractive development under light-dark cycles. *Exp Eye Res.* 2011 Jan;92(1):40-6. doi: 10.1016/j.exer.2010.10.012. Epub 2010 Nov 3. PMID: 21055401.
17. Norton TT. What Do Animal Studies Tell Us about the Mechanism of Myopia-Protection by Light? *Optom Vis Sci.* 2016 Sep;93(9):1049-51. doi: 10.1097/OPX.0000000000000917. PMID: 27362614; PMCID: PMC5001923.
18. Wang M, Schaeffel F, Jiang B, Feldkaemper M. Effects of Light of Different Spectral Composition on Refractive Development and Retinal Dopamine in Chicks. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018 Sep 4;59(11):4413-4424. doi: 10.1167/iovs.18-23880. PMID: 30193312.
19. Aleman AC, Wang M, Schaeffel F. Reading and Myopia: Contrast Polarity Matters. *Sci Rep.* 2018 Jul 18;8(1):10840. doi: 10.1038/s41598-018-28904-x. PMID: 30022043; PMCID: PMC6052140.
20. Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, et al. Global prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology.* 2016; 123: 1036–1042.
21. Huang J, Wen D, Wang Q, et al. Efficacy comparison of 16 interventions for myopia control in children: a network meta-analysis. *Ophthalmology.* 2016; 123: 697–708.
22. Wildsoet CF, Chia A, Cho P, et al. IMI – Interventions for Controlling Myopia Onset and Progression Report. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019; 60: M106–M131.
23. Rudnicka AR, Kapetanakis VV, Wathern AK, et al. Global variations and time trends in the prevalence of childhood myopia, a systematic review and quantitative meta-analysis: implications for aetiology and early prevention. *Br J Ophthalmol.* 2016; 100: 882–890.

24. Tideman JW, Polling JR, Hofman A, Jaddoe VW, Mackenbach JP, Klaver CC. Environmental factors explain socioeconomic prevalence differences in myopia in 6-year-old children. *Br J Ophthalmol*. 2018 Feb;102(2):243-247. doi: 10.1136/bjophthalmol-2017-310292. Epub 2017 Jun 12. PMID: 28607175.
25. Fang Y, Yokoi T, Nagaoka N, et al. Progression of myopic maculopathy during 18-year follow-up. *Ophthalmology*. 2018; 125: 863–877.
26. Flitcroft DJ. The complex interactions of retinal, optical and environmental factors in myopia aetiology. *Prog Retin Eye Res*. 2012; 31: 622–660.
27. Wolffsohn JS, Kollbaum PS, Berntsen DA, et al. IMI – Clinical Myopia Control Trials and Instrumentation Report. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019; 60: M132–M160.
28. De Jong PTVM. Myopia: its historical contexts. *Br J Ophthalmol*. 2018; 102: 1021–1027.
29. Li J, Zhang Q. Insight into the molecular genetics of myopia. *Mol Vis*. 2017 Dec 31;23:1048-1080. PMID: 29386878; PMCID: PMC5757860
30. Flitcroft DJ, Loughman J, Wildsoet CF, Williams C, Guggenheim JA. Novel myopia genes and pathways identified from syndromic forms of myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018; 59: 338–348.
31. Flitcroft DJ, He M, Jonas JB, et al. IMI – Defining and classifying myopia: a proposed set of standards for clinical and epidemiologic studies. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;60:M20–M30. [https://doi.org/ 10.1167/iovs.18-25957](https://doi.org/10.1167/iovs.18-25957)
32. Cumberland PM, Bountziouka V, Rahi JS. Impact of varying the definition of myopia on estimates of prevalence and associations with risk factors: time for an approach that serves research, practice and policy. *Br J Ophthalmol*. 2018; 102: 1407–1412.
33. He M, Xiang F, Zeng Y, et al. Effect of time spent outdoors at school on the development of myopia among children in China. *JAMA Ophthalmol*. 2015; 314: 1142–1148.
34. Repka MX. Prevention of myopia in children. *JAMA Ophthalmol*. 2015; 314: 1137–1139.

35. Tideman JWL, Snabel MC, Tedia MS, et al. Association of axial length with risk of uncorrectable visual impairment for Europeans with myopia. *JAMA Ophthalmol.* 2016; 134: 1355–1363.
36. Tedja MS, Wojciechowski R, Hysi PG, et al. Genome-wide association meta-analysis highlights light-induced signaling as a driver for refractive error. *Nat Genet.* 2018; 50: 834–848.
37. Ohno-Matsui K, Kawasaki R, Jonas JB, et al. International photographic classification and grading system for myopic maculopathy. *Am J Ophthalmol.* 2015; 159: 877–883.
38. Modjtahedi BS, Abbott RL, Fong DS, Lum F, Tan D; Task Force on Myopia. Reducing the Global Burden of Myopia by Delaying the Onset of Myopia and Reducing Myopic Progression in Children: The Academy's Task Force on Myopia. *Ophthalmology.* 2021 Jun;128(6):816-826. Doi: 10.1016/j.ophtha.2020.10.040. Epub 2020 Dec 30. PMID: 33388160.
39. Cuellar-Partida G, Lu Y, Kho PF, Hewitt AW, Wichmann HE, Yazar S, Stambolian D, Bailey-Wilson JE, Wojciechowski R, Wang JJ, Mitchell P, Mackey DA, macgregor S. Assessing the Genetic Predisposition of Education on Myopia: A Mendelian Randomization Study. *Genet Epidemiol.* 2016 Jan;40(1):66-72. Doi: 10.1002/gepi.21936. Epub 2015 Oct 26. PMID: 26497973; PMCID: PMC4915592.
40. Willis JR, Vitale S, Morse L, Parke DW 2nd, Rich WL, Lum F, Cantrell RA. The Prevalence of Myopic Choroidal Neovascularization in the United States: Analysis of the IRIS(®) Data Registry and NHANES. *Ophthalmology.* 2016 Aug;123(8):1771-1782. Doi: 10.1016/j.ophtha.2016.04.021. Epub 2016 Jun 21. PMID: 27342789
41. Silva R. Myopic maculopathy: a review. *Ophthalmologica.* 2012; 228: 197–213.
42. Shinohara K, Shimada N, Moriyama M, et al. Posterior staphylomas in pathologic myopia imaged by widefield optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017; 58: 3750–3758.



43. Guo X, Xiao O, Chen Y, et al. Three-dimensional eye shape, myopic maculopathy, and visual acuity: the Zhongshan Ophthalmic Center–Brien Holden Vision Institute High Myopia Cohort Study. *Ophthalmology*. 2017; 124: 679–687.
44. Ohno-Matsui K, Alkabes M, Salinas C, et al. Features of posterior staphylomas analyzed in wide-field fundus images in patients with unilateral and bilateral pathologic myopia. *Retina*. 2017; 37: 477–486.
45. Kaiti R, Shyangbo R, Sharma IP, Dahal M. Review on current concepts of myopia and its control strategies. *Int J Ophthalmol*. 2021 Apr 18;14(4):606-615. Doi: 10.18240/ijo.2021.04.19. PMID: 33875955; PMCID: PMC8025164.
46. Lingham G, Mackey DA, Lucas R, Yazar S. How does spending time outdoors protect against myopia? A review. *Br J Ophthalmol*. 2020 May;104(5):593-599. Doi: 10.1136/bjophthalmol-2019-314675. Epub 2019 Nov 13. PMID: 31722876.
47. Jiang J, Xu J, Wang Y, Zheng J, Xu D. Correlation Analysis of Dominant Eye and Refractive Error Between Monozygotic Twins. *Int J Gen Med*. 2021 Jun 17;14:2631-2635. Doi: 10.2147/IJGM.S307602. PMID: 34168489; PMCID: PMC8216723.
48. Foster PJ, Jiang Y. Epidemiology of myopia. *Eye (Lond)*. 2014 Feb;28(2):202-8. Doi: 10.1038/eye.2013.280.
49. Dolgin E. The myopia boom. *Nature*. 2015;519(7543):276–8.
50. Chua S.Y.L., Foster P.J. (2020) The Economic and Societal Impact of Myopia and High Myopia. In: Ang M., Wong T. (eds) Updates on Myopia. Springer, Singapore. doi.org/10.1007/978-981-13-8491-2\_3
51. Matsumura S., Ching-Yu C., Saw SM. (2020) Global Epidemiology of Myopia. In: Ang M., Wong T. (eds) Updates on Myopia. Springer, Singapore. doi.org/10.1007/978-981-13-8491-2\_2
52. Jones C. Refractive Surgery Market Report. *Marketscope*. 2019; 2020:1–283
53. Kojima T, Ibrahim OM, Wakamatsu T, Tsuyama A, Ogawa J, Matsumoto Y, et al. The impact of contact lens wear and visual display terminal work on ocular surface and tear functions in office workers. *Am J Ophthalmol* 2011;152(6). 933-940, e2.

54. Tomlinson A, Fagehi R, Manahilov V. In: Why do some contact lens wearers avoid contact lens dry eye symptoms? Poster presented at the 91st Annual Meeting of the American Academy of Optometry. Phoenix, AZ; 2012.
55. Stapleton F, Edwards K, Keay L, Naduvilath T, Dart J.K, Brian G. Et al. Risk factors for moderate and severe microbial keratitis in daily wear contact lens users. *Ophthalmology*. 2012; 119: 1516-1521
56. Mitchell G.L, Rosner B, Richdale K. The development of a scoring algorithm for the Contact lens Assessment and Risk CARE Report. *Optom Vis Sci*. 2018; 95 (E-abstract 180032)
57. Rueff EM, Wolfe J, Bailey MD. A study of contact lens compliance in a non-clinical setting. *Cont Lens Anterior Eye*. 2019 Oct;42(5):557-561. Doi: 10.1016/j.clae.2019.03.001. Epub 2019 Mar 16. PMID: 30890305; PMCID: PMC6746612.
58. Chao C, Richdale K, Jalbert I, Doung K, Gokhale M. Non-invasive objective and contemporary methods for measuring ocular surface inflammation in soft contact lens wearers - A review. *Cont Lens Anterior Eye*. 2017 Oct;40(5):273-282. Doi: 10.1016/j.clae.2017.05.008. Epub 2017 Jun 9. PMID: 28602547; PMCID: PMC7197092.
59. Queirós A, Villa-Collar C, Gutiérrez AR, Jorge J, González-Méijome JM. Quality of life of myopic subjects with different methods of visual correction using the NEI RQL-42 questionnaire. *Eye Contact Lens*. 2012 Mar;38(2):116-21. Doi: 10.1097/ICL.0b013e3182480e97. PMID: 22293405.
60. Price MO, Price DA, Bucci FA Jr, Durrie DS, Bond WI, Price FW Jr. Three-Year Longitudinal Survey Comparing Visual Satisfaction with LASIK and Contact Lenses. *Ophthalmology*. 2016 Aug;123(8):1659-1666. Doi: 10.1016/j.ophtha.2016.04.003. Epub 2016 May 18. PMID: 27208981.
61. Pallikaris IG, Papatzanaki ME, Siganos DS, Tsilimbaris MK. A corneal flap technique for laser in situ keratomileusis: human studies. *Archives of Ophthalmology* 1991;109(12):1699-702.

62. Barsam A, Allan BDS. Excimer laser refractive surgery versus phakic intraocular lenses for the correction of moderate to high myopia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014, Issue 6. Art. No.: CD007679. DOI: 10.1002/14651858.CD007679.pub4
63. Kahum-López N, Navas A, Castillo-Salgado C, Graue-Hernandez EO, Jimenez-Corona A, Ibarra A. Laser-assisted in-situ keratomileusis (LASIK) with a mechanical microkeratome compared to LASIK with a femtosecond laser for LASIK in adults with myopia or myopic astigmatism. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2020, Issue 4. Art. No.: CD012946. DOI: 10.1002/14651858.CD012946.pub2.
64. Kuryan J, Cheema A, Chuck RS. Laser-assisted subepithelial keratectomy (LASEK) versus laser-assisted in-situ keratomileusis (LASIK) for correcting myopia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2017, Issue 2. Art. No.: CD011080. DOI: 10.1002/14651858.CD011080.pub2.
65. Shortt AJ, Allan BDS, Evans JR. Laser-assisted in-situ keratomileusis (LASIK) versus photorefractive keratectomy (PRK) for myopia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2013, Issue 1. [DOI:10.1002/14651858.CD005135.pub3]
66. Kuryan J, Cheema A, Chuck RS. Laser-assisted in-situ keratomileusis (LASIK) versus laser-assisted subepithelial keratectomy (LASEK) for the correction of myopia. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2014, Issue 4. [DOI: 10.1002/14651858.CD011080]
67. Buratto L, Slade SG, Tavolato M. *LASIK: The Evolution of Refractive Surgery* (pp 7-26). © 2012 SLACK Incorporated
68. List of FDA-Approved Lasers for LASIK 09/06/2018
69. FDA-Approved Lasers for PRK and Other Refractive Surgeries 12/03/2019
70. Joffe SN. The 25th Anniversary of Laser Vision Correction in the United States. *Clin Ophthalmol.* 2021;15:1163-1172 <https://doi.org/10.2147/OPTH.S299752>
71. Toda I. Dry Eye After LASIK. *Invest Ophthalmol Vis Scie.* 2018;59 (14):109–115. Doi:10.1167/iovs.17-23538

72. Wilksinson JM, Cozine EW, Kahn AR. Refractive eye surgery: helping patients make informed decisions about LASIK. *Amer Fam Phy.* 2017;95(10):637–644.
73. Moshirfar M, Shah TJ, Skanchy DF, Linn SH, Kang P, Durrie DS. Comparison and analysis of FDA reported visual outcomes of the three latest platforms for LASIK: wavefront guided Visx ideo, topography guided wavelight Allegro Contoura, and topography guided Nidek EC-5000 catz. *Clin Ophthal.* 2017;11:135–147. Doi:10.2147/OPHTH.S115270
74. Ting DSJ, Srinivasan S, Danjoux JP. Epithelial ingrowth following laser in situ keratomileusis (LASIK): prevalence, risk factors, management and visual outcomes. *BMJ Open Ophthalmol.* 2018;3(1): e000133. Doi:10.1136/bmjophth-2017-000133
75. Giri P, Aza DT. Risk profiles of ectasia after keratorefractive surgery. *Curr Opin Ophthalmol.* 2017;28(4):337–342. Doi:10.1097/ICU.000 0000000000383
76. Tarver M, Hilmantel G, Eydelman M. FDA Efforts: patient Perspective on LASIK. *Rev Cornea Contact Lenses.* 2017
77. Mikalauskiene,L.; Grzybowski, A.; Zemaitiene, R. Ocular Surface Changes Associated with Ophthalmic Surgery. *J. Clin. Med.*2021,10,1642. <https://doi.org/10.3390/jcm10081642>
78. Farjo AA, Sugar A, Schallhorn SC, Majmudar PA, Tanzer DJ, Trattler WB, et al. Femtosecond lasers for LASIK flap creation: a report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology* 2013;120(3):e5-20.
79. Chen S, Feng Y, Stojanovic A, Jankov MR 2nd, Wang Q. Intralase femtosecond laser vs mechanical microkeratomes in LASIK for myopia: a systematic review and meta-analysis. *J Refract Surg.* 2012;28(1):15-24.
80. Santos AM, Torricelli AA, Marino GK, et al. Femtosecond laser-assisted LASIK flap complications. *J Refract Surg.* 2016;32:52–59.
81. Moshirfar M, mccaughey MV, Reinstein DZ, et al. Small-incision lenticule extraction. *J Cataract Refract Surg.* 2015;41:652–665.

82. Dou R, Wang Y, Xu L, et al. Comparison of corneal biomechanical characteristics after surface ablation refractive surgery and novel lamellar refractive surgery. *Cornea*. 2015;34:1441–1446.
83. Shen Y, Chen Z, Knorz MC, et al. Comparison of corneal deformation parameters after SMILE, LASEK, and femtosecond laser-assisted LASIK. *J Refract Surg*. 2014;30:310–318.
84. Stapleton F, Alves M, Bunya VY, et al. TFOS DEWS II Epidemiology Report. *Ocul Surf*. 2017;15(3):334-365.
85. Аверьянова О.С., Бегимбаева Г.Е., Витовская О.П., Головач И.Ю., Дегтерева О.В., Деряпа И.В., Дрожжина Г.И., Исергепова Б.И., Луценко Н.С., Салдан Ю.И., Ситник Г.В., Чекина А.Ю. Проект резолюции совещания экспертов на Международном семинаре: Болезнь сухого глаза в междисциплинарном контексте. *Офтальмология. Восточная Европа*. 2021;11(2):108.
86. Ilhan N, Ilhan O, Ayhan Tuzcu E, et al. Is there a relationship between pathologic myopia and dry eye syndrome?. *Cornea*. 2014;33(2):169-171.
87. Eydelman M, Hilmantel G, Tarver ME, et al. Symptoms and Satisfaction of Patients in the Patient-Reported Outcomes With Laser In Situ Keratomileusis (PROWL) Studies. *JAMA Ophthalmol*. 2017;135(1):13-22.
88. Eydelman MB, Tarver ME, Ferris F 3rd. Listening to the Patients-The Laser-Assisted In Situ Keratomileusis Quality of Life Collaboration Project. *JAMA Ophthalmol*. 2017 Feb 1;135(2):83-84. Doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.4585. PMID: 27930768.
89. Chao C, Golebiowski B, Stapleton F. The role of corneal innervation in LASIK-induced neuropathic dry eye. *Ocul Surf*. 2014 Jan;12(1):32-45. Doi: 10.1016/j.jtos.2013.09.001. Epub 2013 Oct 19. PMID: 24439045.
90. Chen S, Feng Y, Stojanovic A, Jankov MR 2nd, Wang Q. Intralase femtosecond laser vs mechanical microkeratomes in LASIK for myopia: a systematic review and meta-analysis. *J Refract Surg*. 2012 Jan;28(1):15-24. Doi: 10.3928/1081597X-20111228-02. PMID: 22233436.

91. AAO Refractive surgery BCSC 2019-2020;
92. Linke S.J. (2016) Past, Present and Future of Excimer and Femtolaser Application to the Cornea. In: Linke S., Katz T. (eds) *Complications in Corneal Laser Surgery*. Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-41496-6\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-41496-6_1)
93. Stapleton F, Alves M, Bunya VY, Jalbert I, Lekhanont K, Malet F, Na KS, Schaumberg D, Uchino M, Vehof J, Viso E, Vitale S, Jones L. TFOS DEWS II Epidemiology Report. *Ocul Surf*. 2017 Jul;15(3):334-365. Doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.003. Epub 2017 Jul 20. PMID: 28736337.
94. Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, Caffery B, Dua HS, Joo CK, Liu Z, Nelson JD, Nichols JJ, Tsubota K, Stapleton F. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *Ocul Surf*. 2017 Jul;15(3):276-283. Doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.008. Epub 2017 Jul 20. PMID: 28736335.
95. Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, Bonini S, Gabison EE, Jain S, Knop E, Markoulli M, Ogawa Y, Perez V, Uchino Y, Yokoi N, Zoukhri D, Sullivan DA. TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul Surf*. 2017 Jul;15(3):438-510. Doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.011. Epub 2017 Jul 20. Erratum in: *Ocul Surf*. 2019 Oct;17(4):842. PMID: 28736340.
96. Gomes JAP, Azar DT, Baudouin C, Efron N, Hirayama M, Horwath-Winter J, Kim T, Mehta JS, Messmer EM, Pepose JS, Sangwan VS, Weiner AL, Wilson SE, Wolffsohn JS. TFOS DEWS II iatrogenic report. *Ocul Surf*. 2017 Jul;15(3):511-538. Doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.004. Epub 2017 Jul 20. PMID: 28736341.
97. Raoof D, Pineda R. Dry eye after laser in-situ keratomileusis. *Semin Ophthalmol*. 2014 Sep-Nov;29(5-6):358-62. Doi: 10.3109/08820538.2014.962663. PMID: 25325861.
98. Woodward AM, Argüeso P. Expression analysis of the transmembrane mucin MUC20 in human corneal and conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014 Aug 28;55(10):6132-8. Doi: 10.1167/iovs.14-15269. PMID: 25168902; PMCID: PMC4184386.
99. Gipson IK, Spurr-Michaud S, Tisdale A, Menon BB. Comparison of the transmembrane mucins MUC1 and MUC16 in epithelial barrier function. *Plos One*.

2014 Jun 26;9(6):e100393. Doi: 10.1371/journal.pone.0100393. PMID: 24968021; PMCID: PMC4072602.

100. Baudouin C, Messmer EM, Aragona P, Geerling G, Akova YA, Benítez-del-Castillo J, Boboridis KG, Merayo-Llodes J, Rolando M, Labetoulle M. Revisiting the vicious circle of dry eye disease: a focus on the pathophysiology of meibomian gland dysfunction. *Br J Ophthalmol*. 2016 Mar;100(3):300-6. Doi: 10.1136/bjophthalmol-2015-307415. Epub 2016 Jan 18. PMID: 26781133; PMCID: PMC4789719.

101. Bron AJ the definition and classification of dry eye disease. In: Chan C, editor. *Dry Eye: A Practical Approach*. Springer;2015

102. Bron AJ, Yokoi N, Gaffney EA, Tiffany JM. A solute gradient in the tear meniscus. I. A hypothesis to explain Marx's line. *Ocul Surf*. 2011 Apr;9(2):70-91. Doi: 10.1016/s1542-0124(11)70014-3. PMID: 21545761.

103. Sullivan BD, Crews LA, Sönmez B, de la Paz MF, Comert E, Charoenrook V, de Araujo AL, Pepose JS, Berg MS, Kosheleff VP, Lemp MA. Clinical utility of objective tests for dry eye disease: variability over time and implications for clinical trials and disease management. *Cornea*. 2012 Sep;31(9):1000-8. Doi: 10.1097/ICO.0b013e318242fd60. PMID: 22475641.

104. Willshire C, Buckley RJ, Bron AJ. Central Connections of the Lacrimal Functional Unit. *Cornea*. 2017 Aug;36(8):898-907. Doi: 10.1097/ICO.0000000000001250. PMID: 28628505.

105. D'Souza S, James E, Swarup R, Mahuvakar S, Pradhan A, Gupta K. Algorithmic approach to diagnosis and management of post-refractive surgery dry eye disease. *Indian J Ophthalmol*. 2020 Dec;68(12):2888-2894. Doi: 10.4103/ijo.IJO\_1957\_20. PMID: 33229664; PMCID: PMC7856989.

106. Spadea L, Giovannetti F. Main Complications of Photorefractive Keratectomy and their Management. *Clin Ophthalmol*. 2019 Nov 27;13:2305-2315. Doi: 10.2147/OPHTH.S233125. PMID: 31819355; PMCID: PMC6885542.

107. Wallerstein A, Jackson WB, Chambers J, Moezzi AM, Lin H, Simmons PA. Management of post-LASIK dry eye: a multicenter randomized comparison of a new multi-ingredient artificial tear to carboxymethylcellulose. *Clin Ophthalmol*. 2018

- May 7;12:839-848. Doi: 10.2147/OPHTH.S163744. PMID: 29765198; PMCID: PMC5944453.
108. Cohen E, Spierer O. Dry Eye Post-Laser-Assisted In Situ Keratomileusis: Major Review and Latest Updates. *J Ophthalmol*. 2018 Jan 28;2018:4903831. Doi: 10.1155/2018/4903831. PMID: 29619255; PMCID: PMC5829349.
109. Zhao J, Yu J, Yang L, Liu Y, Zhao S. Changes in the anterior cornea during the early stages of severe myopia prior to and following LASIK, as detected by confocal microscopy. *Exp Ther Med*. 2017 Oct;14(4):2869-2874. Doi: 10.3892/etm.2017.4861. Epub 2017 Aug 2. PMID: 28912848; PMCID: PMC5585720.
110. Medeiros CS, Marino GK, Lassance L, Thangavadiel S, Santhiago MR, Wilson SE. The Impact of Photorefractive Keratectomy and Mitomycin C on Corneal Nerves and Their Regeneration. *J Refract Surg*. 2018 Dec 1;34(12):790-798. Doi: 10.3928/1081597X-20181112-01. Erratum in: *J Refract Surg*. 2019 Feb 1;35(2):132. PMID: 30540361; PMCID: PMC6360090.
111. Ebrahimiadib N, Yousefshahi F, Abdi P, Ghahari M, Modjtahedi BS. Ocular Neuropathic Pain: An Overview Focusing on Ocular Surface Pains. *Clin Ophthalmol*. 2020 Sep 25;14:2843-2854. Doi: 10.2147/OPHTH.S262060. PMID: 33061269; PMCID: PMC7524198.
112. Kanellopoulos AJ, Asimellis G. In pursuit of objective dry eye screening clinical techniques. *Eye Vis (Lond)*. 2016 Jan 18;3:1. Doi: 10.1186/s40662-015-0032-4. PMID: 26783543; PMCID: PMC4716631.
113. Levitt AE, Galor A, Small L, Feuer W, Felix ER. Pain sensitivity and autonomic nervous system parameters as predictors of dry eye symptoms after LASIK. *Ocul Surf*. 2021 Jan;19:275-281. Doi: 10.1016/j.jtos.2020.10.004. Epub 2020 Oct 21. PMID: 33096271; PMCID: PMC7867610.
114. Chen XM, Kuang JB, Yu HY, Wu ZN, Wang SY, Zhou SY. A Novel Rabbit Dry Eye Model Induced by a Controlled Drying System. *Transl Vis Sci Technol*. 2021 Apr 1;10(4):32. Doi: 10.1167/tvst.10.4.32. PMID: 34004007; PMCID: PMC8083071.



115. Bhattacharya D, Yu L, Wang M. Expression patterns of conjunctival mucin 5AC and aquaporin 5 in response to acute dry eye stress. *Plos One*. 2017 Nov 7;12(11):e0187188. Doi: 10.1371/journal.pone.0187188. PMID: 29112967; PMCID: PMC5675386.
116. Gjerdrum B, Gundersen KG, Lundmark PO, Potvin R, Aakre BM. Prevalence of Signs and Symptoms of Dry Eye Disease 5 to 15 After Refractive Surgery. *Clin Ophthalmol*. 2020 Jan 28;14:269-279. Doi: 10.2147/OPTH.S236749. PMID: 32095068; PMCID: PMC6995294.
117. Bandeira F, Yusoff NZ, Yam GH, Mehta JS. Corneal reinnervation following refractive surgery treatments. *Neural Regen Res*. 2019 Apr;14(4):557-565. Doi: 10.4103/1673-5374.247421. PMID: 30632489; PMCID: PMC6352585.
118. Shaaban YM, Badran TAF. Tear meniscus evaluation after microkeratome laser in situ keratomileusis, femtosecond laser and femtosecond laser techniques using anterior segment optical coherence tomography. *Clin Ophthalmol*. 2018 Jul 31;12:1337-1345. Doi: 10.2147/OPTH.S169091. PMID: 30104861; PMCID: PMC6074781.
119. Williams AE, Choi K, Chan AL, Lee YJ, Reeves WH, Bubb MR, Stewart CM, Cha S. Sjögren's syndrome-associated micRNAs in CD14(+) monocytes unveils targeted *tgfb* signaling. *Arthritis Res Ther*. 2016 May 3;18(1):95. Doi: 10.1186/s13075-016-0987-0. PMID: 27142093; PMCID: PMC4855899.
120. Nebbioso M, Del Regno P, Gharbiya M, Sacchetti M, Plateroti R, Lambiase A. Analysis of the Pathogenic Factors and Management of Dry Eye in Ocular Surface Disorders. *Int J Mol Sci*. 2017 Aug 13;18(8):1764. Doi: 10.3390/ijms18081764. PMID: 28805710; PMCID: PMC5578153.
121. Paugh JR, Tse J, Nguyen T, Sasai A, Chen E, De Jesus MT, Kwan J, Nguyen AL, Farid M, Garg S, Jester JV. Efficacy of the Fluorescein Tear Breakup Time Test in Dry Eye. *Cornea*. 2020 Jan;39(1):92-98. Doi: 10.1097/ICO.0000000000002148. PMID: 31513046; PMCID: PMC6893123.
122. Yin L, Zhang M, He T, Chen S. The expression of mirna-146a-5p and its mechanism of treating dry eye syndrome. *J Clin Lab Anal*. 2021 Jan;35(1):e23571.

Doi: 10.1002/jcla.23571. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32935891; PMCID: PMC7843290.

123. Tsubota K, Pflugfelder SC, Liu Z, Baudouin C, Kim HM, Messmer EM, Kruse F, Liang L, Carreno-Galeano JT, Rolando M, Yokoi N, Kinoshita S, Dana R. Defining Dry Eye from a Clinical Perspective. *Int J Mol Sci*. 2020 Dec 4;21(23):9271. Doi: 10.3390/ijms21239271. PMID: 33291796; PMCID: PMC7730816.

124. Pflugfelder SC, de Paiva CS. The Pathophysiology of Dry Eye Disease: What We Know and Future Directions for Research. *Ophthalmology*. 2017 Nov;124(11S):S4-S13. Doi: 10.1016/j.ophtha.2017.07.010. PMID: 29055361; PMCID: PMC5657523.

125. Periman LM, Perez VL, Saban DR, Lin MC, Neri P. The Immunological Basis of Dry Eye Disease and Current Topical Treatment Options. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2020 Apr;36(3):137-146. Doi: 10.1089/jop.2019.0060. Epub 2020 Mar 12. PMID: 32175799; PMCID: PMC7175622.

126. Yazdani M, Elgstøen KBP, Rootwelt H, Shahdadfar A, Utheim ØA, Utheim TP. Tear Metabolomics in Dry Eye Disease: A Review. *Int J Mol Sci*. 2019 Aug 1;20(15):3755. Doi: 10.3390/ijms20153755. PMID: 31374809; PMCID: PMC6695908.

127. Raghunath A, Perumal E. Micro-rnas and their roles in eye disorders. *Ophthalmic Res*. 2015;53(4):169-86. Doi: 10.1159/000371853. Epub 2015 Mar 26. PMID: 25832915.

128. Gallo A, Vella S, Tuzzolino F, Cuscino N, Cecchetti A, Ferro F, Mosca M, Alevizos I, Bombardieri S, Conaldi PG, Baldini C. MicroRNA-mediated Regulation of Mucin-type O-glycosylation Pathway: A Putative Mechanism of Salivary Gland Dysfunction in Sjögren Syndrome. *J Rheumatol*. 2019 Nov;46(11):1485-1494. Doi: 10.3899/jrheum.180549. Epub 2019 Mar 1. PMID: 30824638.

129. Yin L, Zhang M, He T, Chen S. The expression of mirna-146a-5p and its mechanism of treating dry eye syndrome. *J Clin Lab Anal*. 2021 Jan;35(1):e23571.

Doi: 10.1002/jcla.23571. Epub 2020 Sep 16. PMID: 32935891; PMCID: PMC7843290.

130. Rassi DM, De Paiva CS, Dias LC, Módulo CM, Adriano L, Fantucci MZ, Rocha EM. Review: micrnas in ocular surface and dry eye diseases. *Ocul Surf.* 2017 Oct;15(4):660-669. Doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.007. Epub 2017 May 5. PMID: 28483646

131. Salvi V, Gianello V, Tiberio L, Sozzani S and Bosisio D (2019) Cytokine Targeting by mirnas in Autoimmune Diseases. *Front. Immunol.* 10:15. Doi: 10.3389/fimmu.2019.00015.

132. Zan H, Tat C, Casali P. Micrnas in lupus. *Autoimmunity* (2014) 47:272–85. Doi: 10.3109/08916934.2014.915955

133. Chen X, Liang H, Zhang J, Zen K, Zhang CY. Secreted micrnas: a new form of intercellular communication. *Trends Cell Biol.* (2012) 22:125–32. Doi: 10.1016/j.tcb.2011.12.001

134. Turchinovich A, Tonevitsky AG, Burwinkel B. Extracellular mirna: a collision of two paradigms. *Trends Biochem Sci.* (2016) 41:883–92. Doi: 10.1016/j.tibs.2016.08.004

135. Fabbri M, Paone A, Calore F, Galli R, Gaudio E, Santhanam R, et al. Micrnas bind to Toll-like receptors to induce prometastatic inflammatory response. *Proc Nat Acad Sci USA.* (2012) 109:E2110–6. Doi: 10.1073/pnas.1209414109

136. Lehmann SM, Kruger C, Park B, Derkow K, Rosenberger K, Baumgart J, et al. An unconventional role for mirna: let-7 activates Toll-like receptor 7 and causes neurodegeneration. *Nat Neurosci.* (2012) 15:827–35. Doi: 10.1038/nn.3113

137. Salvi V, Gianello V, Busatto S, Bergese P, Andreoli L, D'Oro U, et al. Exosome-delivered micrnas promote IFN-alpha secretion by human plasmacytoid dcs via TLR7. *JCI Insight* (2018) 3:98204 doi: 10.1172/jci.insight.98204

138. Chakraborty C, Sharma AR, Sharma G, Doss CGP, Lee SS. Therapeutic mirna and sirna: moving from bench to clinic as next generation medicine. *Mol Therap Nucleic Acids* (2017) 8:132–43. Doi: 10.1016/j.omtn.2017.06.005

139. Hee-Jung Ju, Yong-Soo Byun, Jee-Won Mok, Choun-Ki Joo, "The Blockade of IL6 Counterparts the Osmolar Stress-Induced Apoptosis in Human Conjunctival Epithelial Cells", *Journal of Ophthalmology*, vol. 2016, Article ID 8350134, 7 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8350134>
140. J. Brooks, W. Dai, M. L. O'Mara et al., "Mechanism of activation of protein kinase JAK2 by the growth hormone receptor," *Science*, vol. 344, no. 6185, Article ID 1249783, 2014.
141. R. J. Stefan, "Il-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the proinflammatory activities of IL-6," *International Journal of Biological Sciences*, vol. 8, no. 9, pp. 1237–1247, 2012.
142. Valsero, L. S. Roman<sup>1</sup>, L. G. Posadas, A. L. Garc<sup>1</sup>ia, and Y. Diebold, "IL-6 as a corneal wound healing mediator in an invitro scratch assay," *Experimental Eye Research*, vol. 125, pp. 183–192, 2014.
143. Zhang, X. Yan, and H. Li, "Analysis of the correlations of mucins, inflammatory markers, and clinical tests in dry eye," *Cornea*, vol. 32, no. 7, pp. 928–932, 2013.
144. Zhao H, Li Q, Ye M, Yu J. Tear Luminex Analysis in Dry Eye Patients. *Med Sci Monit*. 2018 Oct 24;24:7595-7602. Doi: 10.12659/MSM.912010. PMID: 30356032; PMCID: PMC6210933.
145. Hagan, S., Martin, E., & Enríquez-de-Salamanca, A. (2016). Tear fluid biomarkers in ocular and systemic disease: potential use for predictive, preventive and personalised medicine. *The EPMA journal*, 7(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s13167-016-0065-3>
146. Lio CT, Dhanda SK, Bose T. Cluster Analysis of Dry Eye Disease Models Based on Immune Cell Parameters - New Insight Into Therapeutic Perspective. *Front Immunol*. 2020 Sep 29;11:1930. Doi: 10.3389/fimmu.2020.01930. PMID: 33133058; PMCID: PMC7550429.
147. Ulhaq ZS, Soraya GV, Budu, Wulandari LR. The role of IL-6-174 G/C polymorphism and intraocular IL-6 levels in the pathogenesis of ocular diseases: a

- systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2020 Oct 15;10(1):17453. Doi: 10.1038/s41598-020-74203-9. PMID: 33060644; PMCID: PMC7566646.
148. T. Igarashi, C. Fujimoto, H. Suzuki et al., “Short-time exposure of hyperosmolarity triggers interleukin-6 expression in corneal epithelial cells,” *Cornea*, vol. 33, no. 12, pp. 1342–1347, 2014.
149. Brocker C, Thompson DC, Vasiliou V. The role of hyperosmotic stress in inflammation and disease. *Biomol Concepts* 2012;3:345-64
150. Clouzeau C, Godefroy D, Riancho L, et al. Hyperosmolarity potentiates toxic effects of benzalkonium chloride on conjunctival epithelial cells in vitro. *Mol Vis* 2012;18:851-63
151. Sullivan BD, Crews LA, Messmer EM, et al. Correlations between commonly used objective signs and symptoms for the diagnosis of dry eye disease: clinical implications. *Acta Ophthalmol* 2012. Dec 22 [E-pub ahead of print]
152. M. Bowes Hamill et al. AAO Refractive surgery BCSC 2019-2020. Pp.130-147, 2020;
153. Stephan J. Linke, Toam Katz Complication of corneal laser surgery 2017
154. Rahman,M.M.;Kim,D.H.; Park, C.-K.; Kim, Y.H. Experimental Models, Induction Protocols, and Measured Parameters in Dry Eye Disease: Focusing on Practical Implications for Experimental Research. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 12102. <https://doi.org/10.3390/ijms222212102>
155. Xiao, B.; Wang, Y.; Reinach, P.S.; Ren, Y.; Li, J.; Hua, S.; Lu, H.; Chen, W. Dynamic ocular surface and lacrimal gland changes induced in experimental murine dry eye. *Plos ONE* 2015, 10, e0115333.
156. Shinzawa,M.;Dogru,M.;Miyasaka,K.;Kojima,T.;Tsubota,K.theapplicationofstripmeniscometrytotheevaluationoftear Volume in Mice. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2019, 60, 2088–2091. [crossref] [pubmed]
157. T. Sakimoto, S. Sugaya, A. Ishimori, and M. Sawa, “Anti- inflammatory effect of IL-6 receptor blockade in corneal alkali burn,” *Experimental Eye Research*, vol. 97, no. 1, pp. 98–104, 2012.

158. Zeev M.S.-B., Miller D.D., Latkany R. Diagnosis of dry eye disease and emerging technologies. *Clin. Ophthalmol.* 2014;8:581–590.
159. Rahman M.Q., Chuah K.S., Macdonald E.C.A., Trusler J.P.M., Ramaesh K. The effect of pH, dilution, and temperature on the viscosity of ocular lubricants—shift in rheological parameters and potential clinical significance. *Eye.* 2012;26:1579–1584. Doi: 10.1038/eye.2012.211.
160. Dana R., Bradley J.L., Guerin A., Pivneva I., Stillman I.Ö., Evans A.M., Schaumberg D.A. Estimated prevalence and incidence of dry eye disease based on coding analysis of a large, all-age united states health care system. *Am. J. Ophthalmol.* 2019;202:47–54. Doi: 10.1016/j.ajo.2019.01.026.
161. Wang Q, Xie X, Li H, Hao S. Discovery of miRNA expression profiles involved in regulating TGF- $\beta$ 2 expression in the tears of dry eye patients. *Ann Clin Biochem.* 2020 Nov;57(6):420-428. Doi: 10.1177/0004563220961746. Epub 2020 Oct 6. PMID: 32936670.
162. Reale M, D'Angelo C, Costantini E, Laus M, Moretti A, Croce A. MiRNA in Sjögren's Syndrome: Their Potential Roles in Pathogenesis and Diagnosis. *J Immunol Res.* 2018 Jun 7;2018:7510174. Doi: 10.1155/2018/7510174. PMID: 29977932; PMCID: PMC6011049.
163. Rassi DM, De Paiva CS, Dias LC, Módulo CM, Adriano L, Fantucci MZ, Rocha EM. Review: miRNAs in ocular surface and dry eye diseases. *Ocul Surf.* 2017 Oct;15(4):660-669. Doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.007. Epub 2017 May 5. PMID: 28483646.
164. Salvi V, Gianello V, Tiberio L, Sozzani S and Bosisio D (2019) Cytokine Targeting by miRNAs in Autoimmune Diseases. *Front. Immunol.* 10:15. Doi: 10.3389/fimmu.2019.00015
165. Gebert LFR, Macrae IJ. Regulation of miRNA function in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019 Jan;20(1):21-37. Doi: 10.1038/s41580-018-0045-7. PMID: 30108335; PMCID: PMC6546304.

166. I. A. Valsero, L. S. Roman<sup>1</sup>, L. G. Posadas, A. L. García, and Y. Diebold, “IL-6 as a corneal wound healing mediator in an invitro scratch assay,” *Experimental Eye Research*, vol. 125, pp. 183–192, 2014.
167. Sullivan, David & Stern, Michael & Tsubota, Kazuo & Dartt, Darlene & Sullivan, Rose & Bromberg, B.. (2002). Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 3: Basic Science and Clinical Relevance Part A and B. 10.1007/978-1-4615-0717-8.
168. Ji YW, Byun YJ, Choi W, et al. Neutralization of ocular surface TNF- $\alpha$  reduces ocular surface and lacrimal gland inflammation induced by in vivo dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54:7557–7566. DOI: 10.1167/iovs.12-11515
169. *Superfície ocular* / coord. Paulo Torres ; textos Ana Duarte... [et al.]. - 1<sup>a</sup> ed. - Lisboa : Sociedade Portuguesa de Oftalmologia, 2012. - 340, [1] p. : il. ; 31 cm. - Contém bibliografia. - ISBN 978-989-98118-0-5
170. Labetoulle M, Baudouin C. From pathogenic considerations to a simplified decision-making schema in dry eye disease. *J Fr Ophtalmol*. 2013 Jun;36(6):543-7. Doi: 10.1016/j.jfo.2013.03.005. Epub 2013 May 21. PMID: 23706620.
171. C. Baudouin, P. Aragona, E. M. Messmer et al., “Role of hyperosmolarity in the pathogenesis and management of dry eye disease: proceedings of the OCEAN group meeting,” *The Ocular Surface*, vol. 11, no. 4, pp. 246–258, 2013.
172. T. Igarashi, C. Fujimoto, H. Suzuki et al., “Short-time exposure of hyperosmolarity triggers interleukin-6 expression in corneal epithelial cells,” *Cornea*, vol. 33, no. 12, pp. 1342–1347, 2014.
173. Sullivan BD, Pepose JS, Foulks GN. Progressively Increased Variation in Tear Osmolarity Mirrors Dry Eye Severity. *JAMA Ophthalmol*. 2015 Dec;133(12):1481-2. Doi: 10.1001/jamaophthalmol.2015.3854. PMID: 26469765.
174. Wallerstein A, Gauvin M. Re: Ang et al.: Randomized clinical trial comparing femtosecond LASIK and small-incision lenticule extraction (Ophthalmology. 2020;127:724-730). *Ophthalmology*. 2020 Nov;127(11):e99-e100. Doi: 10.1016/j.optha.2020.06.032. Epub 2020 Jul 29. PMID: 32739184.

175. Zhou X, Shen Y, Shang J, Zhou X. Effects of warm compress on tear film, blink pattern and Meibomian gland function in dry eyes after corneal refractive surgery. *BMC Ophthalmol*. 2021 Sep 10;21(1):330. Doi: 10.1186/s12886-021-02091-2. PMID: 34503464; PMCID: PMC8431912.
176. Idriss HT, Naismith JH: tnfa and the TNF receptor superfamily: Structure-function relationship(s). *Microsc Res Tech*, 2015; 50(3): 184–95
177. Ni HM, McGill MR, Chao X et al: Caspase inhibition prevents tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced apoptosis and promotes necrotic cell death in mouse hepatocytes *in vivo* and *in vitro*. *Am J Pathol*, 2016; 186(10): 2623-36
178. Oliver MM, Fuchs D, Tagscherer KE et al: Inhibition of caspases primes colon cancer cells for 5-fluorouracil-induced TNF- $\alpha$ -dependent necroptosis driven by RIP1 kinase and NF- $\kappa$ B. *Oncogene*, 2015; 35(26): 3399–409
179. Yang Q, Zheng FP, Zhan YS et al: Tumor necrosis factor- $\alpha$  mediates JNK activation response to intestinal ischemia-reperfusion injury. *World J Gastroenterol*, 2013; 19(30): 4925–34
180. Sang YL, Han SJ, Sang MN et al: Analysis of tear cytokines and clinical correlations in Sjögren syndrome dry eye patients and non-Sjögren syndrome dry eye patients. *Am J Ophthalmol*, 2013; 156(2): 247–53
181. De Paiva CS, Volpe EA, Gandhi NB, Zhang X, Zheng X, et al. (2011) Disruption of TGF- $\beta$  Signaling Improves Ocular Surface Epithelial Disease in Experimental Autoimmune Keratoconjunctivitis Sicca. *Plos ONE* 6(12): e29017. Doi:10.1371/journal.pone.0029017
182. User Manual ATLAS Corneal Topography System Model 9000 and ATLAS Review Software 3.0; pathfinder II Color-codedparameter Classification (Normal Eyes, based on Multi-Center Clinical Study), Chapter 7: 147-148.
183. Rentka A, Koroskenyi K, Harsfalvi J, Szekanecz Z, Szucs G, Szodoray P, Kemeny-Beke A. Evaluation of commonly used tear sampling methods and their relevance in subsequent biochemical analysis. *Ann Clin Biochem*. 2017 Sep;54(5):521-529. Doi: 10.1177/0004563217695843.
184. Bachhuber F, Huss A, Senel M, Tumani H. Diagnostic biomarkers in tear fluid:



from sampling to preanalytical processing. *Scientific reports*. 2021;11(1):10064. Doi: 10.1038/s41598-021-89514-8.

185. Wang Q, Xie X, Li H, Hao S. Discovery of microrna expression profiles involved in regulating TGF- $\beta$ 2 expression in the tears of dry eye patients. *Annals of Clinical Biochemistry*. 2020;57(6):420-428. Doi:10.1177/0004563220961746.

186. Dara M, Habibi A, Azarpira N, Dianatpour M, Nejabat M, Khosravi A, Tanideh N. Novel RNA extraction method from human tears. *Mol Biol Res Commun*. 2022;11(4):167-172. Doi: 10.22099/mbrc.2022.45266.1801.

187. Xia LK, Yu J, Chai GR, Wang D, Li Y. Comparison of the femtosecond laser and mechanical microkeratome for flap cutting in LASIK. *Inter J Ophthalmol*. 2015;8(4):784–790.

188. Могилевский С. Ю. Причины неудач эксимер-лазерной коррекции зрения / С. Ю. Могилевский, А. К. Павлюченко // Матеріали науково-практичної конференції офтальмологів з міжнародною участю «Філатовські читання», 28-29 травня 2009 р. : тези. – Одеса, 2009 р.– С. 29.

189. Могилевский С. Ю. Особенности биохимического статуса слезы у пациентов с миопией и миопическим астигматизмом и его влияние на частоту и характер осложнений после эксимерлазерной коррекции / С. Ю. Могилевский, Е. Д. Якубенко, А. К. Павлюченко // «Питання експериментальної та клінічної медицини»: Збірник статей. – Донецьк: доннму, 2010. – Вип. 14, Т. 2. – С. 208-213

190. [185] Gong Q, Li A, Chen L, Chen H, Gu J, Xu Z, Lu F, Hu L. Evaluation of Dry Eye After Refractive Surgery According to Preoperative Meibomian Gland Status. *Front Med (Lausanne)*. 2022 Apr 25;9:833984. Doi: 10.3389/fmed.2022.833984. PMID: 35547206; PMCID: PMC9082069.

191. [186] Stapleton F, Alves M, Bunya VY, et al. TFOS DEWS II Epidemiology Report. *Ocul Surf*. 2017;15(3):334-365.

192. Clouzeau C, Godefroy D, Riancho L, et al. Hyperosmolarity potentiates toxic effects of benzalkonium chloride on conjunctival epithelial cells in vitro. *Mol Vis* 2012;18:85163

193. Chao C, Golebiowski B, Stapleton F. The role of corneal innervation in lasik-induced neuropathic dry eye. *Ocul Surf.* 2014 Jan;12(1):32-45. Doi:10.1016/j.jtos.2013.09.001. Epub 2013 Oct 19. PMID: 24439045:
194. Mehlan J, Linke SJ, Skevas C, Steinberg J, Giannakakis K, Katz T. Safety and complications after three different surface ablation techniques with mitomycin C: a retrospective analysis of 2757 eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2019 Jan;257(1):217-223. Doi: 10.1007/s00417-018-4077-7. Epub 2018 Aug 3. PMID: 30076471.
195. Palme C, Mulrine F, McNeely RN, Steger B, Naroo SA, Moore JE. Assessment of the correlation of the tear breakup time with quality of vision and dry eye symptoms after SMILE surgery. *Int Ophthalmol.* 2022 Mar;42(3):1013-1020. Doi: 10.1007/s10792-021-02086-4. Epub 2021 Oct 28. PMID: 34709501; PMCID: PMC8917033.
196. Wilson SL, El Haj AJ, Yang Y. Control of scar tissue formation in the cornea: strategies in clinical and corneal tissue engineering. *J Funct Biomater.* 2012 Sep 18;3(3):642-87. Doi: 10.3390/jfb3030642. PMID: 24955637; PMCID: PMC4031002.
197. Wilson SE. Defective perlecan-associated basement membrane regeneration and altered modulation of transforming growth factor beta in corneal fibrosis. *Cell Mol Life Sci.* 2022 Feb 21;79(3):144. Doi: 10.1007/s00018-022-04184-7. PMID: 35188596; PMCID: PMC8972081.
198. Wilson SE. Fibrosis Is a Basement Membrane-Related Disease in the Cornea: Injury and Defective Regeneration of Basement Membranes May Underlie Fibrosis in Other Organs. *Cells.* 2022 Jan 17;11(2):309. Doi: 10.3390/cells11020309. PMID: 35053425; PMCID: PMC8774201.
199. Oliver MM, Fuchs D, Tagscherer KE et al: Inhibition of caspases primes colon cancer cells for 5-fluorouracil-induced TNF- $\alpha$ -dependent necroptosis driven by RIP1 kinase and NF- $\kappa$ B. *Oncogene*, 2015; 35(26): 3399–409
200. Sharma B, Soni D, Saxena H, Stevenson LJ, Karkhur S, Takkar B, Vajpayee RB. Impact of corneal refractive surgery on the precorneal tear film. *Indian J Ophthalmol.* 2020 Dec;68(12):2804-2812.

201. Wilson SE. Laser in situ keratomileusis-induced (presumed) neurotrophic epitheliopathy. *Ophthalmology*. 2001 Jun;108(6):1082-7.
202. Sridhar MS. Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol*. 2018 Feb;66(2):190-194.
203. Cui X, Hong J, Wang F, et al. Assessment of corneal epithelial thickness in dry eye patients. *Optom Vis Sci*. 2014;91(12):1446–54.
204. Corbett M, Maycock N, Rosen E, O’Brart D. Corneal Surface Disease. In: *Corneal Topography*. Springer, 2019. Cham.[https://doi.org/10.1007/978-3-030-10696-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-10696-6_8)
205. Solin S, Liam EJ, Edward EM. Effect of corneal epithelial remodeling on visual outcomes of topography-guided femtosecond LASIK. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*. 2022; 48 (10): 1155-1161.
206. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Оцінка впливу ексимерлазерної корекції міопії на розвиток синдрому сухого ока: ранні та віддалені терміни спостереження. *Офтальмологічний журнал*. 2022;(5):23–29. [doi.org/10.31288/oftalmolzh202252329](https://doi.org/10.31288/oftalmolzh202252329)
207. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Ступінь міопії та синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції. Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання офтальмології» (Миколаїв, Україна – 22-23.09.2021)
208. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Ексимерлазерна корекція міопії як фактор ризику синдрому сухого ока Науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`21» (Київ, Україна 28-30.10.2021 р.)
209. Wolffsohn JS, Arita R, Chalmers R, Djalilian A, Dogru M, Dumbleton K. Et al. Craig, TFOS DEWS II diagnostic methodology report. *The Ocular Surface*. 2017. 15 (3): 539-574.
210. Ozalpo, Atalay E. Biometric Determinants of Epithelial Thickness Profile Across a Wide Range of Refractive Errors. *Ophthalmol Ther*. 2022 Jun;11(3):1089-1100.

211. Kanellopoulos AJ, asimellisg. In vivo three-dimensional corneal epithelium imaging in normal eyes by anterior-segment optical coherence tomography: a clinical reference study. *Cornea*. 2013;32(11):1493–1498.
212. Ma XJ, Wang L, Koch DD. Repeatability of corneal epithelial thickness measurements using Fourier-domain optical coherence tomography in normal and post-LASIK eyes. *Cornea*. 2013;32(12):1544–1548.
213. Maltsev DS, Kudryashova EV, Kulikov AN, Mareichev AY. Relationship between central epithelial thickness and central corneal thickness in healthy eyes and eyes after laser in situ keratomileusis. *Cornea*. 2018;37(8):1053–1057.
214. Levy A, Georgeon C, Knoeri J, Tourabaly M, Leveziel L, Bouheraoua N, Borderie VM. Corneal Epithelial Thickness Mapping in the Diagnosis of Ocular Surface Disorders Involving the Corneal Epithelium: A Comparative Study. *Cornea*. 2022 Nov 1;41(11):1353-1361.
215. Arbosmosqueras, awwadst. Theoretical analyses of the refractive implications of transepithelial PRK ablations. *Br J Ophthalmol*. 2013 Jul;97(7):905-11.
216. Reinsteindz, archertj, gobbem, etal.. Epithelial thickness in the normal cornea: three-dimensional display with artemis very high-frequency digital ultrasound. *J Refract Surg*. 2008;24:571–581.
217. Hwang ES, Schallhorn JM, Randleman JB. Utility of regional epithelial thickness measurements in corneal evaluations. *Surv Ophthalmol*. 2020;65(2):187–204.
218. Salomão MQ, Hofling-Lima AL, Lopes BT, et al. Role of the corneal epithelium. Measurements in keratorefractive surgery. *Curr Opin Ophthalmol*. 2017;28(4):326–36.
219. Ryu IH, Kim WK, Nam MS, Kim JK, Kim SW. Reduction of corneal epithelial thickness during medical treatment for myopic regression following FS-LASIK. *BMC Ophthalmol*. 2020;20(1):296
220. Reinstein DZ, Archer TJ, Gobbe M. Rate of change of curvature of the corneal stromal surface drives epithelial compensatory changes and remodeling. *J Refract Surg*. 2014;30(12):799–802.

221. Reinstein DZ, Archer TJ, Gobbe M. Change in epithelial thickness profile 24 hours and longitudinally for 1 year after myopic LASIK: three-dimensional display with Artemis very high-frequency digital ultrasound. *J Refract Surg.* 2012;28(3):195–201.
222. Kanellopoulosaj, asimellisg. Longitudinal postoperative lasik epithelial thickness profile change sin correlation with degree of myopia correction. *J Refract Surg.* 2014; 30(3): 166–71.
223. Cohen E, Spierer O. Dry Eye Post-Laser-Assisted In Situ Keratomileusis: Major Reviewand Latest Updates. *J Ophthalmol.* 2018 Jan 28;2018:4903831.
224. Mori Y, Nejima R, Masuda A, Maruyama Y, Minami K, Miyata K, Amano S. Effect of diquafosol tetrasodium eye drop for persistent dry eye after laser in situkeratomileusis. *Cornea.*2014 Jul;33(7):659-62.
225. Могілевський СЮ, Жовтоштан МЮ, Синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. IX наук.-практ. Конф. Дитячих офтальмол. З міжнар. Учасю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити. 2021 Чер 10-12; Бугаз Одеської обл. 2021, с. 118-20.
226. Zhovtoshtan M. The relationship between excimer laser correction of ametropia and dry eye disease. *Scientific Collection «interconf», (62): with the Proceedings of the 9 th International Scientific and Practical Conference «Scientific Research in XXI Century» (June 18-19, 2021). Ottawa, Canada: Methuen Publishing House, 2021, p.358-360.*
227. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Бушуєва О.В. Персистуючий синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії та віддалені функціональні результати. *Офтальмологічний журнал.* 2023;(1):19–26. doi.org/10.31288/oftalmolzh202311926
228. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Синдром сухого ока як ускладнення ексимерлазерної корекції у ранні та віддалені терміни післяопераційного спостереження Науково-практична конференція з міжнародною учасю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`22» (Київ, Україна 2022р.)

229. Жовтоштан М.Ю. Ексимерлазерна корекція міопії та синдром сухого ока: віддалені терміни післяопераційного спостереження. Науково-практична онлайн конференція з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 4.0» (30.05.2022р.). Doi: 10.5281/zenodo.6814418
230. Жовтоштан М. Ю., Могілевський С. Ю., Усенко К. О. Вплив різних видів ексимерлазерної корекції міопії на розвиток і прогресування синдрому сухого ока Науково-практична конференція дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити. 2022 Чер 11; Київ. 2022, с. 20-21
231. Zhovtoshtan M. Evaluation of the corneal epithelium changes due to persistent DES after ELC of myopia by LASIK and Femto-LASIK methods using epithelial maps performed on AS-OCT, RMS of total HOA according to the results of corneal topography, and their relationship with refractive regression. 14<sup>th</sup> EUCornea 26-28 May 2023 in Barcelona.
232. Koh, Shizuka MD. Mechanisms of Visual Disturbance in Dry Eye. *Cornea* 35():p S83-S88, November 2016. | DOI: 10.1097/ICO.0000000000000998
233. Rhee J, Chan TC, Chow SS, Di Zazzo A, Inomata T, Shih KC, Tong L. A Systematic Review on the Association Between Tear Film Metrics and Higher Order Aberrations in Dry Eye Disease and Treatment. *Ophthalmol Ther.* 2022 Feb;11(1):35-67. doi: 10.1007/s40123-021-00419-1. Epub 2021 Nov 11. PMID: 34762259; PMCID: PMC8770783.
234. D'Souza S, James E, Swarup R, Mahuvakar S, Pradhan A, Gupta K. Algorithmic approach to diagnosis and management of post-refractive surgery dry eye disease. *Indian J Ophthalmol.* 2020 Dec;68(12):2888-2894. Doi: 10.4103/ijo.IJO\_1957\_20.
235. Altman J, Jones G, Ahmed S, Sharma S, Sharma A. Tear Film micrnas as Potential Biomarkers: A Review. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 12;24(4):3694. Doi: 10.3390/ijms24043694.
236. Jámbor I, Szabó K, Zeher M, Papp G. A mikro-RNS-ek jelentősége szisztémás autoimmun betegségek kialakulásában [The importance of micrnas in the

- development of systemic autoimmune disorders]. *Orv Hetil.* 2019 Apr;160(15):563-572. Hungarian. Doi: 10.1556/650.2019.31349.
237. Xu WD, Lu MM, Pan HF, Ye DQ. Association of microrna-146a with autoimmune diseases. *Inflammation.* 2012 Aug;35(4):1525-9. Doi: 10.1007/s10753-012-9467-0.
238. Pucker AD, Ngo W, Postnikoff CK, Fortinberry H, Nichols JJ. Tear Film mirnas and Their Association With Human Dry Eye Disease. *Curr Eye Res.* 2022 Nov;47(11):1479-1487. Doi: 10.1080/02713683.2022.2110597.
239. Ren Y, Feng J, Lin Y, Reinach PS, Liu Y, Xia X, Ma X, Chen W, Zheng Q. Mir-223 inhibits hyperosmolarity-induced inflammation through downregulating NLRP3 activation in human corneal epithelial cells and dry eye patients. *Exp Eye Res.* 2022 Jul;220:109096. Doi: 10.1016/j.exer.2022.109096.
240. Yin L, Zhang M, He T, Chen S. The expression of mirna-146a-5p and its mechanism of treating dry eye syndrome. *J Clin Lab Anal.* 2021 Jan;35(1):e23571. Doi: 10.1002/jcla.23571.
241. Wang Q, Xie X, Li H, Hao S. Discovery of microrna expression profiles involved in regulating TGF- $\beta$ 2 expression in the tears of dry eye patients. *Annals of Clinical Biochemistry.* 2020;57(6):420-428. Doi:10.1177/0004563220961746.
242. Fang J, Kuang J, Hu S, Yang X, Wan W, Li J, Fan X. Upregulated microrna-450b-5p represses the development of acute liver failure via modulation of liver function, inflammatory response, and hepatocyte apoptosis. *Immun Inflamm Dis.* 2023 Feb;11(2):e767. Doi: 10.1002/iid3.767.
243. Sun MM, Li JF, Guo LL, Xiao HT, Dong L, Wang F, Huang FB, Cao D, Qin T, Yin XH, Li JM, Wang SL. TGF- $\beta$ 1 suppression of microrna-450b-5p expression: a novel mechanism for blocking myogenic differentiation of rhabdomyosarcoma. *Oncogene.* 2014 Apr 17;33(16):2075-86. Doi: 10.1038/onc.2013.165.
244. Benito MJ, Calder V, Corrales RM, García-Vázquez C, Narayanan S, Herreras JM, Stern ME, Calonge M, Enríquez-de-Salamanca A. Effect of TGF- $\beta$  on ocular surface epithelial cells. *Exp Eye Res.* 2013 Feb;107:88-100. Doi: 10.1016/j.exer.2012.11.017.

245. Rassi DM, De Paiva CS, Dias LC, Módulo CM, Adriano L, Fantucci MZ, Rocha EM. Review: micrnas in ocular surface and dry eye diseases. *Ocul Surf.* 2017 Oct;15(4):660-669. Doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.007.
246. Hou Y, Lu X, Zhang Y. IRAK Inhibitor Protects the Intestinal Tract of Necrotizing Enterocolitis by Inhibiting the Toll-Like Receptor (TLR) Inflammatory Signaling Pathway in Rats. *Med Sci Monit.* 2018 May 22;24:3366-3373. Doi: 10.12659/MSM.910327.
247. Wang L, Wang X, Chen Q, Wei Z, Xu X, Han D, Zhang Y, Chen Z, Liang Q. Micrnas of extracellular vesicles derived from mesenchymal stromal cells alleviate inflammation in dry eye disease by targeting the IRAK1/TAB2/NF- $\kappa$ b pathway. *Ocul Surf.* 2023 Apr;28:131-140. Doi: 10.1016/j.jtos.2023.03.002.
248. Han R, Gao J, Wang L, Hao P, Chen X, Wang Y, Jiang Z, Jiang L, Wang T, Zhu L, Li X. Microrna-146a negatively regulates inflammation via the IRAK1/TRAF6/NF- $\kappa$ b signaling pathway in dry eye. *Sci Rep.* 2023 Jul 11;13(1):11192. Doi: 10.1038/s41598-023-38367-4.
249. Shi H, Zheng LY, Zhang P, Yu CQ. Mir-146a and mir-155 expression in pbmcs from patients with Sjögren's syndrome. *J Oral Pathol Med.* 2014 Nov;43(10):792-7. Doi: 10.1111/jop.12187.
250. Wang X, Xin S, Wang Y, Ju D, Wu Q, Qiu Y, Niu X, Liu W, Li J, Ji P. Microrna-146a-5p enhances T helper 17 cell differentiation via decreasing a disintegrin and metalloprotease 17 level in primary sjögren's syndrome. *Bioengineered.* 2021 Dec;12(1):310-324. Doi:10.1080/21655979.2020.187
251. Зяблицев С.В., Жовтоштан М.Ю. Прогностична роль мікроРНК та TGF- $\beta$ 2 при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. *Архів офтальмології України.* 2023; 11(2): 51-56. doi.org/10.22141/2309-8147.11.2.2023.329
252. Zhovtoshtan M. miRNA expression TGF- $\beta$ 2 content as factors for prediction of dry eye syndrome after excimerlaser myopia correction II International Scientific and Practical Conference «Creation of new ideas of learning in modern conditions», Bordeaux, France (September 25-27, 2023).



253. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії на різних термінах післяопераційного спостереження. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с.196-199.
254. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Зміни маніфестної рефракції та показників кератотопографії внаслідок персистуючого синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 199-201.
255. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Гіперплазія епітелію рогівки при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії: вплив на рефракційний результат. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 201-204.
256. Hu, L., Pu, Q., Zhang, Y., Ma, Q., Li, G., & Li, X. (2019). Expansion and maintenance of primary corneal epithelial stem/progenitor cells by inhibition of TGFβ receptor I-mediated signaling. *Experimental Eye Research*, 182, 44-56. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.03.014>

## ДОДАТКИ

## Додаток 1. Акти впровадження в наукову і практичну діяльність.



ЗАТВЕРДЖУЮ

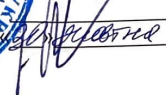
Перший проректор

Національного університету

охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика

член-кореспондент НАМН України,

д.мед.н., професор Вдовиченко Ю.П.

 20 23 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: нові фактори ризику розвитку синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії.
2. Установа-розробник, автор: кафедра офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), Жовтоштан М.Ю.
3. Джерело інформації: Зябліцев СВ, Жовтоштан МЮ, Прогностична роль мікроРНК та TGF-β2 при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Архів офтальмології України. 2023; 11(2).
4. Базова установа, яка проводить впровадження: Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, кафедра офтальмології, м. Київ.
5. Форми впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри.
7. Термін впровадження: 2023 рік
8. Ефективність: покращення результатів ексимерлазерної корекції міопії.
9. Зауваження та пропозиції: Зауважень немає. Рекомендовано для подальшого використання у процесі викладання офтальмології в умовах медичних навчальних закладів.

Завідувач кафедри офтальмології  
д.мед.н., професор



О.О. Путієнко

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Проректор з наукової роботи  
Дніпровського державного медичного  
університету



д.мед.н. Олександр ГУДАР'ЯН

2023 р.

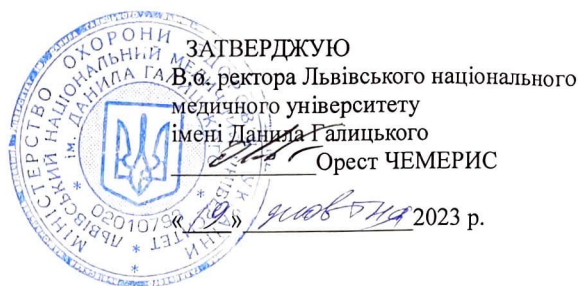
### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: нові фактори ризику розвитку синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії.
2. Установа-розробник, автор: кафедра офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), Жовтоштан М.Ю.
3. Джерело інформації: Зябліцев С.В., Жовтоштан М.Ю., Прогностична роль мікроРНК та TGF- $\beta$ 2 при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Архів офтальмології України. 2023; 11(2).
4. Базова установа, яка проводить впровадження: Дніпровський державний медичний університет, кафедра офтальмології, м. Дніпро.
5. Форми впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри.
6. Термін впровадження: 2023 рік
7. Ефективність: покращення результатів ексимерлазерної корекції міопії.
8. Зауваження та пропозиції: Зауважень немає. Рекомендовано для подальшого використання у процесі викладання офтальмології в умовах медичних навчальних закладів.

Завідувач кафедри офтальмології  
д.мед.н., професор

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Valeriy Serdyuk".

Валерій СЕРДЮК



#### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: нові фактори ризику розвитку синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії.
2. Установа-розробник, автор: кафедра офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), Жовтоштан М.Ю.
3. Джерело інформації: Зяблицев СВ, Жовтоштан МЮ, Прогностична роль мікроРНК та TGF- $\beta$ 2 при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Архів офтальмології України. 2023; 11(2).
4. Базова установа, яка проводить впровадження: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра офтальмології ФПДО, м. Львів.
5. Форми впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри.
6. Термін впровадження: 2023 рік
7. Ефективність: покращення результатів ексимерлазерної корекції міопії.
8. Зауваження та пропозиції: Зауважень немає. Рекомендовано для подальшого використання у процесі викладання офтальмології в умовах медичних навчальних закладів.

Завідувач кафедри офтальмології ФПДО  
ЛНМУ імені Данила Галицького  
д.мед.н., професор

Андрій ГУДЗЬ



ЗАТВЕРДЖУЮ

Заступник директора

ПП «Львів Сапфір» (м. Львів)

«Львів Сапфір»

Лемець О.В.

«15» вересня 2023 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** нові фактори ризику розвитку синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії.
2. **Установа-розробник, автор:** кафедра офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), Жовтоштан М.Ю.
3. **Джерело інформації:** Зябліцев СВ, Жовтоштан МЮ, Прогностична роль мікроРНК та TGF- $\beta$ 2 при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Архів офтальмології України. 2023; 11(2).
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** медичний центр «Лазер Плюс» ПП «Львів Сапфір», м. Львів.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в клінічній практиці закладу.
6. **Термін впровадження:** 2023 рік
7. **Ефективність:** покращення результатів ексимерлазерної корекції міопії.
8. **Зауваження та пропозиції:** Зауважень немає. Рекомендовано для подальшого використання у процесі викладання офтальмології в умовах медичних навчальних закладів.

Відповідальний за впровадження:  
 Медичний директор медичного центру «Лазер Плюс»  
 ПП «Львів Сапфір»  
 д.мед.н.

Ю.О. Панченко



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** нові фактори ризику розвитку синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії.
2. **Установа-розробник, автор:** кафедра офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), Жовтоштан М.Ю.
3. **Джерело інформації:** Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., і Бушуева О. В.. Персистуючий синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії та віддалені функціональні результати. Офтальмол. журн. — 2023. — № 1. — С. 19-26. doi:10.31288/oftalmolzh202311926.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** медичний центр ТОВ ОК «Новий зір», м. Київ.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в клінічній практиці закладу.
6. **Термін впровадження:** 2023 рік
7. **Ефективність:** покращення результатів ексимерлазерної корекції міопії.
8. **Зауваження та пропозиції:** Зауважень немає. Рекомендовано для подальшого використання у клінічній практиці.

Відповідальний за впровадження:  
Головний лікар ТОВ ОК «Новий зір»  
к.мед.н.

 Пархоменко Г.Я.

ЗАТВЕРДЖУЮ  
Медицинський директор  
ТОВ «Офтальмологічна клініка «Візекс»  
д.мед.н. професор А.С. Гудзь



#### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** нові фактори ризику розвитку синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії.
2. **Установа-розробник, автор:** кафедра офтальмології Національного університету охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика МОЗ України (вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112), Жовтоштан М.Ю.
3. **Джерело інформації:** Зябліцев СВ, Жовтоштан МЮ, Прогностична роль мікроРНК та TGF- $\beta$ 2 при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Архів офтальмології України. 2023; 11(2).
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** медичний центр ТОВ «Офтальмологічна клініка «Візекс», м. Львів.
5. **Форми впровадження:** матеріали використовуються в клінічній практиці закладу.
6. **Термін впровадження:** 2023 рік
7. **Ефективність:** покращення результатів ексимерлазерної корекції міопії.
8. **Зауваження та пропозиції:** Зауважень немає. Рекомендовано для подальшого використання у клінічній практиці.

Відповідальний за впровадження:  
заступник директора медичного центру  
ТОВ «Офтальмологічна клініка «Візекс»  
доктор філософії

Г.Є. Захаревич

## **Додаток 2. Список публікацій здобувача за темою дисертації.**

### **Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації**

1. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Оцінка впливу ексимерлазерної корекції міопії на розвиток синдрому сухого ока: ранні та віддалені терміни спостереження. Офтальмологічний журнал. 2022;(5):23–29. doi.org/10.31288/oftalmolzh202252329
2. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Бушуєва О.В. Персистуючий синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії та віддалені функціональні результати. Офтальмологічний журнал. 2023;(1):19–26. doi.org/10.31288/oftalmolzh202311926
3. Зябліцев С.В., Жовтоштан М.Ю. Прогностична роль мікроРНК та TGF- $\beta$ 2 при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Архів офтальмології України. 2023; 11(2): 51-56. doi.org/10.22141/2309-8147.11.2.2023.329

### **Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації**

4. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Ексимерлазерна корекція міопії як фактор ризику синдрому сухого ока Науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`21» (Київ, Україна 28-30.10.2021 р.) с 38-39 (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез).
5. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. ІХ наук-практ. конф. дитячих офтальмол. з міжнар. участю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити. 2021 Чер 10-12; Бугаз Одеської обл. 2021, с. 118-20 (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез)



6. Zhovtoshtan M. The relationship between excimer laser correction of ametropia and dry eye disease. Scientific Collection «InterConf», (62): with the Proceedings of the 9 th International Scientific and Practical Conference «Scientific Research in XXI Century» (June 18-19, 2021). Ottawa, Canada: Methuen Publishing House, 2021, p.358-360. (Форма участі: публікація тез).
7. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Ступінь міопії та синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції. Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання офтальмології», 22-23 вересня 2021 р. Миколаїв / Ред. кол. – Одеса: ФОП Бондаренко М. О., 2021, с. 74-77 (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез).
8. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Синдром сухого ока як ускладнення ексимерлазерної корекції у ранні та віддалені терміни післяопераційного спостереження Науково-практична конференція з міжнародною участю «РЕФРАКЦІЙНИЙ ПЛЕНЕР`22» (Київ, Україна 2022 р.) с 58-60. (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез).
9. Жовтоштан М.Ю. Ексимерлазерна корекція міопії та синдром сухого ока: віддалені терміни післяопераційного спостереження. Науково-практична онлайн конференція з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 4.0»(30.05.2022р.). doi: 10.5281/zenodo.6814418 с 84-85. (Форма участі: публікація тез).
10. Жовтоштан М. Ю., Могілевський С. Ю., Усенко К. О. Вплив різних видів ексимерлазерної корекції міопії на розвиток і прогресування синдрому сухого ока Науково-практична конференція дитячих офтальмологів та оптометристів України з міжнародною участю під редакцією проф. С. О. Рикова: Своє дитинство треба бачити. 2022 Чер 11; Київ. 2022, с. 20-21. (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез).
11. Zhovtoshtan M. Evaluation of the corneal epithelium changes due to persistent DES after ELC of myopia by LASIK and Femto-LASIK methods using epithelial maps performed on AS-OCT, RMS of total HOA according to the results of

corneal topography, and their relationship with refractive regression. 14<sup>th</sup> EUCornea 26-28 May 2023 in Barcelona (Форма участі: стендова доповідь)

12. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Синдром сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії на різних термінах післяопераційного спостереження. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 196-199 (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез).
13. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю., Зміни маніфестної рефракції та показників кератотопографії внаслідок персистуючого синдрому сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 199-201 (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез).
14. Могілевський С.Ю., Жовтоштан М.Ю. Гіперплазія епітелію рогівки при синдромі сухого ока після ексимерлазерної корекції міопії: вплив на рефракційний результат. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю “Філатовські читання-2023” Одеса, Україна / 24-26 травня 2023, с. 201-204 (Форма участі: стендова доповідь, публікація тез).
15. Zhovtoshtan M. mirna expression tgf- $\beta$ 2 content as factors for prediction of dry eye syndrome after excimerlaser myopia correction II International Scientific and Practical Conference «Creation of new ideas of learning in modern conditions», Bordeaux, France (September 25-27, 2023) (Форма участі: публікація тез).