

*На правах рукописи*

**ЛОШКАРЕВА АНАСТАСИЯ ОЛЕГОВНА**

**ТЕРАПИЯ ХРОНИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ЭПИТЕЛИЗАЦИИ  
РОГОВИЦЫ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АУТОЛОГИЧНОЙ БОГАТОЙ  
ТРОМБОЦИТАМИ ПЛАЗМЫ**

14.01.07 - глазные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва - 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: доктор медицинских наук, заведующий отделом терапевтической офтальмологии ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» Минздрава России  
**Майчук Дмитрий Юрьевич**

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор, начальник отдела травматологии и реконструктивной хирургии Федерального Государственного Бюджетного Учреждения «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России  
**Ченцова Екатерина Валерьяновна**

доктор медицинских наук, профессор  
ООО «Московская глазная клиника»  
**Слонимский Алексей Юрьевич**

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет» им. А. И. Евдокимова Минздрава РФ

Защита состоится «    » декабря 2018 г. в \_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.014.01 при ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» Минздрава России по адресу: 127486, г. Москва, Бескудниковский бульвар, д. 59А.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н.Федорова» Минздрава России

Автореферат разослан «    » октября 2018 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

И.А. Мушкова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Эрозии роговицы характеризуются длительным воспалительным процессом и затяжным течением. Пусковым механизмом развития данной группы заболеваний является нарушение адгезии эпителия роговицы к подлежащей Боуменовой мембране. Рецидивирующая эрозия роговицы к настоящему времени выделена как самостоятельное заболевание, а герпетическая этиология занимает в данной группе патологий значительное место (Pfister R., 1973; Rubinfeld R. S., 1990; Каспарова Е.А., 2010; Майчук Д.Ю., 2004; 2014; Пронкин И.А., 2015).

Герпетическая природа хронических нарушений эпителизации роговицы встречается в практике достаточно часто (более 50% случаев). Однако традиционно они считаются вызванными инфицированием вируса простого герпеса (ВПГ) 1, 2 типов, в то время как все больше исследователей рассматривают именно хроническое поражение как следствие сочетанной герпесвирусной инфекции (Чернакова Г.М., 2014; Shimomura Y., 2011).

В качестве методов терапии герпетических хронических нарушений эпителизации используют: репаративные препараты и слезозаместители, бандажные мягкие контактные линзы (Thoft R., 1981; Haung F.C., 2002; Пронкин И.А., 2015; Lambiase A., 2016). Среди хирургических методов лечения возможно проведение фототерапевтической кератэктомии, а также использование покровных материалов (Eschstruth P., 2006). Однако применение классических терапевтических методик зачастую не приводит к получению полной эпителизации роговицы, либо полученный эффект носит весьма кратковременный характер.

Уже более 20 лет для усиления репарации роговицы успешно применяются компоненты крови, и наиболее часто – аутологичная сыворотка (Tsubota K., 1999; Паштаев Н.П., 2013; Поздеева Н.А., 2014), используемая в виде подконъюнктивальных инъекций и в виде капель. Следующим этапом

развития методики применения аутокрови стало использование богатой тромбоцитами плазмы (БоТП) (Fernandez-Barbero J.E.,2006; Tanidir S. T.,2010; Kim K. M., 2012). Проведенные клинические исследования показали эффективность применения БоТП для лечения синдрома сухого глаза тяжелой степени, ожоговой болезни, сопровождающихся клинической картиной хронических нарушений эпителизации роговицы. При приготовлении БоТП достигается получение высоких концентраций факторов роста, присутствующих в  $\alpha$ -гранулах тромбоцитов: эпителиального, фактора роста фибробластов, трансформирующего фактора роста- $\beta$ , тромбоцитарного и инсулиноподобного факторов роста (Alio J.L.,2007; Anitua E.,2015).

Однако до настоящего времени не был разработан алгоритм ведения пациентов с герпесвирусными эрозиями роговицы с использованием специфической противовирусной терапии и аутологичной БоТП. Кроме того, отсутствовало описание возможных вариантов течения клинической картины сочетанной герпетической инфекции, что дало бы основу для принятия решения об эмпирическом назначении специфической противовирусной терапии. Недостаток информации об особенностях клинических проявлений цитомегаловирусных (ЦМВ) хронических нарушений целостности роговицы и необходимость разработать технологию для лечения данной патологии с помощью аутологичной богатой тромбоцитами плазмы и стали основанием для проведения настоящего исследования.

**Цель исследования** – разработать технологию лечения хронических нарушений эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии с помощью изолированного и сочетанного применения богатой тромбоцитами плазмы и 0,01% сульфатированных гликозаминогликанов.

Для решения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи исследования:**

1. Оценка частоты формирования хронических нарушений эпителизации в зависимости от характера вирусной этиологии.

2. Исследование характера и частоты встречаемости сопутствующей вторичной бактериальной инфекции у пациентов с хроническими нарушениями эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии.

3. Анализ стерильности приготовленной богатой тромбоцитами плазмы.

4. Разработка этапной методики терапии хронических нарушений эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии с помощью изолированного и сочетанного применения богатой тромбоцитами плазмы и 0,01% сульфатированных гликозаминогликанов.

5. Клиническая оценка терапевтического эффекта богатой тромбоцитами плазмы, изолированно и в сочетании с 0,01% сульфатированными гликозаминогликанами.

#### **Научная новизна работы**

1. Впервые проведен анализ распространенности и характера вторичной бактериальной инфекции у пациентов с хроническими нарушениями эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии.

2. Описаны варианты клинической картины хронических нарушений эпителизации роговицы при сочетании вирусов герпеса 1, 2 типов и цитомегаловируса, а также при изолированном поражении цитомегаловирусом.

3. Впервые в экспериментальном исследовании доказаны оптимальные сроки безопасного хранения приготовленной богатой тромбоцитами плазмы.

4. Впервые проведена сравнительная оценка клинико-функциональных показателей при применении богатой тромбоцитами плазмы изолированно и в сочетании с 0,01% сульфатированными гликозаминогликанами при хронических нарушениях эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии с доказанным равноценным эффектом в исследуемых группах.

## **Практическая значимость работы**

1. Разработана и внедрена в клиническую практику этапная методика терапии хронических нарушений эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии с включением в терапию богатой тромбоцитами плазмы. Также показано, что при проведении этапной терапии применение богатой тромбоцитами плазмы не приводит к реактивации герпетического процесса.

2. При сравнительном анализе использования предложенного метода, оптимальный результат заключался в получении полной эпителизации роговицы при сочетании применения богатой тромбоцитами плазмы и 0,01% сульфатированных гликозаминогликанов в 40% случаев через 4 недели терапии и в 50% случаев через 8 недель.

3. Показана стабильность полученных результатов полной эпителизации роговицы в исследуемых группах в течение 6 месяцев после окончания терапии.

## **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Разработанная этапная технология лечения богатой тромбоцитами плазмой обеспечивает безопасную и эффективную регенерацию хронических дефектов и способствует достижению стойкой ремиссии при хронических нарушениях эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии.

2. Показанное взаимоотношение сочетанной герпетической и цитомегаловирусной инфекции поддерживает эмпирический выбор противовирусной терапии широкого спектра действия при начале лечения рецидивирующих хронических дефектов роговицы.

## **Внедрение результатов работы в практику**

Основные положения работы включены в тематику лекций цикла повышения квалификации врачей-офтальмологов в ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургии глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, в цикл лекций для студентов ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» МЗ РФ.

Результаты проведенных исследований использованы при разработке патента на способ лечения, изложены в докладах на научно-практических конференциях, публикациях, кандидатской диссертации. Предложенные схемы лечения хронических нарушений эпителизации роговицы используются в работе отдела терапевтической офтальмологии ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургии глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

### **Апробация результатов работы**

Результаты научно-исследовательской работы были успешно доложены и обсуждены на научных конференциях офтальмологов «Невские горизонты» (Санкт-Петербург, 2016, 2018), на Научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии» (Москва, 2016), на Научно-практической конференции «Федоровские чтения» (Москва, 2016), На научном конгрессе Европейской Ассоциации зрения и исследований глаза EVER (Ницца, Франция, 2016), на 13-м Международном симпозиуме терапевтической офтальмологии и офтальмофармакологии ISOPT (Рим, Италия, 2016), на Конгрессе Европейского общества офтальмологов SOE (Барселона, Испания, 2017), на 8-м Конгрессе Европейского роговичного общества EuCornea (Лиссабон, Португалия, 2017), на XXXV Конгрессе Европейского общества катарактально-рефракционных хирургов ESCRS (Лиссабон, Португалия, 2017). Диссертация апробирована на еженедельной научно-клинической конференции ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России (Москва, 2018).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 19 печатных работ, из них – 3 в научных журналах, рецензируемых ВАК РФ. Получен 1 патент РФ на способ лечения.

## **Структура и объем работы**

Текст диссертации изложен на 131 странице, включает 15 таблиц и 19 рисунков. Работа состоит из введения и трех глав, включающих обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты экспериментального и клинических исследований, содержит общее заключение и выводы. Список литературы состоит из 168 источников, включающих 60 отечественных и 108 иностранных публикаций.

Экспериментальные исследования *in vitro* выполнены на базе лаборатории санитарной и клинической микробиологии головной организации ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России и ООО "Герпетический центр", г. Москва.

Клинические исследования проведены на базе отдела терапевтической офтальмологии и консультативно-диагностического отделения поликлиники, в центре фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем головной организации ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Исследование включало три основных этапа: лабораторный, экспериментальный и сравнительный клинический. Общее количество исследованных пациентов – 120, часть из которых была включена в оба клинических этапа работы.

### **Результаты лабораторного исследования**

Задачей данного этапа работы была систематизация и описание характера клинических проявлений хронических поражений роговицы у пациентов с цитомегаловирусным инфицированием. В исследование были включены 120 пациентов (62 мужчины, 58 женщин, в возрасте от 18 до 75 лет) со следующими условиями: наличие рецидивирующего кератита,

наличие хронической дезэпителизации роговицы больше 2 недель без выраженной положительной динамики, положительные титры ИФА крови к антителам к ЦМВ.

В результате, у 104 пациентов (86,7%) было выявлено сочетание герпетической и цитомегаловирусной инфекции, у 9 пациентов (7,5%) определялось сочетание как положительного IgM, так и положительного IgG к ЦМВ. Наличие изолированного ЦМВ было выявлено у 16 пациентов (13,3%). Среди 104 пациентов с сочетанием ВПГ 1, 2 типов и ЦМВ был проведен анализ соотношения их титров (таблица 1).

Таблица 1 – Варианты сочетания титров герпетической и цитомегаловирусной инфекции у пациентов с герпетическими кератоконъюнктивитами, (n=104), М (%)

Отношение показателей ЦМВ IgG / ВПГ IgG в количество раз	Число случаев	%
2	25	20,8
4	18	15
8	4	3,3
1 (равны)	20	16,7
0,0625 (меньше в 16 раз)	2	1,7
0,125 (меньше в 8 раз)	5	4,2
0,25 (меньше в 4 раза)	5	4,2
0,5 (меньше в 2 раза)	25	20,8

В процессе исследования у всех 120 пациентов производился качественный анализ ПЦР-материала с конъюнктивы на наличие ВПГ-1, 2 и ЦМВ. Положительный результат наблюдался у 66 пациентов, сочетание ВПГ-1, 2 и ЦМВ инфекции выявлено у 37 пациентов, изолированная ВПГ- 1, 2 инфекция – у 25 пациентов, ЦМВ – у 4 пациентов. Присутствие сочетания как ВПГ, так и ЦМВ у пациентов позволило сделать вывод о необходимости включения противовирусных препаратов широкого спектра действия в схемы

рекомендуемой терапии у всех пациентов с хроническими нарушениями эпителизации.

В результате были отобраны 83 пациента, у которых наблюдалась либо изолированная цитомегаловирусная инфекция (n=16), либо равная (n=20) или превалирующая в соотношении с ВПГ-1, 2 (n=47). В ходе наблюдения данной группы пациентов было проведено описательное исследование особенностей клинической картины возможных вариантов течения сочетанной герпетической и цитомегаловирусной инфекции.

В качестве особенностей, выявляемых у пациентов с рецидивирующими формами поражения предположительно цитомегаловирусной этиологии, удалось выделить:

- наличие одновременно несколько участков поражения, часто коррелирующих с количеством рецидивов заболевания в анамнезе (71% случаев),
- поражение всех секторов роговицы в равной степени (28% случаев),
- преимущественно поверхностное поражение роговицы, чаще не глубже эпителия, однако с возможным отеком эндотелия в той же зоне (58% случаев),
- развитие первичного воспаления происходит в глубоких слоях эпителия, причем образование эрозии не обязательно и скорее вторично (36% случаев),
- достаточно частое отложение пигмента в эпителизированной зоне поражения (44% случаев),
- формирование неоваскуляризации по типу одного или нескольких агрессивных крупных центральных сосудов, проходящих в зону поражения (84% случаев).

Полученные результаты, подтвержденные ИФА и качественным ПЦР-исследованиями, свидетельствуют об участии цитомегаловируса в формировании хронических нарушений эпителизации роговицы.

## **Результаты микробиологического исследования**

Полученные данные позволили оценить у пациентов с цитомегаловирусным поражением наличие и вариации вторичного бактериального инфицирования, а также качественное и количественное инфицирование этих пациентов вирусом простого герпеса.

По результатам оценки микробиологического исследования отделяемого конъюнктивы, условно-патогенная и патогенная микрофлора была выявлена у 29 пациентов (24,2% случаев). При этом у 23 пациентов (19,2% случаев) был выделен *Staphylococcus epidermidis*, у 4 пациентов (3,3% случаев) – *Staphylococcus aureus*, у 2 пациентов (1,7%) – *Enterococcus faecalis*. Нахождение в почти ¼ части случаев микрофлоры в дальнейшем обусловило включение первым этапом антибактериальных препаратов в предложенные схемы эмпирической терапии.

## **Анализ стерильности приготовленной богатой тромбоцитами плазмы**

Исследование с целью определения бактериальной и грибковой микрофлоры проводилось на 10 образцах БотП пациентов. Контаминация оценивалась в различные сроки: сразу после получения материала, и через 3, 5, 6 и 7 суток после приготовления при условии хранения материала при температуре +4-+6°C. При хранении при -18°C исследование микрофлоры происходило на 14-й, 30-й, 45-й и 60-й день после приготовления. Не было выявлено контаминации бактериальной или грибковой микрофлорой ни сразу после приготовления богатой тромбоцитами плазмы, ни на сроках 3-и, 5-е, 6-е, и 7-е сутки от момента забора материала при хранении при температуре +4-+6°C. При хранении в условиях -18°C показано отсутствие контаминации на сроках 15 дней, 1 месяц и 45 дней во всех 10 образцах, однако на сроке хранения 2 месяца был отмечен рост бактериальной микрофлоры в 1 из образцов, остальные 9 оставались стерильными.

Полученные результаты позволили разработать и оптимизировать схему терапии с включением БоТП. Полученные данные свидетельствуют о безопасном использовании БоТП в течение минимум 4 суток при температуре +4-+6°C и минимум 1 месяца с момента проведения процедуры его получения при хранении в условиях -18°C. На основании результатов данного исследования, в дальнейшем пациенту выдавался 1 флакон капель для немедленного использования и хранения при температуре +4-+6°C, который использовался пациентом не больше 4 суток от момента начала использования, остальные флаконы хранились при -18°C.

### **Разработка этапной методики терапии хронических нарушений эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии**

По результатам проведенного исследования, была разработана этапная методика терапии хронических нарушений эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии (патент РФ № 2653260 от 07.05.2018). Схема лечения включает проведение двух этапов. При этом первый этап может расцениваться и как лечебный, и как профилактический в нейтрализации герпетической и цитомегаловирусной составляющей при подготовке к следующему этапу. Учитывая выявленную частоту встречаемости ЦМВ-инфицирования, целесообразно включать в схемы лечения препараты широкого противовирусного спектра, типа Валацикловира или Ганцикловира.

Учитывая данные проведенного микробиологического исследования, можно рекомендовать использование антибактериальной терапии с целью профилактики, либо лечения вторичного бактериального инфицирования.

Второй этап терапии с включением БоТП направлен непосредственно на улучшение эпителизации при хронических нарушениях эпителизации роговицы. Предложенная методика терапии в дальнейшем использовалась в следующем сравнительном клиническом исследовании.

## **Оценка эффективности богатой тромбоцитами плазмы изолированно и в сочетании с 0,01% сульфатированными гликозаминогликанами**

Целью клинического исследования было определить эффективность применения аутологичной богатой тромбоцитами плазмы в терапии хронических нарушений эпителизации роговицы герпетической этиологии. Для этого были отобраны 60 пациентов (60 глаз) с хроническими нарушениями эпителизации роговицы из 120 обследованных ранее.

Условием включения в исследование было наличие персистирующего нарушения целостности эпителизации роговицы в течение минимум 2 недель и отсутствие значительной положительной динамики. Таким образом, контрольной группой в исследовании выступали те же пациенты, получавшие репаративное лечение без существенного улучшения.

При проведении терапии хронических и рецидивирующих эрозий роговицы применение БоТП производится одновременно с использованием других репаративных препаратов и протекторов роговицы. Естественно встает вопрос о возможности минимизации инстилляций капель. Второй целью данного клинического исследования эффективности БоТП было оценить возможность уменьшения количества используемых пациентом препаратов. Для этого было проведено исследование сравнительной эффективности изолированного применения БоТП и инстилляций БоТП совместно с 0,01% сульфатированными гликозаминогликанами.

Соответственно, дизайн клинического исследования был следующий: первым этапом всем 60 пациентам проводилась противовирусная и антибактериальная терапия. Затем пациенты были разделены на 2 группы по 30 человек в каждой: 1-й группе была назначена изолированно БоТП, 2-й группе – БоТП вместе с 0,01% сульфатированными гликозаминогликанами. В качестве контрольной группы выступали пациенты (60 глаз) до начала терапией БоТП. В течение 8 недель проводимой терапии и затем 6 месяцев после начала терапии оценивались эпителизация роговицы и состояние

глазной поверхности. Таким образом, в одном исследовании можно было оценить сразу два параметра: 1) эффект терапии БотП в сравнении с исходным уровнем; 2) необходимость сочетанного применения гликозаминогликанов с БотП.

На 1-м этапе предложенной терапии в течение 14 дней обе группы исследования получали одинаковую терапию: Ганцикловир 0,15% (Зирган, Thea, Франция) 5 раз в день 14 дней, 3 раза в день 7 дней; Левофлоксацин 0,5% (Офтаквикс, Santen, Финляндия) 4 раза в день 7 дней; Декспантенол 5% (Корнерегель, Bausch&Lomb, США) 4 раза в день; Натрия гиалуронат 0,3% (Визмед-гель, TRB Chemedica AG, Германия) на ночь 14 дней; Валцикловир 500 мг (Валтрекс, GlaxoSmithKline, Польша) 4 раза в день 7 дней, затем 2 раза в день 7 дней.

Подобная терапия включала в себя средства стандартные, применяемые с репаративными целями. Выбор антибактериальных и противовирусных препаратов был обусловлен предыдущим исследованием, показавшим большой процент выявления сочетанного инфицирования ВПГ 1, 2 типов, ЦМВ и бактериями. Кроме того, применение аутосыыворотки пациентов, зараженных вирусом герпеса, требовало предварительной системной терапии с профилактическими целями.

Через 14 дней, на 2-м этапе, группа I, включавшая 30 пациентов (30 глаз), получала: БотП 6 раз в день; Декспантенол 5% (Корнерегель, Bausch&Lomb, США) 4 раза в день; Натрия гиалуронат 0,3% (Визмед-гель TRB Chemedica AG, Германия) на ночь, Валацикловир (Валтрекс, GlaxoSmithKline, Польша) 500 мг 2 раза в день 7 дней. Группа II получала идентичную терапию в сочетании с инстилляциями 0,01% сульфатированных гликозаминогликанов (Баларпан-Н, НЭП "Микрохирургия глаза") 4 раза в день. Группы исследования I и II на 2-м этапе дополнительно получали субконъюнктивальные инъекции свежеполученной 0,5 мл БотП 1 раз в неделю. Длительность 2-го этапа терапии составляла от 4 до 8 недель (таблица 2).

Первые две недели, в течение первого (противовирусного) этапа терапии, пациенты не показали значимых изменений, наблюдалась кратковременная слабopоложительная динамика.

Проведение биомикроскопии пациентов групп исследования I и II в динамике в течение 2-го этапа терапии показало постепенное, прогрессирующее снижение гиперемии и отека тарзальной и бульбарной конъюнктивы, эпителизацию роговицы.

Таблица 2 – Схемы терапии в группах исследования

Этапы и сроки терапии	Группа 1	Группа 2
1 этап терапии – 14 дней	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ганцикловир 0,15% 5 раз в день 14 дней, затем 3 раза в день 7 дней;</li> <li>- Левофлоксацин 0,5% 4 раза в день 7 дней;</li> <li>- Декспантенол 5% 4 раза в день;</li> <li>- Натрия гиалуронат 0,3% на ночь 14 дней;</li> <li>- Валацикловир 500 мг. (Валтрекс) 4 раза в день 7 дней, затем 2 раза в день 14 дней.</li> </ul>	
2 этап терапии Начало 2-го этапа терапии – на 14-й день от начала лечения; от 4 до 8 недель	<ul style="list-style-type: none"> <li>- БотП 6 раз в день</li> <li>- Декспантенол 5% 4 раза в день</li> <li>- Натрия гиалуронат 0,3% на ночь</li> <li>- Валацикловир (Валтрекс) 500 мг 2 раза в день 7 дней</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- БотП 6 раз в день</li> <li>- Декспантенол 5% 4 раза в день</li> <li>- Сульфатированные гликозаминогликаны 0,01% (Баларпан-Н) 4 раза в день</li> <li>- Натрия гиалуронат 0,3% на ночь</li> <li>- Валацикловир (Валтрекс) 500 мг 2 раза в день 7 дней</li> </ul>

После начала 2-го этапа терапии проведение оценки клинико-функциональных показателей в динамике показало равномерное уменьшение среднего индекса поражения роговицы в исследуемых группах I и II. Значения индекса поражения роговицы до начала лечения в группах I и II

находились в пределах  $7,1 \pm 1,9$  и  $6,9 \pm 1,8$  баллов соответственно. В процессе лечения удалось добиться снижения показателя индекса поражения роговицы до значений  $2,1 \pm 2,1$  и  $1,9 \pm 2,2$  баллов (таблица 3).

Полученные отдаленные результаты исследования групп I и II показали градиентное снижение индекса поражения роговицы, продолжавшееся и после отмены терапии. Данные результаты косвенно подтверждали наличие противовоспалительного эффекта БотП, описанного в литературе.

Таблица 3 – Динамика индекса поражения роговицы в ходе проведенного лечения в группах (n=60), (M $\pm$  $\sigma$ )

Сроки исследования	Группа I (n=30)	Группа II (n=30)
Первичные данные	$7,1 \pm 1,9$	$6,9 \pm 1,8$
1 неделя	$6,6 \pm 1,8^*$	$6,3 \pm 1,6^*$
2 недели	$5,5 \pm 1,6^*$	$5,4 \pm 1,6^*$
3 недели	$4,5 \pm 2,0^*$	$4,2 \pm 2,1^*,##$
4 недели	$3,2 \pm 2,6^*,#$	$3,0 \pm 2,7^*,##$
6 недель	$2,6 \pm 2,3^*$	$2,4 \pm 2,3^*$
8 недель	$2,1 \pm 2,1^*$	$1,9 \pm 2,2^*$

\*различие средних достоверно по сравнению с исходными данными в группе (p<0,05).

# различие средних достоверно по сравнению с показателями в группе контроля (p<0,05).

## различие средних достоверно по сравнению с показателями в группе контроля (p<0,05).

### различие средних в I группе исследования достоверно по сравнению с показателями во II группе исследования в те же сроки наблюдения (p<0,05).

В группе I полная эпителизация через 4 недели с момента начала 2-го этапа терапии наблюдалась у 11 пациентов (36,6%), через 8 недель – у 14 пациентов (46,7%). В группе II 12 пациентов (40%) показали полную эпителизацию роговицы через 4 недели, через 8 недель терапии их количество увеличилось до 15 пациентов (50%).

Кроме того, у пациентов в обеих группах исследования, не получивших полную эпителизацию роговицы (n=31), наблюдалось снижение показателя среднего индекса поражения роговицы от  $7,0\pm 1,5$  и  $7,0\pm 1,8$  баллов до  $4,0\pm 0,9$  и  $3,9\pm 1,3$  баллов соответственно (таблица 4). В отдаленном периоде наблюдения (на сроке до 6-ти месяцев) только у 1-го пациента в каждой группе развилось повторное стойкое нарушение эпителизации.

Таблица 4 – Динамика снижения индекса поражения роговицы у пациентов I и II групп исследования без полной эпителизации роговицы (n=31), ( $M\pm\sigma$ )

Сроки исследования	Группа I (n=16)	Группа II (n=15)
Первичные данные	$7,0\pm 1,5$	$7,0\pm 1,8$
1 неделя	$6,9\pm 1,5$	$6,7\pm 1,6^*$
2 недели	$6,2\pm 1,2^*$	$6,3\pm 1,5^*$
3 недели	$5,8\pm 1,3^*$	$5,7\pm 1,5^*$
4 недели	$5,3\pm 1,0^*$	$5,3\pm 1,5^*$
6 недель	$4,5\pm 0,9^*$	$4,5\pm 1,2^*$
8 недель	$4,0\pm 0,9^*$	$3,9\pm 1,3^*$

\*различие средних достоверно по сравнению с исходными данными в группе ( $p<0,05$ ).

### различие средних в I группе исследования достоверно по сравнению с показателями во II группе исследования в те же сроки наблюдения ( $p<0,05$ ).

Данные анкетирования в динамике показали значительное снижение жалоб уже через 4 недели после начала 2-го этапа терапии. Так, до начала применения предложенной методики средние значения находились в пределах  $8,47\pm 1,91$  и  $8,27\pm 2,32$  баллов в исследуемых группах I и II, через 4 недели наблюдалось статистически значимое снижение показателей до значений  $5,97\pm 1,79$  и  $4,77\pm 2,08$  баллов. В дальнейшем продолжало наблюдаться достоверное снижение средних значений по данным анкетирования в исследуемых группах. Данные различия сохранялись и в отдаленные сроки после отмены терапии. При применении БоТП вместе с

гликозаминогликанами пациенты отмечали на 24% больший уровень комфорта, чем при изолированном применении БТП.

Применение дополнительного исследования – теста Ширмера-1 в динамике, показало равноценное увеличение показателей у пациентов исследуемых групп I и II на фоне проведенной терапии. Первоначально, средние значения теста Ширмера-1 в группах составляли  $6,6 \pm 1,4$  и  $5,3 \pm 0,9$  мм. Спустя 4 недели от начала 2-го этапа терапии наблюдали максимальное увеличение среднего значения в исследуемых группах до  $7,5 \pm 1,5$  и  $6,5 \pm 1,6$  мм, через 8 недель показатель составил  $8,2 \pm 1,6$  и  $7,1 \pm 1,8$  мм. (таблица 5).

Таблица 5 – Оценка показателей теста Ширмера-1 в исследуемых и контрольных группах (n=60), (M±σ)

Сроки исследования	Группа I (n=30)	Группа II (n=30)
Первичные данные	$6,6 \pm 1,4$	$5,3 \pm 0,9$
1 неделя	$6,7 \pm 1,4$ ###	$5,3 \pm 0,9$
2 недели	$6,8 \pm 1,4$ ###	$5,3 \pm 0,9$
3 недели	$6,9 \pm 1,5^*, \#$ , ###	$5,6 \pm 1,2^*, \#\#$
4 недели	$7,5 \pm 1,5^*, \#$ , ###	$6,5 \pm 1,6^*, \#\#$
6 недель	$7,8 \pm 1,5^*, \#$ , ###	$7,0 \pm 1,8^*, \#\#$
8 недель	$8,2 \pm 1,6^*, \#$ , ###	$7,1 \pm 1,8^*, \#\#$
3 месяца	$8,2 \pm 1,6^*, \#$ , ###	$7,1 \pm 1,8^*, \#\#$
6 месяцев	$8,4 \pm 1,5^*, \#$ , ###	$7,1 \pm 1,7^*, \#\#$

\*различие средних достоверно по сравнению с исходными данными в группе (p<0,05).

# различие средних достоверно по сравнению с показателями в группе контроля (p<0,05).

## различие средних достоверно по сравнению с показателями в группе контроля (p<0,05).

### различие средних в I группе исследования достоверно по сравнению с показателями во II группе исследования в те же сроки наблюдения (p<0,05).

В исследуемых группах I и II наблюдалось равномерное увеличение показателей корригированной остроты зрения (КОЗ), начиная с 3-4-й недели терапии. Период увеличения показателей КОЗ совпадал со снижением

среднего индекса поражения роговицы в исследуемых группах. Максимальное увеличение КОЗ в группах наблюдалось спустя 8 недель, от  $0,4 \pm 0,2$  в группах I и II до  $0,7 \pm 0,3$  и  $0,6 \pm 0,3$  соответственно (таблица 6).

Таблица 6 – Динамика изменения корригированной остроты зрения пациентов в группах I и II на фоне проводимой терапии (n=60), (M±σ)

Сроки исследования	Группа I (n=30)	Группа II (n=30)
Первичные данные	$0,4 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,2$
1 неделя	$0,4 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,2$
2 недели	$0,4 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,2$
3 недели	$0,5 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$
4 недели	$0,5 \pm 0,3^*$	$0,5 \pm 0,3^*$
6 недель	$0,6 \pm 0,3^*$	$0,6 \pm 0,3^*$
8 недель	$0,7 \pm 0,3^*$	$0,6 \pm 0,3^*$
3 месяца	$0,7 \pm 0,3 \#$	$0,6 \pm 0,3 \#$
6 месяцев	$0,7 \pm 0,2 \#$	$0,6 \pm 0,2 \#$

\*различие средних достоверно по сравнению с данными в группах контроля ( $p < 0,05$ ).

# различие средних достоверно по сравнению с показателями в исследуемых группах до начала терапии ( $p < 0,05$ ).

Данная схема терапии в исследуемых группах имела хорошую переносимость, не сопровождалась явлениями токсико-аллергических реакций на фоне применения БоТП.

Эффективность применения БоТП в сравнении с группой контроля (пациенты до начала лечения) показала почти 50-процентную эффективность в эпителизации состояний, которые ранее не поддавались традиционной терапии. У остальных пациентов наблюдалось стойкое улучшение состояния роговицы, стабильное в течение 6 месяцев.

Сравнительное исследование применения БоТП изолированно и в сочетании с сульфатированными гликозаминогликанами показало отсутствие значимой разницы в сроках эпителизации между двумя группами. Однако уровень комфорта пациентов был выше при применении сочетанной терапии.

Таким образом, предложенная этапная технология лечения хронических нарушений эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии с применением БоТП эффективна и безопасна и может быть рекомендована при неэффективности классической терапии хронических поражений роговицы герпетической этиологии.

### **ВЫВОДЫ:**

1. По результатам проведенного лабораторного исследования пациентов с хроническими нарушениями эпителизации роговицы на фоне ЦМВ-инфицирования, ИФА крови показало наличие титров ВПГ 1, 2 типов и цитомегаловируса у 86,7% пациентов, изолированное наличие ЦМВ – у 13,3%, превалирование показателей ЦМВ, либо равное количество ВПГ 1, 2 типов и цитомегаловируса – в 55,8% случаев. Данные исследования ПЦР-материала с конъюнктивы у тех же пациентов показали сочетанное поражение ВПГ-1, 2 и ЦМВ в 30,8% случаев, изолированное ВПГ и ЦМВ-поражение – в 20,8 и 3,3% случаев соответственно.

2. Показано наличие сопутствующей вторичной бактериальной инфекции в 24,2% случаев у пациентов с хроническими нарушениями эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии. В 19,2% случаев был выделен *Staphylococcus epidermitis*, в 3,3% случаев – *Staphylococcus aureus*, в 1,7% – *Enterococcus faecalis*. Полученные данные обусловили необходимость применения антибактериальной терапии на 1-м этапе лечения хронических нарушений эпителизации роговицы.

3. Определены сроки безопасного хранения приготовленной БоТП: при хранении при температуре -18°C было доказано отсутствие контаминации до 45 суток, при условии хранения при температуре +4-+6°C – отсутствие контаминации до 7 суток.

4. За счет применения инстилляций аутологичной БоТП была получена стойкая эпителизация у пациентов с хроническими нарушениями

эпителизации в 36,6% случаев через 4 недели и в 46,7% случаев – через 8 недель терапии. Применение БоТП в сочетании с 0,01% сульфатированными гликозаминогликанами привело к эпителизации в 40 и 50% случаев на сроках 4 и 8 недель соответственно. Значения среднего индекса поражения роговицы в результате предложенной терапии снизились с  $7,1 \pm 1,9$  и  $6,9 \pm 1,8$  баллов до  $2,1 \pm 2,1$  и  $1,9 \pm 2,2$  баллов. При применении БоТП вместе с гликозаминогликанами пациенты отмечали на 24% больший уровень комфорта, чем при изолированном применении БоТП.

5. Предложенная этапная методика терапии пациентов с хроническими нарушениями эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии, включающая проведение подготовительного этапа антибактериальной и противовирусной терапии, с последующим применением БоТП вторым этапом, показала полное отсутствие токсико-аллергических побочных реакций, своевременное купирование вторичной бактериальной инфекции, отсутствие активации герпесвирусного процесса в течение 6 месяцев и стабильное динамическое улучшение состояния роговицы в ходе лечения.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При ведении пациентов с хроническими и рецидивирующими нарушениями эпителизации вирусной этиологии следует либо проводить бактериологическое исследование на предмет возможного вторичного бактериологического инфицирования, либо проводить назначение эмпирической антибактериальной терапии.

2. При нахождении следующих клинических признаков кератитов: наличие одновременно несколько участков поражения, часто коррелирующих с количеством рецидивов заболевания в анамнезе, преимущественно поверхностное поражение роговицы, чаще не глубже эпителия, однако с возможным отеком эндотелия в той же зоне, отложение пигмента в эпителизированной зоне поражения, формирование

неоваскуляризации по типу одного или нескольких агрессивных крупных центральных сосудов, проходящих в зону поражения, следует рассматривать ЦМВ-инфицирование как вероятную этиологию заболевания.

3. Учитывая большой процент изолированного поражения ЦМВ и сочетанного поражения ЦМВ и ВПГ 1, 2 типов, в терапию хронических и рецидивирующих поражений роговицы предположительно герпетической этиологии рекомендуется включать препараты широкого противовирусного спектра, типа Валацикловира или Ганцикловира.

4. При применении аутологичной БоТП рекомендуется передавать пациенту 1 флакон с приготовленной БоТП для инстилляций с условием, что он будет храниться при температуре  $+4-+6^{\circ}\text{C}$  в течение 4 суток. Другие флаконы передаются пациенту для последующего хранения при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ . Срок хранения при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$  не должен превышать 1 месяц. По мере необходимости пациент размораживает флаконы и использует их не более 4 суток.

5. При назначении терапии пациентам после купирования хронических или рецидивирующих эрозий роговицы следует уделять внимание назначениям, наряду со слезозаместителями и репарантами, вязких «ночных» слезозаместителей для предотвращения адгезии конъюнктивы века к эпителию роговицы в условиях малой подвижности глаза во время сна.

### **Список опубликованных работ по теме диссертации**

1. Васильева О.А., Лошкарева А.О. Дифференциально-диагностические таблицы заболеваний глазной поверхности / Под ред. Д.Ю. Майчука // Российская офтальмология онлайн. – 2013. - № 10. (<http://www.eyepress.ru/article.aspx?11235>).

2. Лошкарева А.О., Майчук Д.Ю. Оценка клинической эффективности богатой тромбоцитами плазмы у пациентов с хроническими нарушениями эпителизации роговицы // Невские горизонты – 2016: Науч. конф. офтальмологов с междунар. участием: Материалы. – С-Петербург, 2016. – С. 453 – 454.

3. Лошкарева А.О., Майчук Д.Ю. Применение богатой тромбоцитами плазмы у пациентов с хроническими эрозиями роговицы // Современные технологии в офтальмологии. – 2016. – №.4 – С. 131 – 132.

4. Loshkareva A.O., Maychuk D.Y. Effectiveness of platelet-rich plasma treatment in patients with chronic corneal erosions, associated with Herpetic keratitis // EVER 2016. – Nice, 106. – Electronic abstract book. – P. 84.

5. Maychuk D., Loshkareva A., Balabina O. The use of platelet-rich plasma for chronic cornea erosions, associated with Herpes virus keratitis // ISOPT Clinical: Conference, 13th. – Italy, 2016. (<https://events.eventact.com/ProgramView2/Agenda/Lecture?id=131604&code=2363196>).

6. Maychuk D., Loshkareva A. Diagnostic Issues of Thygeson's Keratitis and Treatment Options // ISOPT Clinical: Conference, 13th. – Italy, 2016. (<https://events.eventact.com/ProgramView2/Agenda/Lecture?id=136458&code=1637021>).

7. Майчук Д.Ю., Лошкарева А.О., Пронкин И.А. Особенности клинического течения и комплексной терапии кератита Тайджесона, обусловленного цитомегаловирусным поражением // **Офтальмохирургия.** – 2016.- № 3. – С. 48-52.

8. Loshkareva A., Maychuk D. Effectiveness of platelet-rich plasma for chronic cornea erosions, associated with herpes simplex virus and cytomegalovirus keratitis // European Society of Ophthalmology Congress (SOE 2017). – Barcelona, 2017. ([www.professionalabstracts.com/soe2017/eBook/Page75](http://www.professionalabstracts.com/soe2017/eBook/Page75)).

9. Лошкарева А.О., Майчук Д.Ю. Применение богатой тромбоцитами плазмы у пациентов с хроническими эрозиями роговицы, ассоциированными с герпетической и цитомегаловирусной инфекцией // Современные технологии в офтальмологии. – 2017. – № 3 (16). – С. 45-46.

10. Maychuk D., Loshkareva A. Using 0,05% cyclosporine as a method of treatment for thygeson's superficial punctate keratitis // EuCornea Congress, 8th. – Lisbon, 2017. (<http://www.eucornea.org/lisbon-2017/lisbon-2017-poster-abstracts?session=81>).

11. Maychuk D., Loshkareva A. Herpetic recurrent corneal erosion syndrome: opportunities of treatment by platelet-rich plasma// ESCRS Congress, XXXV. – Lisbon, 2017. (<http://www.es CRS.org/lisbon2017/programme/posters-details.asp?id=29032>).

12. Лошкарева А.О., Майчук Д.Ю. Оценка эффективности применения богатой тромбоцитами плазмы у пациентов с хроническими эрозиями роговицы, ассоциированными с герпетической и цитомегаловирусной инфекцией // Инновационные технологии в офтальмологической практике регионов: Научно-практ. межрегион. с междунар. участием конф.

офтальмологов Южного Федерального округа РФ, Прикаспийских стран и Стран Причерноморья: Материалы. – Астрахань, 2017. – С. 149-154.

13. Майчук Д.Ю., Лошкарева А.О. Кератит Тайджесона: характерные клинические особенности тактики ведения // Новости глаукомы. – 2017. – № 1 (45). – С. 6-8.

14. Майчук Д.Ю., Лошкарева А.О., Малышева З.Г. Сравнительный анализ эффективности применения богатой тромбоцитами плазмы, изолированно или в сочетании с 0,01% сульфатированными гликозаминогликанами у пациентов с хроническими нарушениями эпителизации роговицы герпесвирусной этиологии // **Офтальмохирургия.** – 2017. – № 4. – С. 73-79.

15. Лошкарева А.О., Майчук Д.Ю. Возможности применения богатой тромбоцитами плазмы в лечении пациентов с хроническими эрозиями роговицы герпетической и цитомегаловирусной этиологии // Невские горизонты – 2016: Науч. конф. офтальмологов с междунар. участием: Материалы. – С-Петербург, 2018. – С. 315-317.

16. Лошкарева А.О., Майчук Д.Ю. Богатая тромбоцитами плазма в комплексной терапии хронических эрозий роговицы герпес-вирусной этиологии // **Медицинский вестник Башкортостана.** – 2018. – Т. 13. – № 1. – С. 9-12.

17. Майчук Д.Ю., Лошкарева А.О. Оценка эффективности использования Циклоспорина А в комплексной терапии кератита Тайджесона, ассоциированного с цитомегаловирусной инфекцией // Современные технологии в офтальмологии. – 2018. - № 3 (23). – С. 217-219.

18. Акопова Э.Б., Майчук Д.Ю., Лошкарева А.О., Симонова Т.А. Анализ характера и резистентности бактериальной микрофлоры у больных с конъюнктивитами и кератоконъюнктивитами // Современные технологии в офтальмологии. – 2018. – № 4 (24). – С.16-18.

19. Loshkareva A.O., Maychuk D.Y. Effectiveness of platelet-rich plasma and 0,01% sulfated glycosaminoglycans for treatment of chronic cornea erosions, associated with Herpetic keratitis // ESCRS Congress, 36th. – Vienna, 2018. (<http://www.es CRS.org/vienna2018/programme/poster-village-details.asp?id=30957>).

### **Патенты РФ на изобретения по теме диссертации**

1. Майчук Д.Ю., Лошкарева А.О., Пронкин И.А. Способ лечения хронических эрозий роговицы герпетической этиологии». Патент: РФ № 2653260 от 07.05.2018 г. Бюл. № 13 (Приоритет от 29.06.2017 г.).

## **Биографические данные**

Лошкарева Анастасия Олеговна, в 2013 году окончила ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России по специальности «Лечебное дело».

С 2013 по 2015 гг. проходила обучение в клинической ординатуре по специальности «Офтальмология» на кафедре глазных болезней ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России.

С 2015 по 2018 гг. обучалась в очной аспирантуре по специальности «Глазные болезни» в ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Автор более 20 научных работ.

Активный участник отечественных и зарубежных офтальмологических конференций. Победитель Конференции молодых ученых «Актуальные проблемы офтальмологии – 2016».

## **ОСНОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

БоТП – богатая тромбоцитами плазма

ВГД - внутриглазное давление

ВПГ – вирус простого герпеса

ИФА – иммуноферментный анализ

КОЗ – скорректированная острота зрения

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ЦМВ – цитомегаловирус