

## Вопросы клинической офтальмологии

УДК 617.713–002.447–091.8–085–036.8

### Значение клинических и цитологических факторов в прогнозе эффективности лечения торпидных поражений роговицы

Л. Ф. Тройченко<sup>1</sup>, канд. мед. наук, Г. И. Дрожжина<sup>1</sup>, д-р мед. наук, проф., В. В. Вит<sup>1</sup>, д-р мед. наук, проф., В. В. Филоненко<sup>2</sup>, д-р биол. наук, проф., А. И. Хоруженко<sup>2</sup>, канд. биол. наук

<sup>1</sup>ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им В. П. Филатова НАМН Украины»; Одесса (Украина)

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины; Киев (Украина)

E-mail: cornea@te.net.ua

**Ключевые слова:** торпидные поражения роговицы, эффективность лечения, прогноз, клинические и цитологические показатели

**Ключові слова:** торпідні ураження рогівки, ефективність лікування, прогноз, клінічні та цитологічні показники

**Введение.** Торпидные поражения роговицы (ТПР) нейротрофического генеза характеризуются длительным течением, нарушением регенерации и нередко осложняются истончением стромы и перфорацией роговицы. ТПР рассматривается как дегенеративное заболевание роговицы, развивающееся в результате нарушения сенсорной иннервации, что приводит к снижению или отсутствию чувствительности роговицы, уменьшению слезопродукции, и как следствие, нарушается метаболизм роговицы, развиваются дегенеративные изменения в эпителиоцитах и снижается митотическая активность эпителиальных клеток [2, 5–11].

При длительно сохраняющемся дефекте роговицы может наблюдаться как репаративная регенерация за счет клеток роговичного эпителия, так и заместительная регенерация соединительной

*Торпідні ураження рогівки (ТПР) нейротрофічного генезу характеризуються тривалим перебігом, порушенням регенерації і нерідко ускладнюються стоншуванням стромы і перфорацією рогівки.*

*Метою дослідження було вивчення клінічних та цитологічних факторів, що впливають на ефективність лікування торпідних уражень рогівки.*

*Матеріал та методи.* У роботі виконано дослідження клінічних та цитологічних факторів для прогнозу ефективності лікування торпідних уражень рогівки у 51 пацієнта. Виконувалися загальні офтальмологічні, цитологічні імуногістохімічні дослідження з використанням фільтрів Millicell і застосуванням антитіл до рогівкового цитокератину (ЦК) 3 і кон'юнктивального ЦК 19.

*Результати.* Було виявлено, що значення таких показників, як розмір дефекту рогівки, стан краю дефекту (набрякло-нависаючий), наявність в цитограмах базальних клітин, відсутність рогівкового ЦК 3 і наявність кон'юнктивального ЦК 19 при імуногістохімічному дослідженні має найбільший вплив на досягнення результату (повної епітелізації поверхні рогівки) і може брати участь у створенні прогнозу ефективності лікування. Для створення кількісної оцінки факторів ризику недосягнення повної епітелізації дефектів рогівки була використана одноваріантна логістична регресія.

*Висновки.* Запропоновано математичну модель прогнозування досягнення повної епітелізації поверхні рогівки у пацієнтів з торпідним ураженням рогівки, за допомогою якої в 74,5 % випадків можливе проведення вірної діагностики (чутливість моделі 72,2 %, специфічність — 78,8 %).

тканью без наступления полного морфо-функционального восстановления [3, 4]. В предыдущих наших исследованиях [1] было показано, что преобладание в цитограммах клеток эпителия роговицы, как и равное соотношение клеток эпителия роговицы и конъюнктивы является благоприятным прогностическим признаком в отношении сроков и качества эпителизации. Но не было выявлено достоверно значимых клинических и цитологических факторов, влияющих на регенерацию роговицы.

В связи с этим, целью исследования явилось изучение клинических и цитологических факторов, влияющих на эффективность лечения торпидных поражений роговицы.

## Материал и методы

Под нашим наблюдением находился 51 пациент с замедленной регенерацией поверхности роговицы (более 14 суток) постинфекционной и нейротрофической этиологии (27 мужчин, 24 женщины), проходившие стационарное лечение в отделе патологии роговицы глаза ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им В. П. Филатова АМН Украины». Все пациенты получали консервативное этиотропное и патогенетическое лечение, включая инстилляцию аутосорботки крови. Оценивали клиническую картину патологического процесса в глазу на основе офтальмологического обследования: биомикроскопия переднего отдела глаза с изучением особенностей краев роговичного дефекта; флюоресцеиновый тест — для определения глубины и размеров дефекта роговицы; определение чувствительности роговицы контактным методом по Фоукнеру; пробу Норна для изучения стабильности слезной пленки; тест Ширмера (I) для определения величины суммарной слезопродукции, безконтактная тонометрия, осмотр глазного дна, определение остроты зрения с максимальной коррекцией, фоторегистрация изменений переднего отдела глаза. Край дефекта роговицы оценивался в следующих категориях — плоский или отечно-нависающий.

Возраст пациентов колебался от 27 до 77 лет ( $54 \pm SD14,1$ ). Размеры дефектов роговицы составляли от 3,0 до 6,5 мм. ( $4,4 \pm SD1,0$ ). Цитологическую картину поверхности роговицы изучали на основе анализа импрессионно-цитологических отпечатков с использованием фильтров Millicell — rCM 0,4 nm фирмы Millipore (USA) и проведения иммуногистохимической реакции с применением антител к цитокератину (ЦК)3, специфичному эпителию роговицы и ЦК19, специфичного эпителию конъюнктивы. Иммуногистохимические исследования проводили на базе Института молекулярной биологии и генетики НАН Украины.

База данных создана средствами модуля Data Manager программы Statistica 9 (StatSoft corp.). При создании математической модели прогноза достижения полной эпителизации дефектов роговицы была использована бинарная логистическая регрессия по множеству переменных.

Проведен ROC-анализ с использованием биометрического пакета MedCalc 9.1. Выполнено построение ROC-кривой по значениям чувствительности (sensitivity) и специфичности (specifity). Рассчитана площадь под ROC-кривой и выбрана точка оптимального разделения.

## Результаты

На основании клинического анализа качества регенерации роговицы, пациенты разделены на две группы: I группа — 33 пациента, 64,7 % (в результате лечения достигнута полная эпителизация роговой оболочки) и II группа — 18 пациентов 36,3 % (в результате проведенного лечения эпителизация не достигнута). У пациентов I группы преобладала вирусная (54,5 %) и нейротрофическая (30,3 %) этиология первичного патологического процесса в глазу; по глубине поражения на 11 глазах (33,3 %) были эрозии, а на 22 глазах (66,7 %) — язвы роговицы; во второй группе в равной степени представлены вирусная, бактериальная и нейротрофическая этиологии (23,5 %, 23,5 %, и 29,4 % соответственно), по глубине поражения преобладали язвы рого-

вицы — 15 глаз (88,2 %). В I группе плоский край дефекта наблюдался в 51,5 % случаев, в то время как недостижение эпителизации роговицы сопровождалось отечно-нависающим краем дефекта в 88,2 % ( $\chi^2=7,52$ ,  $p=0,006$ ). У пациентов I группы преобладала средняя степень интенсивности помутнения дефектов роговицы — в 54,5%, а во второй — выраженные помутнения роговицы в 58,8% случаев; Размер дефекта роговицы в обеих группах достоверно отличался и составил соответственно ( $4,3 \pm SD1,0$ ) и ( $5,3 \pm SD1,0$ ) мм ( $p=0,002$ ). Чувствительность роговой оболочки была снижена у 69,7% пациентов I группы, и у 61,1% — во II группе. Показатели слезопродукции были низкими в обеих группах ( $5,1 \pm SD2,1$ ) мм и достоверно не отличались.

У пациентов II группы в цитологических отпечатках с поверхности дефектов роговицы преобладали базальные клетки (55,6%), в то время как в первой группе были отмечены преимущественно поверхностные эпителиальные клетки и смешанный клеточный состав (78,8%) ( $\chi^2=6,18$ ,  $p=0,012$ ); Микробные включения отсутствовали в обеих группах. Наличие ЦК3 в 78,7% случаев и ЦК 19 в 21,2% соответствовало полной эпителизации дефектов роговицы в I группе, а во II группе роговичный ЦК 3 зарегистрирован только в 47%, и ЦК19 — в 53% случаев ( $\chi^2=6,07$ ,  $p=0,04$ ).

Для количественной оценки факторов риска не достижения полной эпителизации дефектов роговицы была использована одновариантная логистическая регрессия (1 — фактор риска присутствует, «0» — фактор риска отсутствует) (табл. 1).

На основании оценки факторов, которые могут влиять на достижение результата, были отобраны переменные, имеющие наибольшее влияние на прогноз достижения полной эпителизации. Эти переменные взяли на себя информационную нагрузку всех остальных исследуемых признаков, которые не вошли в математическую модель.

**Таблица 1.** Количественная оценка факторов риска недостижения полной эпителизации дефектов роговицы по данным одновариантной логистической регрессии

Факторы риска	OR	95 % ДИ	
		Нижний предел	Верхний предел
Размер дефекта роговицы (мм)	2,58	1,3	5,12
Длительность лечения до поступления в стационар (сутки)	1,3	0,94	1,79
Глубина поражения роговицы (эрозия, язва)	4,0	0,74	21,46
Край дефекта (плоский; отечно-нависающий)	8,4	1,61	44,78
Наличие базальных клеток в цитограммах	4,6	1,28	16,71
Отсутствие ЦК 3 и наличие ЦК 19 (50 %, 100 %) в цитограммах	4,64	1,28	16,71

Таким образом, роль таких показателей, как состояние края дефекта (отеchnый), наличие в цитограммах базальных клеток, отсутствие роговичного ЦКЗ и наличие конъюнктивального ЦК19 при иммуногистохимическом исследовании в цитограммах наиболее велика в оценке результата (полной эпителизации поверхности роговицы) и должна учитываться в прогнозировании эффективности с учетом их совместного влияния на результат.

В результате пошагового включения наиболее значимых переменных в модель прогноза неэффективности в качестве предикторов вошли три признака: X1(отсутствие ЦКЗ и наличие ЦК19); X2(наличие базальных клеток в цитограммах); X3(край дефекта отеchnо-нависающий). В таблице 2 представлены коэффициенты уравнения логистической регрессии и уровень их значимости. Общая оценка модели статистически значима на высоком уровне ( $\chi_2=19,28$ ;  $p=0,0002$ ).

Таким образом, используя коэффициенты, представленные в таблице 2, можно определить вероятность недостижения полной эпителизации дефектов роговицы (альтернатива — достижение полной эпителизации поверхности роговой оболочки).

$$Y = -3,361694 + X1 \cdot 1,789416 + X2 \cdot 1,595375 + X3 \cdot 2,070957$$

$$\text{odds} = \exp(Y); P = \text{odds} / (\text{odds} + 1)$$

По коэффициентам уравнения регрессии для каждого больного была рассчитана вероятность недостижения полной эпителизации поверхности роговицы (сохранения дефекта роговицы). Общий процент верной диагностики составил — 74,51 %. У больных с полной эпителизацией поверхности роговицы процент верного прогноза составил — 75,8 %, у 8 пациентов с достигнутой полной эпителизацией было ложно диагностировано наличие дефекта роговицы. У больных с недостижением

**Таблица 2.** Коэффициенты уравнения логистической регрессии и их статистическая оценка

	Переменные	Кoeffициент	p	OR	95 % ДИ	
					нижний	верхний
	Константа	-3,361694	0,0006			
X1	Отсутствие ЦКЗ и наличие ЦК19	1,789	0,0208	5,98	1,26	28,4
X2	Наличие базальных клеток в цитограммах	1,5953	0,0359	4,93	1,06	22,76
X3	Край дефекта отеchnо-нависающий	2,07	0,0228	7,93	1,27	49,50

**Таблица 3.** Число наблюдаемых и предсказанных больных с достижением полной эпителизации поверхности роговицы

Состояние поверхности роговицы наблюдаемое	Состояние поверхности роговицы по модели		Всего
	Полная эпителизация	Наличие дефекта	
Полная эпителизация	25 (75,8 %)	8	33
Наличие дефекта	5	13 (72,2 %)	18
Всего	30	21	51

**Таблица 4.** Клинические примеры

Пациенты	фактор X1	фактор X2	фактор X3	Y	odds	p
Д	1	1	1	2,09	8,118	0,89
Б	1	0	0	-1,57	0,207	0,17

эпителизации поверхности роговицы процент верного прогноза составил 72,2 %, у 5 пациентов с наличием дефекта роговой оболочки была диагностирована полная эпителизация (табл. 3).

Приводим клинические примеры пациентов с расчетными значениями недостижения полной эпителизации поверхности роговицы (табл. 4).

Как видно из таблицы 4, у пациента Д. присутствуют все три фактора риска, отношение шансов составило 8,11, при этом вероятность сохранения дефекта роговицы — 89 %, что соответствует наблюдаемому результату.

У пациента Б. имеется только один фактор риска (отсутствие роговичного ЦКЗ и наличие конъюнктивального ЦК19), отношение шансов 0,207, и вероятность недостижения полной эпителизации составила 17 %, что соответствует клиническому наблюдению. Лечение привело к полной эпителизации поверхности роговицы.

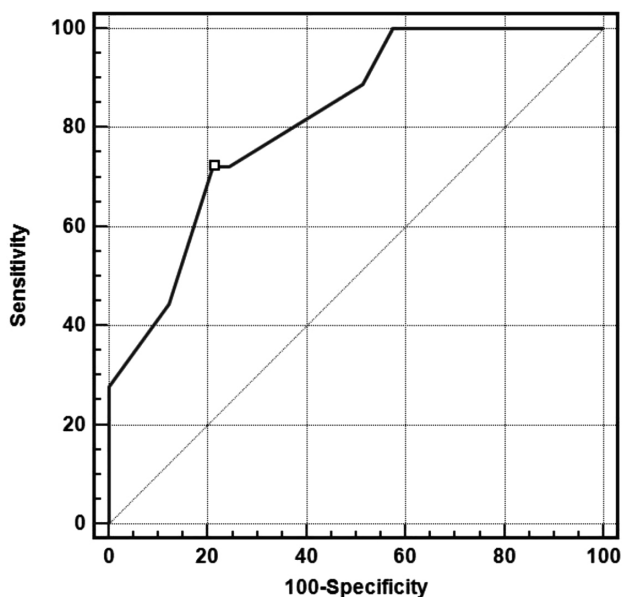
Весь диапазон расчетных значений недостижения полной эпителизации дефектов роговицы колеблется от 0,03 % (отсутствуют все факторы риска) до 89 % (присутствуют все факторы риска).

С помощью ROC анализа выполнена операционная характеристика теста (математической модели) для прогноза вероятности достижения полной эпителизации поверхности роговицы (рис. 1)

Площадь под ROC-кривой составляет 0,82. Выбрана точка разделения — 0,51. Чувствительность в точке разделения составила 72,22 % (95 %ДИ-46,5–90,2). Специфичность в точке разделения составила 78,79 % (95 %ДИ 61,1–91,0).

Таким образом, проведенный ROC-анализ показал, что у пациентов с отношением шансов < 0,51 достигается полная эпителизация поверхности роговицы при применяемом консервативном лечении.

Используя предложенную математическую модель при проведении консервативного лечения, возможно прогнозировать у конкретного



**Рис. 1.** Операционная характеристика теста для прогноза вероятности достижения полной эпителизации поверхности роговицы

большую вероятность достижения полной эпителизации дефектов роговицы по значению вышеуказанных предикторных факторов. Из полученных результатов следует, что у пациентов с отношением шансов  $<0,51$  необходимо про-

должать консервативное лечение, а пациентам с отношением шансов  $>0,51$  целесообразно проведение оперативного лечения. Это приведет к сокращению времени пребывания пациента в стационаре и к более рациональному распределению материальных ресурсов на лечение.

### Выводы

1. На достижение полной эпителизации дефектов роговицы у пациентов с торпидным ее поражением достоверно влияют: размер и плоский край дефекта роговицы, преобладание в цитogramмах поверхностных эпителиальных клеток и клеток, экспрессирующих ЦКЗ, характерный для эпителия роговицы.

2. Высокой предикторной способностью в прогнозировании достижения полной эпителизации поверхности роговицы при ее торпидных поражениях обладают такие факторы, как отсутствие отечно-нависающего края дефекта, базальных клеток в цитogramмах и наличие ЦКЗ.

3. С помощью предложенной математической модели возможно прогнозировать достижение полной эпителизации поверхности роговицы при консервативном лечении в 74,5 % случаев с чувствительностью 72,2 % и специфичностью 78,8 %.

Авторы статьи выражают искреннюю благодарность Е. И. Драгомирецкой за помощь в статистической обработке данных.

### Литература

1. **Вит В. В.** Значение соотношения клеток эпителия роговицы и конъюнктивы в репарации дефектов роговицы при персистирующих эпителиальных дефектах и торпидных язвах постинфекционной и нейропаралитической этиологии / В. В. Вит, Г. И. Дрожжина, Л. Ф. Тройченко, В. В. Филоненко, А. И. Хоруженко, О. В. Чередник // Офтальмол. журн. — 2012. — № 4. — С. 7–12.
2. **Bonini S.** Neurotrophic keratitis / S. Bonini, P. Rama, D. Olzil, A. Lambiase // Eye — 2003. — V.17. — P.989–995.
3. **Cavanagh H. D.** The molecular basis of neurotrophic keratitis / H. D. Cavanagh, A. M. Colley // Acta Ophthalmol Suppl. — 1989. — Vol.192. — P.115–134.
4. **Donisi P. M.** Analysis of Limbal Stem Cell Deficiency by Corneal Impression Cytology / P. M. Donisi, P. Rama, A. Fasolo // Cornea. — 2003. — Vol. 22. — P.765–778.
5. **Goins K. M.** New Insights into the Diagnosis and Treatment of Neurotrophic Keratopathy // The Ocular Surface. — 2005. — Vol.3(2). — P.96–110.
6. **Madhusudan G. R.** Neuroparalytic keratitis: A rare manifestation of posttraumatic superior orbital fissure syndrome / G. R. Madhusudan, R. K. Sharma, V. Nanda // Ann Plast Surg. — 2004. — Vol. 53. — P.83–85.
7. **Tuominen I. S.** Corneal innervation and morphology in primary Sjogren's syndrome / I. S. Tuominen, Y. T. Kontinen, M. H. Vesaluoma // Invest Ophthalmol Vis Sci. — 2003. — Vol.44. — P.2545–2549.
8. **Vanessa Barbaro.** Evaluation of ocular surface disorders: a new diagnostic tool based on impression cytology and confocal laser scanning microscopy / Vanessa Barbaro, Stefano Ferrari, Adriano Fasolo // Br J Ophthalmol. — 2010. — Vol. 94 — P.926–932.
9. **Yamada N.** Open clinical study of eye — drops containing tetrapeptides derived from substance P and insulin-like growth factor-1 for treatment of persistent corneal epithelial defects associated with neurotrophic keratopathy / N. Yamada, R. Matsuda, N. Morishige // Br J Ophthalmol. — 2008. — Vol. 92. — P.896–900.
10. **Rao K.** Corneal nerve regeneration in neurotrophic keratopathy following autologous plasma treatment / K. Rao, C. Leveque, SC Pflugfelder // Br J Ophthalmol. — 2010. — Vol. 94 — P.584–591.
11. **Sacchetti M.** Diagnosis and management of neurotrophic keratitis / M. Sacchetti, A. Lambiase // Clinical ophthalmology. — 2014. — Vol. 8 — P.571–579.