

**КОНЮНКТИВАЛНА АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ – ИНОВАТИВНА
ТЕХНОЛОГИЯ ЗА РАННА ДИАГНОСТИКА НА УВРЕЖДАНИЯТА
НА ПРЕДНАТА ОЧНА ПОВЪРХНОСТ
ОТ ВЪЗДЕЙСТВИЕТО НА ОКОЛНАТА СРЕДА**

**Бояджиев Д., Нешкински Е., Маринов М., Бояджиева М., Групчева Хр.
Катедра по очни болести и зрителни науки, МУ-Варна, СБОБАЛ- Варна**

**Conjunctival autofluorescence- innovative technology for early diagnosis
of ocular surface damage from the surrounding environment**

**Bojadjiev D., Neshinski E., Marinov M., Bojadjieva M., Grupcheva Chr.
University Eye clinic, Varna**

Резюме

Човекът е в непрекъснато и динамично равновесие с факторите на околната среда. Фундаментално значение за поддържането на живота има слънчевата светлина. Освен положителното въздействие върху организма на човека, при прекомерната експозиция тя води и до деструктивни промени в много органи и системи.

Повечето от хората знаят за вредното въздействие на ултравиолетовите (УВ) лъчи като част от слънчевата светлина върху кожата, но не и за вредното им въздействие върху зрителния анализатор.

Цел

Целта на настоящото проучване е да се установят обективните морфологични промени по предната очна повърхност, резултат от въздействието на ултравиолетовата светлина, използвайки иновативен метод за ранна диагностика на уврежданията.

Материали и методи

Това проспективно проучването е проведено в три последователни години, в катедрата по очни болести и зрителни науки на територията на СБОБАЛ – Варна. Включени са 400 очи на 200 субекта със средна възраст 32 ± 10 години (5г.-83г.). Извършен е пълен офталмологичен преглед, заснемане на предната очна повърхност със специално разработена камера на принципа на УВ автофлуоресценция (УВАФ) и In vivo конфокална микроскопия. На всички участници са раздадени специално разработени анкетни карти (индивидуална анонимна анкета с въпросник за навиците и познанията върху УВ и възможностите за протекция).

Резултати

Резултатите от заснемането с УВ камерата демонстрират, че при 67.5% (134 души) от заснетите индивиди се наблюдават морфологични промени на предния очен сегмент, които влизат в дефиницията на УВ увреждания. Констатирано е, че с нарастване на възрастта на популацията се увеличава както процентът на участници с наличие на УВАФ, така и на зоните с интензивни изменения

Заклучение

Резултатите от проведеното популационно проучване потвърждават тезата, че конюнктивалната автофлуоресценция е обективен маркер за ранна диагностика на уврежданията по предната очна повърхност.

Адрес за кореспонденция:

Добрин Христов Бояджиев
СБОБАЛ-Варна

гр. Варна, п.к.9002, ул. „Дойран“ № 15
e-mail: dobrin_bo@abv.bg

For correspondence:

Dobrih Christov Boyadjiev
SBOBAL - Varna

15, Doyran Str., Varna 9002, Bulgaria
e-mail: dobrin_bo@abv.bg

Основавайки се на анализа на данните, показващи корелация между на УВ експозицията, навигите за протекция и констатираната находка, може да се допусне, че основен фактор за тези промени са УВ лъчите

Ключови думи: Конюнктивална автофлуоресценция, предната очна повърхност, УВ

Abstract

Humans are in constant and dynamic equilibrium with environmental factors. Fundamental to the maintenance of life is sunlight. In addition to positive effects on human body, exposure to excessive exposure leads to destructive changes in many organs and systems.

Most people are aware about the harmful effects of UV radiation on the skin, but not about their harmful effects on the eye.

Purpose

The aim of this study is to identify objective morphological changes on the anterior surface result of UV exposure, using an innovative method for visualization of the early changes.

Materials and methods

This prospective study was conducted in three consecutive years at the Department of Ophthalmology and Visual Sciences in the territory of the Specialised Eye Hospital - Varna. 400 eyes of 200 subjects were included in the study group, with an average age of 32 ± 10 years (5 to 83 years). A full ophthalmologic examination, front anterior ocular imaging was performed with a specially designed camera based on UV autofluorescence and in vivo confocal microscopy. All the participants were given specially developed questionnaires, assessing the habits and knowledge about UV protection and relevant habits.

Results

The results of the UV camera captures demonstrated rate of 67.5% (134 persons) regarding morphological change of the ocular surface. All those morphological alterations were included in the definition of UV damage. It is noted that as the age increased, both the percentage of participants with UVAF and the intensity of the damage is also increasing.

Conclusion

The results of the population-based study confirm that UVAF is an objective marker for early diagnosis of the anterior ocular surface damage, due to harmful effect of UV radiation.

Based on these observations and analysis, one may assume that UV radiation is a major factor for these alterations.

Key words: Conjunctival autofluorescence, anterior ocular damage, UV

Увод

Човекът е в непрекъснато и динамично равновесие с факторите на околната среда. От тях фундаментално значение за поддържането на живота на Земята има слънчевата светлина. Освен положителното въздействие върху организма на човека, при прекомерната експозиция тя води и до деструктивни промени в много органи и системи.

Повечето от хората знаят за вредното въздействие на УВ лъчите като част от слънчевата светлина върху кожата, но не и за вредното им въздействие върху зрителния анализатор. (1)

Дължината на вълната е основният фактор, който влияе върху степента и скоростта на увреждане и определя процента на УВ радиация. Предизвиканите клетъчни промени

от излагането на електромагнитна енергия са следствие от химични реакции след абсорбцията на фотони от молекулите на клетките. (2)

Експозицията на индивида на УВ радиация (особено вредните УВ В) е повлияна от факторите на околната среда, климатичните условия и личните защитни навици. Озоновият слой действа като физическа бариера, която ограничава количеството УВ радиация, достигащо до повърхността на земята. Той практически спира всички къси дължини на вълните (т.е. тези под 290 nm и включително всички УВ С), както и 90% от УВ В (дължина на вълната 280-315 nm).

Преобладаващата част от по-късите дължини на вълните се абсорбират от роговицата и конюнктивата, като се наблюдава рязко покачване на предаването на УВ В от роговицата при около 308 nm дължина на вълната.(3,4) Зрителният анализатор притежава някои протективни механизми и структури като орбита, клепачи, мигли, роговичен и конюнктивален епител, слъзен филм. Естествените рефлексии като примигване, миоза и мидриаза се задействат само от видимата светлина на слънцето. Това означава, че в облачни дни количеството ултравиолетова светлина, достигащо до окото, може да бъде изключително опасно. Често вследствие на различни фактори като болест, възпаление или изгаряния, тези защитни механизми не са достатъчни и пациентът развива синдром на увредената предна очна повърхност (ПОП). Не рядко независимо от провежданото лечение се наблюдава прогресия на възпалението, васкуларизацията, цикатризацията и дори в по-напредналите случаи загуба на зрителните функции, което определяме като болест на предната очна повърхност. (5,6)

Получаването на точна информация за пресоналните очни увреждания вседствие на

УВ радиация е изключително трудна задача. От първостепенна важност е прецизно да се оценят връзката между УВ експозицията и конкретното очно заболяване, факторите на околната среда и начина на живот, както и индивидуалните начини за протекция от вредното въздействие на УВ радиацията.

Цел

Целта на настоящото проучване е да се установят обективните морфологични промени по предната очна повърхност, резултат от въздействието на УВ лъчите, използвайки иновативен метод за ранна диагностика на уврежданията.

Материали и методи

Това проспективно проучване е проведено в три последователни години, в Катедрата по очни болести и зрителни науки, в базата СБОБАЛ – Варна. Включени са 400 очи на 200 субекта със средна възраст 32 ± 10 години (5г.-83г.). Извършен е пълен офталмологичен преглед, включващ: авторефрактометрия, зрителна острота с и без корекция за далеч и за близо, биомикроскопия, пневмотонопахиметрия, офталмоскопия без мидриаза, заснеманане на предната очна повърхност със специално разработена камера на принципа на УВ автофлуоресценция и *in vivo* конфокална микроскопия. На всички участници са раздадени специално разработени анкетни карти (индивидуална анонимна анкета с въпросник за навиците и познанията върху УВ и възможностите за протекция) (фигура 1). Предната очна повърхност е заснета със специално разработена камера на принципа на УВ автофлуоресценция, даваща възможност за ранна детекция на промените по предната очна повърхност, влизащи в дефиницията за УВ увреждане. Използваната постановка е идентична с тази, използвана в проучване-

то за УВАФ на островите Норфолк.(1) Бяха направени нативни снимки (контролни), посредством естествената отразена светлина, а след това използвайки разработената УВ фотографска система се документира УВ индуцираната флуоресценция. За оценка на промените на микроструктурно ниво в зоните на конюнктивална автофлуоресценция е извършена *in vivo* конфокалната микроскопия, като е използван лазерен сканиращ конфокален микроскоп (Heidelberg Retina Tomograph (HRT) Cornea Module (Heidelberg Engineering GmbH, Germany), позволяващ детайлна визуализация чрез послоен анализ на роговица и структурите на предната очна повърхност.

Резултати

Резултатите от заснемането с УВ камерата показваха, че при 67.5% (268 очи) от заснетите очи се наблюдават зони на конюнктивална автофлуоресценция. От тях 56.71%, респективно 76 субекта са мъже, а 43% (58 субекта) - жени. Констатира се, че с нарастване на възрастта на популацията се увеличава както процентът на участници с наличие на УВАФ, така и на размерите на зоните с видими изменения. Съпоставяйки резултатите от проведената анкета се доказва, че степента на увреждане в голяма степен отговаря на лошите протективни навици - при 100% от хората, неизползващи специални защитни средства над 41 годишна възраст се визуализират зони на конюнктивална автофлуоресценция.

Анализът на данните от двете очи при един и същи човек с УВАФ, както и на зоните на автофлуоресценция назално и темпорално от лимба за всяко едно от тях показва, че при 24,1% от очите измененията са по-демонстративно изразени назално от лимба. В 48,20 % от очите с УВАФ зоните на автофлуоресценция са с еднаква големина и интензитет на-

зално и темпорално от лимба, а в останалите 27,70 % зоните са по-изразени темпорално от лимба. Не се открива статистически значима разлика в степента на увреждане между двете очи на тестваните участници.

При 27 субекта, участващи в проучването са констатирани промени по конюнктивата, влизащи в дефиницията за увреждания. Пингвекула при 16 субекта (12 жени и 4 мъже), а птеригиум - при 11 (9 мъже и 2 жени) (фиг.2).

При всички субекти с птеригиум локализацията е в назалната част на конюнктивата. Заснемането с УВ камерата, работеща на принципа на конюнктивална автофлуоресценция, установи, че е налице характерно „светене“ на главата на птеригиума (фиг.3).

Находките са визуализирани с два клинични случая на дългосрочно проследяване:

Случай 1

Жена на 46год., при която на първата визита е установен птеригиум- първа степен на ляво око. Състоянието на предната очна повърхност е проследено и фотодокументирано многократно в рамките на три годишен период. Установена е прогресия на птеригиума, която освен в растеж се изразява и в по-интензивно „светене“ в областта на главата и по-точно в зоната на линията на Стокер (фиг.4). Пациентът не дава съгласие за многократно предложеното оперативно лечение.

Случай 2

Жена на 56 год. с BCVA: VOD=0.9 с +1.00dsph/+0.75dcyl/170; VOS= 1.0 с +1.25dsph, VOU=20/20 add +2.25dsph. Биомикроскопията показва: ДО- ПОС: конюнктивална гънка, прорастнала върху роговицата назално, ЗОС - норма; ЛО- ПОС и ЗОС: норма. От направените снимки на ПОП се установяват зони на УВАФ на двете очи, назално и темпорално. В дясно око назалната УВАФ е с повишена интензивност съответно на диагно-

стицирания птеригиум. Един ден след проведеното оперативно лечение - отстраняване на прорастналата конюнктивална гънка на дясно око, се констатира липсата на дори минимални зони на автофлуоресценция на мястото на извършената резекцията (фиг.5).

Дискусия

Умереното излагане на слънчевата ултравиолетова радиация е незаменима част от здравето, но прекомерно или недостатъчно количество - може да има вредно въздействие.(1) В световен мащаб е въведен глобалният слънчев UV индекс.(1) Той характеризира нивото на слънчевата UV радиация на повърхността на земята. Неговите стойности започват от нула и с увеличаването им нараства вероятността за вреда върху кожата и очите и намалява времето, необходимо за появата ѝ. Видимото увеличение в появата на рак на кожата и увреждания по предната очна повърхност, по целия свят са тясно свързани с прекаленото излагане на слънчева UV радиация. Затова допринася и засилената употреба в последните години на изкуствени източници на UV радиация, като например солариумите. Личните навици, при излагане на слънце, са най-важният индивидуален рисков фактор за вреда от UV радиацията. UV индексът е важно средство за увеличаване на публичната информираност относно рисковете от прекомерното излагане на UV радиация, както и за необходимостта от използване на предпазни средства.(7)

Налице са множество проучвания и експерименти, свързани с вредното въздействие на UV радиацията върху зрителния анализатор. Обект на изследване са почти всички очни структури. Липсва достатъчно информация относно ранните промени, които настъпват в конюнктивата под въздействие на UV лъчите.

Резултатите от проучването в Катедрата по очни болести и зрителни науки показват, че с нарастване на възрастта на популацията

се увеличава както процентът на участници с наличие на УВАФ, така зоните и интензивността на измененията при всеки един от тях. Това е в контраст с проведеното проучване от Sherwin и сътрудници върху 641 субекта от островите Норфолк, чиито резултати демонстрират, че УВАФ се среща в по-висок процент при млади хора и при мъже. Те потвърждават, че изразената УВАФ се асоциира с развитието на птеригиум. (8) Анализът на данните от проучване на McKnight и сътрудници върху 1344 австралийци на възраст 18-22г., също показва че зоните на конюнктивалната автофлуоресценция са по изразени в назалната част на окото и нарастват пропорционално на времето, прекарано на открито, но за разлика от проучването на Shewin и сътрудници - зоните на изменения не зависят от възрастта и пола. (9) В друго проучване Kearny и сътрудници изследват УВАФ на 50 субекта, като 42% от тях са със сухо око. Техните резултати отново потвърждават, че интензивността на зоните се увеличава с нарастване на времето, прекарано на открито без слънчеви очила, подчертавайки, че зоните с УВАФ не се асоциират със клиничната картина на сухо око.(10)

Получените разлики между проучванията биха могли да се обяснят с различното географско разположение на изследваната популация, навиците за протекция от слънцето, хранителния режим и др. Разликите в генетичния фон също биха могли да окажат влияние върху резултатите.

От всички структури на зрителния анализатор, роговицата е най-изложена на въздействие на UV радиация. Тя абсорбира най-голяма част не само от директното попадналите лъчи, но и от косите лъчи, достигащи дори под ъгъл до 110 °, които след това се отразяват през роговицата и предната камера в областта на лимба. UV-B лъчението индуцира оксидативен стрес в епителните клетки на роговицата

и влияе върху регулацията на проинфламаторните цитокини.(11) Първият етап е развитието на пингвекула, последвано от птеригиум, който може да доведе до намаление на зрението и често изисква оперативно лечение.

Най-честата локализация на птеригиума е назално от лимба, като Проф. Минас Коронео обяснява това със случайно пречупените коси лъчи, достигащи периферната роговица, които се фокусират именно в този квадрант. (9–11)

Работата на открито е фактор за развитието на птеригиум.(15–18) Установено е, че честотата му е почти два пъти по-голяма сред хората, които работят на открито.(17) Заболяването е с голяма честота в райони по-близо до екватора, (19,20) и с по-висока надморска височина (21).

Настоящото проучване показва, че автофлуоресценцията е характерна за птеригиума, особено за неговата глава. Това дава възможност за хипотезата, че зоните с автофлуоресценция са дегенеративни, а тяхното нарастване сигурен признак за увреждане на предната очна повърхност.

Заклучение

Резултатите от проведеното популационно базирано изследване потвърждават тезата, че УВАФ е обективен маркер за ранна диагностика на уврежданията по предната очна повърхност.

Основавайки се на анализа на данните, показващи корелация между на UV експозицията, навиците за протекция и констатираната находка, допускаме, че основен фактор за тези промени са UV лъчите.

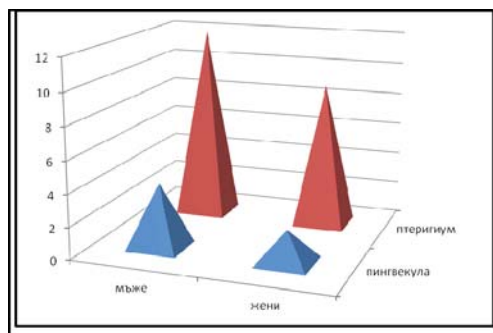
Уместно е изработването на профилактични програми за ранна диагностика и проследяване, както и разработване на образователни програми с цел повишаване познанията за вредните ефекти на UV радиацията и необхо-

димостта от използване на предпазни средства. Необходимо е да се постигне по-добра публична информираност, за стимулиране към промяна в начина на живот и предпазване на очите.

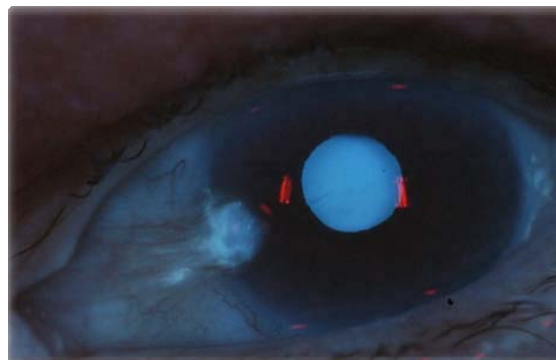
Фигура 1- Анкетна карта



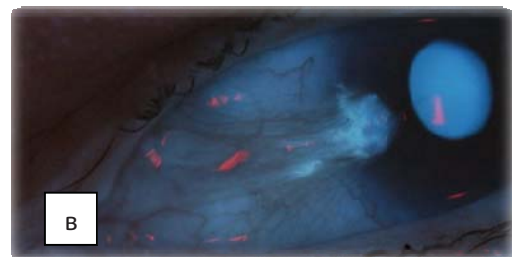
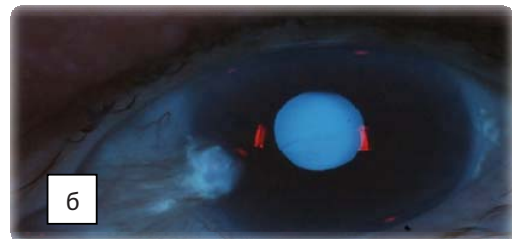
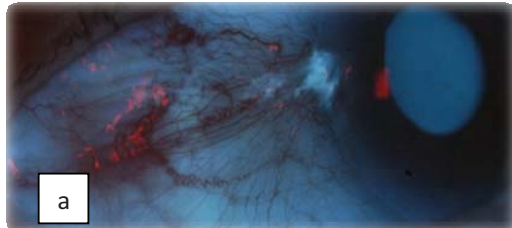
Фиг. 2 Процентно разпределение на диагностициран пингвекул и птеригиум по пол



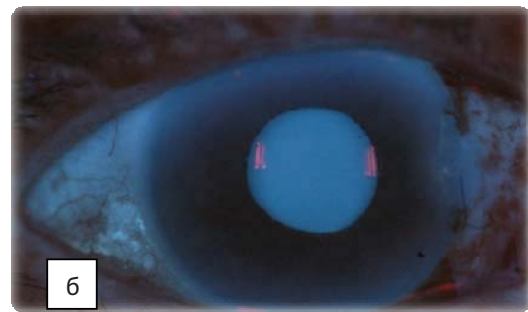
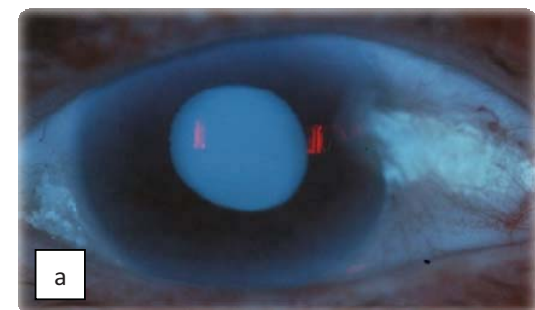
Фиг.3 Снимка на птеригиум с характерно „светене” на главата



Фиг. 4 Снимки на пациент с птериgium през: а) 1-вата година, б) 2-рата година и в) 3-тата година от проследяването;



Фиг. 5 Снимки на пациент с УВАФ а) снимка показваща УВАФ темпорално и назално, съответстващо на птериgium и б) един ден след оперативно премахване на птериgium – липса на УВАФ назално.



Книгопис

1. WHO | The known health effects of UV [Internet]. WHO. [cited 2017 Oct 25]. Available from: <http://www.who.int/uv/faq/uvhealthfac/en/>
2. Webb RB, Malina MM. Mutagenic Effects of Near Ultraviolet and Visible Radiant Energy on Continuous Cultures of *Escherichia Coli**. *Photochem Photobiol.* 1970 Dec 1;12(6):457–68.
3. Behar-Cohen F, Baillet G, de Ayguavives T, Garcia PO, Krutmann J, Peña-García P, et al. Ultraviolet damage to the eye revisited: eye-sun protection factor (E-SPF®), a new ultraviolet protection label for eyewear. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2014;8:87–104.
4. Bashir H, Seykora JT, Lee V. Invisible Shield: Review of the Corneal Epithelium as a Barrier to UV Radiation, Pathogens, and Other Environmental Stimuli. *J Ophthalmic Vis Res.* 2017 Sep;12(3):305–11.
5. Cabrera S, Ipiña A, Damiani A, Cordero RR, Piacentini RD. UV index values and trends in Santiago, Chile (33.5°S) based on ground and satellite data. *J Photochem Photobiol B.* 2012 Oct 3;115:73–84.
6. Cadet J-M, Bencherif H, Portafaix T, Lamy K, Ncongwane K, Coetzee GJR, et al. Comparison of Ground-Based and Satellite-Derived Solar UV Index Levels at Six South African Sites. *Int J Environ Res Public Health.*

2017 Nov 14;14(11).

7. Madronich S, McKenzie RL, Björn LO, Caldwell MM. Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *J Photochem Photobiol B*. 1998 Oct;46(1-3):5-19.

8. Sherwin JC, Hewitt AW, Kearns LS, Griffiths LR, Mackey DA, Coroneo MT. The association between pterygium and conjunctival ultraviolet autofluorescence: the Norfolk Island Eye Study. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2013 Jun;91(4):363-70.

9. McKnight CM, Sherwin JC, Yazar S, Forward H, Tan AX, Hewitt AW, et al. Pterygium and conjunctival ultraviolet autofluorescence in young Australian adults: the Raine study. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2015 Jun;43(4):300-7.

10. Kearney S, O'Donoghue L, Pourshahidi LK, Richardson PM, Saunders KJ. The use of conjunctival ultraviolet autofluorescence (CUVAF) as a biomarker of time spent outdoors. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2016 Jul 1;36(4):359-69.

11. Black AT, Gordon MK, Heck DE, Gallo MA, Laskin DL, Laskin JD. UVB light regulates expression of antioxidants and inflammatory mediators in human corneal epithelial cells. *Biochem Pharmacol*. 2011 Apr 1;81(7):873-80.

12. Coroneo MT, Müller-Stolzenburg NW, Ho A. Peripheral light focusing by the anterior eye and the ophthalmohelioses. *Ophthalmic Surg*. 1991 Dec;22(12):705-11.

13. Coroneo M. Ultraviolet radiation and the anterior eye. *Eye Contact Lens*. 2011 Jul;37(4):214-24.

14. Coroneo MT. Pterygium as an early indicator of ultraviolet insolation: a hypothesis. *Br J Ophthalmol*. 1993 Nov;77(11):734-9.

15. Lu P, Chen X, Kang Y, Ke L, Wei X, Zhang W. Pterygium in Tibetans: a population-based study in China. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2007 Dec;35(9):828-33.

16. Coroneo MT, Di Girolamo N, Wakefield D. The pathogenesis of pterygia. *Curr Opin Ophthalmol*. 1999 Aug;10(4):282-8.

17. Luthra R, Nemesure BB, Wu SY, Xie SH, Leske MC, Barbados Eye Studies Group. Frequency and risk factors for pterygium in the Barbados Eye Study. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 2001 Dec;119(12):1827-32.

18. Shiroma H, Higa A, Sawaguchi S, Iwase A, Tomidokoro A, Amano S, et al. Prevalence and risk factors of pterygium in a southwestern island of Japan: the Kumejima Study. *Am J Ophthalmol*. 2009 Nov;148(5):766-771.e1.

19. Moran DJ, Hollows FC. Pterygium and ultraviolet radiation: a positive correlation. *Br J Ophthalmol*. 1984 May;68(5):343-6.

20. Heriot WJ, Crock GW, Taylor R, Zimmet P. Ophthalmic findings among one thousand inhabitants of Rarotonga, Cook Islands. *Aust J Ophthalmol*. 1983 May;11(2):81-94.

21. Lucas RM. An epidemiological perspective of ultraviolet exposure--public health concerns. *Eye Contact Lens*. 2011 Jul;37(4):168-75.