

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

Д-р НИКОЛАЙ ЛЪЧЕЗАРОВ СУРЧЕВ

**ВЛИЯНИЕ НА ПРЕДОПЕРАТИВНИТЕ
РИСКОВИ ФАКТОРИ ВЪРХУ ПРЕЖИВЯЕМОСТТА
НА РОГОВИЧНИЯ ТРАНСПЛАНТАТ ПРИ
ПЕРФОРАТИВНА КЕРАТОПЛАСТИКА**

ДИ С Е Р Т А Ц И Я

София
2013 г.

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Д-р НИКОЛАЙ ЛЪЧЕЗАРОВ СУРЧЕВ

ДИСЕРТАЦИЯ

СОФИЯ
2013 г.

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ОФТАЛМОЛОГИЯ

Д-р НИКОЛАЙ ЛЪЧЕЗАРОВ СУРЧЕВ

**ВЛИЯНИЕ НА ПРЕДОПЕРАТИВНИТЕ
РИСКОВИ ФАКТОРИ ВЪРХУ ПРЕЖИВЯЕМОСТТА НА
РОГОВИЧНИЯ ТРАНСПЛАНТАТ ПРИ ПЕРФОРАТИВНА
КЕРАТОПЛАСТИКА**

ДИ С Е Р Т А Ц И Я

за присъждане на образователната и научна степен „Доктор”

Научна специалност: „Офталмология”, шифър 03.01.36.

Научен ръководител:
Акад. д-р Петя Василева, дмн

София
2013 г.

СЪДЪРЖАНИЕ

Използвани съкращения.....	1
Въведение.....	2
I. Литературен обзор.....	4
1. Анатомия на роговицата.....	4
1.1. Епител.....	5
1.2. Бауманова мембрана.....	6
1.3. Строма.....	6
1.4. Десцеметова мембрана.....	7
1.5. Ендотел.....	7
2. Роговична трансплантация - историческо развитие.....	8
2.1. Роговична трансплантация в България.....	11
3. Очни банки.....	12
3.1. Осигуряване на донорна тъкан за кератопластика.....	12
3.1.1. От живи донори.....	12
3.1.2. От донори пост-мортем.....	12
3.2. Методи за съхранение на донорния материал.....	13
3.2.1. Хипотермични среди.....	14
3.2.2. Съхранение в органна култура.....	15
3.2.3. Избор на методика за съхранение на корнеосклерални донорни дискове.....	16
3.3. Очно банкиране в България.....	16
4. Индикации за перфоративна кератопластика.....	17
4.1. Оптични индикации.....	18
4.2. Тектонични индикации.....	19
4.3. Терапевтични индикации.....	20
4.4. Козметични индикации.....	21
4.5. Индикации за кератопластика и тяхната динамика.....	21
4.5.1. Индикации в Северна Америка.....	22
4.5.2. Индикации в Европа.....	24
4.5.3. Индикации в Азия.....	26
4.5.4. Индикации в Австралия и Нова Зеландия.....	27
4.5.5. Индикации в Африка.....	28

4.6. Несъответствие между донори и нуждаещи се от кератопластика.....	28
5. Причини за неуспех на роговичната трансплантация.....	29
5.1. Първично отхвърляне на трансплантата.....	29
5.2. Имунно отхвърляне.....	30
5.2.1. Имунобиология на роговицата.....	30
5.2.2. Имунна привилегия на роговицата.....	32
5.2.3. Клинична картина.....	33
5.3. Нарушения на очната повърхност.....	34
5.4. Инфекция на трансплантата.....	35
5.5. Глаукома.....	36
5.6. Рецидив на основното заболяване.....	36
5.7. Травма.....	37
5.8. Неимунна декомпенсация на ендотела.....	37
6. Рискови фактори за неуспех на роговичната трансплантация.....	38
6.1. Предоперативни рискови фактори.....	38
6.1.1. Рискови фактори от страна на донора.....	38
6.1.1.1. Възраст.....	38
6.1.1.2. Пол.....	40
6.1.1.3. Причина за смърт.....	40
6.1.1.4. Време до експлантация.....	41
6.1.1.5. Време до трансплантация.....	41
6.1.1.6. Епител.....	42
6.1.1.7. Ендотел.....	42
6.1.1.8. Обща оценка на донорната роговица.....	42
6.1.2. Рискови фактори от страна на реципиента.....	43
6.1.2.1. Възраст.....	43
6.1.2.2. Пол.....	43
6.1.2.3. Индикация за кератопластика.....	44
6.1.2.4. Предоперативна васкуларизация.....	45
6.1.2.5. Състояние на очна повърхност.....	46
6.1.2.6. Състояние на предна очна камера.....	46
6.1.2.7. Статус на леща.....	47
6.1.2.8. Предоперативна глаукома.....	48
6.1.2.9. Наличие на предоперативно възпаление.....	49

6.1.2.10. Очен херпес.....	49
6.1.2.11. Системни заболявания.....	50
6.1.2.12. Значение на напасването по HLA-система.....	50
6.2. Интраоперативни рискови фактори.....	51
6.2.1. Размер на реципиентното ложе.....	51
6.2.2. Натовареност на роговичния хирург.....	51
6.2.3. Допълнителни оперативни процедури.....	51
6.3. Постоперативни рискови фактори.....	52
6.4. Проучвания върху рискови фактори в България.....	53
7. Изводи от литературния обзор.....	54
II. Цел и задачи.....	55
III. Материал и методи.....	56
1. Оценка качествата на донорна роговична тъкан.....	57
2. Анализ на индикациите за кератопластика.....	61
2.1. На извършени трансплантации.....	61
2.2. На пациенти от листата на чакащи за кератопластика.....	61
3. Оценка на предоперативния статус на реципиента.....	62
4. Кератопластика.....	64
5. Постоперативно проследяване на роговичен трансплантат.....	66
5.1. Увредени трансплантати – класификация.....	68
6. Статистически анализ.....	69
IV. Резултати.....	72
1. Индикации за кератопластика.....	72
1.1. Индикации за кератопластика в България.....	72
1.2. Индикации за операция в лист на чакащи за кератопластика към СОБАЛ "Акад. Пашев".....	73
1.3. Индикации за кератопластика в проучваната група.....	74
1.4. Промяна в индикациите за перфоративна кератопластика.....	74
2. Състояние на реципиентите.....	76
2.1. Специфичен статус при пациенти с булозна кератопатия.....	81
2.2. Допълнителни интраоперативни процедури.....	81
3. Характеристики на донора и донорната роговица.....	82
4. Постоперативно проследяване на роговичния трансплантат.....	86
5. Оценка на рисковите фактори.....	90
5.1. Показатели на реципиента.....	90

5.2. Показатели на донора.....	93
5.3. Окончателен модел на предоперативни рискови фактори....	95
V. Обсъждане.....	97
1. Индикации за кератопластика.....	97
1.1. Показания за операция в България.....	97
1.2. Динамика на перфоративната кератопластика в България....	102
1.3. Особености при показанията за операция в СОБАЛ „Акад. Пашев”	104
2. Особености на проучените роговични донори.....	106
3. Особености в предоперативния статус на реципиентите.....	111
4. Преживяемост на роговичния трансплантат.....	114
5. Влияние на предоперативни фактори върху преживяемостта на трансплантата след ПКП.....	121
6. Ограничения на настоящето проучване и насоки за бъдещи изследвания.....	127
VI. Изводи.....	129
VII. Приноси.....	130
Приложения.....	132
Публикации и научни съобщения във връзка с дисертационния труд	138
Библиография.....	141

Използвани съкращения

АБК	афакична булозна кератопатия
АМТ	трансплантация на амниотична мембрана
АПК	антиген-представяща клетка
ВОН	вътреочно налягане
ВРСФ	време на разкъсване на слъзния филм
ЕКГ	ендотелна клетъчна гъстота
ИОЛ	интраокуларна леща
МЕМ	минимален есенциален медиум
ПБК	псевдофакична булозна кератопатия
ПКП	перфоративна кератопластика
ACAID	Anterior Chamber Associated Immune Deviation
ACGR	Australian Corneal Graft Registry
CCTS	Collaborative Corneal Transplantation Study
CDS	Cornea Donor Study
CGOS	Corneal Graft Outcome Study
CI	доверителен интервал
CORTES	Corneal Transplant Epidemiological Study
EBAA	Eye Bank Association of America
EEBA	European Eye Bank Association
MHC	Major Histocompatibility Complex
RR	релативен риск

ВЪВЕДЕНИЕ

Роговичната трансплантация или кератопластика представлява оперативно заместване на увредена роговична тъкан със здрава. Тя може да е перфоративна (изрязване и подмяна на роговицата в цяла дебелина) или ламеларна (само част от роговицата – предна или задна). Основните цели на кератопластиката са да подобри зрението и да възстанови целостта на очната ябълка. Роговичната трансплантация също така представлява терапевтична възможност при различни инфекции и при болка с роговичен произход. Макар че в практиката са въведени и други оперативни техники като кератопротезирането, фототерапевтичната кератектомия и конюнктивални/склерални покрития, тя остава главен избор за лечение на необратимата роговична патология.

Навлязла в медицинската практика преди повече от 100 години (126), днес кератопластиката е широко прилагана и превишава значително честотата на други видове трансплантация. По официални статистически данни в САЩ през 2012 година са извършени 46196 роговични трансплантации (91). Данните от членуващите в Европейската асоциация на очните банки (ЕЕВА) структури за същият период са за 17835 обработени и 13928 трансплантирани роговици (89). Големият брой извършени процедури е свързан с развитието на оперативните техники и инструментариум, както и с обогатяването за познанията ни за трансплантационната имунология и натрупването на терапевтичен опит. Докато при въвеждането на роговичната трансплантация основните кандидати за операция са били болни с роговична цикатризация (левкома), развитието ѝ и промените в заболяемостта на населението (напр. появата на псевдо- и афакичната булозна кератопатия след началото на операциите за катаракта) съществено променят профила на роговичните реципиенти (76). Последните 20 години технологични и хирургични нововъведения позволиха значително увеличаване на

ефективността на ламеларната кератопластика (204). Въпреки възможностите чрез такъв тип операция да се избегнат някои от рисковете и ограниченията на перфоративната кератопластика, последната остава стандартен и основен терапевтичен подход при голяма част от роговичните заболявания.

Успехът на роговичната трансплантация е висок, като при некомплицирани случаи преживяемостта за първите 2 до 5 години обикновено е над 90% (63, 93). Но тези данни значително се различават от резултатите при някои по-сериозни очни заболявания като например химическите изгаряния и ревматоидния артрит (61). Често нуждаещите се от кератопластика имат изменения в своя общ и локален статус, които повишават риска за донорната роговица. От първостепенна важност за офталмологичните специалисти и техните пациенти е максимално изчерпателното познаване на различните изменения и процеси, които могат да повлияят на интегритета и функцията на трансплантираната роговица. Защото при неблагоприятен изход след кератопластика не само се губи възможността за зрителна рехабилитация на болния, но се създава опасност от различни усложнения, които могат дори да надминат нарушенията от първоначалната причина за операция.

Натрупаният у нас опит в подготовката, транспланирането и проследяването на пациенти с перфоративна кератопластика, както и в областта на очното банкиране, предоставя възможност за ефективна оценка на рисковите фактори за преживяемостта на роговичния трансплантат.

I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. Анатомия на роговицата

Роговицата представлява прозрачната предна част на външната фиброзна обвивка на очната ябълка. Основната ѝ роля, заедно с надлежащия слъзен филм, е да осигури външната рефрактивна повърхност на окото. Освен това заедно със склерата придава формата на окото, както и защитава подлежащите очни структури.

Средната хоризонтална ширина на роговицата при възрастни е 11,5-12,0 мм (183). Обичайно височината на роговицата е по-малка с около 0,5 мм поради леко вдаване на склерата в горната и долната части на роговицата. Поради това предната роговична повърхност има елипсоидна форма за разлика от задната, която е кръгла. Радиусът на кривината на предната повърхност не е еднакъв - в централната зона от 7 мм тя е сферична, докато в периферията добива по-плосък ход – т.н. пролатна форма. Задната повърхност на роговицата има по-малък радиус на кривината от предната. Поради това роговичната дебелина в центъра е най-малка (около 530 мкм) и нараства към периферията до 700-800 мкм (190). По своя край, в рамките на около 1,5 мм, роговицата постепенно преминава в склерата. Тази преходна зона се нарича корнеосклерален лимб. Радиерно по епитела му са разположени палисадите на Фогт, които са резервоар на стволови епителни клетки (83). Също в областта на лимба се разполагат и крайните разклонения на предните цилиарни артерии, които, заедно със сълзите и преднокамерната течност, са източник на кислород и хранителни вещества за. Нормалната, неувредена роговица е лишена от кръвоносни съдове, но богато сетивно инервирана от *nervus ophthalmicus* чрез дългите цилиарни нерви, които образуват перилимбално нервен пръстен. От него нервните влакна навлизат в роговичната строма, където остават без миелинова обвивка. След това ходът им продължава напред, като се разклоняват и образуват субепително сплетение (11). Краят на

нервните окончания е сред епителните клетки, поради което нарушаването на интактността на роговичната повърхност причинява силна болка (190).

Морфологичните изследвания на роговицата обособяват 5 слоя, разположени отвън навътре в реда: епител, Бауманова мембрана, строма, Десцеметова мембрана, ендотел.

1.1. Епител

Роговичният епител е плосък, многослоен и невроговяващ. Изграден е от 5 до 7 слоя клетки, с обща дебелина около 50 мкм, която е еднаква по цялата роговична повърхност (108). В зоната на лимба роговичния епител преминава в конюнктивен.

Върху базалната мембрана на епитела се разполагат един ред цилиндрични епителни клетки. Те активно се делят и дават начало на криловидните клетки, които се разполагат в 2-3 реда над тях. Тези клетки не се делят и преминават в повърхностни клетки, заемащи горната част на роговичния епител. Те, на свой ред, поради механичния стрес от мигателните движения и ултравиолетовите лъчи се подлагат на апоптоза и излющване. Целият процес на последователно диференциране на клетките отнема 7 до 14 дни (158). Освен базалните епителни клетки митотичен потенциал притежават и стволовите клетки, разположени в роговичния лимб. Новообразуваните от тях епителни клетки мигрират по роговичната повърхност центрипетално и поддържат, и възстановяват базалния слой (190). Този специфичен цикъл на образуване и последователно диференциране на клетките от базален през криловиден до повърхностен слой е описан за първи път от Thoft и Friend като "X, Y, Z хипотеза" (206).

Една от най-важните роли на епитела е бариерната. Субстратът на високата му устойчивост и ниска проницаемост са здравите междуклетъчни връзки, които се осъществяват от няколко типа междуклетъчни комплекси. Плътните връзки (zonulae occludens) се намират предимно в повърхностния епителен слой и осигуряват здрави междуклетъчни връзки. Друг вид връзки, които са

определящи за устойчивостта на епителния слой, са десмосомите, които се намират във всички епителни слоеве. В базалния слой и слоя на криловидните клетки има цепковидни контакти (gap junctions), които позволяват преминаването на малки молекули между клетките (108).

Както при всеки друг вид епител, базалният слой лежи върху базална мембрана, която той секретира. Дебелината ѝ е около 50 нм и съдържа основно колаген IV и ламинин. Закрепването на клетките към нея се осъществява чрез хемидесмосоми (zonulae adherens). (190). При евентуална увреда само на роговичния епител и базалната мембрана, без засягане на подлежащи тъкани, настъпва пълно възстановяване без остатъчни последствия за роговичната прозрачност.

1.2. Бауманова мембрана

Бауманова мембрана представлява безклетъчен слой под роговичния епител. Тя не е истинска мембрана, а уплътнение на предната строма с дебелина около 12 мкм. Съдържа колагенови фибрили и протеогликани, при травма не може да регенерира.

1.3. Строма

Роговичната строма заема основната част от дебелината на роговицата - около 90%. Главната ѝ съставка е вода (78%), която се стабилизира от строго организирана стромална белтъчна структура.

Екстрацелуларният матрикс на стромата съдържа основно колаген (~68%), протеогликани и гликопротеини (158). Колагенът е преобладаващо тип I, откриват се още тип III, V и VI, които в комбинация помежду си изграждат колагеновите фибрили, чиято дебелина в стромата е около 25 нм (190). Фибрилите са специфично подредени в ламели, разположени слоесто една над друга със строго определено разстояние помежду си. Последните прекосяват цялата роговица, като са разположени под ъгъл една спрямо друга. Броят им е 250-500, по-висок в периферията (144).

Протеогликаните са водноразтворими макромолекули, изградени от белтъчна сърцевина, свързана с глюкозаминогликан. Изолирани са 4 белтъка - декорин, лумиккан, кератокан и мимекан. В стромата те се комбинират с кератан сулфат, дерматан сулфат, хондроитин сулфат, хиалуронова киселина и др. (158). Протеогликаните се разполагат между колагеновите фибрили. Те са силно хидрофилни и регулират разпределението на водата в стромата. Смята се, че функцията им е да поддържат триизмерната структура на колагеновите фибрили и определено отстояние между тях, което е определяща за роговичната прозрачност (77).

Основната клетъчна популация в стромата е тази на кератоцитите. Те са сравнително малко (3-5% от общия стромален обем), с тънко вретеновидно тяло и се разполагат между ламелите, като отделните клетки са свързани помежду си с цепковидни контакти. Тяхната функция е да поддържат екстрацелуларния матрикс чрез постоянна секреция на неговите елементи. В здравата роговица кератоцитите се намират в покой, но под влияние на различни увреждащи фактори се активират и трансформират в миофибробласти (212). При засягане на стромата репаративните процеси водат до възстановяване на целостта ѝ, но за сметка на намаление на нейната прозрачност.

1.4. Десцеметова мембрана

Десцеметовата мембрана представлява базална мембрана на ендотелните клетки. Тя се секретира от тях, като в състава ѝ влизат предимно колаген (основно тип IV) и гликопротеините ламинин и фибронектин. Структурно се изгражда от предна набраздена зона и задна гладка, която нараства на дебелина поради депониране на нов материал от ендотела през годините (11). При раждането общата ѝ дебелина е 3-4 нм, а при възрастни индивиди достига 12 нм. Десцеметовата мембрана се отличава с висока еластичност и устойчивост. Не може да регенерира.

1.5. Ендотел

Роговичният ендотел представлява едноклетъчен слой, който покрива задната повърхност на Десцеметовата мембрана. Клетките са плоски, с дебелина средно 5-6 мкм и ширина 20 мкм. Повърхността им е полигонална, предимно хексагонална (108). Между клетките има различни междуклетъчни връзки, но, за разлика от епитела, тук контактите не са плътни и поради това ендотелът притежава частична пропускливост за преднокамерна течност (158).

Човешкият ендотел практически не се дели. При раждането средната ендотелната клетъчна гъстота (ЕКГ) е 5000 клетки/мм² (84). В младежка възраст тя достига стойности около 3000 клетки/мм², след което продължава да намалява с по-ниска скорост (45). При загиване на клетка поради стареене или механична травма (нараняване, засягане при вътреочна операция) околните клетки запълват образуваната дупка чрез нарастване и взаимно пренареждане.

Основната ендотелна функция е осигуряване на оптимално ниво на стромална хидратация чрез обратно изпомпване на течност към предна очна камера. Това се постига чрез функционирането на Na⁺/K⁺-помпа и секрецията на HCO₃⁻ йони в преднокамерната течност, като така се осигурява осмотичен градиент, предизвикващ преминаване на течност от роговичната строма към предна очна камера. При увреда на роговичния ендотел тази функция се затруднява и при спадане на ЕКГ до около 500 клетки/мм² или по-малко се развива декомпенсация и оток на роговицата (158).

2. Роговична трансплантация - историческо развитие

Първата идея за оперативно лечение на роговична мътнина принадлежи на френския хирург Guillaume Pellier de Quengsy. През 1789 година той предлага хирургична подмяна на увредена роговица с парче стъкло. Тази идея, представляваща първообраз на съвременната кератопротеза, не се реализира.

Franz Reisinger се приема за първия, предложил прилагането на жива тъкан за извършването на роговична трансплантация през 1824 година. Той въвежда термина кератопластика и извършва реални опити с животни, които не са успешни. Първата успешна трансплантация на хомографт се отдава на Vigger през 1837 г. Според исторически източници той успял да присади роговица от една африканска газела на друга. Негов последовател, Richard Kissam, прави опит за кератопластика при човек през 1838г. За донор е използвано прасе, а операцията е извършена без упойка с катарактално ножче на Беер и само две лигатури на донорния материал. Опитът се оказва неуспешен, като Kissam отчита важното значение на липсата на упойка и подходящи инструменти. Тези фактори, както и неумението за боравене с донорна тъкан се явяват важни фактори за неуспеха на опитите за кератопластика през следващите няколко десетилетия (126).

В средата на 19 век в медицината навлиза прилагането на обща упойка. През 1878 година Lister публикува наблюденията си за значението на антисептиката при оперативни интервенции. Скоро след това в офталмологията навлиза и приложението на локалната инфилтративна анестезия, като тези фактори допринасят за полесното извършване и по-добрата прогноза след кератопластика. Проведените опити и наблюдения насочват към употребата на хомографти като донорен материал. Голямо значение за напредъка на роговичната трансплантация е трудът на Arthur von Hippel. Той успява да извърши благополучно ламеларна кератопластика при дете с роговица от заек под местна упойка с кокаин. Важен негов принос е и въвеждането на кръгли трепани като инструмент за изрязване на донорната и реципиентната роговица (126).

Първата успешна перфоративна кератопластика е извършена от Eduard през 1906 г. Реципиентът бил 45-годишен работник с двустранни роговични изгаряния от негасена вар. За донор Zirm използвал 11-годишно момче, което било загубило зрението на едното око след травма. Той извършил енуклеация на това око и веднага след това провел двустранна кератопластика на реципиента, като ляво око останало с прозрачен трансплантат. Базирайки се на своя опит, Zirm извежда няколко основни правила

за роговичната трансплантация: подходяща анестезия, употребата на здрава човешка роговична тъкан, използването на трепан, строга асептика, предпазване на донорния бутон с физиологичен разтвор, избягване на контакт на същия с токсични химикали/антисептици, налагането на фиксиращи шевове и внимателния подбор на случаите за операция.

Успехът на Zirm, както и последвалите опити на Arthur Elschmig насочват интереса на офталмологичната общност към перфоративната кератопластика. Един от учениците на Elschmig, Vladimir Filatov, първи успява да извърши трансплантация на роговица от трупен донор през 1931 г. Следващите години водят до развитието на оперативната техника - Castroviejo, разработва техника за квадратни трансплантати и изобретява множество инструменти. Важни са приносите и на Barraquer, Arruga, Franceschetti и др. (142). Голям тласък за развитието на кератопластиката станало откриването на първата очна банка от Paton през 1944 г.

През 1948 г. Paufique и Sourdille първи описват помътняването на роговичния трансплантат и предполагат, че причина за това е сенситизацията на реципиента към донорната тъкан. A.E. Maumenee описва подробно клиничната картина при имунната реакция на отхвърляне на трансплантата. Проведените в следващите десетилетия проучвания изясняват механизмите на имунологичните реакции, имунната привилегия на роговицата и методите за борба с имунното отхвърляне.

След успешното развитие на различни методики за извършване на перфоративна кератопластика (ПКП) опитите за ламеларни процедури остават на заден план. Макар че успешно са извършвани и предни, и задни ламеларни трансплантации, постоперативните резултати са лоши поради липсата на подходящ инструментариум. Поради това през втората половина на 20 век ПКП остава практически единственият вид прилагана роговична трансплантация. След 1990 година настъпват промени в това статукво. С помощта на новововъведени техники за задна (146) и предна (198) ламеларна трансплантация послойните техники

добиват необходимата ефективност и значимост, за да заемат място като алтернативи при оперативното лечение на роговичната слепота.

2.1. Роговична трансплантация в България

Развитието на роговичната трансплантация според Василева и Константинов (5) е представено в четири периода:

- Исторически период - 1930 - 1970 г.
- Бързо развитие на кератопластиката - 1970 - 1989 г.
- Преходен период - 1989 - 1995 г.
- Съвременен период - 1995 - до днес

Началото на историческия период се поставя с първите опити за трансплантация на роговица, извършени от акад. Константин Пашев в Очна клиника на Медицински факултет при Софийски университет. Операциите са неуспешни, а той обобщава от своя опит, че успехът след кератопластика е несигурен. За оптимални резултати препоръчва роговицата да се вземе от жив донор.

След проведени още експериментални и клинични опити се стига до първата кератопластика с успешно приемане на трансплантата. Тя е извършена през 1956 г. от проф. Иван Василев в ИСУЛ.

От 1970 година настъпва бързо развитие на роговичната трансплантация. С напредъка в микрохирургията и натрупването на опит оперативната дейност се увеличава значително. Кератопластики вече се извършват не само в София, а и в Ботевград, Варна и Хасково. Материал за трансплантиране се осигурявал чрез енуклеация и съхранение във влажна камера. Провеждани са опити в Българската академия на науките за употребата на тъканни култури и криоконсервация (7).

Преходният период се характеризира със значителни промени. Поради значителните изменения в законово-нормативната уредба от една страна и административното устройство на здравната

система от друга значително се затрудни набавянето на роговична тъкан. Заедно с финансови ограничения, пред които са изправени болниците, това доведе до съществено намаление на броя на кератопластиките.

След обособяването на институция за набирание на донорна роговична тъкан през 1995 година ситуацията се подобрява и броя операции се покачва(5). Въпреки съществуването на различни финансови и организационни пречки през последните 5-10 години се наблюдава относителна стабилност (6).

3. Очни банки

Развитието на процедурите за взимане, обработка и съхранение на роговична тъкан и създаването на очни банки позволиха развитието на роговичната трансплантация и осигуряването на донорен материал за широк кръг от нуждаещи се пациенти.

3.1. Осигуряване на донорна тъкан за кератопластика

3.1.1. От живи донори

Eduard Zirm извършва първата успешна кератопластика с роговица от току-що енуклеирано око от живо дете. Окото било поставено в топъл физиологичен разтвор, а след изрязване на роговицата материалът бил държан между марли напоени с физиологичен разтвор (142). Считало се, че прясната донорна тъкан е от решаващо значение за успеха на операцията и този метод за взимане и оценка на тъканта от самия хирург преди операцията остава водещ до средата на 20 век.

3.1.2. От донори пост-мортем

Първи Filatov съобщава за успешно използване на роговица от трупен донор. През 1935 и 1937 година той публикува данните си от серия от кератопластики. За целта си набавял цели очи от трупни донори до няколко часа след смъртта, промивал ги с брилянтно зелено и ги съхранявал във влажна камера при температура +4°C. Роговиците съхранявал до 56 ч. преди да ги трансплантира (97). Това откритие довело до многократно увеличаване на количеството донорна тъкан. А още през 1912 година Magitot доказва, че съхранението на подходяща за трансплантиране роговица за по-продължителни периоди от време е възможно. Той успява да извърши успешна ламеларна кератопластика с роговица съхранявана 8 дни в кръвен хемолизат при +5°C (126). Тези две нововъведения правят възможно създаването на специализирани звена за събиране и съхранение на донорен материал за трансплантация.

Първата очна банка е създадена през 1944 г. от Paton в Ню Йорк (87). Тогавашната практика била енуклеираните очи да се съхраняват при 4-5°C в стъклен буркан с влажна марля - т.н. влажна камера. След това следва постепенно увеличаване на броя на очните банки и повсеместното им разпространение. За първи път през 1961 г. група от очни банки в САЩ се обединяват под името Eye Bank Association of America (ЕБАА). Тя се обособява като водеща организация в областта на роговичното донорство - въвежда стандарти и контролира дейностите, свързани с набирането, обработката и разпределянето на роговици на територията на САЩ. Аналогична организация за пределите на Европа е създадена през 1989 г. - European Eye Bank Association (ЕЕВА).

3.2. Методи за съхранение на донорния материал

Първоначално въведения метод за съхранение на донорния материал във влажна камера бил ефективен, но налагал значителни ограничения - престоят в такава камера е допустим до 48 часа. Възможно е да се съхрани цяло енуклеирано око или само изрязан корнеосклерален диск. Понастоящем почти не се прилага.

Единият възможен вариант за удължаване периода на съхранение е криопрезервацията. Затрудненията при този тип съхранение на роговиците произтичат от настъпващите клетъчни увреди от кристализационни промени при замръзването, както и други неблагоприятни влияния, възникващи при силното охлаждане на донорните дискове (51, 53). Разработени са методи за криопрезервация, които осигуряват дълъг период за възможна употреба при добри характеристики на ендотела и роговичната преживяемост след трансплантация (88). Поради високата си трудоемкост обаче този метод на съхранение остава на заден план в съвременните очни банки.

Най-голямо значение оказва разработването на методики за съхранение на корнеосклерални дискове в хранителна среда. През 70-те години на 20 век започва проучването и въвеждането на два вида техники - с и без охлаждане.

3.2.1. Хипотермични среди

McCarey и Kaufman първи предлагат стандартизирана среда за съхранение на донорния материал: M-K медиум, съдържащ TC 199 като хранителна среда. Поради намаления метаболизъм на роговицата в хипотермичните условия на съхранение (+4°C) средата съдържа и 5% декстран като противооточен агент, бикарбонатен буфер и гентамицин за профилактика развитието на инфекция по време на съхранението (97). Тази среда осигурявала теоретически възможност за съхранение до 2 седмици, но в практиката се препоръчвал максимален период от 72 часа. Този все още кратък период не предоставял достатъчно възможност за надеждно серологично тестване и планиране на кератопластиката (143).

Опитите да се удължи възможния период на съхранение довежда до появата на хранителната среда K-Sol през 1985 г. Като отбъбващ агент при нея се използва хондроитин сулфат (237). При тази среда престоят на корнеосклералния диск бил удължен до 8-10 дни. Поради развитието на значителен оток при роговици в разтвор само с хондроитин сулфат била разработена средата Dexsol,

съдържаща и декстран в себе си. При нея ТС 199 била заменена с минималния есенциален медиум на Игъл (MEM) като хранителна съставка (97, 237).

По-нататъшните разработки за подобряване свойствата на средата за съхранение довеждат до създаването от Kaufman на Optisol-GS. По същество това била смес от K-Sol и Dexsol, като за противомикробна защита се използвала комбинация от гентамицин и стрептомицин (118). Тази среда придобива голяма популярност поради добрите си свойства и е най-използваният медиум за транспорт и съхранение на корнеосклерални тъкани към момента. Роговицата запазва своята жизненост в тази среда за период до 2 седмици при температура +4°C. Към момента се използва и Eusol-C, която по състав отговаря напълно на Optisol-GS, но не съдържа стрептомицин (90).

3.2.2. Съхранение в органна култура

При тази методика, навлязла активно за проучване и употреба в очните банки след 1970 година, корнеосклералният диск също се поставя в контейнер с хранителна среда. За разлика от хипотермичния метод, тук средата се оставя на съхранение при температура 30-37 °C (216). Като среда се използвал MEM, подменян на 3 дни, за подържане на подходящо алкално-киселинно и метаболитно равновесие. За осигуряване на всички необходими нутриенти към средата се добавя и телешки серум (72). Недостатък бил значителният оток, които настъпвал по-вreme на престоя в следата - роговиците били трудни за манипулиране и постоперативно били необходими 2 до 4 седмици, за да се избистри трансплантата. За да се преодолее този недостатък, се възприема донорният диск да се премества в смес от MEM и декстран 2 дена преди трансплантация (44, 216).

Съхраняваните в органна среда роговици остават подходящи за трансплантация до 4 седмици. Освен удължения период на съхранение на годни за употреба роговици, тази методика предлага допълнителни предимства:

- възможност за микробиологично изследване на инкубираната роговица 7-10 дни след експлантиране
- възможност за повторна оценка качеството на роговицата и специално на ендотела

Днес органната култура се използва основно в очни банки в Европа, Австралия и Нова Зеландия (86).

3.2.3. Избор на методика за съхранение на корнеосклерални донорни дискове

Основните подходи за съхранение на роговичен материал за трансплантация към настоящия момент са хипотермична среда (Optisol-GS или Eusol-C) или органна среда. Проведени са множество проучвания за влиянието на средата върху качествата на трансплантата. Смята се, че в органна среда донорната роговица, в състояние на активен метаболизъм, може да се възстанови и подобри предоперативно (52). Същевременно множество сравнителни проучвания не са установили съществена разлика в постоперативната преживяемост на трансплантата (24, 25 , 182, 216). Безспорното предимство на съхранението в тъканна култура е дългият период на съхранение. Това осигурява възможност за по-добро разпределение и приложение на донорния материал, както и повече възможности за оценка състоянието и характеристиките на материала (72). При все това, за банки с недостиг на материал и/или ограничени средства двата метода предоставят сходна ефективност при съхранението на донорните роговици (87). Хипотермичните методики са лесни и бързи за приложение. Поради липсата на значим роговичен оток съхраняваните по този начин роговици могат много бързо да бъдат приготвени и освободени от очната банка за трансплантация.

3.3. Очно банкиране в България

Началото на организираното набиране на донорни роговици е през 1976 г. Тогава към Сектора за експериментална офталмология

и патология към Медицинска академия – София е назначен биолог като координатор на трансплантациите. Донорната тъкан се е осигурявала от тъкана банка „Пирогов” – енуклеирани очи, съхранявани във влажна камера. Тази организация съществува до края на 80-те години. В началото на 90-те години, по примера на други страни, започва работа по създаването на специализирана очна банка. Такава е създадена през 1995 г. на територията на ИСУЛ – Държавно здравно заведение „Очна банка – София”. Тя работи съгласно съвременните норми за експлантиране, оценяване и съхранение на дарените тъкани при хипотермични условия (5). Поради законодателни и организационни затруднения след 2000 г. тя е закрыта и трансформирана през 2007 в Международна очна банка София, която продължава дейността по набирането на донорни роговици.

4. Индикации за перфоративна кератопластика

В зависимост от причината за операция роговичната трансплантация може да се раздели на:

- Оптична - при заболявания, които водят до помътняване на централната роговица и/или нарушение на нейните оптични свойства. Това е най-честата причина за кератопластика (232).
- Тектонична - при заболявания, причиняващи значително изтъняване и/или перфорация на роговицата, кератопластиката е един от терапевтичните подходи за възстановяване целостта на очната ябълка.
- Терапевтична - в случаите на напреднало инфекциозно засягане на роговицата, което не се повлиява от прилаганата терапия може да се извърши трансплантация с цел елиминиране на огнището и предотвратяване на роговичната перфорация или разпространение на инфекцията. Болезнената кератопатия (при псевдо- или афакична кератопатия) също спада към терапевтичните индикации за кератопластика.

- Козметична - в случаи на значително увредено око без зрителен потенциал би могло да се извърши кератопластика с цел подобряване външния вид на пациента. Тази индикация почти не е застъпена в съвременната офталмология (97.).

Това разделение е донякъде условно. Една кератопластика за болезнена кератопатия може да има за основна цел терапевтичното повлияване на болката, но същевременно води и до подобрене на зрението. Също така операцията за посттравматична левкома има за цел да се възстанови прозрачността на роговицата, но същевременно има и козметичен ефект.

4.1. Оптични индикации

Към тази група спадат всички заболявания, вродени и придобити, които причиняват роговична слепота. Целта на операцията е да се възстанови прозрачност по зрителната ос, при условие, че ретината и зрителния нерв не са значително увредени. Определянето на нуждата от извършване на оптична кератопластика почива на зрителната функция на пациента, общото състояние, локалния очен статус и вида засягане (едноочно/двуочно) (23). Задължително условие е преди това да са изчерпани всички варианти за неоперативна корекция на зрителната острота, включително контактни лещи.

Перфоративната кератопластика има значителен потенциал за подобрене на зрението. Макар че качеството на зрението е засегнато поради предизвиканите от трансплантацията астигматизъм и високостепенни аберации (241), при голям процент от пациентите има повишение на зрителната острота и качеството на живот (49, 92, 112). При ретроспективен анализ на 11 431 пациента в Австралия е установено, че при 45% от тях зрението е 0,5 или повече, а при 62% има подобрене с 2 или повече реда по Снелен (232).

4.2. Тектонични индикации

Наличието на роговична перфорация или заплашваща такава представлява спешна индикация за оперативна намеса. За разлика от елективните козметичните и оптични индикации, при тектоничните и терапевтични причини за кератопластика практически няма възможност за отлагане или въздържане от операция. При определени случаи може да се обсъди извършването на друга процедура, като например поставянето на терапевтична леща с или без лепило (8, 17, 128), биологично покритие (9), трансплантация на амниотична мембрана (104, 138) и др.

Основната цел при тази група индикации е съхранението целостта на окото и неговите структури (1). За съжаление, при значителна част от тези случаи се стига до рецидив на заболяването, било то аутоимунно (163) или инфекциозно (26). Наред с рисковете за анатомичен рецидив, тектоничните и терапевтични перфоративни кератопластики са изложени и на значителен риск от неуспех поради помътняване (27). Ang и съавтори посочват в своя анализ на 362 перфоративни и ламеларни тектонични кератопластики, че при индикациите за операция без налично възпаление или инфекция 10-годишната преживяемост на трансплантата е 90% при травми и 71% при левкоми, а при роговични инфекции и възпалителни роговични заболявания тази преживяемост е била съответно около 51% и 45%. Проучването им (27) установява, че ламеларната тектонична кератопластика има подобри изгледи за преживяемост от перфоративната - факт, който се отдава на по-слабата имунна провокация (132, 204). Резултатите от тези проучвания показват, че за да се подобри анатомичния и зрителен резултат при тази група кератопластики, се препоръчва извършването на двустъпална процедура - тектонична кератопластика, последвана от оптична такава след стабилизиране на окото и преминаване на възпалението. Друга подходяща стратегия е отлагане на кератопластиката във времето с цел избягване сенситизирането на организма и подобряване на локалния статус (161).

4.3. Терапевтични индикации

Терапевтичната кератопластика е показана при остро инфекциозно или възпалително заболяване, което не се повлиява от максимална консервативна терапия и заплашва интегритета на окото. В този смисъл тя е процедура с (отложена) спешност (81). Препоръчително е да се избягва прогресирането до роговична перфорация, поради опасност от разпространение на възпалителния процес (ендофталмит) и влошаване прогнозата на трансплантата (181). При терапевтична кератопластика, както и при тектоничните индикации за операция, ако засягането е твърде голямо или ексцентрично, може да се приложи децентриране на роговичния бутон или трансплантацията на корнеосклера за покриване на дефекта (97).

Оперативният успех при остро инфекциозно засягане на роговицата зависи от приложената хирургична техника, пред- и следоперативната терапия и засягането на очната повърхност (57, 147, 209, 245). Терапевтичните резултати са значително повлияни и от инфекциозния причинител. Ti SE, Scott JA и съавтори анализират 80 перфоративни кератопластики с терапевтична цел и не установяват значима разлика в 1-годишната преживяемост между бактериални и гъбичкови кератити (76% спрямо 72%). Но при случаите, завършили с ендфталмит или енуклеация, значително по-лоша е била прогнозата при гъбичков причинител (11 спрямо 4 случая с бактериална етиология) (209). Рецидиви на инфекцията се проявяват в интервала от 4 дни до 1 година след трансплантацията. Като цяло се приема, че акантамеба и гъбички са причинители, носещи по-висок риск за неуспех (122, 186). Терапевтичната кератопластика при остро стромално херпетично засягане на роговицата е сравнително рядка и има за цел да намали вирусното антигенно натоварване и да предотврати перфорация на роговицата (81). Макар и подложени на повишен риск от рецидив или отхвърляне, тези трансплантати имат приемлива прогноза при подходящо покритие с противовирусна терапия и имunosупресия (19).

При неинфекциозните причини за терапевтична кератопластика като роговично стапяне, ревматоиден артрит, keratoconjunctivitis sicca и др. постоперативните резултати също не са обнадеждаващи. Claerhout и сътрудници установяват значително по-ниска преживяемост на трансплантата при тази група спрямо инфекциозните заболявания - 23% на 80% при средно проследяване от около 2 години (61). По-стари проучвания по темата също потвърждават това заключение (122, 163). В сила и тук остава идеята за подобряване прогнозите на трансплантата чрез отлагане на кератопластиката с други оперативни интервенции - избягване на операция "a chaud" (133).

4.4. Козметични индикации

Поради развитието на алтернативни методики за корекция на козметични дефекти (роговичен татуаж, контактни лещи и др.) в съвременната офталмология. Анализ на извършените кератопластики в Австралия за период от 22 години (1985 - 2006 година) показва, че поради тази причина са извършени едва 0,4% от операциите. Основната индикация е подобряване на зрението (70,5%) (232). Проучване на Tap и сътрудници върху 901 последователни кератопластики в един третичен лечебен център в Азия разкрива, че не са извършени никакви козметични кератопластики. И при тях водещи са оптичните индикации (87%), следвани от терапевтичните (8,1%) и тектоничните (4,9%) (202). Въпреки това този тип индикации следва да се имат предвид за приложение при някои специални случаи - напр. непоносимост към контактни лещи.

4.5. Индикации за кератопластика и тяхната динамика

Проучването на причините за извършване на кератопластика е основна част от епидемиологичния анализ за честотата на роговична слепота. Освен данни за нейното разпространение и социално значение проследяването на съответните заболявания

позволява да се оцени нуждата от офталмологични грижи в профилактично и терапевтично отношение.

За да се осигури надеждна оценка и съпоставка на данните, е важна точна оценка и класификация на заболяванията. През годините различни автори са използвали различни класификации. Именно с цел да се осигури стандартизация при разглеждането на индикации е създадена работна група към ЕВАА, която след няколко междинни разработки изготвя актуалната към момента класификация на индикации за кератопластика (135). Различните заболявания са систематизирани в 16 групи (Приложение 1). Практическото приложение на тази класификация е непълно поради невъзможността да се прекласифицират надеждно минали проучвания, както и поради несигурност при определянето на конкретни случаи.

Това, което е безусловно установено, са значителните разлики в разпределението по индикации между различни географски области, а дори и страни.

4.5.1. Индикации в Северна Америка

Съществуват множество проучвания за причините за кератопластика в САЩ. В своя преглед за периода 1980-1988 година Lindquist и съавтори определят като основни диагнози кератоконус (24,0%), булозна кератопатия (21,2%), левкома (13,9%), ендотелна дистрофия на Фукс (12,5%) и рекератопластика (8,1%) (134). Правейки съпоставка с проучвания от предишни периоди в института Doheny, те потвърждават нарастването на броя булозни кератопатии, както и по-честото прилагане на преднокамерни, спрямо ирис-фиксиращи интраокуларни лещи (ИОЛ) при тези пациенти. Отчетено е и известно нарастване на пациентите с рекератопластика. За следващия период (1989-1993) данните от Doheny утвърждават превдофакичната булозна кератопатия (ПБК) като водеща индикация с почти 25%, следвана от рекератопластика (21,3%) и постулцеративна/посттравматична левкома (11%) (96).

Полезна информация предоставят серия от проучвания за последователни периоди от Wills Eye Hospital във Филаделфия (48, 66, 100, 137). При анализирани над 6000 кератопластики за периода 1983-2005 година те установяват прогресивно нарастване на дела на ПБК от 23% до 28,4% спрямо значително намаление на афакичната булозна кератопатия (АБК). Отчита се нарастването на пропорцията на заднокамерни ИОЛ при тази група спрямо преднокамерните модели - изменения, свързани с промените в използваните модели лещи. Ясно изразена тенденция се установява при честотата на рекератопластиките - увеличение от 10% до 22% в последователните периоди. Делът на оперираните за кератоконус и дистрофия на Фукс са варирали в сравнително близки граници (13%-15% и 11%-15% съответно). Установено е известно нарастване на оперираните с левкома, докато честотата на стромални дистрофии за конкретния център е постоянно ниска (1%-3%). В свое проучване на ПКП, извършени в университета Duke от 1980 до 2001, Kang и съавтори отчитат също значително нарастване в броя на рекератопластиките. В тяхната група е отчетено обаче леко намаление на булозната кератопатия от 19,4% до 16,7%). Открива се тенденция за зачестяване на ПКП при ендотелна дистрофия на Фукс (115). Висока информативна стойност от друга област в САЩ е представена от проспективното проучване на над 4000 кератопластики в Индианаполис за периода 1982-1996. За цялото проучване воедщите диагнози са ПБК (31,5%, от тях 70% с преднокамерни ИОЛ), дистрофия на Фукс (23,2%), кератоконус (11,4%), левкома (11,2%) и рекератопластика (8,9%). Като тенденции се отчита значителното намаление на АБК спрямо увеличение дела на левкоми и рекератопластики. След 1990 година е установено постепенно намаление в честотата и на ПБК. Редуцирането на булозната кератопатия се отдава на подобрената оперативна техника и вискосубстанции, подобрените ИОЛ и натрупания опит (80).

Най-представително за САЩ като цяло е вероятно проучването на Дарлингтън и съавтори (76). Базирайки се на данните от ЕВАА, те ретроспективно анализират показанията за всички роговици, насочени за кератопластика между 1980 и 2004 (963,706 роговици).

Установено е силно намаление на АБК до почти незначителни стойности и леко намаление на ПБК, която остава основна индикация за ПКП. С тенденция за нарастване са се открили кератоконус, рекератопластика и група на ендотелиопатиите. Отчита се появата и бурното нарастване на булозната кератопатия спрямо 50^{те} и 60^{те} години на 20 век, когато водещи индикации са били кератоконус и помътнял трансплантат. Авторите констатират ново зачестяване на рекератопластиката като индикация. Те го отдават на увеличаването на броя пациенти с трансплантирана роговица, което води и до повече неуспешни случаи.

Проучванията в Канада демонстрират сходни тенденции. Няколко разработки от отделението в Торонто разкриват измененията в причините за ПКП от 1964 до 2004 година (82, 136, 139) . Като цяло най-честата индикация е рекератопластика (18%), следвана от кератоконус (16%), ПБК (15,3%) и дистрофия на Фукс (9,5%). Инфекциозните кератити и травматичните увреждания са сравнително по-редки (6,5% и 6%). Отчита се появата и рязкото нарастване на честотата на ПКП за ПБК след 1980 година. На този фон при сравнително непроменлив брой операции намалява процентното отношение на кератоконус, кератити и травми. При проучваните периоди рекератопластиката винаги е с относително висок дял, като в края на периода се обособява като водеща индикация.

4.5.2. Индикации в Европа

Данните от различни страни в Европа до голяма степен се припокриват с тези от Северна Америка. При проследяване за по-далечни периоди се отчита доминиране на ПКП за левкоми и кератити, които намаляват с времето, изместени от булозна кератопатия, кератоконус и рекератопластика (73, 151). Във Великобритания за последните 20 години най-честите кератопластики са поради помътнял трансплантат -22-40%. Втори по честота е кератоконусът, а на трето място се установяват роговичните дистрофии, почти изцяло представени от ендотелната дистрофия на Фукс (22, 177). Тези показатели са потвърдени и от

проучване в шотландски очни болници, но там кератоконусът е малко по-чест от рекератопластиката (211). Същевременно ретроспективен анализ на отговорната агенция по трансплантациите във Великобритания за периода 1999 - 2009 определя като основна причина за кератопластика в края на периода с 37,4% ендотелната декомпенсация (булозна кератопатия и ендотелна дистрофия на Фукс заедно), а кератоконусът и рекератопластиката са следващите групи - с 22,5% и 16,0% съответно (119). Съвременни проучвания в Германия и Франция поставят кератоконуса на първо място по извършени ПКП (130, 225). За Германия следващи индикации са дистрофията на Фукс, булозната кератопатия и левкомата, а за Франция - херпетично засягане, рекератопластика и булозна кератопатия.

Италианското проучване CORTES (Corneal Transplant Indications and Graft Survival), обхванало ПКП в периода 2001-2004, определя водещите диагнози за ПКП в Италия в следния ред - кератоконус (46,9%), рекератопластика (14,1%), булозна кератопатия (13,8) и кератит (6,2%) (94). В съседна на нас Гърция първото мултицентрово проучване за предоперативни диагнози за период от 25 години разпределя булозна кератопатия, кератоконус, рекератопластика, невирусен кератит и посттравматична левкома като петте най-чести индикации (187). Внимание се обръща на значителното повишение на рекератопластиките от 0% в началото до 17,9% в последните години на проучването (1982-2006).

За България в по-скорошни периоди има единични доклади, които поместват индикациите за кератопластика. Най-обширна извадка е изнесена в преглед върху случаи с рекератопластика на Василева. От описаните като успешни към момента на проучването 832 операции преобладават случаи с диагноза булозна кератопатия (30,5%), васкуларизирана левкома (18,3%), кератоконус (18,6%) и язва/перфорация (16,4%) (218). Данните са за периода 1998-2000 от 6 клинични центъра, извършващи роговична трансплантация. Хергелджијева и съавтори оценяват всички извършени ПКП в един център между 2003 и 2006 година (107). Установен е малко по-висок брой на операциите за кератоконус спрямо булозна кератопатия, следвани от роговични дистрофия, левкома и язва/перфорация.

4.5.3. Индикации в Азия

При голяма част от страните с публикувани данни в международната литература разпределението по заболявания се разминава съществено от вече представените. Прегледът на извършени ПКП в Тайван между 1987 и 1999 установява като водеща индикация левкома (27,9%). Следващи по честота са рекератопластика (21%), язвен/некротизиращ кератит (17,9) и булозна кератопатия (17,6%). Оперирани за кератоконус са били само 2,5% (56). Отчетена е тенденция за намаляване на операциите за левкома, която се приема като краен стадий на други очни заболявания (като травма или улцеративен кератит), които в по-късните периоди на проучването са лекувани по-ефективно и при нужда е предприемана ПКП по-рано. Още по-голям е делът на постинфекциозни и посттравматични левкоми в проучване от Непал - 37% за левкоми и 35% адхерентни левкоми (200). Голямата им преднина спрямо следващите индикации - язва/перфорация и кератоконус се обяснява с предимно селскостопанската дейност на населението и придружаващия висок очен травматизъм и инфекции. Подобно заключение извеждат и авторите на проучване от Северен Китай (240). Между 1997 и 2002 основните индикации при тях са били инфекциозен кератит, херпетичен кератит, левкома и кератоконус. Спрямо предишни периоди, когато преобладаващи индикации са били язва на Mooren и химически изгаряния, в последните 20 години в същия клиничен център е отчетено значително нарастване на бактериални и вирусни кератити (239). Спрямо развитите страни операциите за кератоконус, булозна кератопатия и рекератопластика остават сравнително малко дори и след 2005 година (226). Данните за извършени кератопластики в Индия я поставят в същата група страни - основните пет групи са левкома, инфекциозен кератит, булозна кератопатия, рекератопластика и роговични дистрофии (75, 191). Като контраст изпъква проучването от Сингапур (1991-2003), в което водеща е булозната кератопатия, следвана от постинфекциозна левкома, рекератопластика и кератоконус. В своя анализ авторите отдават

тази разлика на по-висок социален статус и дял на градското население (202).

В Иран се отчита изключително висока относителна честота на кератопластики поради кератоконус - 34-38%. Следващи по честота са булозната кератопатия и левкома (по около 16-18% всяка) и рекератопластика (6-10%). Авторите на анализите обясняват големия брой операции за кератоконус с високата честота на вернален кератоконюнктивит в страната (113, 247), който е доказано асоцииран с риск за роговична ектазия, и с евентуална генетична предиспозиция. Подобни заключения са направени и за индикациите в Саудитска Арабия - основните 3 групи там са кератоконус (40%), левкома (20%) и рекератопластика (11%) (21, 223). Поради практическата липса на ПКП в Саудитска Арабия преди началото на проучвания период в тези статии (1983-2002) авторите имат възможността да оценят реалния ефект от извършените трансплантации върху роговичните заболявания. В първите години половината от извършените ПКП са били за левкома поради натрупването на пациенти без възможност за оперативно лечение. Честатата на рекератопластиките пък нараства от 3 до над 11%. Подобна тенденция се установява и в анализ за трансплантационната активност в Израел за периода 1961-2000 (242). Като цяло за тази страна разпределението е кератоконус (28.4%), рекератопластика (13.4%), ПБК (8.4%), херпетичен кератит (7.4%) и невирусни кератити (6,8%).

4.5.4. Индикации в Австралия и Нова Зеландия

След създаването си през 1982 година Australian Corneal Graft Registry (ACGR) събира данни за извършените кератопластики в цяла Австралия. Липсват данни за евентуални промени за изминалите и проучени 25 години (232). С 32% на първо място е обособен кератоконуса, следван от булозната кератопатия с 26%. В низходящ ред следват рекератопластика (19%), роговични дистрофии (7%), херпетично засягане (4%), левкома (3%) и роговична язва (2%). Данните от проучване в Нова Зеландия, обхванало около 85% от извършените кератопластики в периода

1991-1999 следват същото разпределение, но с доста по-голяма преднина на операциите за кератоконус (46%).

4.5.4. Индикации в Африка

Разпределението на причините за роговична слепота в голяма степен се доближават до тези в развиващите се азиатски държави. Проучване в Зимбабве определя като най-честа индикация за ПКП кератоконуса с 26,8%, а ПБК е само 12,5%. Голям е делът на постинфекциозна левкома - херпетична (10,7%) или от вероятно морбили (17,8%). Съобщава се за висок брой посттравматични левкоми (10,7%) (150). Данните за Етиопия показват близка честота на роговични ектазии, а почти всяка втора ПКП е поради постинфекциозна левкома (48,6%) (210). Обсъждат се няколко основни причини за този профил на болестност - селскостопанска дейност с нисък стандарт на живот, специфични заболявания (морбили, трахома), затруднена медицинска помощ и климатични особености.

4.6. Несъответствие между донори и нуждаещи се от кератопластика

Извършването на кератопластика, както и всеки друг вид трансплантация, е обвързан с наличието на донор. Когато броят нуждаещи се от роговична трансплантация превишава броя на предлагани донорни роговици, се създава недостиг, който във времето води до натрупване на пациенти. Във връзка с това възниква нужда от групирането на тези пациенти с цел осигуряване на приоритетност при назначаването на операция. В зависимост от системата, която е възприета в съответната страна, може да се изграждат отделни списъци към болниците, които извършват кератопластика (напр. в България и САЩ) или да се създаде централизирана система за разпределение и проследяване. Такава функционира във Франция (171). Недостатъчният брой роговични донори се свързва както с недостатъчна запознатост на обществото с проблемите и същността на донорството (164), така и с проблеми

по координирането и реализирането на потенциални донори (79, 154). Невъзможността да се осигури роговична тъкан за всички нуждаещи се води до забавяне на самата трансплантация - проучване в Канада за чакащите операция установява среден период на изчакване от 1 година, с вариации от 4 до 130 месеца (54).

5. Причини за неуспех на роговичната трансплантация

Развитието на техниките, инструментариума и консервативните средства за лечение и поддръжка позволиха увеличаването на броя на кератопластики по индикация и честота на глава от населението. Въпреки това за трансплантата съществуват много рискови моменти, които водят до евентуален неуспех. Като неуспешен (помътнял) се определя трансплантат, който необратимо е загубил прозрачност в централната си част, т.е. не може да осигури зрителна рехабилитация. Съществуват няколко механизма, които могат да доведат до такъв неблагоприятен изход.

5.1. Първично отхвърляне на трансплантата

Като първично отхвърлена се определя роговица, при която се развива невъзвратим оток незабавно след трансплантацията (47). Причината за този изход се отдава на значително увреден ендотел пред- или интраоперативно (229).

Самият офталмохирург е отговорен за крайното одобрение на дадена донорна роговица за кератопластика, но реалната оценка на състоянието ѝ се извършва в очната банка. Именно при оценката на роговицата преди дистрибуция, чрез оглед на биомикроскоп и след това на спекуларен микроскоп, трябва да се извърши прецизна оценка на роговицата като цяло и на роговичния ендотел конкретно. Съвременните стандарти, утвърдени за приложение от очните банки, изискват минималната гъстота на ендотела да е над 2000-2200 кл/мм². Освен този показател е важно оценяването на

ендотелния монослой за наличието на гути (дистрофия на Фукс), значителни аномалии в клетъчните размери и форма (плеоморфизъм и полимегатизъм) или големи полета с липсващ ендотел. Рисков момент за увреждане на донорния ендотел е експлантацията на корнеосклералния бутон - травма от инструментите или прекомерно деформиране на тъканта (236).

Ускорена загуба на ендотел може да настъпи при неправилно или твърде удължено съхранение на донорната роговица преди нейното трансплантиране (229). Затова се препоръчва стриктно спазване на сроковете за престой в очната банка. В литературата се съобщават различни данни за честотата на първично отхвърляне на трансплантата - 0-10% (59, 94, 229, 232). При съвременните методи за експлантация и съхранение на роговиците първичното отхвърляне е сведено до минимум. Съществено е и внимателното боравене с донорната роговица при самата кератопластика, за да не се стигне до ятрогенна травма на ендотела. С навлизането на вискоеластичните субстанции в офталмохирургията съществено се намали и риска за механична увреда на ендотела от околните очни структури по време на фиксацията на бутона (149, 172).

5.2. Имуно отхвърляне

Имуното отхвърляне на роговичен трансплантат е след водещите причини за неуспех след ПКП. Анализ на Австралийския регистър за кератопластики (ACGR) разкрива, че 31% от помътнелите трансплантати за резултат от реакция на имуно отхвърляне (232). В зависимост от проучваната група дялът на тази причина за неуспех е от 5 до 40% (34, 78, 176, 202, 205). Епизоди на именно отхвърляне се отчитат при по-голям брой пациенти, в проучването на Уилямс и съавтори този дял е 19% от цялата група, а при изследвания на високорискови пациенти този дял достига 68% (205).

5.2.1. Имунобиология на роговицата

Имунната система има задачата да предпазва организма от атаките на чужди организми, както и да реагира на увредени от патологични въздействия собствени клетки. Защитните механизми на бозайниците се делят на две големи, частично припокриващи се групи - вроден и адаптивен имунитет. Докато към първия спадат механизми, които са неспецифични, при адаптивния имунитет реакцията към "чуждото" за организма се провокира от разпознаването на различни молекули или участъци от молекули, наречени антигени (168). Той се осъществява от хуморални механизми (антитела) и клетъчно-медиирани реакции.

Експерименталните проучвания по трансплантология показват, че толерантността към присадката е генетично детерминирана. Основоположни в тази насока са разработките на А. Е. Маумеев (142), който описва имунните реакции към трансплантата. Проведените проучвания разкриват множество антигени, които участват в изграждането на имунологичната индивидуалност на организма, като с основно значение е главният комплекс на тъканната съвместимост - МНС (Major Histocompatibility Complex) (227). Гликопротеинните молекули, кодирани от тази група гени, се дели на две групи: клас I молекулите се експресират от всички ядрени клетки, а клас II - само от някои класове имунни клетки. Съществуват и допълнителни антигени, като АВ0 кръвногруповата система и малкия комплекс на тъканна съвместимост, които също могат да оказват влияние върху имунното разпознаване и реакции (168).

В имунологично отношение роговицата може да бъде обособена в две части - централна и периферна. Периферията на роговицата се намира близо до лимбалната област, която е богато снабдена с кръвни и лимфни съдове. Присъствието на клетки и фактори на имунната система в роговицата става в резултат от дифузията им от тези съдове. Смята се, че поради това концентрацията на антитела и фактори на комплемента е по-висока в периферията на роговицата - дифузията до центъра на роговицата е затруднена (152). Също там се намират и клетките на Лангерханс, които са антиген-представящи клетки и участват в аферентната

дъга на имунния отговор, в централната част на роговицата такива при нормални условия почти не се откриват (227).

5.2.2. Имулна привилегия на роговицата

След започването на трансплантации на различни органи и тъкани бързо се установява, че роговичната трансплантация предизвиква по-рядко реакции на отхвърляне (23). Medawar първи въвежда термина имуна привилегия, след като установява, че алографти, поставени в предна очна камера, преживяват по-дълго отколкото при трансплантиране върху кожа (97). Kaplan и Streilein демонстрират, че въвеждането на антиген в предна камера води до отслабена реакция на забавена свръхчувствителност (116). На база на тези данни групата механизми, които обособяват развитието на имуна толерантност, се обозначават като Anterior Chamber Associated Immune Deviation (ACAID). Те опосредствяват заобикалянето от антигена на лимфните възли чрез специално активирани антиген-представящи клетки, където се стимулира имунен отговор, и образуването на Т-супресори.

Няколко са факторите, които се приемат за оказващи значение за имунната привилегия на окото и по-специално роговицата (97):

- нисък брой и периферно разположени клетки на Лангерханс, които са допълнително потиснати;
- липса на кръвоносни и лимфни съдове в роговицата;
- интактна кръвно-окуларна бариера;
- ниска експресия на МНС клас I и II от роговичните клетки (132);
- експресия на Fas-лиганд от клетки в тъканите на предна очна камера. Свързването с този лиганд стимулира апоптоза в активираните Т-лимфоцити (101);
- наличие в камерната течност на TGF- β , VIP, CGRP и други сигнални молекули, които действат като имуносупресори (203).

5.2.3. Клинична картина

Когато тези протективни механизми се нарушат или преодолеят, се развива имунно отхвърляне на роговицата. Характерно е, че реакцията настъпва не по-рано от края на 2^{ра} постоперативна седмица. Възпалителният процес засяга само донорната тъкан, като началото винаги е от периферията с последващо придвижване към центъра. Имунологичната реакция може да ангажира един или няколко от клетъчните роговичните слоеве. Според конкретното засягане в литературата са обособени следните типове имунно отхвърляне (165):

- епително отхвърляне - образува се периферна епителна линия на отхвърляне, леко надигната, която постепенно се придвижва към центъра. Окото като цяло е спокойно. Увреденият епител се замества от реципиентни клетки. Може да остане единствена проява без значителни последствия, но може и да бъде последвано/асоциирано с други типове отхвърляне или да доведе до епителна непълноценност/дефект;
- стромално отхвърляне - протича предимно хронично с образуване на белезникави субепителни инфилтрати в донорния бутон. Както при епителния тип няма инекция и болка. Сама по себе си не е опасна за помътняване на трансплантата, но често е асоциирана с ендотелна реакция. Възможно е и порязка проява и протичане, обикновено в комбинация с ендотелно отхвърляне - тогава протича с ангажиране на цялата дебелина на стромата.
- ендотелно отхвърляне - най-честата и опасна реакция. Наред с намаленото зрение, пациентите се оплакват често от фотофобия и дразнене, установява се цилиарна инекция, стромален оток и евентуално ендотелни преципитати. Характерна находка, но не задължителна, е образуването на ендотелна линия на отхвърляне (линия на Khodadoust), която се придвижва постепенно и оставя зад себе си увредени и нефункциониращи клетки. Това на свой ред води до загуба на ендотелната помпена функция, оток на трансплантата и помътняването му.

Установяването на реакция на отхвърляне, особено ендотелна, е знак за незабавно лечение. Предприемането на спешно и интензивно лечение е от първостепенно значение, за да се спре увреждането на роговичния ендотел и да се съхрани прозрачността на роговичния трансплантат (165). Осигуряването на бърза и ефективна имunosупресивна терапия може да доведе до прекратяване започналата реакция, но процесът според повечето проучвания е необратим при около 45-50% от случаите (157, 184, 102). Поради настъпващото ускорено отмиране на ендотелни клетки при имунна реакция на отхвърляне (129, , 162, 156) трансплантатът е изложен на висок риск от помътняване дори и при успешно лечение на самата реакция (68). Освен това се приема, че самият епизод довежда до повишена сенситизация на организма и оттам до повишен риск от последваща имунологична реакция (165).

5.3. Нарушения на очната повърхност

След нормално протекла ПКП пълната реепителизация на роговичната повърхност се осъществява до 4-6 постоперативен ден. Съществува опасност това да не се случи или в по-късен етап на постоперативния период да се развият епителни дефекти. Т.н. персистиращи епителни дефекти са особено чести и опасни при пациенти със сухо око, очен пемфигоид, синдром на Стивънс-Джонсън, химически изгаряния и др. (47). Съществуват данни за повишена честота на епителни дефекти при оперирани с херпетично засягане на окото (98). При недобро апозирание на донорния бутон в реципиентното ложе се създава препятствие за миграцията на роговичния епител. Наличието на трихиаза, дистрихиаза, лагофталм или друга клепачна патология, която нарушава ефективното овлажняване на роговицата или механично я дразни също предразполага към развитието на епителни дефекти. Не бива да се пренебрегва директният токсичен ефект от прилаганите в постоперативния период медикаменти (напр. антибиотици и антиглаукомни средства) и техните консерванти върху интегритета и пролиферацията на епителните клетки (114).

Наличието на епителни дефекти може да доведе до неуспех на трансплантацията по няколко механизма (231):

- нарушената епителна бариера увеличава риска от развитие на инфекция с последващи усложнения
- забавената епителизация може да доведе до промени в Баумановата мембрана и предната строма, които влошават прозрачността на трансплантата
- дългосрочните епителни дефекти могат да предизвикат стапяне на стромата и дори перфорация
- нарушената очна повърхност стимулира отделянето на проинфламаторни медиатори и прорастването на роговични съдове, което може да доведе до намалена роговична прозрачност или да провокира имунна реакция на отхвърляне

5.4. Инфекция на трансплантата

Инфекцията на роговичния трансплантат е сравнително порядък, но не маловажна причина за необратима увреда на трансплантата. Поради употребата на имunosупресивни медикаменти локално и евентуалната травма от контактни лещи, роговичния трансплантат е с понижена устойчивост към инфекциозни причинители. В литературата са публикувани данни за честота на инфекциозни усложнения от 1,8 до 14% (213, 231).

От страна на вирусните причинители основно внимание се обръща на херпетичните. Роговичното засягане от херпес зостер или херпес симплекс е една от по-честите причини за кератопластика. В острия стадий на заболяването може да се образува язва със заплашваща или настъпила перфорация, което да налага извършването на ПКП. По-леките или преминали епизоди на херпетична инфекция може да доведат до значителна скарификация и/или васкуларизация на роговицата. Проучване на данните от ACGR показва, че при 4% индикацията за кератопластика е била херпетично засягане (231), а при изследване в САЩ е открита такава причина при 3,6% (137). Счита се, че рискът

за трансплантата е от реактивиране на вируса с цитирани до 20% случаи на рецидив за 2 години проследяване след ПКП (236). Това създава възможност както за директно увреждане на трансплантата (скарификация, язва стапяне), така и се приема като предпоставка за развитие на имунно отхвърляне.

Бактериалните и микотични инфекции също са причина за увреда на трансплантата. Освен като рецидив на първопричинителя за ПКП при инфекциозен кератит, източник на инфекцията може да бъде контаминирана донорна роговица или замърсяване от околната среда в постоперативния период. Предразполагащи за това са както обичайно прилаганите кортикостероидни колири, така и потенциални епителни дефекти на трансплантата. Скъсани роговични конци също могат да опосредстват проникването на инфекциозен причинител.

5.5. Глаукома

Развитието или усложняването на предшестваща глаукома след ПКП варира в широки граници според литературните данни - от 9% до 35% (32, 58). Проучвания при пациенти и върху животински модели отдавна са демонстрирали изявено негативно влияние на повишеното вътреочно налягане върху роговичния ендотел (32, 40). Все още не е напълно установена причинно-следствената връзка между глаукомата и помътняването на роговичния трансплантат. Наред с директния увреждащ ефект върху клетките, под внимание трябва да се вземе дразнещия ефект от прилаганите антиглаукомни колири или негативното влияние от оперативна намеса за понижение на ВОН.

5.6. Рецидив на основното заболяване

Освен вече споменатите рецидиви на инфекциозен кератит, към тази група следва да се добавят рецидивите при роговична ектазия и роговична дистрофия. При дългосрочни наблюдения на оперирани за кератоконус се описват случаи на рецидив на ектазия, които са

сравнително редки (до 10% за 20 годишно проследяване). Към момента се смята, че настъпват изменения не в самия роговичен бутон, а на интерфейса донор-реципиент (160, 173).

При роговичните дистрофии се наблюдава действително засягане на донорната тъкан. С най-висок потенциал за рецидив се обсъждат латисовата и макуларната дистрофия (145), но също и грануларната, и дистрофията на Райс-Бюклер (236).

5.7. Травма

Зарастването на интерфейса донор-реципиент никога не достига нормалната роговична здравина (158), поради което пациентите с ПКП са предразположени към травматична увреда на роговицата и окото като цяло. Понякога е възможна дехисценция на оперативния цикатрикс при минимално усилие или при разкъсване на фиксиращите шевове, ако процесът на заздравяване не е напреднал достатъчно, а дори и в късните периоди.

5.8. Неимунна декомпенсация на ендотела

Преживяемостта на трансплантата и по-конкретно неговата прозрачност са ограничени от постоянната загуба на ендотелни клетки след трансплантацията. Когато ЕКГ падне под стойности от около 500 кл/мм² ендотелът губи способността си да поддържа нормалната степен на дехидратация на роговицата и се развива оток. Този изход се нарича късна ендотелна декомпенсация на трансплантата (236). Характерно е постепенното настъпване на едем и намаление на зрението, при спокойно око, като за разлика от реакцията на отхвърляне, прилагането на кортикостероиди не дава съществен ефект. Ендотелната декомпенсация е една от водещите причини за неуспех на роговичната трансплантация с установена честота до 20-31% от проучваните групи (176, 232). Стойността на ЕКГ от 500 кл/мм² се приема за арбитражна, макар че има съобщения за прозрачни трансплантати с по-ниска гъстота (127). Наблюдения на пациенти с ПКП определят именно неимунната

декомпенсация на ендотела като основна причина за помътняване на трансплантат в среден и дългосрочен план (46, 110, 159, 167).

При клинични наблюдения е установено, че скоростта на отмиране на ендотелни клетки след кератопластика значително превишава нормалните физиологични темпове (64). Докато при физиологични условия ЕКГ намалява с едва около 0,6% на година (45), след ПКП се наблюдава значително ускоряване до около 4,2%/година при 10-годишно проследяване (110). Armitage и съавтори обособяват начален период на бърза загуба на клетки, свързан с хирургична травма при самата трансплантация (време на "полуживот" от 8,6 месеца), и втори с ниска скорост, който отдават на промени в преднокамерната среда - 264 месеца (29). Според по-нови проучвания динамиката в постоперативните стойности на ЕКГ и дългосрочната преживяемост на трансплантата са свързани със състоянието на реципиентния ендотел. Поради това собственият ендотел се явява важен резервоар на жизнени клетки при пациенти с кератоконус например, спрямо случаи с булозна кератопатия, при които ендотелът е дифузно увреден (41).

6. Рискови фактори за неуспех на роговичната трансплантация

Обсъждат се множество фактори, които могат да оказват влияние върху трансплантираната роговица и нейната преживяемост. В зависимост от момента на възникването могат да бъдат разделени на пред-, интра- и постоперативни.

6.1. Предоперативни рискови фактори

6.1.1. Рискови фактори от страна на донора

6.1.1.1. Възраст

Определянето на допустимите възрастови граници за допускане до роговично дарителство са от голямо значение понеже имат

директно влияние върху определянето на потенциални донори. Проучвания от началото на 80^{те} години на 20 век доказват, че използването на роговици от бебета, макар и технически възможно, е свързано със значителна постоперативна ектазия и миопизация (235). Това води да значителна аметропия в постоперативния период, която често не се подавала на корекция. Затова към момента се избягва използването на роговици от донори под 2 годишна възраст.

При определянето на горната граница за дарителство водещи са съображенията за ендотела. Многократно изследвания са доказали, че с напредване на възрастта ЕКГ намалява (45, 77, 246). Затова първоначално много очни банки са поставяли горен лимит на одобрение на възраст между 60 и 70 години. При мнозинството проведени проучвания за оценка на връзката между възрастта на донора и преживяемостта на трансплантата обаче не се установява съществена такава (74, 93, 202, 233) или такава се отчита чак при донори над 80 години (99). Поради наблюдавани тенденции и опасения за намаляване броя на подходящите дарители на роговици EBAA и National Eye Institute организират и подпомагат проучването Cornea Donor Study (CDS), стартирало през 1999 година. Наред с други задачи, основната му цел е да се установи има ли разлика в успеваемостта при ПКП с роговични донори под и над 65 годишна възраст (до 75). Такава не е установена както при анализиране на всички рискови фактори (197), така и при конкретно анализиране на влиянието на възрастта (65). При свое проучване с 20 годишно проследяване Patel и съавтори установяват умерено завишен риск за помътняване на трансплантата при възрастни донори. Този резултат е получен само при еднофакторен анализ, докато многофакторното сравнение и проверката за зависимост спрямо неимунната декомпенсация на ендотела не дали положителен резултат (166). Съществува съобщение в литературата за завишен процент на случаите с първично отхвърляне на трансплантата след ПКП при употреба на роговици от донори над 70 годишна възраст (229), но това наблюдение не е потвърдено от други автори. Изследванията за отражение на възрастта на донора върху скоростта на загуба на ендотелни клетки

след ПКП също не разкриха съществена зависимост (71). В свое проучване Armitage и Easty съобщават за съществена разлика в оценката на пригодността за трансплантация (конкретно оценката на ендотела) според възрастта на донора, но препоръчват именно състоянието на ендотела, а не възрастта на донора, да се приемат като решаващи за използването на дадена роговица (30). До подобно заключение достигат и Бек и колектив след преглед на литературните данни (35).

С оглед на тези данни към момента ЕВАА и ЕЕВА предоставят определянето на горна граница на допустимата възраст на донорство индивидуално на очните банки.

6.1.1.2 Пол

В мнозинството публикувани до момента проучвания половата принадлежност на донора не е анализирана конкретно или не показва съществено влияние върху резултата от кератопластика (93, 197).

6.1.1.3 Причина за смърт

Морфологични и биохимични изследвания върху постмортален роговичен материал демонстрират разлика в състоянието на тяхното качество според непосредствената причина за смърт. Отчетен е добър метаболитен статус при внезапно настъпила смърт (инфаркт, мозъчна хеморагия, емболия), докато при пациенти с тумори и бъбречна недостатъчност има отклонения в метаболитните показатели (178). Подобна зависимост е установена и при измерванията на ендотелната гъстота (125). Като разпределят причините за смърт навъзпалителни и невъзпалителни Чанг и сътрудници демонстрират по-благоприятна прогноза при втората група, макар и при неголяма група случаи и силно неравенство на груповото разпределение (55). Същевременно големи епидемиологични проучвания не установяват съществени различия

в успеха след керлатопластика при анализ на този донорен показател (197, 232).

6.1.1.4. Време до експлантация

С този термин се означава интервалът между настъпването на клинична смърт и експлантирането на роговицата и поставянето ѝ в хранителна среда. Поради настъпването на процеси на автолиза, които започват да се развиват в окото след спирането на кръвобръщението и набавянето на кислород съвременните протоколи за роговично донорство ограничават това време основно до 24 часа, макар, че са възможни изключения - в Австралийския регистър за кератопластики има данни за експлантация до 37^и час (232).

В литературата са публикувани съобщения за негативния ефект от увеличаването на времето до експлантация върху състоянието на роговицата - влошаване състоянието на епитела, ендотела и цялостно състояние на донорната роговица (199, 220). Същевременно, при проучвания, в които този показател е анализиран за влиянието върху постоперативната преживяемост, не е установена значима връзка (93, 166, 197, 202).

6.1.1.5. Време до трансплантация

Продължителността на съхранение на донорната роговица преди експлантация зависи от една страна от допустимия срок на съхранение според типа роговична консервация (хипотермичен, хранителна среда), а от друга от наличието на реципиент.

Светлинно- и спекуларномикроскопските проучвания на донорни бутони показват, че с нарастване периода на съхранение, особено при хипотермични среди, се влошава качеството на роговицата - намалява ендотелната гъстота (30, 52, 208), уврежда се епитела и се създават предпоставки за постоперативна епителна непълноценност (123). Същевременно са публикувани данни за подобряване на преживяемостта на трансплантата поради

намаление на имуногенността му по време на съхранението (165). Симон и съавтори обобщават сходни наблюдения, но само при високорискови случаи (188), а при голяма част от извършените проучвания не е установено влияние (55, 140, 202, 223).

6.1.1.6. Епител

Поради факта, че палисадите на Фогт са източник на пролифериращи епителни клетки, които бързо осигуряват реепителизация на роговицата, дори и големи постоперативни дефекти могат да преминат без сериозни последствия. Основните проучвания върху състоянието на донорния епител се фокусират върху увеличената опасност от персистиращи епителни ефекти или язви като усложнение след кератопластиката (95, 185, 217), но не и непременно с влошена прогноза за преживяемостта на трансплантата (197, 223).

6.1.1.7. Ендотел

Роговичният ендотел се явява основен фактор за запазване на роговичната прозрачност. Основните усилия при съхранението и трансплантирането на донорната роговица са насочени именно към осигуряването на максимално количество жизнен ендотел. Възприетите днес норми за оценка на донорната тъкан поставят като долен лимит на ЕКГ стойности от 2000-2200 кл/мм² (30, 197, 202). В отделни публикувани проучвания се анализира и зависимостта от предоперативната ЕКГ за риска от ендотелна декомпенсация (166) или изобщо за неуспешен трансплантат (202). CDS не потвърждава тези твърдения, включително и в специално насочено към този проблем проучване (127, 197). Извършен последващ анализ, съобразен с придружаващите рискови фактори, демонстрира зависимост от пост-, а не от предоперативната ЕКГ (38).

6.1.1.8. Обща оценка на донорната роговица

След завършване оценката на различните показатели на донорния материал се изготвя цялостна оценка на роговицата съгласно възприетите критерии на съответната очна банка. Поради своя композитен характер и вариациите в оценката на отделните индикатори при него може да възникнат по-съществени вариации. Съществуват само единични разработки, които го включват в голечи проучвания за оценка на риска за преживяемост на трансплантата (74).

6.1.2. Рискови фактори от страна на реципиента

6.1.2.1. Възраст

Анализите за влиянието на възрастта на реципиента върху роговичната преживяемост са разнопосочни. Отделни разработки не установяват съществена разлика (55, 195, 232). От друга страна, в немалко публикации се демонстрира по-добра преживяемост при млади реципиенти (111, 189, 202), като това се приписва на по-високата ендотелна гъстота в собствената роговица, както и на по-благоприятни оперативни индикации в тази възрастова група (233). Същевременно има съобщения за обратна връзка между възрастта на реципиента и успеваемостта от кератопластика (215). Съществуват хипотези, че причината за вероятна по-лоша прогноза при млади реципиенти е дългата очаквана продължителност на живот (много по-дълъг период живот с риск) и поради по-активна имунна система.

6.1.2.2. Пол

Теоретично не е установен вероятен механизъм за влияние на пола на реципиента върху изхода от кератопластика. Големи проучвания, включително CDC и ACGR, потвърждават отсъствието на статистическа значимост за този фактор (74, 195, 232). Но съществуват и големи по обем проучвания, които установяват по-лоша прогноза при мъжки пол, макар че не успяват да разтълкуват този резултат (28, 189). Друго интересно наблюдение без

дефинирано обяснение е влошената прогноза за трансплантата при прилагането на роговица от мъжки донор на жена реципиент (232).

6.1.2.3. Индикация за кератопластика

Причината, довела до извършване на кератопластика, е обстойно проучвана като рисков фактор за трансплантата. Всички изследвания сочат, че предоперативната диагноза оказва съществено влияние върху неговата преживяемост. Всеобщо се приема констатацията, че операциите при кератоконус се радват на най-висока успеваемост. Делът на прозрачни трансплантати при тази група заболявания при дългосрочно проследяване от поне 5 години е обикновено над 90% (63, 74, 93, 189, 202). Сравнително висока преживяемост се отчита и при пациентите със стромални роговични дистрофии. Диаметрално противоположни са данните при случаите за рекератопластика. При трансплантации поради това състояние рискът за имунно отхвърляне и/или неуспех достига над 50% при 5-годишно проследяване (20, 120, 228, 243). Предполага се пресенситизация на организма от предишния трансплантат и оттам потенциране на имунния отговор (165). Висок риск от отрицателен резултат се установява и при реципиенти с левкома, като в тази група преживяемостта е 45-80%. Отчита се реална разлика между простите посттравматични левкоми и последствия от дегенерации спрямо случаите с херпетично засягане, постинфекциозни и уврежданията от изгаряне (55, 74, 111, 202, 232). Булозната кератопатия се причислява към заболяванията с умерено неблагоприятна прогноза с 5 до 10-годишна преживяемост обичайно в границите на 50-70% (63, 189, 232), макар че има съобщения и за по-добри резултати (93). По-обстойните анализи установяват, че конкретно афакичната булозна кератопатия е по-неблагоприятна спрямо случаите с имплантирана леща (74, 93).

Най-малки шансове за успех има кератопластиката при пациенти с активен кератит, язва и перфорация (238). Тап и съавтори разглеждат кератопластиките с тектонична и терапевтична индикация, като отчитат 3-годишна преживяемост от 58% и 42% съответно (202). По-дългосрочни проследявания изчисляват

успеваемостта на операция при тези заболявания на около и под 40% (189, 222). Големи вариации има при оценката на успеваемостта на ПКП поради ендотелна дистрофия на Фукс. CDC класифицира това заболяване като умерено рисково с изчислена преживяемост от 93% на 5 постоперативна година (195). Съществуват и други съобщения за добра успеваемост при това заболяване, включително и при 10-годишно наблюдение (43, 174, 207). ACGR данните обаче разкриват значително влошаване на преживяемостта в късните периоди до 55%, а и други проучвания причисляват тази диагноза по-скоро към групата с неблагоприятна прогноза (202, 232). В литературата се обсъжда значението на реципиентната ЕКГ като фактор, свързан с индикацията за кератопластика. Приема се, че именно увреденият ендотел при заболявания като булозна кератопатия и дистрофия на Фукс са причина за влошената преживяемост на трансплантата при тези случаи (43, 60).

6.1.2.4. Предоперативна васкуларизация

Роговичната васкуларизация е друг фактор с голямо влияние върху преживяемостта на роговичния трансплантат. За разлика от много други фактори тук литературата предоставя практически сходна информация - наличието на кръвоносни съдове е свързано с повишен риск от имунно отхвърляне и помътняване на трансплантата (169, 176, 202, 214). Негативният ефект на роговичната нуоваскуларизация се обяснява с улеснения достъп на имунни клетки на реципиента до донорната тъкан, като се отчита по-висок риск на дълбоките спрямо повърхностните съдове (109, 176). Установено е, че освен вида на съдовете, от значение е и степента на васкуларизация на роговицата (111, 140, 165, 230). Съпоставката на ACGR по този показател при 10 годишно проследяване разкрива ясна тенденция за влошаване на преживяемостта с нарастването на васкуларизацията от 0 (без съдове) до 4 (тотално ангажиране) - от 70% до 25% (232). Проведеният от Бахман и колектив мета-анализ обобщава наличието на права зависимост между броя васкуларизирани квадранти и риска от неуспех след кератопластика.

Изчисления от тях среден относителен риск при предоперативна неоваскуларизация на роговицата е 1,32 спрямо случаи без съдове (33).

6.1.2.5. Състояние на очна повърхност

Състоянието на клепачите и предната очна повърхност определят в голяма степен условията, в които се намира донорната роговица след трансплантация. Затова и всички автори препоръчват преди предприемането на кератопластика да се обърне специално внимание и да се коригират всички техни отклонения (4, 50, 105). Внимание трябва да се обърща както на "сериозни" нарушения като лимбална инсуфициенция, ентропион, лагофталм, така и на по-леки, но също така опасни за трансплантата отклонения като блефарит, сухо око и др. (26, 61). Особено рискови са пациентите с нарушена инервация на очната повърхност, поради промените в нормалните невротрофични механизми (13). Поради развитието на различни терапевтични подходи и адресирането на проблемите на очната повърхност проучванията, които се фокусират на този проблем, са предимно с по-голяма давност, както е отбелязано в обзора на Panda и съавтори (165, 236). Актуално проучване на кератопластики в азиатската популация не открива съществено влияние на отклоненията в очната повърхност, но авторите не обсъждат това си наблюдение (202).

Основните приемани патогенетични механизми при нарушенията на очната повърхност са повишената опасност от роговична васкуларизация, възпалителна/имунна активност и директно механично увреждане на донорния бутон.

6.1.2.6. Състояние на предна очна камера

Като основни рискови моменти са промените в ириса и зеницата. Най-съществен отрицателен ефект се приписва на периферните предни синехии, чието присъствие по литературни данни увеличава риска от неуспешен изход след трансплантация от

2 (189) до 3 пъти (111). Това значимо влияние се приписва на 3 вероятни въздействия (129, 140, 176, 228, 236):

- директен/близък контакт чрез ириса на донорния ендотел с кръвоносните съдове и имунните клетки на реципиента
- ускорено отмиране на ендотела поради директна тракция от синехиите
- индиректно стимулиране на възпаление в преден сегмент

Дори и при липса предоперативно на иридокорнеален контакт има съобщения за повишен брой неуспешни кератопластики при големи дефекти на ириса. Реконструктивната пупилопластика в тези случаи предпазва от развитието на предни синехии и вторична глаукома, както и подобрява зрителната рехабилитация чрез осигуряването на приемлива по форма и размер зеница (31,148).

6.1.2.7. Статус на леща

При разглеждането на този фактор се съобразява както евентуалната липса на леща (афакия), така и типа на лещата (факия спрямо различните видове псевдофакични импланти). На база на извършените до момента проучвания се приема, че при афакия роговичният трансплантат е изложен на повишен риск (214, 244). Относителният риск при това състояние се изчислява на 2 до 5 пъти по-висок спрямо факични реципиенти (93, 111, 234). Сравнението при реципиенти с псевдофакия е по-сложно. От една страна съществуват три основни вида според мястото на позициониране - преднокамерни, заднокамерни и ирис-фиксиращи, а от друга има голям брой модели и дизайни на самите лещи. Това прави оценката и съпоставката на изследвания за влиянието на ИОЛ трудни и несигурни. Отчита се като цяло по-голяма опасност за трансплантата при наличие на ирис-фиксиращи и преднокамерни лещи (особено моделите с хаптики тип затворена бримка). Отрицателното влияние се отдава на контакт на части от лещата с роговичния ендотел и оттам директното му увреждане, както и на дразнене на ириса и предния камерен ъгъл (236). Поради това се

препоръчва тези лещи да се експлантират и/или заменят със заднокамерни при съмнение за такова въздействие. Подобно поведение се предлага и при разместени заднокамерни лещи, поради опасност от подобни въздействия.

В литературата са публикувани разнопосочни данни по отношение степенуването на риска за псевдофакични реципиенти спрямо факични и афакични такива. Статистическият анализ на CORTES проучването дава двукратно увеличен риск при псевдофакия (спрямо 5 пъти за афакия) (93). При друго дългосрочното проучване на Inoue псевдофакичните пациенти също са с по-добра преживяемост от афакичните. Ing и съавтори от своя страна документират по-ускорена загуба на ендотелни клетки при своите псевдофакични случаи спрямо тези с афакия (110). Тези резултати нямат обяснение и може да се дължат на статистическа грешка поради малък брой пациенти.

6.1.2.8. Предоперативна глаукома

Наличието на глаукома преди операция за кератопластика се определя като съществен негативен фактор (40, 109, 169). Дори и при успешно контролирана очно налягане преди извършването на трансплантация се отчита сигнификантно нарастване на случаите с неуспешен краен изход (179, 192). Четири от най-обширните проучвания за рискови фактори - CDS, CORTES, ACGR и Collaborative Corneal Transplantation Studies (CCTS) - определят предоперативната глаукома като независим рисков фактор за преживяемостта на трансплантата (93, 165, 195, 202).

Съществуват различни предложени механизми за увреждащото влияние върху донорната роговица. Предполага се, че високото ВОН може да оказва директно въздействие на ендотелните клетки и да ускорява тяхното отмиране (40, 236). Същевременно са налице данни за ускорена загуба на трансплантати и при очи с добър контрол на ВОН. Съвременни проучвания отчитат разлика в преживяемостта на роговичния трансплантат според типа терапия - медикаментозна или оперативна (176, 195), като се предполага

увреждащо въздействие от самото лечебно средство. Прилагането на локални противоглаукомни медикаменти е свързано с токсични въздействия върху очната повърхност от активната съставка и евентуални консервиращи агенти (32). Това, наред с вероятното директно стимулиране на възпалителния отговор (простагландининови аналози) се приема като усложняващ фактор при консервативната терапия (176). Анализите на пациенти с извършена антиглаукомна операция показват по-висок риск от неуспех (109, 192). При оценка на влиянието на предоперативните рискови фактори на пациентите в CDC относителният риск при прилагане само на капки, само на операция или комбинация от двете е съответно 1,3, 2,1 и 3,8. Този по-висок риск се приписва на директно ендотелно увреждане от евентуално приложен антиглаукомен имплант (109), развитието на периферни синехии и хронично нискостепенно възпаление, както и на нарушението на баланса на преднокамерната течност (32, 179).

6.1.2.9. Наличие на предоперативно възпаление

Наличието на активно възпаление към момента на извършване на кератопластика е свързано с много висок риск за трансплантата поради наличието на струпване на имунни клетки и медиатори в предния очен сегмент (27, 165). Същевременно има литературни данни, че дори и наличието на възпалителна реакция в миналото (включително и от извършена вътреочна операция) е свързано с влошена прогноза за трансплантата (93, 140, 202).

6.1.2.10. Очен херпес

Засягането на окото от херпетична инфекция (херпес симплекс или херпес зостер) може да доведе до различни усложнения, включително и роговична слепота. Извършени проучвания показват, че при такива пациенти шансът за отхвърляне или помътняване на трансплантата са завишени (165). Освен реактивацията на вируса и директното увреждане на роговицата като рисков момент се отчита провокирането на възпалителна реакция и васкуларизация, което значимо увеличава риска от имунно отхвърляне (124, 180), както и

възможността за развитие на синехии и вторична глаукома. Препоръчва се провеждане на противовирусно лечение и профилактика, като се обсъжда вероятността отлагането на кератопластиката спрямо активния херпетичен епизод да води до по-добра прогноза за трансплантата (124). Проучване на Halberstadt и съавтори за успеха на ПКП след различни по етиология стромални кератити не установява значимо влияние на херпетичната инфекция, но ясно се подчертава, че при тези случаи е провеждана стриктна системна противовирусна и локална имunosупресивна терапия (103).

6.1.2.11. Системни заболявания

Прайс и съавтори отчитат леко завишен риск ($RR=1,3$) за неуспех на роговичния трансплантат при диабетици, което приписват на увредата на кръвно-преднокамерната бариера и биохимични промени в организма (176). Като цяло системните заболявания не са широко проучван рисков фактор, а при други изследвания, които търсят тяхна асоциация, такава не е установена (93, 195).

6.1.2.13. Значение на напасването по HLA-система

По подобие на органните трансплантации, при кератопластиката съществува становище, че избягването на несъответствия в системата на тъканната съвместимост между донора и реципиента ще намали опасността от имунно отхвърляне. Основните проучвания са насочени към MHC клас I (HLA-A и KLA-B) и клас II (HLA-DR) гените, като преобладаващите заключения са за намаляване на епизодите на имунно отхвърляне и помътняване на трансплантата (34, 42, 121, 153). Основната цел на CCTS е именно проучването на ефекта от хистотъканната съвместимост при високорискови пациенти. Резултатите му не показват съществено влияние на MHC I и II гените, но открива положителен ефект от съвместимостта по ABO система (215). Впоследствие е установено, че възможни грешки при типизирането на пациентите може да е

изкривило резултатите при това проучване. Поради значителният финансов и времеви ресурс за извършването му, понастоящем тъканното типизиране за кератопластика се препоръчва само при високорискови пациенти (67).

6.2. Интраоперативни рискови фактори

6.2.1. Размер на реципиентното ложе

Подготвянето на реципиентното ложе е част от хода на кератопластиката, но неговият размер до голяма степен се определя от типа роговично засягане и конкретния локален статус. Наблюденията, публикувани в литературата, са, че при обширни трансплантации с диаметър над 8-8,5 мм рискът за трансплантата се увеличава. Предполага се, че това е свързано с по голямата близост на донорната тъкан до лимба и разположените там имунни елементи (28, 176, 202, 214, 215). Същевременно се отбелязва и че нетипично малките трансплантати (реципиентно ложе <7 мм) са също високорискови за отхвърляне и помътняване на роговицата - до 5 пъти по-висок риск спрямо "стандартните" трансплантации (232). Счита се, че причината е както малкият брой функциониращи ендотелни клетки в донорния бутон, така и тежкото очно състояние (напр. значителна васкуларизация), което налага такива малки размери (176).

6.2.2. Натовареност на роговичния хирург

Прегледът на информацията от големи национални регистри като тези в Австралия, Великобритания и Швеция разкрива, че хирурзите, които имат повече опит (определяни като извършващи повече от 15 операции на година) постигат по-добра постоперативна успеваемост - т.н. "ефект на центъра" (62, 93, 215).

6.2.3. Допълнителни оперативни процедури

Нерядко при извършването на ПКП се налагат допълнителни манипулации. Данните от ACGR сочат, че при 40% от извършените над 17000 трансплантации е изпълнена поне една допълнителна процедура (232). Нерядко се налага извършването на витректомия и макар че анализа на CDS и серията на Tap и сътрудници не показват негативно влияние при този вариант (195, 202), повечето автори отбелязват неколкостранно по-висок риск от неуспех, макар и само като зависим фактор (93, 232, 236). Друга честа комбинация е извършването на ПКП с едновременно лещена хирургия (16). При интракапсуларно премахване е установена значително по-висок риск за роговицата (39, 236). След въвеждането на вискоеластични субстанции и модерните техники за екстракция на катаракта (екстракапсуларно) (15), рискът за трансплантата съществено намалява. Към момента изглежда, че при тази комбинация няма повишаване на риска (202) или той е съпоставим с отложено изпълнение на катарактната операция след първоетапна ПКП (232). По литературни данни самият процес на имплантация на ИОЛ изглежда не повишава опасността за донорната роговица (39, 93, 202), а осигурява по-бърза зрителна рехабилитация (18).

6.3. Постоперативни рискови фактори

Развитието на роговична васкуларизация след ПКП е сочено за значим рисков момент за успеха на операцията (165, 228). Причините за влошените резултати са увеличената опасност от имунна реакция, както и при предоперативното наличие на кръвоносни съдове. Установен е негативен ефект за трансплантата и при извършването на нови очни операции след ПКП, отдаван на допълнителна травма за ендотела и стимулиране на възпалителна реакция (55, 93, 232).

Освен тях основните опасности са свързани с различни усложнения, водещи до неуспех след кератопластика - имунно отхвърляне, глаукома, инфекция, нарушена очна повърхност и т.н. Според най-голямата група проследени кератопластики - ACGR - от общо 2894 неуспешни транспллантации при 31% причината е била имунно отхвърляне, при 21% ендотелна декомпенсация, при 13% -

инфекция, а поради глаукома - 8%. Травматичните увреди, етиологично неизяснените язви, нарушенията на очната повърхност и васкуларизацията са били причината за помътняване на трансплантата на по 2% от случаите, а 11% са неуточнени (232).

6.4. Проучвания върху рискови фактори в България

По отношение на успеваемостта на роговичната кератопластика и нейните рискови фактори не са провеждани по-изчерпателни проучвания. От страна на донора има данни за потенциалните и реализирани донори за период от една година и качеството на експлантираните роговици. Макар и представително като обем информативността на проучването е ограничена единствено до оценката на роговичните характеристики, поради липса на постоперативно проследяване (220). Подобни са и ограниченията при изследването на Мазгалова и съавтори за електронномикроскопска оценка на донорната тъкан в различни периоди от съхранението и при съхранение в М-К хранителна среда. Отчетено е и е отправена препоръка да се избягва съхранение на роговична тъкан в тази среда над 72 часа поради дегенеративни изменения (10).

Насочен анализ на рисковите моменти при подбора и групирането на донор и реципиент с оценка на постоперативния ефект е предприет в дисертационния труд на Митов. Извършен е преглед на голям брой кератопластики, който обаче не се базира на българска популация от пациенти (12). Проучване, проведено от Василева, обхващащо всички ПКП, извършени от 12 хирурга за период от 30 месеца, е насочено конкретно към влиянието на рискови фактори върху неуспешни резултати след ПКП. Проучени са фактори и на донора, и на реципиента за 889 операции. За съжаление изследването е със сравнително кратко постоперативно проследяване (6 до 30 месеца), при използване на методи за еднофакторно оценяване на опасността за неуспех на трансплантата, което увеличава риска за грешки (218). Липсата на обща база с информация за трансплантирани пациенти се явява сериозна пречка за проследяването и анализирането на

7. Изводи от литературния обзор

Перфоративната кератопластика е процедура, претърпяла дълго развитие и усъвършенстване. Кератопластиката е най-често извършваната трансплантация, която позволява терапевтична и оптична рехабилитация при широк кръг от заболявания, водещи до необратимо увреждане на роговицата.

Макар че особеностите в устройството на роговицата и целия преден очен сегмент обичайно да предоставят благоприятна среда за донорната тъкан, проследяването в по-големи времеви периоди разкрива значителен дял на неуспешни и помътняли трансплантати. Съществуват множество фактори, голям брой от тях свързани с предоперативното състояние на донора и реципиента, които могат директно да повлияят на изхода от кератопластиката. Макар и обект на немалко проучвания информацията за значимостта и посоката им на действие е противоречива и непълна, което налага конкретни и насочени анализи с цел подобряване на прогнозата за страдащите от роговична слепота.

Макар и преминало през различни периоди на несигурност, очното банкиране в България се намира в относително устойчиво състояние и осигурява достатъчно роговици за по-подробен преглед на предоперативните показатели при кератопластика.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящото проучване е проучване на показателите на донорната роговична тъкан, предоперативния очен статус на реципиентите и анализ на тяхното влияние върху преживяемостта на роговичния трансплантат.

За постигането на гореизложената цел са поставени следните **задачи**:

1. Проучване индикациите за кератопластика и тяхната динамика.
2. Анализ на данните за донорни роговици, предоставени за кератопластика.
3. Преглед и оценка на предоперативния очен статус на пациенти за кератопластика.
4. Постоперативно проследяване на роговични реципиенти и документиране състоянието на трансплантата.
5. Проучване потенциалната връзка между различните предоперативни фактори и преживяемостта на трансплантата.
6. Създаване на регистър на пациенти с кератопластика за проследяване на състоянието им на болнично ниво.

III. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Лечебните заведения, които послужиха като база за събиране и разработка на дисертационния материал, са:

1. СОБАЛ “Акад. Пашев” – София
2. Международна очна банка – София
3. Държавно здравно заведение „Очна банка – София”

Като основна група за проучване на поставените цели и задачи бяха обособени всички случаи на перфоративна кератопластика, извършени в СОБАЛ “Акад. Пашев” – София за периода януари 2005 - декември 2010 година. Включени бяха 141 кератопластики, извършени на 137 пациента. При 3 души е извършена повторна трансплантация, а при един са оперирани и двете очи. От тях 69 (50,3%) са били мъже и 68 (49,7%) – жени. Възрастовото им разпределение в години е представено в Таблица 1.

Таблица 1. Демографски показатели на проследена кохорта пациенти с ПКП

Години	Мъже	Жени	Общо
Средна възраст	55	61	58
SD	17	15	16
Медиана	56	63,5	61
Обхват	21 - 82	18 - 83	18 - 83

Извършени са почти равен брой трансплантации на дясно и ляво око - 71 спрямо 70.

Най-много операции – 34 – са извършени през 2005 година, а най-малко през 2006 година – 13 (Таблица 2).

Таблица 2. Разпределение на трансплантации по година на извършване

Година	2005	2006	2007	2008	2009	2010
Оперирани	34	13	26	29	19	20

Набирането на информация бе обособено в два периода:

- Период 1 - януари 2005 до декември 2008 г. - ретроспективно
- Период 2 - януари 2009 до август 2012 г. - проспективно

1. Оценка качествата на донорна роговична тъкан

Процесът по набиране, оценка, подготовка и разпределяне на донорни роговици за проучването бе извършван от Международна очна банка – София. Процесът по подбор и скриниране на потенциални роговични донори се извършва съобразно Стандартните Оперативни процедури на банката, съобразени с европейските и световни практики. Допустимата възраст за донорство е 18 до 75 години. Стандартната практика изисква експлантацията да се осъществи до 18^и час от установяване на асистолия, възможно е удължаване до 24^и час при съхранение на тялото в хладилна камера и преценка от Медицинския директор. Първоначалната макроскопска оценка на роговиците се извършва от експлантатора преди тяхното вземане. Извършва се преглед на наличната документация за данни за очни операции и заболявания. Следва оглед на донора и прецизна оценка на локалния очен статус. Търсят се белези за травма или възпаление, както и различни увреждания на роговицата (птериgium, левкома) и предния очен

сегмент, които биха се отразили върху годността за присаждане. При липса на противопоказания се пристъпва към асептична експлантация на роговиците. Методът на взимане, прилаган в Международна очна банка – София, е експлантация на корнеосклерален бутон – изрязва се чрез трепан и роговични ножички цялата роговица заедно с приблизително 3-милиметров склерален пръстен. Преносът и последващото съхранение на взетия материал се извършва в среда за съхранение на роговици Eusol-C (90). Тя позволява оценка и съхранение на донорната тъкан при температура 4°C до 14 дни преди извършване на кератопластика.

По-нататъшната оценка на взетите роговици се извършва в Международна очна банка – София. Първо се прави оглед на донорния бутон с биомикроскоп. Последователно се оценяват: цялостното състояние на роговицата, епитела, стромата. Освен това се характеризират евентуалните гънки на Десцеметовата мембрана и по-значими ендотелни промени.

Състоянието на роговичния ендотел се определя чрез спекуларна микроскопия. Този вид микроскопия се базира на принципа на спекуларно отражение. При него, за разлика от стандартната светлинна микроскопия с осветяване на обекта и наблюдение на преминалата светлина, се разчита на регистриране на отразената светлина на границата между две среди с различна оптична плътност (37). Чрез този метод е възможно да се визуализират различни очни структури - епител, строма, ендотел и дори кристалинната леща. С най-голямо значение и практическо приложение е наблюдението на ендотелната повърхност на границата с преднокамерната течност. Въведена за първи път в офталмологията през 1908 г. (221) спекуларната ендотелна микроскопия в началото се е извършвала с биомикроскоп като част от офталмологичния преглед. Съвременните апарати позволяват както оценката на роговичен ендотел на пациент чрез контактно или безконтактно изследване, така и оценка на роговици, експлантирани с цел последваща кератопластика.

В Международна очна банка – София състоянието на ендотела се оценява със спекуларен микроскоп KONAN Eye Bank KeratoAnalyser EKA-98 (Konan Medical Inc, Japan). След цялостен оглед за субективна преценка на клетките (наличие на клетки, дупки в ендотелния слой, еритроцити и т.н.) се извършва точно измерване на ендотелната гъстота и коефициентите на хексагоналност и вариабилност чрез наличното Konan програмно осигуряване. Прилага се метода на централно маркиране на клетките – ръчно маркиране на центъра на всяка ендотелна клетка от оператора на спекуларния микроскоп и последваща автоматична обработка и изчисление от програмата. С оглед представителност и надежност се извършват по три преброявания на минимум 100 клетки от различни зони на роговицата. Показателите на роговицата се характеризират поотделно, както и роговицата като цяло, съгласно стандартите на Международна очна банка – София (Таблица 3).

След завършване процеса на оценяване на роговиците, се изготвя стандартизирана документация, която се предоставя на Изпълнителната агенция по трансплантациите. Второ копие се изпраща заедно с роговицата до съответния хирург, на когото е разпределен материалът за трансплантиране, и трето остава в банката като архивна документация. Разпределението към конкретни пациенти се извършва на базата на предоставени искания за донорна роговица от хирурзи-офтальмолози, извършващи кератопластика. Извършва се приоритизация при подадена информация за спешност, налагаща незабавна трансплантация.

За целите на проучването бяха използвани данните от тази документация. Беше събрана и обработена информацията за: възраст на донора, причина за смъртта (за целите на проучването различните заболявания бяха условно подразделени на остри и хронични), време от установяване на клинична смърт до експлантация, оценка на роговична повърхност, оценка на ендотела (ендотелна гъстота) и цялостна оценка на роговицата. За да се осъществи съпоставка с постоперативното състояние и преживяемостта на трансплантата бяха анализирани само донорни

роговици, предоставени за трансплантиране в СОБАЛ “Акад. Пашев”.

Таблица 3. Критерии за цялостна оценка на роговична тъкан в Международна очна банка - София

Оценка	Характеристики
Отлична	Без епителни дефекти Бистра строма Без сенилен аркус Единични малки гънки на Десцеметовата мембрана Ендотел без дефекти (ECD>3000 кл/мм ²)
Много добра	Леко замъгляване или дефект на епитела Бистра строма Лек аркус сенилис Малко леки/умерени гънки на Десцеметова мембрана Ендотел без дефекти (ECD=2500÷3000 кл/мм ²)
Добра	Видими леки дефекти на епитела Леко замъглена строма Среден аркус сенилис – до 2,5 мм Умерени гънки на Десцеметовата мембрана Ендотел с единични вакуолни клетки (ECD=2000÷2500 кл/мм ²)
Средна	Значителни дефекти на епитела (над 60%) Средно или тежко замъглена строма Тежък аркус сенилис – над 2,5 мм Тежки гънки на Десцеметовата мембрана Ендотелни дефекти и вакуолни клетки (ECD=2000÷2500 кл/мм ²)
Неподходяща за хирургия	Замъглена строма Дълбоки централни гънки на Десцеметовата мембрана Вакуолизирани клетки и централно разположени дефекти на ендотела

2. Анализ на индикациите за кератопластика

2.1. На извършени трансплантации

Като част от задължителното досие на всеки роговичен донор Международна очна банка – София съхранява искането за донорен материал, както и постоперативния протокол за оценка на предоставената роговица от лекуващия хирург. Беше извършен преглед на документацията на всичките 377 роговици, предоставени от банката за кератопластика в периода от август 2007 до юли 2011 г. На операция са били подложени 203 мъже и 174 жени. Бяха събрани и анализирани клиничните диагнози - индикации за операция.

2.2. На пациенти от листата на чакащи за кератопластика

Поради недостига на донори, както и заради самото естество на операцията, извършването на роговична трансплантация е свързано с период на изчакване. Това налага изготвянето на списък на чакащи за кератопластика. Извърши се преглед на индикациите за операция на всички пациенти, записани в този списък към СОБАЛ "Акад. Пашев" към началото на месец октомври 2011 година. Установени бяха 110 човека – 49 мъже и 61 жени.

За целите на проучването специфичните клинични диагнози бяха разделени в 7 групи:

- булозна кератопатия - псевдо- или афакична
- роговични ектазии - кератоконус, пелуцидна дегенерация, кератоглобус
- ендотелна дистрофия на Фукс
- стромални роговични дистрофии
- левкома - посттравматична или постинфекциозна

- рекератопластика - помътнял трансплантат
- роговична язва/перфорация

Поради липсата на случаи с индикация роговична язва или перфорация последната група не беше включена в аналитичната част на обработка на информацията: Практиката в клиниката при такива случаи е да се извърши начално възстановяване на роговицата чрез трансплантация на амниотична мембрана (АМТ), биологично покритие, парциална или тотална тарзорафия. След това при преминаване на активния процес и възпалителна реакция се пристъпва към планова кератопластика. Целта е в условията на спешност (заплашваща/налична перфорация) и сравнително рядко наличие на донорен роговичен материал в очната банка да се съхрани целостта на очната ябълка. Чрез този двуетапен подход също така се избягва кератопластиката "a chaud".

3. Оценка на предоперативния статус на реципиента

Подборът на потенциалните реципиенти се извършва от листата на чакащи за кератопластика към СОБАЛ "Акад. Пашев". Предимство се отдава на случаите със спешност - двустранна слепота или силно намалено зрение, болезнена кератопатия, значително изтъняване на роговицата. При възможност се търси възрастово сходство между донор и реципиент от ± 15 години. Не е прилагано HLA типизиране нито на донора, нито на реципиента.

Подготовката на всеки пациент за роговична трансплантация включва:

- Подробна анамнеза (включително – общи заболявания, прием на системни и локални медикаменти, обективни и субективни оплаквания);
- Изследване на цялостен очен статус, със специално внимание върху:

- статус на клепачи и миглен ръб
- продукцията и стабилност на слъзния филм - време на разкъсване на слъзния филм (ВРСФ), тест на Schirmer I
- състояние на роговицата
- състояние на предната очна камера, ирис и лещен статус
- вътреочно налягане (ВОН)

Задължително преди записването на пациент в листата на чакащи за кератопластика (както и преди самата операция) се извършва внимателна оценка на зрителната острота. Определянето ѝ става чрез използване на таблица на Снелен, а при невъзможност за разпознаване на най-големите оптопти - и чрез броене на пръсти/движение на ръката. При всеки пациент с липса на формено зрение се определя наличието на перцепция и проекция във всички квадранти. За да се определи зрителният потенциал, в тези случаи се търсеше информация за зрителната острота преди развитието на роговичното засягане с цел изключване на амблиопия или друга патология, която би се отразила на постоперативния резултат.

Внимание се обръща на оценката на интегритета на роговичната повърхност (наличие на були, епителни язви) и на евентуалното наличие на субепителна и стромална фиброза, специално при пациентите с булозна кератопатия. При наличие на роговична васкуларизация тя се оценявана и класифицира спрямо:

- вид - повърхностна, дълбока, смесена
- площ - брой засегнати роговични квадранти

За васкуларизирани се приемат роговиците, при които има навлизане на роговични съдове на 2 или повече милиметра от лимба. При повърхностните съдове като значимо се отчиташе прорастването на поне два съда, а при дълбоката - дори и само на един.

Към оценката на предния очен сегмент спада и анализ на състоянието на предната очна камера. За нуждите на статистическата обработка то се подраздели на две групи - с нормална и нарушена анатомична структура. Към втората група се причислиха случаите с наличие на предни синехии и/или значителни нарушения в целостта на ириса. За предоперативното състояние на лещата се обособиха 3 групи:

- факия - собствена леща
- афакия - отстранена при предишна операция леща без поставена интраокуларна леща (ИОЛ)
- псевдофакия - наличие на ИОЛ, независимо от вида ѝ (преднокамерна, заднокамерна, ирис-фиксирана)

За наличие на предоперативна глаукома се приеха случаите, при които е имало данни за употреба на антиглаукомни медикаменти, извършена е била антиглаукомна операция или при прегледите за подготовка за кератопластика е измерено трайно повишено ВОН. Отчитането на стойностите на очното налягане е извършвано чрез безконтактна тонометрия и импресионна тонометрия по Schiötz.

4. Кератопластика

Всичките 141 операции в проучената от нас група бяха извършени от един хирург. Времето от експлантация на роговицата до трансплантация е било в интервала 2 до 5 дни. Стандартно се прилагаше локална анестезия чрез ретробулбарен и фациален блок. По изключение е извършвана обща интубационна анестезия при изразено нежелание на пациента да е в съзнание и по правило при пациенти под 30 години. Стабилизирането на очната ябълка преди отварянето ѝ се извършваше чрез поставяне пръстен на Флиринга и залавяне на горен и долен прав мускул. Предварително донорната

роговица се перфорираше с трепан и се поставяше в петри с хранителния разтвор. След това се подготвяше реципиентното ложе – първо с вакуумен трепан, след което чрез доизрязване с роговични ножички. С цел избягване прекомерното оплоскостяване на трансплантата и по-добро адаптиране донорният бутон се изрязваше с 0,25 – 0,5 мм по-голям диаметър. Преди или след поставянето на донорния бутон при наличие на показания се извършваха допълнителни оперативни процедури:

- периферни синехии – синехиолиза
- дефекти на ириса – иридо/пупилопластика
- катаракта – екстракапсуларна екстракция с имплантиране на заднокамерна ИОЛ
- децентриран ИОЛ – експлантация с/без имплантиране на нова леща, пришиване на леща, репозиция на ИОЛ, предна витректомия
- отлепване на ретината – парс плана витректомия със силиконова тампонада

Първичното фиксиране на трансплантата се осигуряваше чрез четири позиционни шева 9/0 найлон. Последващото пришиване се извършваше с 10/0 найлон. При наличие на роговична васкуларизация се използваше прекъснат шев, а при липса - непрекъснат.

Стандартният постоперативен възстановителен период включваше прегледи през различни интервали:

- през 1^{ви} месец – ежеседмично
- 2^и до 6^и месец – веднъж месечно
- 7^и до 12^и месец – на 2 месеца
- 13^и до 24^и месец – на 3-4 месеца

- след 2ра година – 1-2 в годината

Пациентите се инструктираха да извършват самонаблюдение за признаци на влошаване на състоянието им – болка, зачервяване на окото, намаление на зрението, фотофобия, поява на секрет. Беше им посочено, че при проява на един или повече от тези оплаквания, трябва незабавно да се явят на преглед. Указанията бяха при продължаване или засилване на оплакванията след 24^{ия} час да се търси в спешен порядък консултация с офталмолог.

Стандартната постоперативната терапия включваше 15 дневен курс с топикален антибиотик, топикален кортикостероид с постепенно намаляване на дозата за период от 8 до 12 месеца и изкуствени сълзи. При нужда, към терапията се добавяха антиглаукомни медикаменти и имуносупресори (циклоспорин А, интензифициран топикален кортикостероид, системен кортикостероид). Терапевтични контактни лещи са носени само при отделни случаи с персистираща епителна непълноценност или дефекти. При пациенти с предоперативни данни за херпетично засягане е проведена терапия с Ацикловир 5x800 мг за 15-20 дни, последвани от поддържаща доза 2x400 мг за 4 до 8 месеца.

Отстраняването на роговичните конци се извършваше обичайно между 18 и 24 месец след операцията.

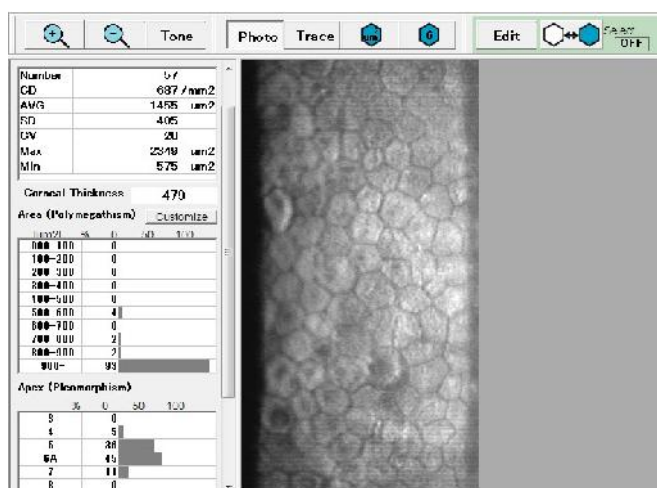
5. Постоперативно проследяване на роговичен трансплантат

На контролните прегледи се извършваше проследяване на зрителната острота и ВОН, при нужда и роговична топография. Задължителният преглед с биомикроскоп обхващаше детайлен оглед на роговицата и преден очен сегмент като цяло, оцветяване с флуоресцеин за преценка състоянието на роговичната повърхност и слъзния филм. Особено внимание се обръщаше на състоянието на роговичните шевове, ако такива все още са налични – проследяваше

се за признаци на разхлабване, изпрошване или скъсване. В такива случаи те са премахвани и евентуално подменяни при съобразяване с периода на възстановяване след трансплантацията и състоянието на оперативния цикатрикс. За целите на проучването се определи крайна дата за набирани данни от контролните прегледи 31 август 2012 година с цел осигуряване на минимален срок за проследяване от 20 месеца за всички трансплантирани пациенти.

Състоянието на роговичния ендотел се определяше чрез спекуларно отражение с помощта на биомикроскоп. От март 2011 г. с цел прецизна и подробна оценка в практиката беше въведен и автоматичен спекуларен безконтактен микроскоп Tomey EM-3000 (Tomey, Inc., Phoenix, AZ). Апаратът позволява заснемане на роговичния ендотел и изчисляване на ендотелната клетъчна гъстота (ЕКГ), клетъчна площ, коефициент на хексагоналност и коефициент на вариабилност (Фигура 1). За целта на изследването е необходимо добра прозрачност на роговицата, понеже дори и леките роговични мътнини или оток влошават качеството на образа и могат да възпрепятстват визуализирането на ендотела.

Фигура 1. Спекуларен микроскоп Tomey EM-3000 с изображение на заснет роговичен ендотел



Алгоритъм на изследването автоматична спекуларна микроскопия:

1. Поставяне на брадата и челото на пациента върху отредените за това места на конзолата на Tomey EM 3000
2. Инструктиране на пациента за поглед право напред
3. Избор на око на заснемане от оператора
4. Фокусиране върху роговичния светлинен рефлекс
5. Автоматично (при роговици с леко намалена прозрачност и ръчно) фокусиране в плоскостта на роговичния ендотел и заснемане. Извършваха се по две документирувания, при всяко от които автоматично се осъществяват по 15 заснемания на наблюдаваното поле с размери 250 на 540 микрометра.
6. Избор от оператора на снимките с най-добро качество за по-нататъчна обработка.
7. Компютърен анализ на показателите на ендотела
8. Съхранение в база данни за обработка и съхранение
9. Поради значими отклонения в нормалната ендотелна морфология при мнозинството пациенти и поради влошено качество на фотодокументацията (поради гънки на Десцеметовата мембрана, стромални мътнини, епителни и субепителни мътнини) на последващ етап операторът извършваше ръчна корекция на изброените клетки и съответно преизчисляване на показателите

5.1 Увредени трансплантати - класификация

За неуспешна се прие всяка кератопластика, при която трансплантатът е загубил необратимо своята прозрачност или е извършена рекератопластика. Беше извършено разпределение на установените случаи според постоперативния период на настъпване и причината за помътняване.

Като първично отхвърляне на трансплантата се обозначи необратимото му помътняване в рамките на 2 седмици след перфоративна кератопластика (ПКП). За имунно отхвърляне се приеха случаите на помътняване на роговица след установяване на ендотелна или епителна линия на отхвърляне. Като алтернативни или допълващи белези за имунна реакция се приемаше наличието на значителна цилиарна инекция и наличието на ендотелни преципитати и/или клетки в предна камера. При тези пациенти датата на установяване на реакцията на имунно отхвърляне се прие като краен момент за определяне периода на преживяемост, ако въпреки проведеното лечение не беше постигнало опрозрачаване на трансплантата.

Случаите с липса на признаци за активен процес на имунно отхвърляне към момента на помътняване на трансплантата и липса на информация за такъв епизод в предходните 4 месеца се класифицираха като неимунно помътняване на роговицата.

6. Статистически анализ

С цел по-лесното и качествено проследяване на пациентите набраните данни бяха въведени в табличен вид в Microsoft Excel, версия 2003 (Microsoft Inc, Redmond WA). Всеки случай (отделна кератопластика) се въведе на отделен ред, а показателите за донор, реципиент, подробности за извършената операция и постоперативно проследяване се подредиха в колони. На първия ред на всяка колонка се въведе наименованието/описанието на въвежданата в нея информация (напр. Пол, Дата на операция, Състояние на трансплантата и т.н.). Чрез прилагането на команда Create List те бяха зададени като заглавия и се извърши обособяване на въведените стойности. Така се постига значително ускоряване процеса на подреждане и групиране на информацията и нейното онагледяване с директно получаване на информация за честотата на произволна търсена характеристика или съвкупност от

показатели в проследяваната група пациенти. Съхранението на информацията в Excel таблица осигурява лесното опресняване на вече въведената информация, бързото въвеждане на нови случаи и предоставя лесна възможност за експортиране на набраната информация към специализирана програма за база данни, когато нуждата от това се появи.

Статистическият анализ беше извършен чрез програмния пакет SPSS, версия 13.0 (SPSS Inc., Chicago IL). Като статистически значими се приеха всички стойности с $P < 0,05$.

Оценката за преживяемост на трансплантата бе извършена чрез метода на Каплан-Майер. Същият бе приложен и за създаването на индивидуалните криви на преживяемост според проучваните фактори. Проверката за значимост между отделните категории на променливите беше осъществена с log-rank тест. Определянето на броя прозрачни трансплантати в зависимост от изминалото от трансплантацията време бе извършено чрез life table-анализ на последователни интервали от 12 месеца.

Оценката на значимостта на всички фактори - интервални и категорични - и тяхното влияние върху преживяемостта на трансплантата бе извършено чрез регресионен анализ на Кокс. Първоначално всеки отделен фактор беше разгледан след еднофакторна обработка. За множествена регресия се използваха два статистически модела. В първия се въведоха всички проучвани характеристики. С цел елиминирането на маловажни фактори и съвместно повлияване във втория модел бяха въведени само факторите на донора и реципиента, достигнали статистическа значимост в еднофакторния анализ ($P < 0,05$). Допълнително в изготвянето на този модел се приложи обратна елиминация по метода на Валдайер на слабо значимите показатели. Регресионният анализ предоставя най-голяма надеждност при изучаването на влиянието на множествени фактори върху проучваното явление. Допълнително предимство е възможността в моделирането да участват и променливи с ненормално разпределение (Katz MN). Освен оценката за значимост на даден фактор или група от фактори

регресионният анализ позволява определяне на релативния риск (RR) за отделните стойности на всеки фактор една спрямо друга. За точното определяне на посоката на влияние се разглежда и 95% доверителен интервал (CI) - при стойности на интервала под 1,0 разглежданият фактор е с протективен ефект, при стойности над 1,0 е с негативно влияние, а когато стойността 1,0 попада в интервала не може да се даде сигурна интерпретация.

За оценката на промяната в донорния ендотел (ЕКГ) според възрастта на донора се приложи линеен регресионен анализ. Методът се използва за изследване на зависимости между две количествени (интервални) променливи. Освен за установяването на статистически валидна връзка, той предоставя информация и за нейната сила (степен на повлияване).

IV. РЕЗУЛТАТИ

1. Индикации за кератопластика

1.1. Индикации за кератопластика в България

За да се направи оценка за цялостната характеристика на епидемиологията на заболявания, налагащи роговична трансплантация в страната, се прегледаха архивите на Международна очна банка - София за предоставените роговици в първите 4 години след обособяването ѝ - общо 377. Разпределението според индикации е представено на Таблица 4.

Таблица 4. Брой и честотно разпределение на индикациите за кератопластика според данни на очна банка

Индикация	Брой	%	2007	2008	2009	2010*	2011*
Булозна кератопатия	113	30,5	23	33	26	22	9
Роговична ектазия	68	18,4	10	25	12	15	6
Стромални дистрофии	50	13,5	12	11	15	9	3
Ендотелна дистрофия на Фукс	7	1,9	1	1	1	3	1
Рекератопластика	59	15,9	5	9	24	13	8
Левкома	53	14,3	6	18	13	10	6
Роговична язва/перфорация	20	5,4	5	8	4	2	1

* Поради временно прекъсване на координаторската дейност по набиране на тъканни донори в периода ноември 2010 - март 2011 не е била осъществявана експлантация на донорни роговици

С изключение на 3 случая с кератоконус, претърпели предна ламеларна кератопластика за кератоконус, всички са били използвани за перфоративна трансплантация.

1.2. Индикации за операция в лист на чакащи за кератопластика към СОБАЛ "Акад. Пашев"

В поддържания списък на очакващи операция бяха установени 110 пациента със средна възраст 50,5 години (15-87 г.). При тях на първо място по честота са роговичните ектазии (виж Таблица 5).

Таблица 5. Лист на чакащи за кератопластика - разпределение по диагноза

Индикация	Брой	%
Булозна кератопатия	29	26,4
Роговични ектазии	38	34,5
Ендотелна дистрофия на Фукс	2	1,8
Стромални дистрофии	7	6,4
Рекератопластика	9	6,2
Левкома	25	22,7

В настоящия списък не се установиха случаи с роговична перфорация или язва, които са третирани с други методи на роговично възстановяване (АМТ, биологично покритие и т.н.). Поради това, към момента на въвеждането им в списъка те са с роговична левкома, което обяснява относително по-големия брой случаи в тази група.

1.3. Индикации за кератопластика в проучваната група

И в тази група пациенти няма случаи с язва или перфорация. Данните са представени в Таблица 6. С изключение на по-малкия брой рекератопластики съотношението между групите заболявания се доближава до пропорциите, отбелязани при анализа на индикациите от Очна банка. На Фигура 2 са представени случаи на заболявания от основните 6 категории, установени в тази група.

Таблица 6. Причини за роговична трансплантация в СОБАЛ "Акад. Пашев" за периода 2005-2010 г.

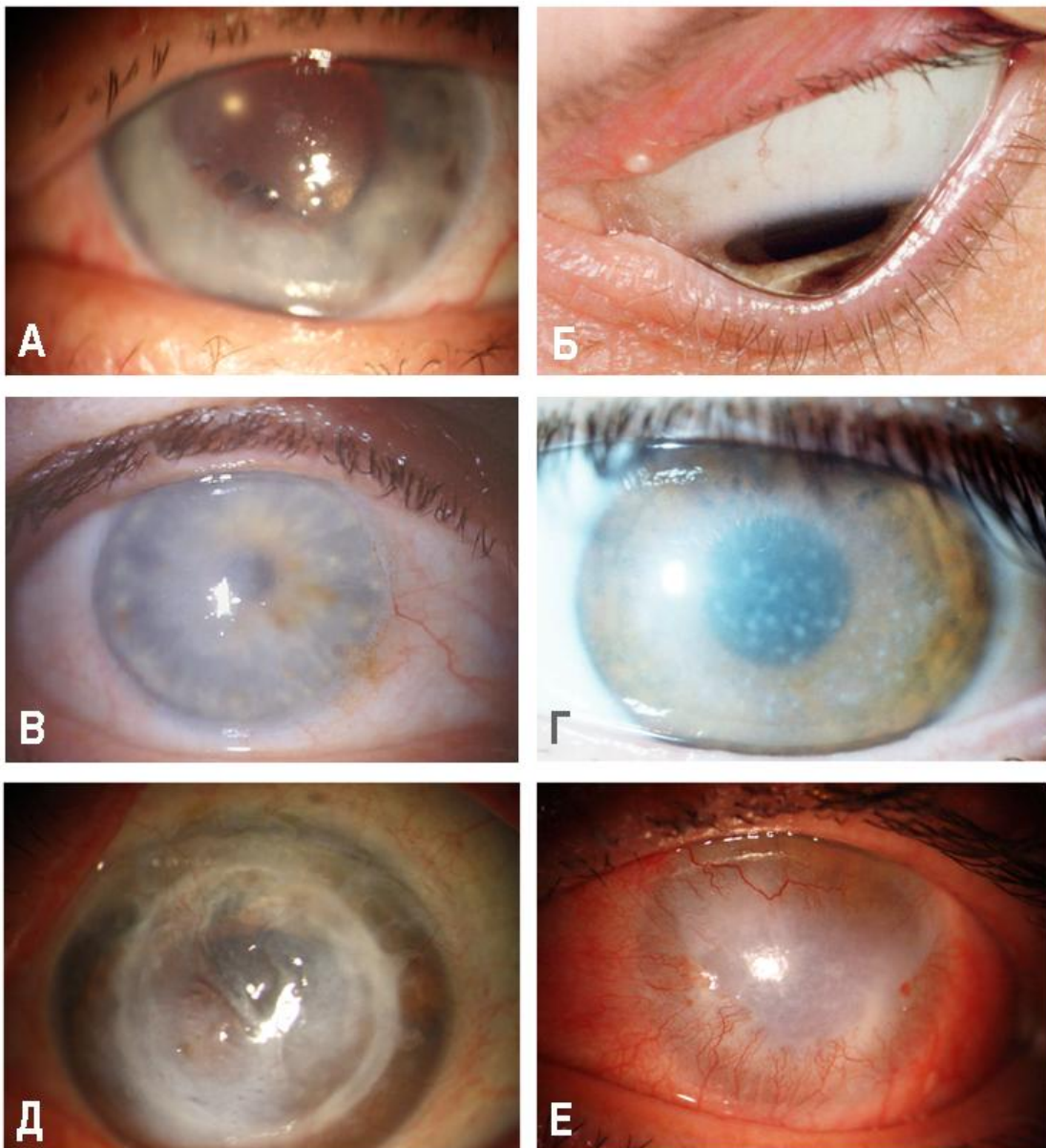
Индикация	Брой	%
Булозна кератопатия	54	38,3
Роговични ектазии	36	25,5
Ендотелна дистрофия на Фукс	6	4,2
Стромални дистрофии	17	12,1
Рекератопластика	6	4,2
Левкома	22	15,6

1.4. Промяна в индикациите за перфоративна кератопластика

За да се оценят измененията в причините за кератопластика се извърши сравнение на информацията за извършени ПКП от един и същи хирург (П.И.В.) за последователни периоди от време, обхващащи интервала 1996 до 2010 година включително. Разпределението им е представено на Таблица 7. От нея ясно се вижда постоянното нарастване на дела на булозната кератопатия – от изходно ниво около 10% до 37,4% за последния период. При роговичните ектазии се забелязва относителна стабилност в броя на извършени операции. Промени има, обаче, в честотата им като

оперативна индикация – установи се покачване през 2003-2006 и последващо спадане за настоящия период.

Фигура 2. Основни групи индикации за кератопластика: А. Булозна кератопатия; Б. Роговична ектазия (кератоконус); В. Ендотелна дистрофия на Фукс; Г. Стромална дистрофия; Д. Рекератопластика; Е.



При постинфекциозните/посттравматични левкоми, третата по честота индикация в настоящето проучване, изглежда има тенденция за относителна стабилност, с изключение на по-значимото намаление за периода 2003-2006 г. При роговичните дистрофии се установи тенденция за намаление в броя извършени операции. Поради липсата на разделение в предишните анализи на роговичните дистрофии на стромални и ендотелни те бяха разглеждани като едно цяло. След по сериозен спад в честотата през 2003-2006 г. операциите поради помътнял предишен трансплантат отново бележат нарастване.

Таблица 7. Разпределение на показанията за ПКП по честота (%) за различни периоди на наблюдение

Индикация	1996-1997*	1999-2000*	2003-2006*	2006-2010
Булозна кератопатия	10	27	34,5	37,4
Роговична ектазия	20	16	38,2	21,2
Левкома	15	12	7,3	18,1
Дистрофия	34	29	12,7	17,2
Рекератопластика	12	9	1,8	6,1
Язва/Перфорация	9	7	5,5	0

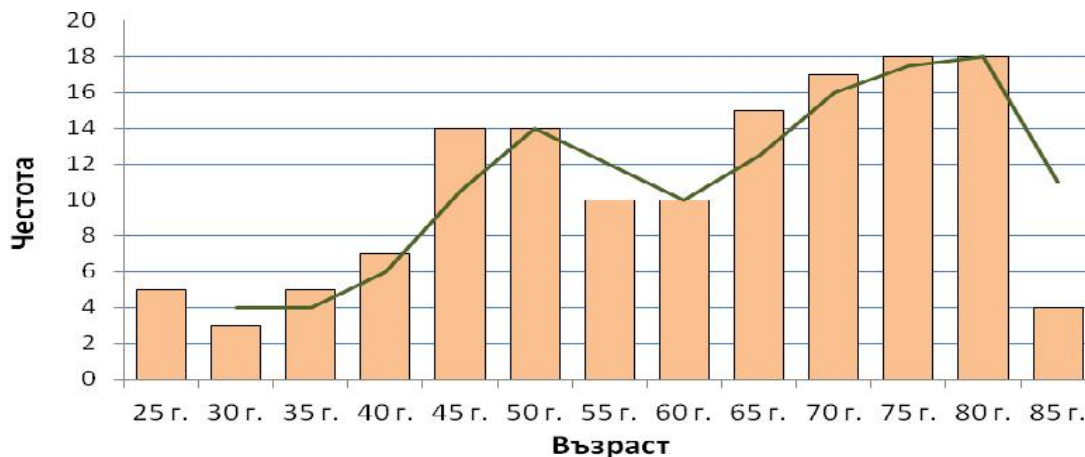
*За набирането на данните за периода 1996-2004 са използвани данните от предишна публикация (107)

2. Състояние на реципиентите

Разпределението по пол и средните възрастови характеристики при мъже и жени са близки, с умерено по-висока средна възраст при жените (вж. Глава III). Анализът на възрастовото разпределение като цяло демонстрира преобладаване на реципиенти в по-напреднала

възраст. Установи се бимодално разпределение, с пикове съответно на 40-50 и 70-80 години - виж Фигура 3.

Фигура 3. Възрастово разпределение на роговични реципиенти

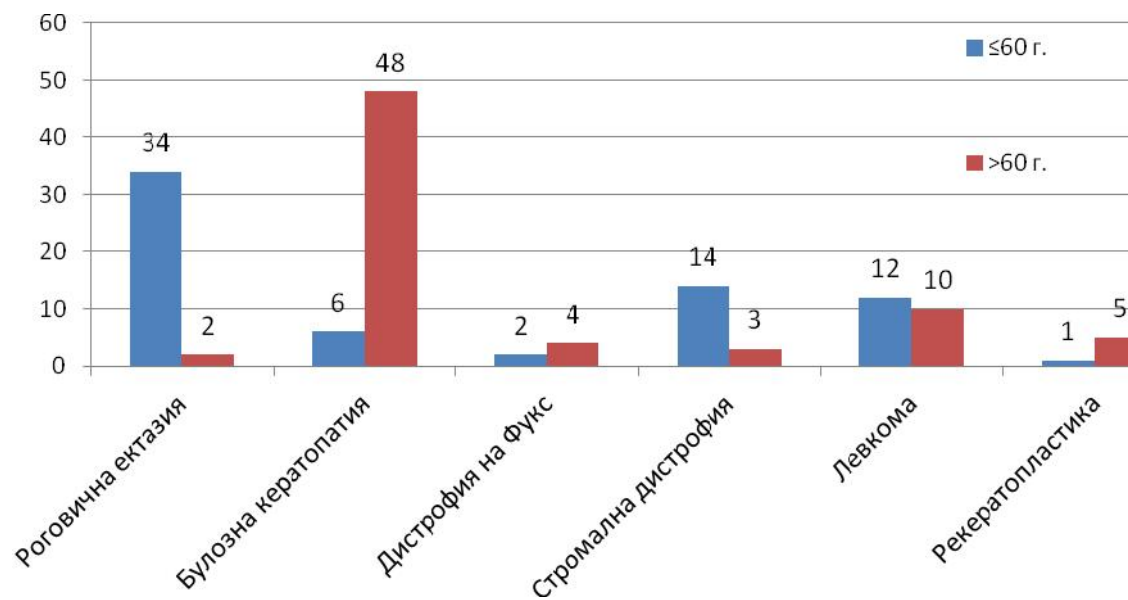


При разглеждането на индикациите за кератопластика по възрастови групи до и над 60 годишна възраст се установиха съществени разлики в тяхното разпределение. От Фигура 4 се вижда, че при млади реципиенти основните индикации са роговична ектазия и стромална дистрофия. При пациентите над 60 години при 66,7% от случаите причината за ПКП е булозна кератопатия, докато с роговична ектазия са само 2 души.

От извършените 54 трансплантации за булозна кератопатия болшинството пациенти са били с псевдофакична кератопатия (с преднокамерна, заднокамерна или ирис-фиксирана леща), а 6 са били афакични. Към оперираните с роговични ектазии спадат 19 пациенти с кератоконус, един с кератоглобус и един с пелуцидна маргинална дегенерация. Прегледът на операциите поради левкома показва, че те са резултат на: херпетично засягане (8 случая), механична или химична увреда на окото (6 случая), инфекция (4 случая), краен стадий на булозна кератопатия (2 случая), пациент с експозиционна кератопатия и случай на роговично стапяне след операция за птеригиум с приложение на митомицин. Една рекератопластика е била извършена поради рецидив на заболяване

(роговично стапяне поради ревматоиден артрит). При трима от останалите пациенти с рекератопластика поради отхвърляне на трансплантата първата ПК е била по повод псевдофакична булозна кератопатия, а при един – поради ендотелна дистрофия на Фукс. Последният случай в групата на рекератопластиките е пациент с 2-кратно помътнял трансплантат (без сигурни данни за имунно отхвърляне) след първоначална ендотелна дистрофия на Фукс.

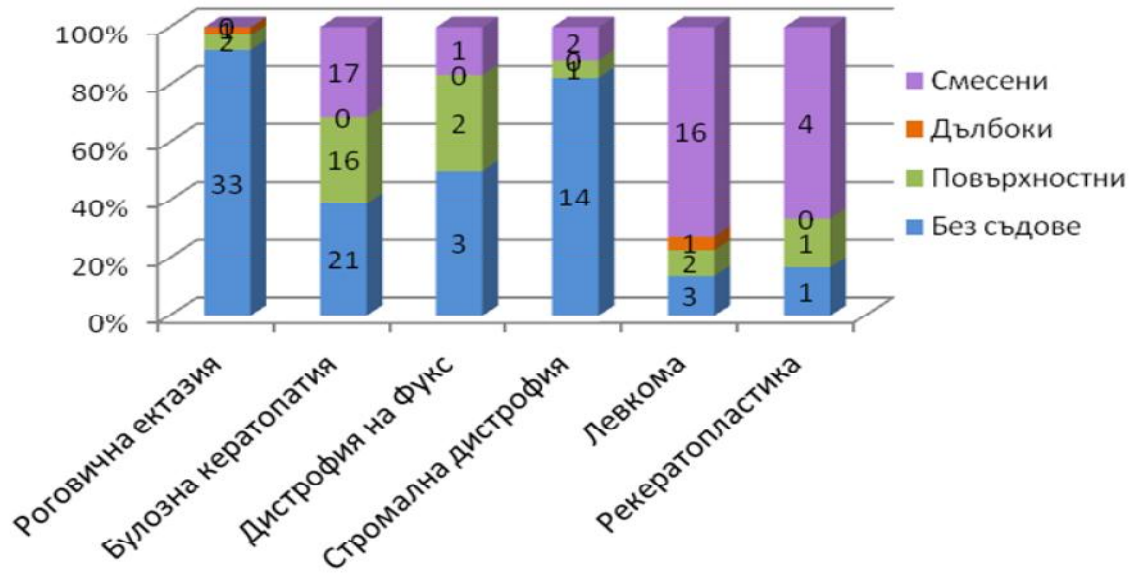
Фигура 4. Разпределение на показанията за ПКП според възрастова структура на групата



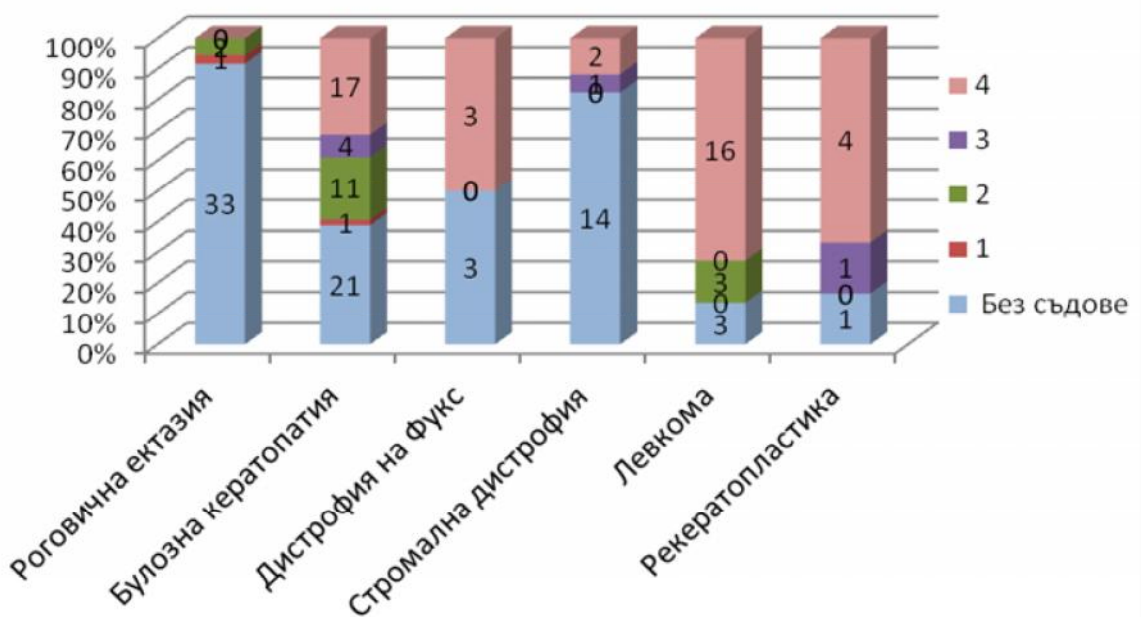
При приблизително половината пациенти предоперативно не се установява роговична васкуларизация - 75 случая, 53,2%. При 24 пациента са установени само повърхностни съдове, а при 2 - само дълбоки (съответно 17,0% и 1,4%). У останалите 40 души е имало смесена васкуларизация. Разпределението според площта на васкуларизация на засегнатите 66 роговици е както следва - 2 роговици с един квадрант, 16 роговици с два, 6 с три и 42 с обхванати всички сектори на роговицата. На Фигура 5 е представено разпределението на типовете васкуларизация според индикацията за кератопластика. При случаите с кератоконус и стромална

дистрофия съдове почти не се наблюдават, за разлика от тези с левкома и помътнял трансплантат. Висок е и процентът на васкуларизирани роговици при булозна кератопатия (61%).

Фигура 5. Разпределение на типове васкуларизация според показанията за ПКП



Фигура 6. Разпределение реципиенти по брой васкуларизирани роговични квадранти според показанията за ПКП



Анализът на обхванатата от васкуларизация роговична площ демонстрира наличие на случаи с тотално обхващане при всички индикации освен роговичната ектазия, при която е имало само 3 пациента със засягане на 1 или 2 квадранта след прекаран остър кератоконус. При булозната кератопатия също се установиха съществен брой роговици само с частично ангажиране от съдове (вж. Фигура 6).

Аномалии на очната повърхност - клепачни изменения, нарушен слъзен филм, увредена конюнктива и /или значително компроментиран роговичен епител - бяха отчетени при общо 68 случая (48,2%). С по-малък относителен дял са били нарушенията в структурата на предна очна камера - 48 (34%). При операции за роговична ектазия те практически не са наблюдавани (Фигура 7), а при диагноза левкома и рекератопластика са с най-голям дял. При булозната кератопатия 46,3% от пациентите са имали нарушения в структурата на предна очна камера, което поставя тази индикация между тези две крайности.

Фигура 7. Данни за състоянието на предна очна камера (вляво) и нарушенията на очна повърхност (вдясно) според показанията за ПКП



Чрез събраната анамнестична информация и извършваната в предоперативния период или при амбулаторни прегледи тонометрия

са установени 30 случая на глаукома и очна хипертензия (21,3%), като 18 са при пациенти с булозна кератопатия, а 7 – при левкома. Преди извършването на кератопластика при 13 от тях е провеждано консервативно лечение, при други 10 е извършена антиглаукомна операция, при 3 е извършена операция и са поставяни капки, а при 4 няма данни за провеждано лечение.

Почти половината от извършените кератопластики са на факични пациенти - 67 случая. Голяма е и групата с псевдофакия - 61 случая (43,3%). Само при 13 души е установена афакия (9,2%), като при 6 от тях диагнозата е афакична кератопатия, а при останалите 7 - посттравматична или постинфекциозна левкома. При пациентите с псевдофакична булозна кератопатия (48) са регистрирани три случая с преднокамерна леща и един - с ирис-фиксирана леща.

2.1. Специфичен статус при пациенти с булозна кератопатия

Наред със общите характеристики, описани дотук, при случаите с булозна кератопатия, се обърна внимание и на специфични изменения в роговичния статус. Към момента на извършване на ПКП при 39 от 54 случая с това заболяване (72,2%) са установени микро-или макробули на епитела. Характерната за напреднали случаи с голяма давност на оплакванията субепителна и/или стромална фиброза е установена при 16 пациенти (29,6%).

2.2. Допълнителни интраоперативни процедури

При 37 трансплантации (37,4%) е приложена комбинирана оперативна процедура поради патологичните промени в окото. Наличието на дефекти в ириса, установени при случаи с постоперативна булозна кератопатия и състояние след травма, са наложили едномоментна пупилопластика по време на трансплантацията при 17 ПК, а поради наличие на периферни предни синехии е извършена синехиолиза в 9 случая. При двама

души е приложена тройна процедура - комбинирано лечение чрез ПК и екстракапсуларна катарактна екстракция с имплантация на леща. В 3 случая с тежко роговично засягане и катаракта е извършена екстракапсуларна екстракция на лещата без имплантация на леща поради данни за ексцесивна миопия. При две кератопластики се е наложило репозиране на поставена при предишна операция вътреочна леща. В 10 случая е прилагана ПК със склерална фиксация на заднокамерна леща, при един от тези случаи освен това е извършена парс плана витректомия с имплантация на силиконово масло, а при друг е евакуиран поставеният при предишна операция силикон. На 5 пациента с псевдофакична булозна кератопатия е осъществена кератопластика с експлантация на заднокамерната леща и поставяне на нова такава, а веднъж е приложена ПК комбинирана с имплантация на леща без допълнително фиксиране в запазения капсулен сак на афакично око.

3. Характеристики на донора и донорната роговица

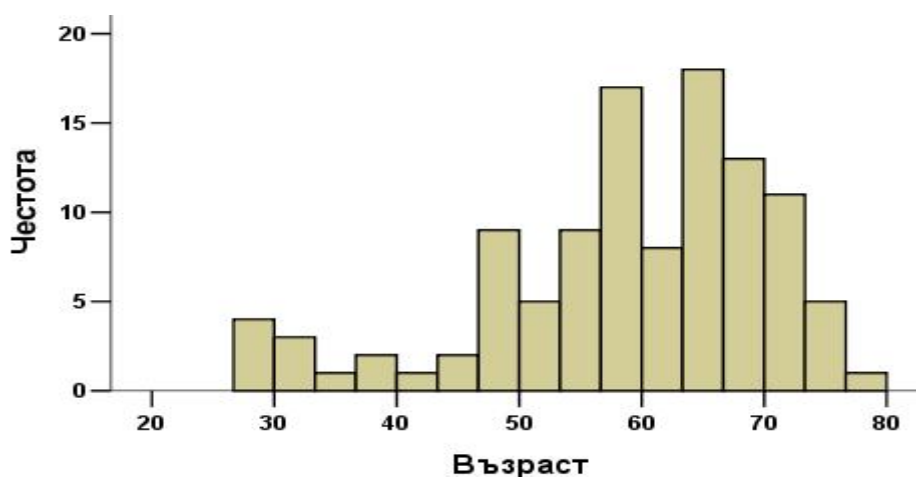
Поради логистични проблеми, свързани със съхранението на документацията за реализираните донори и оценката на донорни роговици във вече несъществуващото Държавно здравно заведение „Очна банка – София”, не успяха да бъдат набавени данните за 32 от извършените трансплантации през 2005 и 2006 година. Те бяха изключени при описанието и анализа на факторите на донора, а при множествения анализ бяха въведени като липсващи стойности.

Възрастовото разпределение на донорите - общо и разделено по полове - е представено на Таблица 8. Средните стойности между двата пола са практически еднакви. Като цяло преобладават възрастни донори (виж хистограма на Фигура 8) - 25^и перцентил е на 54 години, а 75^и - на 68. Мнозинството донори са мъже (69 случаи, 63,3%) спрямо само 40 жени.

Таблица 8. Възрастово разпределение на роговични донори

Години	Мъже	Жени	Общо
Средна възраст	58,5	60	59
SD	13	9	11,5
Медиана	60	62,5	62
Обхват	28-77	37-72	28-77

Фигура 8. Възрастово разпределение на донори



Времето за експлантация (периода между смъртта и експлантирането на роговицата и поставянето ѝ в хранителна среда) варира между 4 и 20 часа, като средната стойност е 10 часа. Стойностите на 25^и, 50^и и 75^и перцентил са съответно 6,5, 9 и 14 часа (вж. Фигура 9). На база на тези данни и за да се извърши анализ, случаите бяха обособени в 3 групи : до 8 час (50), от 9 до 14 час (34) и след 14 час (25).

При анализа на причините за смърт беше установено, че трите основни заболявания за проучената група донори са исхемичен мозъчен инсулт, мозъчен кръвоизлив и миокарден инфаркт. На Таблица 9 са представени всички диагнози. Поради малкия брой случаи при някои индикации (интоксикация, тумор, дихателна

недостатъчност и др.) всички те бяха условно обособени според скоростта на настъпване на остри и хронични. Травмата беше причислена към втората група, защото при мнозинството от случаите е имало над 48 ч. период от нея до настъпване на летален изход.

Фигура 9. Разпределение на донори според експлантационно време

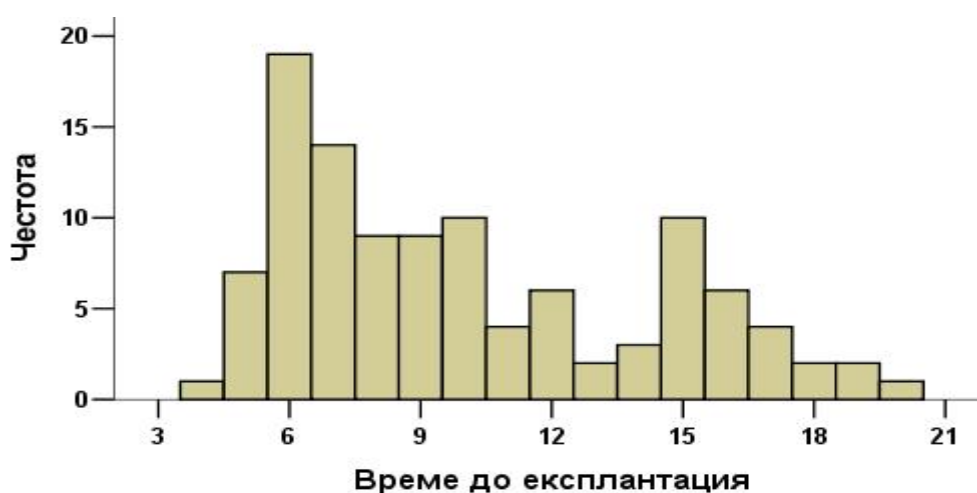


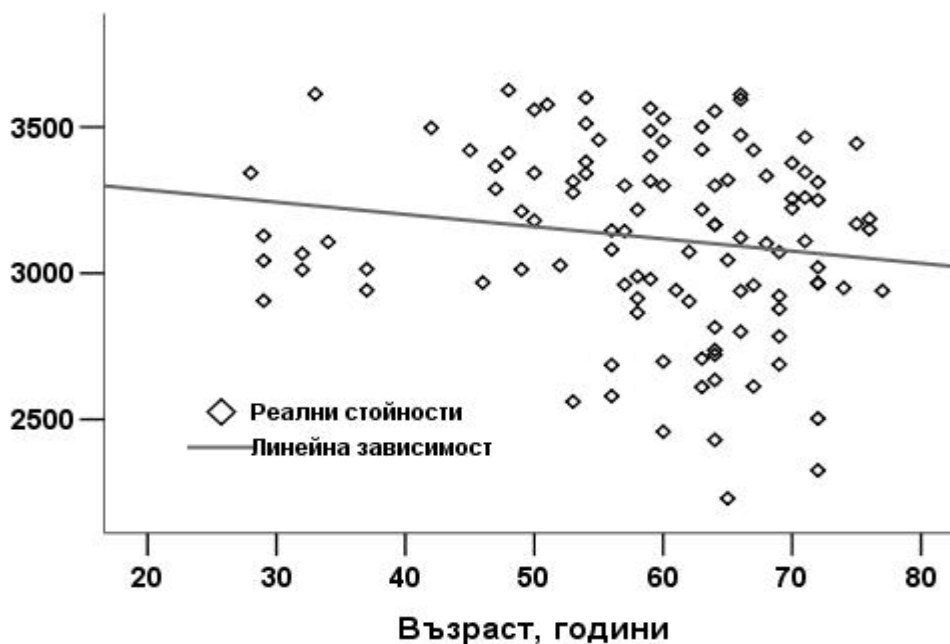
Таблица 9. Причини за смърт в група на роговични донори

	Диагноза	N
Остри	Мозъчен кръвоизлив	29
	Исхемичен инсулт	24
	Миокарден инфаркт	19
	Дисекираща аневризма	5
	Белодробна емболия	4
Хронични	Сърдечна недостатъчност	14
	Дихателна недостатъчност	3
	Травма	4
	Хеморагичен шок	5
	Интоксикация	1
	Тумор	1

Данните от документацията за състоянието на донорния ендотел при неговата оценка в Очна банка показаха, че 67% от предоставените роговици (73 от 108 с налични данни) са били с отлична оценка и ЕКГ над 3000 кл/мм². На 32 роговици е поставена оценка много добър - ендотел с ЕКГ между 2500 и 3000 кл/мм² (29,3%), а при 4 гъстотата е била под 2500 кл/мм² (добра). Средната ендотелна гъстота за групата е била 3121 кл/мм².

След въвеждането на стойностите на ЕКГ в модел за линейна регресия се установи нискостепенно намаление на гъстотата с нарастване на възрастта (Фигура 10). Това намаление обаче не е статистически значимо (P=0,11).

Фигура 10. Регресия на ЕКГ (кл/мм²) от възрастта на донора



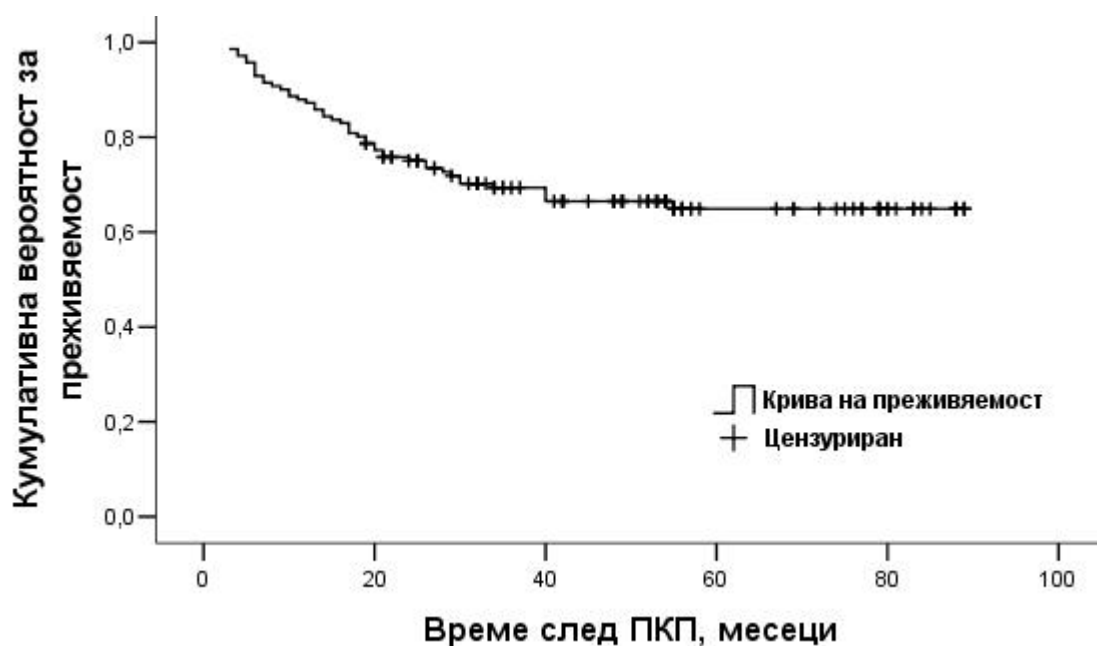
При оценката на епитела най-голяма е групата с много добра оценка - 79 роговици (72,4%). По равен брой са случаите с отлична и добра характеристика - 15. Цялостната оценка на роговицата, която се базира на оценката на всички слоеве, е била отново преобладаващо много добра - 73 роговици, 67,0%. Отлична оценка е

поставена само на 10 роговици (9,2%), а при останалите 26 е била добра (23,8%).

4. Постоперативно проследяване на роговичния трансплантат

Не е наблюдаван нито един случай на първично отхвърляне на присадена роговица. На Фигура 11 е представена времевата зависимост на роговичната преживяемост.

Фигура 11. Крива на Каплан-Майер за преживяемост на роговичен трансплантат



За периода на проследяване трансплантатът е помътнял в 46 случая. В 22 от тях причината за неуспеха е била необратимо имунно отхвърляне (47,8%). При останалите 24 (53,2%) причината за помътняването е била неимунна или вероятна комбинация с имунна реакция - при 11 от тях има установен епизод на имунно отхвърляне в предишен момент от следоперативния период. Най-висок е бил

рискът за неуспех на трансплантата през първите две години - за всяка от тях по 17 роговици са помътнели. След това той постепенно намалява до един единствен случай в пета година от проследяването, а при роговиците, достигнали 6 до 8 постоперативна година, не са установени нови помътнявания (Таблица 10). Средният период на преживяемост за изследваната група е 65 месеца, като тази оценка е ограничена поради сравнително малкия брой пациенти с дългосрочно проследяване).

Таблица 10. Life table анализ на помътнели роговици по година на установяване

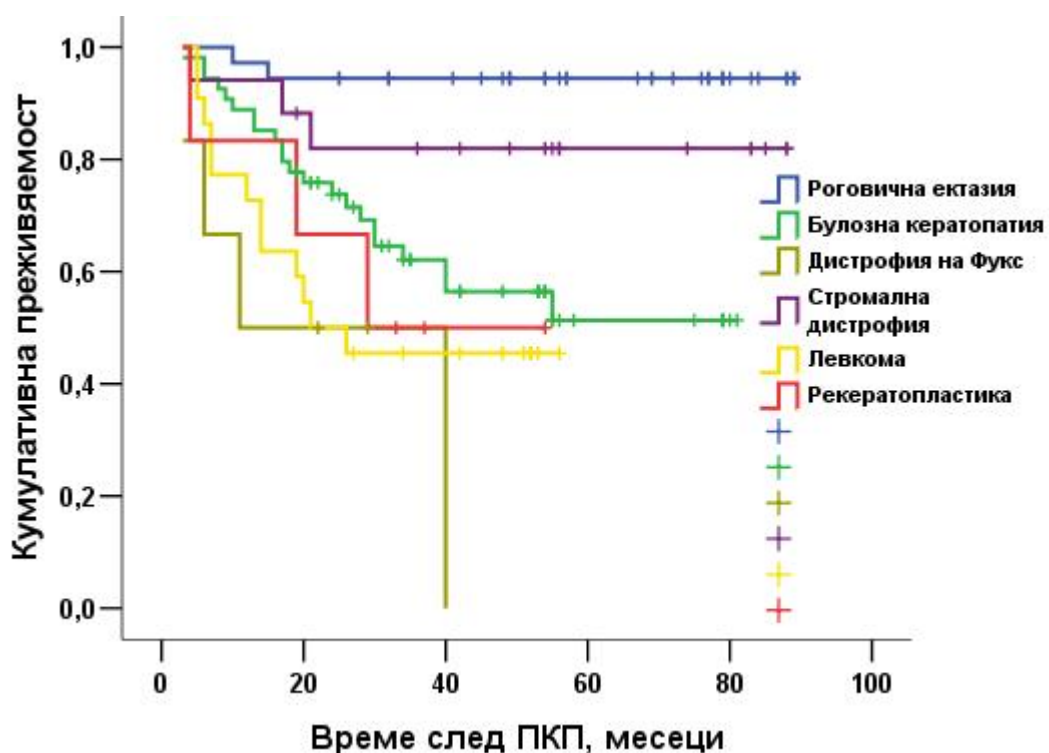
Проследяване (години)	Случаи в началото на периода	Терминални случаи	Кумулативен процент на преживяели
0-1	141	17	0,88
1-2	124	17	0,76
2-3	100	8	0,69
3-4	75	3	0,66
4-5	64	1	0,65
5-6	30	0	0,65
6-7	27	0	0,65
7-8	9	0	0,65

Към момента на последно проследяване прозрачни са били 95 трансплантата (64,7%). Най-лоша преживяемост се установи при пациентите с дистрофия на Фукс, рекератопластика и левкома (вж. Таблица 11). С над 94% преживяемост роговичната ектазия се открие като най-нискорискова в изследваната група пациенти. След това беше групата със стромална дистрофия (81,9% преживяемост). От оперираните за булозната кератопатия 40,7% са с помътнели трансплантати. На Фигура 12 е представена преживяемостта във времето според предоперативната диагноза на реципиента.

Таблица 11. Разпределение и брой на помътнели трансплантати според предоперативна диагноза

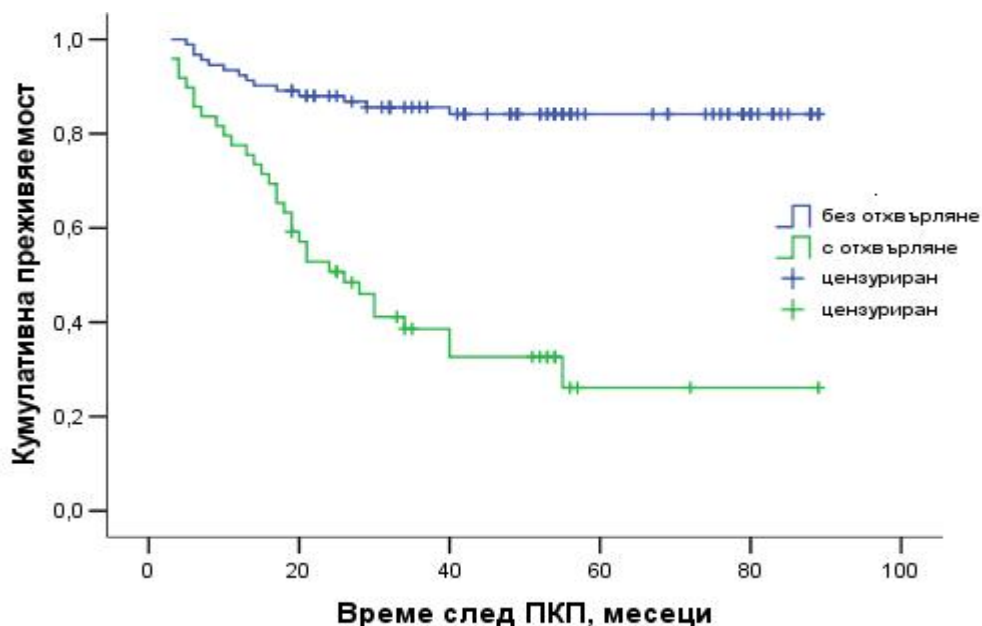
Индикация	Извършени трансплантации			Кумулативна 5-годишна преживяемост
	Общо, брой	Неуспешни, брой	% от група	
Булозна кератопатия	54	22	40,7	51,3%
Роговични ектазии	36	2	5,6	94,4%
Дистрофия на Фукс	6	4	66,7	0,0%
Стромални дистрофии	17	3	17,6	81,9%
Рекератопластика	6	3	50,0	50,0%
Левкома	22	12	54,5	45,5%

Фигура 12. Крива на Каплан-Майер за преживяемост на роговичен трансплантат спрямо индикация за кератопластика



В хода на проследяване на пациентите са установени имунни епизоди на отхвърляне при 49 случая (34,7% от групата). Диагностицирани са общо 59 такива реакции - при 8 пациента е имало по два епизода, а при един случай с ендотелна дистрофия на Фукс са диагностицирани три. Въпреки проведеното лечение 22 от тези имунни отхвърляния са прогресирали необратимо до помътняване на трансплантата (37,3%). Life table анализът показва, че и при реакциите на имунно отхвърляне най-рискови са първа и втора постоперативна година - епизоди са диагностицирани при 23 (46,9%) и 20 (40,8%) от всички първични случаи на имунно отхвърляне. Четири епизода са отчетени през третата година и по един през 4 и 5 година (по 2,0%). Средното време от операцията до развитие на първа имунна реакция е 13,5 месеца. От 49 трансплантати, претърпели епизод на имунно отхвърляне, 32 (65,3%) са помътнели до края на проследяването спрямо само 14 при случаите без отхвърляне (15,2%), което е силно значим резултат (Фигура 13, $P < 0,0001$).

Фигура 13. Крива на Каплан-Майер за преживяемост на роговичен трансплантат спрямо реакция на отхвърляне



Измерването на ендотелната гъстота на донорния бутон след кератопластика бе свързано със значителни затруднения. Наличието на епителен оток или дефект, гънките на Десцетметовата мембрана или дори лек стромален хейз правеха получаването на надеждно спекуларно отражение с достатъчен на брой клетки за изброяване трудно и в немалко случаи невъзможно. При роговици с ЕКГ под 1200 кл/мм² се наблюдаваше значителен полимегатизъм и плеоморфизъм, който водеше до силни отклонения в автоматичните изчисления на спекуларния микроскопи, и бе необходимо ръчно дефиниране на индивидуалните клетки. Поради недостатъчния брой успешно анализирани случаи, попадащи в различни постоперативни периоди, не можа да се извърши статистически анализ за скоростта на прогресия на загубата на ендотелни клетки. При 7 пациенти с прозрачни трансплантати беше измерена ЕКГ по-малка от 500 кл/мм². При един от тези случаи с най-ниската установена гъстота в рамките на проучването (274 кл/мм²) 4 месеца след измерването се разви прогресивен роговичен оток, неповлияващ се от терапия с кортикостероиди и се диагностицира ендотелна декомпенсация на трансплантата. В останалите случаи до края на проследяването не се установи нарушение на прозрачността.

5. Оценка на рисковите фактори

Първоначално извършената оценка и представяне на преживяемостта с метода на Каплан-Майер показва различното влияние на отделните предоперативни фактори. Статистическа значимост се установи само за показатели на реципиента. Индивидуалните криви на преживяемост са представени в Приложение 2.

5.1. Показатели на реципиента

Данните от регресионния анализ на факторите на реципиента са представени на Таблица 12.

Таблица 12. Показатели на реципиента. Значимите стойности са обозначени с червено

Фактор	Еднофакторен модел			Многофакторен модел		
	P	RR	95% CI	P	RR	95% CI
Пол	0,04			0,59		
Мъже		1,00			1,00	
Жени		1,88	1,03-3,42		0,75	0,27-2,11
Възраст	0,02			0,98		
≤60 г.		1,00			1,00	
>60 г.		2,62	1,39-4,99		1,01	0,26-3,89
Показание за операция	<0,01			0,22		
Кератоконус		1,00			1,00	
Булозна кератопатия	0,00	9,475	2,22-40,40	0,34	3,54	0,27-46,73
Дистрофия на Фукс	0,00	24,675	4,48-135,94	0,02	25,75	1,54-430,25
Стромални дистрофии	0,18	3,445	0,58-20,62	0,67	1,73	0,14-21,92
Левкома	0,00	15,298	3,40-68,75	0,27	4,06	0,33-49,51
Рекератопластика	0,01	13,035	2,16-78,55	0,41	3,34	0,19-59,54
Роговична съдове	<0,01			0,71		
Без съдове		1,00			1,00	
Повърхностни	0,00	3,65	1,64-8,14	0,45	1,78	0,40-8,08
Дълбоки	0,26	3,27	0,42-25,15	0,25	8,32	0,22-317,98
Смесени	0,00	4,21	2,06-8,59	0,43	1,73	0,43-6,86
Ангажирани квадранти	0,00			0,24		
0		1,00			1,00	
1	*	*	*	*	*	*
2	0,05	2,41	0,90-6,42	0,11	0,25	0,05-1,35
3	0,00	10,97	4,01-30,02	0,37	1,88	0,48-7,37
4	0,00	4,33	2,13-8,78	#	#	#

Очна повърхност	0,08		0,02		
Интактна	1,00		1,00		
Увредена	2,22	1,21-4,08	0,18	0,04-0,74	
Предна камера	<0,01		0,05		
Нормална анатомия	1,00		1,00		
Нарушена анатомия	3,68	2,01-6,61	3,53	1,01-12,34	
Очно налягане	0,01		0,15		
Нормално	1,00		1,00		
Повишено	3,05	1,68-5,53	2,24	0,76-6,63	
Вътреочна леща	<0,01		0,18		
Факия	1,00		1,00		
Псевдофакия	3,73	1,86-7,47	0,07	4,04	0,91-18,08
Афакия	2,82	0,98-8,15	0,42	2,56	0,26-24,86

* не може да се оцени поради малък брой случаи и липса на неуспешни трансплантации (терминално събитие)

не се анализира поради константност или линейна зависимост

Еднофакторният анализ на показателите от статуса на реципиента разкри значимо влияние на всички проучени параметри освен състоянието на очната повърхност ($P=0,08$). Еднопосочната зависимост между възрастта на реципиента и риска от неуспех се потвърди също така и при анализ на възрастта като интервална величина ($P=0,003$), но при практически незначимо влияние - относителен риск $RR=1,03$, доверителен интервал $CI=1,01-1,05$ и гранична стойност на P (0,04). От индикациите за кератопластика с най-благоприятна прогноза е роговичната ектазия, а с най-лоша - дистрофията на Фукс, следвана от групите на рекератопластика и левкома. Наличието на съдове е влошило статистически значимо прогнозата при трансплантациите с развита роговична васкуларизация (66), като дълбоките съдове са имали потенциращ ефект (пациентите единствено с дълбока васкуларизация са само двама, а със смесена - 40). Предоперативното наличие на

изкуствена леща изглежда увеличава по-значимо риска, отколкото афакията.

При многофакторна регресия с първи модел (общ модел с всички фактори на донор и реципиент без елиминация) много от факторите на реципиента не показаха статистическа значимост. Относно влиянието на възрастта се установи минимално повишение на риска с нарастване на възрастта, но при липса на сигнификантност ($P=0,98$) (Таблица 12). Единствено увредата в състоянието на предната очна повърхност достигна ниво на достоверност, макар че противно на логиката нарушенията на очната повърхност изглеждат свързани с протективен ефект при този анализ. Нарушението на структурите в предната очна камера показва гранична стойност ($P=0,05$) с осезаемо по-изразен риск ($RR=3,5$).

5.2. Показатели на донора

Данните от регресионния анализ на факторите на донора са представени на Таблица 13. Еднофакторната обработка на информацията не разкри значими фактори. Разглеждането на времето за експлантация като интервална величина също не показва значим резултат ($P=0,48$). Съпоставянето на ендотелната гъстота като интервална величина (спрямо категорийното разпределение) достигна значимост ($P=0,04$), но при много нисък относителен риск ($RR=1,036$, $95\% CI=1,002-1,072$). При въвеждането на тази величина като интервална в многофакторния модел се получи ниска значимост ($P=0,98$), поради което тя не беше включена във втория многофакторен анализ.

При първичния многофакторен модел, изграден след включването на всички проучени показатели, нито една характеристика на донора не показва съществено влияние върху прогнозата на трансплантата.

Таблица 13. Показатели на донора

Фактор	Еднофакторен модел			Многофакторен модел		
	P	RR	95% CI	P	RR	95% CI
Пол	0,09			0,12		
Мъже		1,00			1,00	
Жени		1,79	0,91-3.55		2,35	0,79-6,96
Възраст	0,44			0,95		
≤65 г.		1,00			1,00	
>65 г.		1,32	0,65-2.69		1,03	0,36-3,00
Време до експлантация	0,24			0,27		
≤8 ч.		1,00			1,00	
8-14 ч.	0,45	0,71	0,29-1.73	0,11	0,39	0,12-1,26
>14 ч.	0,27	1,56	0,71-3.40	0,30	0,54	0,17-1,74
Причина за смърт	0,20			0,11		
Остра		1,00			1,00	
Хронична		0,56	0,23-1.35		0,41	0,14-1,22
Ендотел, ЕКГ	0,50			0,57		
<2500 кл/мм ²	*	*	*	*	1,00	*
2500-3000 кл/мм ²		1,00		0,29	1,70	0,64-4,58
>3000 кл/мм ²		1,28	0,63-2.61	0,98	0,00	0,00
Епител	0,64			0,17		
Отличен		1,00			1,00	
Много добър	0,48	1,55	0,47-5.14	0,29	0,35	0,05-2,44
Добър	0,35	1,95	0,49-7.79	0,69	1,83	0,09-36,71
Обща оценка	0,35			0,43		
Отлична		1,00			1,00	
Много добра	0,19	3,82	0,52-28.20	0,23	7,67	0,28-213,0
Добра	0,34	2,78	0,34-22.57	0,47	4,23	0,09-202,8

* не може да се оцени поради малък брой случаи и липса на неуспешни трансплантации (терминални събития)

5.3. Окончателен модел на предоперативни рискови фактори

Съгласно заложената методология в изготвянето на втория многофакторен модел бяха зададени следните еднофакторно сигнификантни показатели: пол и възраст на реципиента, вид и обхват на роговична васкуларизация, нарушения на предна очна камера, повишено очно налягане и статус на лещата. След обратна елиминация на незначителните фактори, в крайния модел останаха два независими рискови фактора - предоперативна диагноза и състояние на предна очна камера (Таблица 14).

Таблица 14. Окончателен модел на предоперативни рискови фактори

Фактор	Множествен модел с изключване		
	P	RR	95% CI
Показание за операция	0,07		
Кератоконус		1,00	
Булозна кератопатия	0,11	5,38	0,67-43,55
Дистрофия на Фукс	0,01	26,65	2,69-264,09
Стромални дистрофии	0,14	5,54	0,58-53,36
Левкома	0,06	7,94	0,92-68,01
Рекератопластика	0,11	6,82	0,64-73,35
Предна камера	0,01		
Нормална анатомия		1,00	
Нарушена анатомия		2,91	1,27-6,65

Значимостта на индикацията за ПКП е гранична надпрагова (P=0,07), но е задържана в модела, вероятно поради

сигнификантността на риска при ендотелна дистрофия на Фукс и граничната стойност на P при левкома. И при двете индикации относителният риск е значително повишен (съответно 26,7 и 7,9) спрямо референтната група на роговичната ектазия. Поради малкия брой кератопластики за ендотелна дистрофия в проучената кохорта, преобладаващата част от които са претърпели неуспех, не може да се изключи възможността за неправилна статистическа оценка при това заболяване поради малкия размер на извадката. За останалите групи заболявания не може да се даде сигурна оценка за влиянието върху преживяемостта на роговичния трансплантат поради недефинираното разположение на доверителния интервал. Структурните увреждания на предна очна камера (синехии, разкъсвания и др.) са свързани с почти трикратно увеличен риск за помътняване на трансплантата в проучената група (RR=2,91).

V. ОБСЪЖДАНЕ

1. Индикации за кератопластика

1.1. Показания за операция в България

Последното голямо проучване за причините за кератопластика в България е от периода януари 1998 – юни 2000 година (218). Необходимостта от информация за актуалното разпределение на заболяванията, причиняващи роговична слепота, ни накара да извършим преглед на информацията от донорните досиета в Международна очна банка – София. По този начин се осигуриха сведения от извършени 377 кератопластики за период от 4 години (август 2007 – юли 2011). До ноември 2009 година Международна очна банка – София е единствената институция в България, предоставяща роговична тъкан за трансплантация. Това, както и липсата на възприета практика да се използват чуждестранни източници на роговична тъкан, позволява да разглеждаме получените данни като представителни за причините за кератопластика в България за анализирания период.

Най-честата причина за ПКП е била булозната кератопатия - 30,5%. Това заболяване е определено като водещо при големи съвременни анализи за роговични трансплантации в периоди от 1980 до 2006 г. в Гърция - 29,1% (187), Южна Азия - 23,4% (202), Канада – 18,9% (139), Великобритания - 25,5% (215) и САЩ - 19,8% (76) (вж. Таблица 15). Данните от Америка, простиращи се назад до средата на 20 век, разкриват тенденция, която повече или по-малко се установява и в други страни – след масовото навлизане на операциите за катаракта и особено имплантацията на ИОЛ, честотата на булозната кератопатия бързо се увеличава (76). Дори и не водеща, при голям брой от анализите за разпределение по заболявания тя е сред основните причини за операция (21, 56, 73, 82, 85, 111, 232, 242). От края на 80^{те} години на 20 век се наблюдава

тенденция за известно намаление на случаите с тази патология (66, 76, 136, 187). Сред обсъжданите от тези проучвания причини за това намаление е натрупването на опит, развитието на по-усъвършенствани техники за катарактна екстракция и широкото прилагане на вискоеластични субстанции. Като съществен фактор е отчетено и преминаването към използване на заднокамерни лещи, както и подобренията в дизайна на преднокамерните ИОЛ, отчетено при преглед за данни от периода 1980-2000 г. (76, 136). Сравнението на нашите резултати от 2007-2011 година с периода 1998-2000 година (30,5%) (218) не установява промяна в честотата на булозната кератопатия.

Като втора по честота в нашето проучване се обособи роговичната ектазия с 18,4%, което отново е практически сходно с публикуваните 18,6% за предишното цялостно проучване (218). Това е втората основна индикация и в съседна Гърция (187) (виж Таблица 15), като и при множество други съвременни анализи по индикации след 1990 г. Ектазията и конкретно кератоконусът са определени като втора или трета основна индикация (76, 137, 139, 210, 239). Има и много публикации поставящи тази група като основна причина за перфоративна кератопластика (21, 85, 113, 130, 232, 242), достигаща до значимите 46,9% в Италия (94). Същевременно, има данни за значително по-малък дял на оперирани поради роговична ектазия в страни като САЩ, Индия и Тайван (56, 75, 240). От една страна тези различия могат да се отдадат на специфична генетичната predisposition и климатични особености – южните страни се отличават с повишена честота на вернален кератоконюнктивит (113, 150). Darlington и съавтори предполагат, че възможни фактори за тези вариации може да са свързани и с евентуални ограничения в наличната за трансплантиране роговична тъкан. Тази особеност предполагаемо води до подбор на пациенти с ектазия поради по-добрата им прогноза след трансплантация (76). Двустранното засягане при тези заболявания също може да повиши относителния дял на трансплантации при тях. От значение е и наличната в съответната страна/център възможности за зрителна рехабилитация – напр. напасване на контактни лещи или имплантация на

интракорнеални сегменти, които могат да забавят и дори намалят дела на пациенти, нуждаещи се от кератопластика за зрителна рехабилитация.

Таблица 15. Индикации за кератопластика в процентно разпределение по литературни данни (76, 94, 139, 187, 215, 232)

Индикация	CORTES Италия (n=4415) '01-'04 г.	ACGR Австралия (n=17090) '85-'06 г.	CTFS Велико- британия (n=2777) '87-'91 г.	Darlington et al. САЩ (n=31178) '80-'04	Maeno et al. Канада (n=6192) '64-'97	Siganos et al. Гърция (n=1929) '82-'96 г.
Кератоконус	46,9	32	19,8	15,1	16	26
Булозна кератопатия	13,8	26	25,5	19,8	18,9	29,1
Рекератопластика	14,1	19	17,4	11,2	18	11,9
Дистрофия на Фукс	3,6	6	13	13,9	9,6	4,6
Кератит	6,2	6	25,7	неуточнена	11,9	13
Стром. дистрофии	2,3	1,2	4,4	неуточнена	3,1	неуточнена
Травма	4,1	2	4,4	неуточнена	5,9	7,7

На трето място с 15,9% се нарежда групата на рекератопластиките. Наблюдава се тенденция за нарастване на оперираните след неуспех на предишна ПКП за последните 20 до 30 години в много проучвания, особено в Европа и Северна Америка (73, 76, 80, 139, 187, 242). В отделни изследвания като това на Doggeraal рекератопластиката дори заема първо място по честота (82). Тезата, около която тези наблюдения се обединяват, е, че с нарастването броя на пациентите с трансплантирана роговица в предишни периоди се увеличават и случаите с помътнял/неуспешен трансплантат, нуждаещи се от нова кератопластика. Конкретно за България вероятно има и друг утежняващ момент. В годините преди

създаването на Международна очна банка София (2007 г.) поради финансови и административни затруднения е бил значително намален броят на реализирани роговични донори (Василева, непубликувана информация). Може да се предполага, че настъпилото преразпределение на наличния донорен материал за опериране на по-неотложни случаи е довело до увеличаване на броя пациенти с помътнял трансплантат, особено когато другото око е било с добра зрителна острота.

Следващата индикация в настоящето проучване е левкомата. Като основна диагноза тя е обозначена при 14,3% от исканията за роговична тъкан. Поради неангажиращия формат на документалното искане на донорна роговица не може да се извърши пълен анализ на първопричината за роговичната увреда. В проучване за периода 1998-2000 Василева е обособила група с васкуларизирана левкома и такава с очен херпес с обща честота от 21% (218). Ако се приеме съответствие между тези индикации в двете проучвания, би следвало да се отчете намаление на тяхната честота. Съпоставянето на данни за индикации за кератопластика между различни периоди и популации е често свързано със затруднения поради различните критерии за категоризиране на информацията (135). Роговичната левкома представлява цикатризация, която може да е настъпила в резултат на разнообразни етиологични причинители – травма, язва, инфекция, увреждания на клепачите. Затова профилът на очните заболявания и терапевтичните възможности оказват съществено влияние върху нейната честота. В развитите страни от Европа и Северна Америка като цяло се установява тенденция за намаление на тази индикация и честота в интервала 4-15% поради напредъка в лечението на вирусните и бактериалните кератити (73, 82, 94, 96, 242). Най-честата причина за постинфекциозни левкоми в тези региони в проучвания за ПКП от 1990 насам остава очния херпес (22, 137, 139). За Азия и Африка левкомата продължава да е най-честата или сред основните индикации за ПКП дори и за последните 10-15 години, като бактериалните и гъбичкови кератити са със значима честота (56, 202, 210).

Стромалните роговични дистрофии са пета по честота индикация в настоящето проучване с 13,5%. Поради тяхното наследствено предаване тази група заболявания са свързани с относително стабилна честота, която е характерна за всеки регион и страна (3). Ендотелната дистрофия на Фукс е сравнително рядка наблюдавана причина за роговична трансплантация у нас – едва 1,9%. Данните от Гърция показват също ниска честота (4,6%) на това заболяване (187). Както и при стромалните роговични дистрофии има големи вариации в честотата му според географската област – от 2,6% в Израел (242) до над 23% в САЩ (80). За Средиземноморска Европа и Близкия изток (94, 187, 242) дистрофията на Фукс е относително рядка, а в Германия, Скандинавия и САЩ тя е сред водещите причини за кератопластика (73, 115, 225). При обсъждането на тези различия, авторите на изследванията насочват обясненията си към демографски и генетични особености на различни проучвани популации. Честотата на това заболяване е от особен интерес предвид навлизането на ендотелната кератопластика в нейното лечение и отличните постоперативни резултати като преживяемост и зрителна рехабилитация по съобщения от последните 5-6 години (106), което води до голям спад в лечението на дистрофията на Фукс чрез ПКП.

Роговичната язва или перфорация е посочена като при индикация за кератопластика при 5,4% от исканията за донорна тъкан. Подобна честота се установява и от данните на Австралийския регистър за кератопластики - около 4,8% (232). До този тип роговично засягане могат да доведат различни заболявания - травма, инфекциозен кератит, изгаряне, автоимунно заболяване и др. В литературата обикновено те се разглеждат в две или повече отделни групи или обединено с някои редки диагнози като група "други" (73, 85, 232, 240). Липсата на уточняваща диагноза относно етиологията на роговичната увреда при голяма част от исканията за роговична тъкан към Международна очна банка - София не позволява директна съпоставка на тази група заболявания с данните от литературата.

1.2. Динамика на перфоративната кератопластика в България

Извършеният при настоящето проучване преглед по данни на Международна очна банка София установи 377 годни за трансплантация роговици, предоставени за кератопластика в период от 48 последователни месеца (август 2007 – юли 2011). Проучването на Василева е извършено на база извършени операции за 30 поредни месеца (януари 1998 – юни 2000), като са установени 889 такива (218). Дори и като се отчита навлизането на втора институция в процеса на набиране на роговична тъкан (Тъканна банка Пирогов) е налице драстично намаление в броя на предоставените за трансплантация роговици. При сравнение за 30-месечен период от нашето проучване (август 2007 до януари 2010) разликата е още по-значима – 284 донорни бутона, което представлява повече от трикратно намаление на роговичното донорство в България и средна наличност от по-малко от 115 роговици на година. Тази отрицателна промяна директно причинява затруднение и забавяне на кератопластиката при нуждаещите се пациенти и оттам – увеличаване на техния брой и периода на живот с нарушено зрение или слепота. Към настоящия момент не съществува централизирана база данни за броя кератопластики извършвани на национално ниво. По наши изчисления в последните 2-3 години се извършват приблизително 140-150 операции на година (лични наблюдения). Като потвърждение може да се разгледат данните от Изпълнителната агенция по трансплантации, която е публикувала информация за извършени кератопластики само в периода януари - май 2012 г. - общо 56 за страната. На годишна база това се равнява на около 135 операции или на трансплантационна активност от 18-19 на милион население за година. В прегледът на Fasolo и съавтори за този показател се публикуват данни, че за 2003 година в Италия той е 90, в САЩ - 127, в Испания 61 и в Холандия - 42 (94). Тази съпоставка нагледно демонстрира значително по-ниската трансплантационна активност в нашата страна, която по изчисления

за периода 1998 – 2000 г. е била почти 44 на милион/година – съпоставима със средноевропейските нива. В литературата не съществуват актуални данни за честотата на роговичните заболявания в България, налагащи кератопластика. В единствено популационно проучване за разпространението и причините за намалено зрение и слепота у нас в периода 1992-1993 година от Василева и съавтори в София-град и Софийска област, честотата на случаите със зрение на по-доброто око под 0,05 е била 0,49%, като при 3% от тях причината е засягане на роговицата (219).

Установи се, че и за двата периода основните две индикации за кератопластика са съответно булозна кератопатия и роговична ектазия/кератоконус – при практически еднакво процентно отношение в двете проучвания от съответно ~31% и ~19%. За разлика от тях, при кератопластиката се отчита съществено увеличение спрямо публикуваните от Василева данни за 6% в предишен период (218). Леко намаление (от 18,3% до 14,6%) се установи при кератопластиките поради роговична левкома. Наред със случайни вариации в честотното разпределение, тази промяна би могла да е свързана и с промените в условията за извършване на кератопластика у нас. При немалка част от заболяванията, завършващи с роговична левкома, увреждането е едностранно (очен херпес, травма, кератит и др.) при запазено зрение на другото око. В условията на силно ограничена наличност на роговична тъкан и нуждата от лично дофинансиране от страна на пациента за присаждането на роговица е възможно да се вземе решение за отлагане или пълно отказване от кератопластика при едностранно засягане.

Относителният дял на операциите за стромална роговична дистрофия бележи известно увеличение (13,5% спрямо 8,9% в проучване на Василева). Промяната в дела на кератопластиките поради такива заболявания са по-вероятно свързани с вариациите в съотношението на отделните показания за кератопластика, отколкото с изменения в тяхната честота и клиничен ход. За съжаление не можа да се извърши съпоставка с проучването от

1998-2000 година относно дистрофията на Фукс – в него това заболяване не е обособено в отделна група, а вероятно е класифицирано като дистрофия или булозна кератопатия.

Отчете се съществена динамика в честотата на трансплантации поради роговична язва или перфорация. Установи се трикратно намаление на тази индикация – от около 16,5% за 1998-2000 година до 5,4% за проучения от нас период. Развитието на консервативното лечение и алтернативни хирургични техники - например третирането на перфорации с цианоакрилатно или автоложно тъканно лепило (17) или покритието с алоамнион - могат да бъдат алтернатива на кератопластиката при определени случаи с нарушена роговична цялост. Но основната причина е свързана с промените в обема на трансплантационна дейност - в условията на хроничен недостиг на донори очните банки практически не могат да осигурят непрекъснато наличие на тъкан за трансплантация по спешност. При възникването на ситуация с нарушен (перфорация) или застрашен (язва, десцеметоцеле) интегритет на роговицата, която изисква извършване на трансплантация в максимално бърз и дори незабавен порядък, е напълно възможно такава да не може да бъде осъществена поради липса на донорна роговица. Така тези случаи се налага да бъдат третирани с алтернативни оперативни подходи за запазване целостта на очната ябълка (напр. тарзорафия или биологично покритие).

1.3. Особенности при показанията за операция в СОБАЛ „Акад. Пашев”

Основната група в настоящето проучване включваше 141 последователни ПКП, извършени в периода януари 2005 – декември 2010 година. Прегледът на техните оперативни индикации в голяма степен повтаря данните на национално ниво от Международна очна банка София, но с някои особености. За да потърсим обяснение за тях се направи анализ на пациентите, записани като чакащи за ПКП към клиниката. Булозната кератопатия и роговичната ектазия са на

първите две места по относителна честота (38,3% и 25,5%), всяка с по-голям относителен дял спрямо общите за страната. При листа на потенциални реципиенти разпределението е обратно – 26,4% спрямо 34,5%. Конкретно за пациентите с булозна кератопатия тази вариация е вероятно свързана с два фактора, произтичащи от нашата методика за разпределение на донорния материал при търсена оптимална разлика във възрастта между донор и реципиент. Установеното преобладаване на донори в напреднала възраст предопределя по-голямата честота на избор на по-възрастни реципиенти. Това обуславя по-висока вероятност за операция на пациенти с булозна кератопатия, които почти изцяло са във възрастовата група над 60 години. Също така развиващата се при напредване на заболяването болезнена кератопатия е допълнителна индикация за спешност и така се явява втори приоритетен фактор при това заболяване. Така относително по-бързото осъществяване на кератопластиката би могло да е причината за по-малкия относителен дял на чакащи за операция от тази група (спрямо този на вече оперирани). Нуждаещите се от кератопластика поради напреднала роговична ектазия са предимно по-млади (94% от оперираните с това заболяване при нас са под 60 години). Така малкият брой на млади роговични донори забавя операцията при тях и води до висок брой в листата на чакащи.

Друга диспропорция, която беше установена при сравнението на индикациите за трансплантация в нашата група пациенти, е разпределението в групата с рекератопластика. На фона на относително висок дял рекератопластики за страната (14,3%) прави впечатление малкият брой пациенти претърпели или чакащи за повторна операция в нашия център (съответно 4,2% и 6,2%). Не можа да се намери конкретна причина за тази разлика, която може да се отдаде на статистическата случайност. Друг вероятен фактор може да е нежеланието на пациентите за нова кератопластика поради свързаните с това финансови, физически и времеви ресурси при очаквано повишен риск за неуспех на евентуалния нов трансплантат.

При пациентите с роговична левкома разликата е доста по-малка – при 14,3% от оперирани за цялата страна, в нашия център относителният дял е 15,6%, а в листата за чакащи е 22,7%. В нашата болница към тази индикация спадат и случаи с перфорация или язва, третирани първично с друга процедура (тарзорафия, биологично покритие) поради липса на донорни роговици към момента на остро състояние (кератопластика а chaud) и извършена ПКП на втори етап. Тенденцията за намаление на операциите при такива роговични увреди е особено ясна от публикуваните данни за дейността на един роговичен хирург (П.И.В.) в периода 1996-2010 година – прогресивно намаление от 9% за 1996-1997 година до 0% за 2006-2010 година (виж Таблица 7).

Възприетата от нас методика за подбор на потенциалния реципиент се основава освен на степента на неотложност на състоянието (двуочно силно намалено зрение, болезнена кератопатия, единствено зрящо око) и на възрастовото съответствие с донора. Това води до по-голямо отлагане във времето на кератопластиката при пациенти с не толкова тежки изменения или извън основната възрастова група на донори, набирани от Международна очна банка София. Описани са и други показатели за разпределение за операция при елективни индикации за ПКП - например на базата на периода от вписване в листата на чакащи (70). Въпреки че така може да се осигури по-равномерен период на изчакване за всички пациенти, анализи показват, че в условията на недостиг на донорна тъкан прилагането на приоритетни показатели може да осигури по-ефективно разпределение на наличните ресурси и евентуално по-добър резултат (70).

2. Особености на проучените роговични донори

В стремежа да се осигури качествена и безопасна донорна роговична тъкан и да се намалят рисковете за реципиента в практиката на очните банки са въведени критерии за подбор, които

се базират на: общомедицински данни, серологичните изследвания, възрастта, причината за смърт на потенциалния донор, както и на оценката на самата роговица.

При първоначалното въвеждане на тези норми в практиката съществено внимание се е обръщало на възрастта на донора, поради ясно документираното намаление на ЕКГ (45) с напредване на възрастта. В резултат на това е поставено ограничение за горна възраст на донора от 65 години. Това води до висок процент на отказани случаи за роговично дарителство – при преглед на потенциалните донорски ситуации от Василева и съавтори за едногодишен период се установява, че 45% от тях са отказани поради по-висока от допустимата възраст по тогавашните световни стандарти (220). След масовото навлизане на спекуларната микроскопия в ежедневноата практика и с цел увеличаване броя на роговици за трансплантиране са приети промени и към настоящия момент широко разпространена практика е горният възрастов лимит да се определя от Медицинския директор на отделните очни банки. В създадената през 2007 година Международна очна банка София е заложено основно ограничение от 75 години. От наличните донорски досиета на проучената от нас група пациенти с кератопластика се установи, че 34% от донорите са били на възраст над 65 години. Така е създадена възможност за съществено увеличаване на предоставените за трансплантиране роговици, особено на фона на наблюдаваните тенденции за застаряване на населението. В американското проучване CDS е осъществено маскирано от участващите в изследването роговични хирурзи разпределение на роговици за кератопластика от донори на възраст 12 до 75 години и не е установена съществена разлика в резултатите от операцията (65). Значими възрастово-обусловени отклонения не са установени и при характеристиките на самите донорни роговици, освен очакваното нарастване на честотата на сенилния аркус (194).

Международна очна банка София допуска и използването на роговици от по-възрастни донори, но след задължителна спекуларна оценка на ендотела и съгласие от Медицинския директор - в

проучените 141 кератопластики при 3 са използвани роговици от донори над 75 години (2,7%). Това е относително нисък дял, но очертава тенденция, която се съобщава и от други очни банки - в Нова Зеландия донорите над 80 г. са 11% (72), в Австралия 7,3% от кератопластиките са от донори над 80 г. (232). На база на свое проучване Probst и съавтори съветват донорите след 75-годишна възраст да не се изключват автоматично, защото при голяма част от тях роговиците отговарят на необходимите критерии за дарителство (175). Съществуват съобщения, че нарастването на възрастта на донора е свързано с влошаване на една или няколко от роговичните характеристики и специално ЕКГ (65, 125, 199, 218, 232). При все това, данни за реално негативно въздействие върху успеха при кератопластика не се потвърждават в мнозинството проучвания и използването на роговици от възрастни донори за увеличаване на количеството донорна тъкан се препоръчва (65, 175).

По отношение на възрастовото разпределение на роговичните донори нашата група е сходна с публикуваните резултати за роговично дарителство – преобладават случаите над 50 години (72, 89, 232). Възрастовата структура се доближава много и до тази на CDS, чиито медиана, 25^и и 75^и персентил са съответно 61, 52 и 69 години (194). Друг показател, при който се установи сходство с това проучване, е по-големият брой случаи от мъжки пол – 63%, съпоставено с 66% за CDS. Cunningham и авторски колектив също отчитат по-голям дял на донорните роговиците от мъже – 64% (72).

Основните причини за смърт на донора на проучените от нас роговици са остри съдови инциденти: мозъчен кръвоизлив, исхемичен инсулт и миокарден инфаркт. Общият им дял е 66%. Мозъчните и сърдечни съдови инциденти са водещи и по литературни данни (194, 199). Като разлика спрямо повечето изнесени проучвания върху състоянието на донора трябва да се отбележи значителното преобладаване на случаите с мозъчносъдовите инциденти пред тези със сърдечния инфаркт (48,6% на 17,4%). Василева и съавтори определят сходен дял на тези две групи в разработката си за дейността на Очна банка през

1997 година (220). На база на техните данни и анализа на информацията от очни банки в Австралия, САЩ и Нова Зеландия (72, 194, 232) се констатира по-малък дял на предоставен материал от донори, починали в резултат от травма/интоксикация (9-11%) и тумори (15-19%) в настоящето проучване. Поради малкия брой на тези и на случаите с белодробна причина за смърт (по 1-7 случая в категория) в нашата група, не бе възможно ефективното им статистическо сравняване и се наложи тяхното по-общо прегрупиране.

Периодът на експлантация на донорните роговици от 4 до 20 часа за нашето проучване отговаря на стандартното изискване за взимане на роговичната тъкан до 24 час след смъртта. Средната му стойност е 10 часа, което е повече от публикуваната в други проучвания стойност от 6-7 часа (194, 199). Установеното при нас относително забавяне в експлантирането на роговиците често е свързано със затруднения при намирането и получаването на законово изискваното съгласие за дарителство от близките на починалия. Друг фактор е и съществуващата практика за изчакване на резултатите от серологичните тестове на донора преди фактическото взимане на роговичната тъкан. Това е свързано със съществуващите споразумения между различните организации и екипи, участващи в процеса на тъканно дарителство, както и на стремежа за максимална финансова ефективност и избягване употребата на ресурси за набавянето на негодна за трансплантация тъкан. Основните изменения, които се съобщават при удължаване на времето за експлантация са влошаване състоянието на епитела, нарастване на стромалния оток и гънките на Десцеметовата мембрана (194, 199, 218). Въпреки това, анализът на така набавените роговици показва висока цялостна оценка - при 67% от тях тя е много добра, при 9,2% е отлична и при 23,8 е добра. Не трябва да се пренебрегват и данните от големи анализи на експлантационна активност, като тези в Австралия, които показват възможност за роговично дарителство до 37 час след смъртта (232). Cunningham и съавтори отчитат цели 16% експлантирани рогови след 24^{ия} час в Новозеландската очна банка за периода 2000-2009

година, като не установяват значима връзка между този период и състоянието на роговиците (72).

Всички кератопластики в нашето проучване, за които успя да се анализира пълната документация от Очна банка, са извършени в рамките на 2 до 5 дни от клиничната смърт на донора. Сходни са били и сроковете при CDS - 3 и 5 дни за 25^и и 75^и перцентил (194). При него, а и при много други проучвания (140, 202, 223), не се установява съществено влияние върху резултата от трансплантацията. Отделни анализи отбелязват негативния ефект на удължаването на този период върху ЕКГ и състоянието на роговичния епител (30, 52, 123). Интерес представляват съобщенията за намален риск от имунно отхвърляне при съхранение на донорния бутон над 7 дена в хранителната среда (165, 188). Поради ускореното използване на предоставените роговици в нашето проучване това твърдение и влиянието на показателя като цяло не можаха да бъдат разгледани.

Средната ендотелна гъстота на използваните от нас роговици е висока - 3121 кл/мм², като само при четири случая нейната стойност е била под 2500 кл/мм². Прегледът на графиката на разположение на индивидуалните стойности и направената линейна регресия установиха леко намаление на ЕКГ с повишаване възрастта на донора, което потвърждава предишни наблюдения за нискостепенно намаление на този показател при възрастни индивиди (45). Конкретната зависимост в нашата група не можа да бъде описана точно чрез стандартните модели за линейна и нелинейна зависимост. Съществен проблем представлява повишената скорост на отмиране на ендотелните клетки след извършването на кератопластика. В извършеният от Armitage и съавтори анализ на резултатите за преживяемост на роговичния трансплантат след ПКП се определя теоретичен лимит от около 20 години при ЕКГ под 2000 кл/мм², а при 2500 кл/мм² - 30 години (29). Borderie и съавтори разглеждат група от пациенти със средна предоперативна ЕКГ от 2270 кл/мм² (43). При екстраполиране на своите данни те изчисляват вероятна 20-годишна преживяемост от 27%. На база на тези

изчисления може да се приеме, че възприетата от Международна очна банка София допустима долна граница за ЕКГ на донорната роговица от 2200 кл/мм² за много добър баланс между вероятност за дългосрочна преживяемост на трансплантата и осигуряване на максимално голям обем на донорна тъкан.

3. Особенности в предоперативния статус на реципиентите

Възрастовото разпределение на проследените 141 кератопластики има относително бимодално разпределение, свързано с особености в периода на проява на различните заболявания – роговични ектазии и стромални дистрофии при по-младите реципиенти и булозна кератопатия при възрастните (2/3 от пациентите над 60 г.). Подобни са и данните от ACGR, но с по-ранен първи пик в интервала 20-40 години и сходен втори на 60-80 години (232). Разликата при младите реципиенти отдаваме на възприетия протокол за осигуряване на възрастово сходство с донора в условия на много нисък брой млади такива (25^и перцентил за възраст на донора е 54 години). При оперираните поради булозна кератопатия установихме нисък дял на АБК – само 6 случая (11%). Този резултат отговаря на литературните данни за прогресивно и значимо намаление на тази група пациенти поради развитие на операционната апаратура и подобрене в дизайна на прилаганите ИОЛ в последните 20 години (80, 100).

В нашето проучване установихме висок процент на предоперативна роговична васкуларизация – 46,8%. Съпоставката с анализи, които предоставят данни за този показател, разкри обикновено ниски стойности – за CORTES делът е 16% (93), а за ACGR и проучване на Тап и съавтори – около 32% (202, 232). При отделни публикации са цитирани високи стойности, близки до получената при нас. В Индия от прегледани 1725 случая са установени 41,3%, 12,3% от които със стромални съдове (74). Като

дискусия на общите си резултати авторите дискутират незадоволителните условия на очна помощ, с което обясняват лошия предоперативен статус и резултати. При някои от анализите са включени само пациенти с дълбока васкуларизация. Price и съавтори установяват такива при 8,2% от прегледани над 6600 кератопластики (176), а в насоченото към високорискови реципиенти CCTS са били 24% (215). За нашата група стромални съдове са установени при 29,7%. При сравняване на роговична васкуларизация в зависимост от индикацията за операция установихме нисък относителен дял при случаите със стромална дистрофия (след наслагване на инфекция при рецидивиращи ерозии при продължително отлагана ПКП) и особено с ектазия (резултат от претърпян остър кератоконус). Niziol също отбелязва такава тенденция – при случаи с кератоконус само в 5% са установени роговични съдове (160).

В литературата не се откриват много данни за реалната площ на роговичната васкуларизация, макар че тя се разглежда като рисков фактор. Най-изчерпателни са данните на ACGR, според които делът на случай с нарастващ брой ангажирани квадранти от нула до четири е съответно 67,9%, 6,4%, 10,8%, 5,6% и 9,2% (232). В нашата група има много висок дял случаи с тотална васкуларизация – разпределението е 53,2%, 1,4%, 11,3%, 4,2% и 29,9%. С относително най-високостепенна васкуларизация се откриха пациентите с булозна кератопатия и левкома. Тези данни показват, че голяма част от нашите пациенти са високорискови. Причината за това неблагоприятно предоперативно състояние следва да се търси не в профила на заболяемостта, а в забавеното лечение. Докато при случаите с левкома или рекератопластика роговичната васкуларизация е много честа, то при булозна кератопатия и дистрофия на Фукс тя е белег за много напреднал клиничен ход. Забавянето на кератопластиката в такива случаи довежда до влошаване състоянието на пациента, затруднява извършването на самата трансплантация и може реално да застраши успеха от нея. Не по-маловажен е и фактът, че поради това забавяне, породено от неправилно лечение или липса на донорна тъкан, пациентът е

принуден да живее с влошено зрение, което оказва негативно отражение на него и близките му, и е свързано с повишена нужда от медицински грижи и свързаните с това финансови разходи. Като допълнителни доказателства за забавянето на оперативното лечение и съответния негативен ефект насочват още две наблюдения от нашата група. Прегледът на медицинската информация на два от случаите с роговична левкома установи, че първопричината за увреждането е катарактна екстракция с последваща булозна кератопатия. Второто е насоченият анализ на случаите с булозна кератопатия, при почти 30% от които е имало субепителна и/или стромална фиброза – късно роговично изменение (23), което възниква поради дългосрочен оток и нарушение на епитела.

По отношение на предоперативните нарушения на очната повърхност и предна очна камера в литературата няма много съобщения. И при двата показателя се установява големи различия в отделните индикации за ПКП – в групата с ектазия не е установено нарушение на очната повърхност и има само един случай с промени в предна камера, докато при булозна кератопатия отклонения има съответно в 76% и 46,3%. С неблагоприятен профил на тези показатели са били и пациентите с левкома и рекератопластика. Основно внимание в литературата се обръща конкретно на предните синехии, поради съобщенията за увеличен риск от имунно отхвърляне (165). От проследените над 3992 ПКП, извършени в един оперативен център, Price и съавтори намират данни за синехии при 329 случая (8,2%) (176). Проучване при японска група пациенти установява подобни изменения при 19,3% (111).

Сред проучените от нас случаи при 21,3% има предоперативни данни за глаукома или високо ВОН. Прегледът на литературата за близки по период на проследяване изследвания с данни за този показател установи честота в диапазона 9-17% (93, 176, 195, 202, 232). Умереното увеличение на дела на тези пациенти би могъл да се разглежда като резултат от забавяне на роговичната

трансплантация, особено в групата на булозната кератопатия, където при 33% от случаите се установи повишено ВОН/глаукома.

4. Преживяемост на роговичния трансплантат

За периода на проследяване 95 роговичните трансплантати са останали прозрачни (64,7%). Каплан-Майер анализът определи кумулативна 3-годишна преживяемост на групата от 69% и 5-годишна - от 65%. Съпоставката с големи съвременни проучвания разкри значително по-добри резултати за 5-годишната преживяемост в проучването на Thompson и съавтори (90%), и CORTES (83%) (93, 207). Висока успеваемост се съобщава и в проучването на Inoue и сътрудници - на 10-тата година прозрачни са 79,3% от трансплантатите (111). Същевременно, нашите данни са съпоставими с 3-годишните данни от проучените високорискови реципиенти в CCTS - 65% (196) и проследената кохорта в Сингапур от Tan (69,3%) (202). При азиатската група 5-годишните резултати са дори по-лоши (60,7%) от установените при нас. За същият период от време ACGR (232), Corneal Graft Outcome Study (CGOS) (189) и проучването на екипа на Beckingsale (36) публикуват близки до нашите резултати - съответно 73%, 64,5% и 66%. По-лоши резултати са предоставени от анализа на кератопластики в Индия за периода 1987 - 1995 година - 46,5% (74).

Директното съпоставяне на резултати за преживяемост между различни анализи следва да се прави с известна предпазливост, поради разликите в класифицирането и профила на индикациите за операция и евентуални ограничителни критерии – така от CGOS са изключени пациенти с рекератопластика поради по-лошата си прогноза (189), а в замисленото като проучване на случаи с умерен риск CDS са проследени основно пациенти с ПБК, АБК и дистрофия на Фукс (194). Fasolo и съавтори свързват високата преживяемост в CORTES с необичайно големия дял на операции за ектазия (49,1%), който определят като нискорискова диагноза. Индивидуалната

преживяемост за тази индикация в проучването им е наистина висока - 96% за 5-годишно преживяване (93). Прегледът на литературните данни показва подобни, много високи резултати в диапазона 95 - 100% (36, 111, 189, 202, 232), включително и при анализа на Dandona - 95,1% (74). Каплан-Майер анализът за постоперативния резултат и на нашата група потвърждава "благоприятния" характер на роговичната ектазия с кумулативен дял на неуспешни операции на 5^a година от едва 5,6% (94,4% преживяемост). Дори и при дългосрочно проследяване успешните трансплантации остават с висок относителен дял, като например според ACGR 15-годишната преживяемост е 78%. От друга страна Beckingsale свързва големия дял пациенти с рекератопластика (41%) с негативен ефект върху общата преживяемост. При тях 5-годишната успеваемост е 55% (36). Thompson и съавтори са установили, че за тяхната група с пациенти при първа рекератопластика този дял е 53% спрямо 90% при първа кератопластика (207). Същият резултат е изведен от анализа на ACGR (232), а проучванията на кератопластики от Сингапур и Индия извеждат доста по-ниска успеваемост от съответно 18,3% и 21,2% (74, 202). Тези незадоволителни резултати за конкретната индикация и като цяло авторите отдават на специфичната заболяемост за техните страни и непълноценната офталмологична помощ, както и на високия брой тектонични и терапевтични кератопластики, които имат по-ниска преживяемост. При наличие на достатъчно случаи е възможна и оценка на влиянието не само на рекератопластиката като показание за операция, но и на поредния брой извършен трансплантат. Така например в ACGR преживяемостта за 2, 3 и 4 поредно присадена роговица намалява прогресивно: 58%, 48% и 36%. Ниският брой случаи с рекератопластика в проучването ни (само 6) влошава надеждността при интерпретирането на резултатите за тази група (50% преживяемост).

По същата причина с внимание трябва да се разглеждат и данните за дистрофията на Фукс (също 6 случая и 0% кумулативна преживяемост). Проучвания с голям брой такива пациенти от САЩ цитират висока успеваемост на 5^a година – 93% за проспективното

CDS (195) и 97% в групата на Thompson (207). Трябва да се отбележи, че в CDS са включвани само умеренорискови пациенти – така например не са допускани случаи със значима роговична васкуларизация. При прегледът на информацията от ACGR и проучване на Tap и съавтори се установи по-умерен успех от 81% (232) и дори нисък от 58% (202) съответно. Преживяемостта на включените в CORTES пациенти с Фуксова дистрофия е междинна – 87% (93). Големият процент на неуспешен изход след ПКП за малкото случаи с дистрофия на Фукс (4 помътнели трансплантата от общо 6 случая) вероятно нарушава статистическата оценка в проучване ни.

По наши данни за 5-годишно проследяване в групата с булозна кератопатия 51,3% от случаите са с прозрачен трансплантат. Този сравнително нисък резултат се потвърждава от Borderie и съавтори, в чиито анализ на 1144 операции от френски център се посочва преживяемост за същия период от 58% (43). Сходни данни се установяват и при ACGR - 60% (232), CGOS - 5% за ПБК и 64% за АБК (189) и изследване на Claesson за Швеция - 48% (63). В отделни проучвания се отчита повишена успеваемост при случаи с булозна кератопатия: за CORTES (93) тя е 67%, в CDS е изчислена на 73% (195), а по данни от Великобритания – 84% (36). Тези различия се приписват на добрата оперативна техника и прилаганата постоперативна терапия, но удължаването на наблюдението при второто проучване установява значително намаление на преживяемостта до 42% на 8^a година. Нееднородните резултати при проследяването на пациенти с булозна кератопатия и дистрофия на Фукс вероятно са свързани със състоянието на роговичния ендотел. Особено при ПБК и АФК ендотелът на реципиента е силно увреден и по литературни данни понижението на ЕКГ е по-ускорено спрямо случаи с интактен ендотел (напр. стромална дистрофия) (60). Така специфични различия в терапевтичния режим – размер на донорния бутон и съответно трансплантирания жизнен ендотел, кортикостероиден режим и др. – могат да доведат до по-добра или по-лоша постоперативна преживяемост.

По отношение на стромалните дистрофии наличните проучвания дават почти еднаква характеристика на благоприятна прогноза с 5-годишна преживяемост от около 82-90% (43, 93, 189, 232). По наши данни този дял е 81,9%. Както и при кератоконуса засягането е само и единствено на роговицата и обикновено не води до изменения в останалия очен статус. Като евентуален рисков момент при тези две групи индикации следва да се обсъжда опасността от рецидив на основното заболяване (173, 218).

Към групата с левкоми в нашето проучване са причислени случаи с херпетичен цикатрикс, посттравматична увреда, химически изгаряния, краен стадий на булозна кератопатия, експозиционна кератопатия и роговично стапяне. Малкият брой случаи за тези подгрупи прави тяхното обособяване и статистическо анализиране поотделно неефективно. Затова те се разгледаха общо и се установи 5-годишна преживяемост от 45,5%. В анализа на Dandona са включени групи с роговични белези и адхерентна левкома (74) с успеваемост на 5^a година от 52,2% и 31,5%. В проучване от Франция с проследяване на пациентите в периода 1992 до днес е включена група с неинфекциозни левкоми с преживяемост 83,6%. За случаите с херпетичен кератит в CGOS е установена успеваемост от 65%, но не е уточнено дали се касае само за левкоми или и за активен процес (189). Според ACGR постхерпетичните левкоми са с успеваемост от 81% (на 5 година). При тези проучвания не е поместена информация за евентуално прилаганата специфична допълнителна терапия с противовирусни препарати. Такава е упомената при прегледа на група терапевтични трансплантации с обособена групата пациенти, към които спадат и засягания от herpes simplex вирус. Тяхната 2-годишна преживяемост е била 80% - успех, който се свързва с продължително приложение на ацикловир (61). В свое проучване, съпоставящо особеностите и успеха от ПКП при случаи с херпетичен и нехерпетичен кератит, Halberstadt и съавтори отчитат по-лоши прогностични фактори в първата група (васкуларизация, епизоди на имунно отхвърляне), но установяват сходна 5-годишна преживяемост от 41% и 50%. Сред факторите за това те обсъждат и приложената противохерпетична терапия (103).

В нашето проучване не се установиха случаи на първично отхвърляне на трансплантата. При съвременните методи за оценка и съхранение на донорния материал, очните банки успяват да сведат до минимум вероятността от предоставяне за операция на некачествена роговица. В прегледа си на извършени роговични трансплантации за периода 1998 – 2000 година Василева установява 3 случая на това усложнение (218). Толкова случаи са съобщени и при извършените 1090 операции в CDS (65). Липсата на първично отхвърляне в нашата кохорта е резултат както на високото качество на предоставените роговици, така и на добрата оперативна техника, която е предотвратила значима интраоперативна травма на роговицата.

Имунното отхвърляне е сред основните причини за неуспех след ПКП. От установените в анализа на Василева 57 неуспешни трансплантата, то заема водещо място с 40,8% пред ендотелната декомпенсация с 28,2% (218). При 10-годишно проследяване на Ing и съавтори върху 394 кератопластики тези две причини също са най-чести - честотата им е съответно 28% и 24% (110). От най-голямото проучване по регистър с данни - ACGR – са изнесени данните за 2894 увредени трансплантата. Най-голям е дялът на имунно отхвърлените такива – 31%, следван от ендотелната декомпенсация – 21%, инфекция – 13% и глаукома – 8% (232). При неуспешните 385 кератопластики в кохортата на Thompson най-честа е била ендотелната декомпенсация с 29%, следвана от имунното отхвърляне с 27% (207). За CDS, насочено към пациенти с предполагаем умерен риск, то заема първо място като причина за неуспех с 35,5%. На второ е ендотелната декомпенсация с 34%, като при половината от тези случаи е имало епизод на имунно отхвърляне в предишен момент от проследяването (65). В анализа на CORTES дялът на неуспешни трансплантации поради имунно отхвърляне (17,8%) е надминат отново от неимунното отмиране на ендотела, което достига 49,5% (93). В него третата причина за неуспех, също както при ACGR, е инфекцията, отговорна за 8,4% от помътнелите роговици. По същия начин са подредени тези 3 причини и при изследването на азиатска популация от Tan –

съответно с по 29,2%, 21,4% и 11,9% (202). В двете проучвания има съвпадение и за четвъртата по честота причина, която е глаукома. От своето проследяване на оперирани с ПКП Price и съавтори установяват нисък брой случаи с инфекция, които дори не публикуват. Основни при тях са ендотелната декомпенсация (30,1%), имунното отхвърляне (27,9%) и нарушенията на очната повърхност (18,0%). Различието в относителната стойност и разпределението на отделните причини е свързано с различни показатели, които имат големи различия между отделните популации (176). При 46 от нашите случаи е настъпило помътняване на трансплантата. Необратимо имунно отхвърляне е причинило неуспеха при 47,8%. При други 11 случая (23,9%) в постоперативния период е имало поне един епизод на имунно отхвърляне, който обаче не е довел директно до декомпенсация на трансплантата. Относителния брой случаи с имунно отхвърляне на трансплантата при нашето проучване е по-висок от представените в литературата данни. При съпоставянето на причините за неуспех е възможно да се отчетат различия поради диагностичните критерии, които са възприети от изследващите. Конкретно за нашия анализ предполагаемото обяснение за големия брой имунни отхвърляния е влошеният статус на реципиентите – конкретно висок процент случаи с роговична васкуларизация и увредена структура на предна очна камера, които доказано повишават риска за провокиране на реакция на отхвърляне (165).

Проследяването на нашите оперирани потвърди публикувани в литературата наблюдения, че най-високият риск от неуспех и увреда на роговичния трансплантат съществува в първите години след ПКП. През първа и втора постоперативна година отчетохме по 17 случая с неуспех, които в следващите година спаднаха прогресивно до един единствен в петата (вж. Таблица 10), а в по-дългосрочно проследяване не настъпиха нови. Половината терминални увреди на трансплантата в CORTES са настъпили през втората постоперативна година, при цялостен обхват за настъпване на такива събития от 0 до 5,6 години (93). В своята статия Ing и съавтори споменават, че голяма част от необратимите имунни отхвърляния в техния анализ са през първите 2 години след ПКП, но

не предоставят конкретни стойности (110). Сходно наблюдение, също без действителни стойности за помътняване на трансплантата, е направено и от Thompson, без значение от причината за увреда (207). Установихме подобно разпределение и при развитието на реакции на имунно отхвърляне - в първите 2 постоперативни години такива са диагностицирани при 87,7% от всички засегнати за цялото проследяване 49 пациенти (34,7% от групата). В публикувани данни от CDS за рисковите фактори за реакция на отхвърляне е установена такава при общо 21% от пациентите, като за първите две години прогнозирания дял е 17%, т.е. над 80% процента от всички реакции (193). Преглед на 1438 кератопластики е установил имунна реакция при 299 от тях (20,8%). Въпреки приложеното лечение 48,5% от тях прогресирали необратимо и трансплантатът се отхвърлил (102). При проучване от Англия честотата на имунни реакции е почти еднаква (21,2%), а обратимостта при провеждане на имunosупресивно лечение достига до 62%. За нашата група при 65,3% от засегнатите пациенти реакцията е довела директно до помътняване на трансплантата. И по двата показателя (честота на реакции и обратимост на реакция) нашите данни показват по-лоша прогноза от обсъдените тук, което също потвърждава предразположението към имунен епизод на отхвърляне. Наред с измененията в очния статус, които улесняват задействането на имунни клетки спрямо донорната роговица, незадоволителната обратимост на вече развитата реакция на отхвърляне се дължи и на пропуски в придържането на пациентите към постоперативните им предписания. Въпреки стриктните указания за типичните белези на имунно отхвърляне и нуждата от незабавно търсене на медицинска помощ се установиха няколко случая на значително забавяне на явяването за преглед поради затруднения при организирането на транспорт до клиниката или невнимание от страна на пациента (непубликувана информация). В заключение на своят анализ за рискови фактори за помътняване на трансплантата Thompson и съавтори наблягат именно на нуждата да се разяснява на всеки пациент с кератопластика типичната картина на имунното отхвърляне и нуждата от незабавна очна консултация поради

възможността за възпиране на процеса. Дори и само при единичен признак за реакция към трансплантата, те препоръчват започването на интензивно лечение с кортикостероиди (207). На база на тези наблюдения е препоръчително честотата на контролни прегледи на пациента през първите две години след кератопластиката да се планират в по-кратки интервали спрямо по-късните периоди на проследяване за осигуряване на по-ефективен лекарски контрол в най уязвимия за трансплантата период. При пациенти с херпетично засягане в миналото важен момент в диференциално-диагностично отношение е и разграничаването на рецидивиращ херпетичен кератоувеит от реакция на имунно отхвърляне, което понякога не е възможно (236).

5. Влияние на предоперативни фактори върху преживяемостта на трансплантата след ПКП

Първоначалната оценка за възможно влияние на различни показатели от статуса на реципиента или донора извършихме чрез еднофакторно съпоставяне с постоперативната преживяемост на трансплантираните роговици. При интерпретирането на резултати от еднофакторни статистически методи трябва да се има предвид, че поради техния принцип на директни единични сравнения, при увеличаване броя на проучваните фактори нараства и рискът от грешни изводи поради потенциалното наличие на допълнително влияние от други показатели върху разглежданото взаимодействие. За да избегнем това се извърши повторно анализиране на всички фактори чрез множествен регресионен анализ, който е в състояние да дискриминира и оцени такива въздействия (14). Като последна стъпка в анализа се изгради многофакторен модел с премахване на маловажните фактори, за да намалят слабите статистически влияния от по-маловажни фактори и демонстрират по-ясно независимите рискови фактори.

При еднофакторна оценка отчетохме значимо негативно въздействие на женския пол за преживяемостта на роговичния трансплантат. Преобладаващото мнение в литературата е, че полът на реципиента не оказва влияние (74, 195, 232), но има и съобщения за влошена прогноза при мъже реципиенти (189, 202). Не бяха намерени проучвания, които да подкрепят нашия резултат, който не се потвърди при множествена регресия. Прегледът на литературата не установи и теоретична постановка за начина на влияние на пола върху роговичния трансплантат.

Отново само при еднофакторен анализ се определи влошена прогноза за трансплантата при възрастни над 60 годишна възраст. Анализът на възрастта като интервална величина показва много слабо нарастване на риска с възрастта при $RR=1,03$ за година. Подобна връзка се съобщава и от изследователите на CGOS (189), които възприемат тезата, че намаляването на шансовете за успешна ПКП се дължат на спада в собствената ендотелноклетъчна популация на реципиента. Inoue също отчита нарастване на риска при по-възрастни пациенти (111). При проучвания в групи с повече млади реципиенти се установява влошена преживяемост в групата до 20 години (202, 232). Поради възрастовия профил на групата пациенти не бе възможно да проверим тази предполагаема зависимост, която се отдава на особености в имунитета (215). Трета група проучвания не асоциира възрастта на реципиента с ефект върху преживяемостта на трансплантата (93, 207).

Индикацията за ПКП демонстрира силна статистическа значимост при еднофакторния ни анализ. При многофакторна съпоставка в първия модел с включване на всички проучени фактори тази значимост не се отвърди ($P=0,22$), но при елиминационния модел бе запазена като значим независим рисков фактор за преживяемостта. Поради предполагаемо по-високата информативна стойност на последния, се приеха неговите показания, които демонстрираха статистически ефект с реално негативно влияние спрямо референтната група (роговична ектазия) само при дистрофия на Фукс (95% CI=2,69-264,09). Необходимо е този резултат да се

провери с по-голям брой случаи поради вероятно статистическо отклонение. Интерес заслужават данните на Tap и съавтори (202), според които ендотелната дистрофия е също високорискова диагноза (RR=121, 95% CI= 2.83-5190.51). Предоперативната индикация левкома в нашия анализ достигна гранични стойности на значимост (P=0,06, 95% CI=0,92-68,01). Роговичната ектазия и конкретно кератоконусът са индикацията с най-добра прогноза по литературни данни (43, 93, 189, 218, 202, 232). Преобладаващият подход за сравнение между отделните заболявания е чрез директна съпоставка на следдоперативната им преживяемост. Освен това CORTES предоставят и регресионна съпоставка, съгласно която рискът при рекератопластика е 3 пъти по-висок от този при кератоконус, а при ПБК - 6 пъти (93).

От резултатите за ефекта от вида и площта на предоперативната роговична васкуларизация в нашата кохорта при еднофакторно анализиране се установи статистически значим ефект, по-силен при стромални и смесени съдове спрямо повърхностните такива. С нарастването на ангажираната част от роговицата също се отчете повишаване на риска. При многофакторен анализ и с двата използвани модела тези зависимости не запазиха своята значимост. Литературните сведения несъмнено установяват негативния ефект от роговичната васкуларизация (33, 93, 111, 207, 232). С по-голяма надеждност на твърдението следва да се разглежда доказването на влияние върху преживяемостта на трансплантата при значим резултат на множествена регресия. Такива данни са установени на ниво васкуларизация от всякакъв тип (74, 189, 202) или само за стромални съдове, които се възприемат като носещи по-висок риск от провокирането на имунно отхвърляне (215). Най-висока достоверност може да се търси от метаанализи по темата, какъвто е осъществен от Bachmann и съавтори (33). В него се обединява информация от проучвания върху 24944 кератопластики. Общият относителен риск при наличие на васкуларизация предоперативно е изчислен на 1,32. Отчетено е и нарастване на риска свързано с броя квадранти на роговицата, ангажирани от съдове. За нашата кохорта

наличието на васкуларизация е свързано с повишен риск от негативен резултат, но като резултат и от други, допълнителни предоперативни фактори.

Състоянието на очната повърхност не бе свързано с влияние върху риска за трансплантата при еднофакторното ни сравнение. Данните от първия, общ многофакторен регресионен модел показваха, че нарушенията на очната повърхност са имали протективен ефект при нашите пациенти (RR=0,18, 95% CI=0,04-0,74). Справка с литературата не откри подобни съобщения или обяснение за подобно влияние. Затова се прие, че е аномалия при статистическата обработка на информацията.

Наличието на периферни предни синехии е доказано свързано с влошена прогноза за роговичния трансплантат (140, 176). Предишни проучвания с множествена регресия за оценка на рисковите фактори при ПКП определят двукратно повишен риск при тяхното наличие (189, 228). Съществуват и проучвания, които обръщат внимание на нарушенията на ириса като причина за развитие на постоперативни усложнения (31, 148). Така, наред с козметичния и оптичен ефект от иридопластиката, те обсъждат и протективен ефект специално за възможността от развитие на синехии и глаукома. Насочени от тези съобщения обединихме тези две групи нарушения (синехии и дефекти на ириса и зеницата) в един фактор – състояние на предна очна камера - и проверихме за наличие на въздействие върху преживяемостта на трансплантата. Такава връзка се доказва при всички използвани регресионни модели (едно- и многофакторен), като вероятността за увреда на трансплантираната роговица е три пъти по-голяма при наличие на изменения. Този резултат потвърждава потенциалната полза от комбинирани операции на преден очен сегмент (ПКК с пупилопластика и/или синехиолиза).

При оценката на ефекта от предоперативната глаукома или очна хипертензия се определи такъв само при еднофакторната регресия с относителен риск 3,05. Липсата на значим резултат при многофакторния модел свидетелства за потенциална роля на това заболяване при увредата на роговичния трансплантат, но тя не е

достатъчно значима в изследваната група случаи. Анализи върху големи групи пациенти като CCTS и CORTES установяват отчетлив ефект от предоперативната глаукома (215, 232) с относителен риск около 3,0 (232, 244), което е съпоставимо с нашите резултати.

Статусът на пациента по отношение на вътреочната му леща (факичен, псевдофакичен, афакичен) е потенциално важен фактор поради голямата честота на лещена хирургия, а и на някои специфични усложнения при нея (2), налагащи извършване на роговична трансплантация (ПБК и АБК). При нашето проучване пациентите със запазена собствена леща са били с относително най-нисък риск от необратима увреда на трансплантираната роговица. При множествен регресионен анализ по данни от регистър на чакащи за кератопластика Turpin и съавтори също отчитат значимо завишен брой на псевдо- и афакия при случаи с помътнял трансплантат (214). При еднофакторното анализиране на статуса на лещата установихме по-нисък относителен риск при случаите с афакия спрямо тези с имплантирана ИОЛ - 2,82 спрямо 3,73. При 10-годишно проследяване Ing и съавтори отчитат най-ниска относителна загуба на ендотелни клетки при афакични пациенти спрямо тези с псевдофакия (110). Относно степенуването на риска съществуват много различни становища, включително за неголямо различие по данни на ACGR (RR=1,6 при афакия и RR=1,4 за псевдофакия) (232), за-по добра прогноза при псевдофакични реципиенти (93) или при афакия (111). Интерес заслужава оценката за влиянието на статуса на лещата и във връзка с промени по време на самата ПКП (вторична имплантация на ИОЛ, подмяна на ИОЛ и т.н.), каквато е извършена в CDS (195). Този фактор е извън предварителния план на настоящия труд и подлежи на разглеждане в бъдещи анализи.

В настоящето проучване не се установи съществено влияние на фактори на донора върху постоперативния резултат, включително ендотелна гъстота. Анализът на последната е донякъде затруднен поради малкия брой донорни роговици с ЕКГ под 2500 клетки/мм² (само 4). Поради липсата на пролиферативен потенциал при

ендотелните клетки и ускорената им загуба след кератопластика (45) на тяхната преживяемост се отдава основно значение за успеха на роговичната трансплантация. Заради това по правило от хирурзите се предпочитат роговици с по-висока клетъчна гъстота. От Международна очна банка – София се предоставят за оптична кератопластика само роговици с гъстота над 2200 клетки/мм². Чрез този критерий, възприет от повечето очни банки, се осигурява достатъчна преживяемост според средно- и дългосрочните изследвания (93, 197, 202). В тези проучвания също не се установява значим ефект от различни фактори от демографията и статуса на донора върху постоперативния резултат. Нашите данни за отсъствие на повишен риск от неуспех при възрастни донори (>65 години) са потвърждение на съвременните анализи и стандарти за донорство (35, 65, 197, 202), което позволява да се увеличи броя потенциални донори.

Изводът, че проучените фактори на донора не влияят на преживяемостта на трансплантата след ПКП в проучената популация, следва да се разглежда в контекста на използваните критерии за оценка и приложение на донорна роговична тъкан. Дейността на Международна очна банка София се базира на спазване на международните изисквания в областта на очното банкиране. По наше мнение, настоящите резултати потвърждават ефективността и целесъобразността на прилаганите от нея стандарти за подбор на потенциални донори, експлантиране, оценка и съхранение на роговиците, които са подходящи за кератопластика. С изключение на демографските фактори, повечето проучени от нас показатели на реципиента могат да бъдат моделирани поне частично чрез ефективни профилактични или терапевтични въздействия. Това трябва да се има предвид от всички офталмолози и конкретно от роговичните хирурзи, за да може да се осигури на нуждаещите се пациенти оптимална прогноза при извършването на ПКП.

6. Ограничения на настоящето проучване и насоки за бъдещи изследвания

Като основен ограничаващ момент при нашето изследване може да се разглежда сравнително ограничен брой включени случаи. Това намалява сигурността на статистическия анализ и затруднява оценката на определени по-редки състояния (напр. добра оценка на ендотела, случаи с ендотелна дистрофия). Утежняващ момент се явява ниският брой извършвани роговични трансплантации в България изобщо, както и времеви ограничения, налагани от формата на дисертационния труд. Взетото решение проучването да бъде едноцентрово допълнително намали броя на проучените случаи. Предимството на така избрания подход е осигуряването на стандартност по отношение начина на оценка, лечение и проследяване на пациентите в пред- и постоперативния период, като така се сведе до минимум опасността от странични въздействия и разнородност при набиране на информацията. Извършването на всички ПКП от един хирург също така гарантира максимално сходство по отношение на оперативната техника и въздействие върху донорния бутон и окоето на реципиента.

Необходимо е започнатото проследяване на бъде продължено и да се включат случаите от по-нови периоди след 2010 година. Увеличеният брой изследвани субекти би следвало да повиши ефективността и информативната стойност на статистическия анализ, както и да позволи проучването на допълнителни фактори или уточняването на вече разгледани (напр. прогностичното значение на различните заболявания, причиняващи левкома).

Друга насока за бъдещо развитие е създаването на централизиран регистър на национално ниво за извършените кератопластики в България. Това би позволило анализирането на информацията за всички извършени роговични трансплантации в страната. Така, освен възможността за много точна епидемиологична информация за причините и честотата а роговична

слепота на национално ниво, ще се създаде и способ за детайлно анализиране на различни прогностични фактори и усложнения при прилаганите техники за кератопластика.

VI. ИЗВОДИ

1. Перфоративната кератопластика е основният метод за лечение на роговична слепота за периода 2007-2011 година.
2. Най-честите причини за ПКП в България са булозната кератопатия и кератоконусът.
3. Наблюдава се изразен недостиг на донорен материал и забавяне извършването на ПКП; липсват роговици за спешни оперативни интервенции.
4. В резултат на забавяне на оперативното лечение се наблюдава по-голям дял на болните с тежки степени на роговична увреда.
5. Прилаганите от Международна очна банка - София процедури по експлантация, оценка, съхранение и транспортиране на донорни роговици осигуряват висококачествена и безопасна тъкан.
6. Изследваните показатели на донора и донорната роговична тъкан не оказват съществено влияние върху преживяемостта на роговичния трансплантат.
7. Състоянието на реципиента и неговото заболяване са основните определящи фактори от предоперативния период за успеха след ПКП.
8. Имунното отхвърляне е основната причина за помътняване на роговицата след ПКП.

VII. ПРИНОСИ

A. Научно-теоретични приноси

1. Извършен е обстоен литературен преглед и се анализираха причините за извършване на перфоративна кератопластика.
2. Направен е преглед на актуалната информация и се класифицираха факторите, влияещи върху изхода на роговичната трансплантация.

Б. Потвърдителни приноси

1. Потвърди се повишеният риск от имунни реакции на отхвърляне и/или неуспешен изход от кератопластиката през първите две години след самата трансплантация.
2. Установи се влияние на показателите на реципиента върху постоперативния резултат при ПКП.
3. Доказа се, че индикацията за кератопластика и патологичните изменения в структурата на предна очна камера – предни синехии и нарушена ирисова структура - са независими рискови фактори за преживяемостта на трансплантата.

В. Научно-приложни приноси

1. Анализ на индикациите за кератопластика на национално ниво за периода 2007 – 2011 година.
2. Представяне на тенденции в показанията за ПКП в България.
3. Създаване на регистър за извършени кератопластики на болнично ниво.

4. Провеждане на проспективно едноцентрово стандартизирано проследяване на група пациенти след роговична трансплантация с цел намаляване влиянието на странични фактори при диагностиката и лечението им.
5. За първи път в България е извършен многофакторен анализ на предоперативните рисковите фактори при ПКП.
6. Демонстрираната липса на влияние на фактори от страна на донора доказва ефективността от прилаганите в момента стандартни процедури по набиране и оценка на донорната роговична тъкан.
7. Установи се необходимостта от ефективно лечение и подготовка на реципиента преди извършването на ПКП с цел подобряване прогнозата след трансплантата.

ПРИЛОЖЕНИЯ

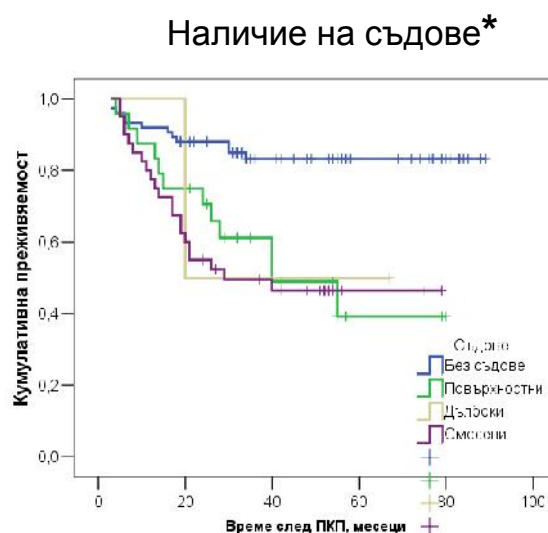
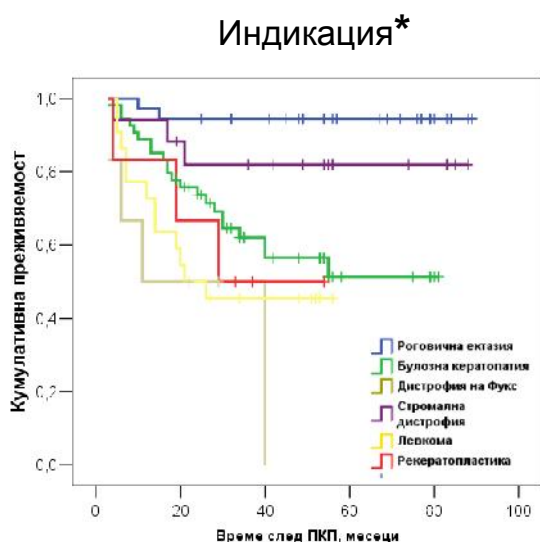
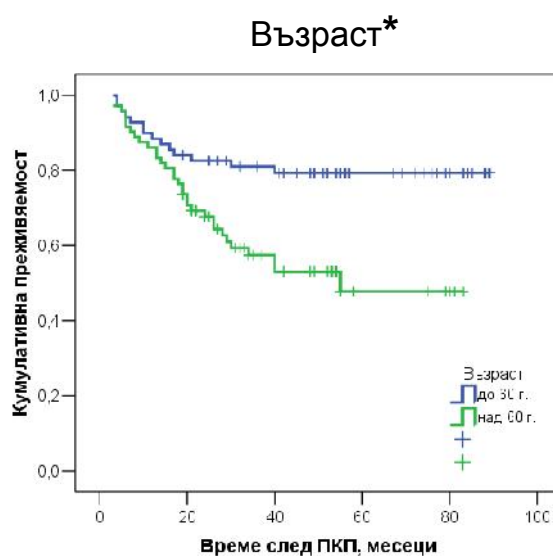
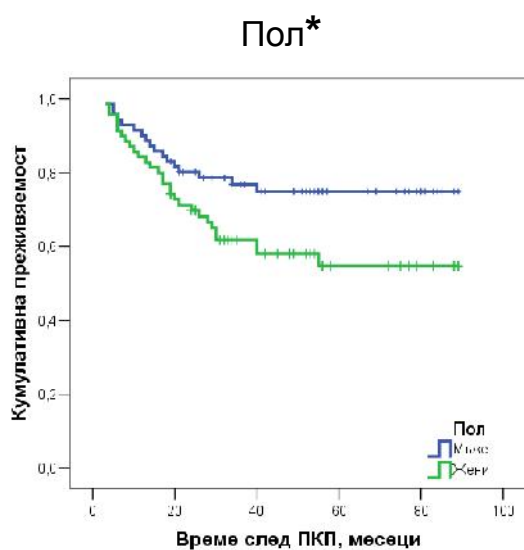
Приложение 1. Индикации за перфоративна кератопластика

1. Псевдофакичен роговичен оток	5. Ектазия
Псевдофакична булозна кератопатия	Преден кератоконус
Преднокамерна ИОЛ	Пелуцидна маргинална дегенерация
Ирис-фиксирана ИОЛ	Кератоглобус
Заднокамерна ИОЛ	Заден кератоконус
2. Афакичен роговичен оток	6. Вродени мътнини
Афакична булозна кератопатия	Аномалия на Петерс
Синдром на витреоретинален контакт	Глаукома/Буфталм
3. Стромални роговични дистрофии	Аниридия
Грануларна и Авелино дистрофия	Склерокорнея
Латисова дистрофия	7. Вирусни/Поствирусни кератити
Макуларна дистрофия	Herpes simplex вирус
Кристалинна дистрофия на Шнайдер	Varicella zoster вирус
Централна дистрофия на Франсоа	Epstein-Barr вирус
Рекурентна стромална дистрофия	Аденовирус
4. Първични роговични ендотелиопатии	Епидемичен кератоконюнктивит
Ендотелна дистрофия на Фукс	8. Бактериален/Постбактериален кератит
Вродена наследствена ендотелна дистрофия	Бактериален
Задна полиморфна дистрофия	Инфекциозна кристалинна кератопатия
Иридокорнеален ендотелен синдром	Спирохета
Синдром на Чандлър	Луетичен интерстициален кератит

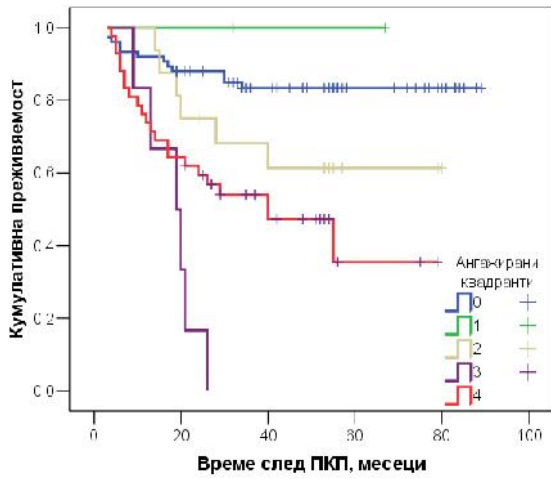
Хламидиален	Маргинална дегенерация на Териен
Трахома	Поясовидна кератопатия
Гъбичков	Полиморфна амилоидна кератопатия
Паразитен	12. Химически изгаряния
Акантамеба	Основа
9. Оптични	Киселина
Аметропии	Бензин
Висок/Неправилен астигматизъм	Сълзотворен газ
Късогледство	13. Механична травма
Хиперметропия	Травматична мътнина
Предхождаща рефрактивна операция	Травматичен роговичен оток
epiK, RK, AK, ALK, PRK, LASIK	14. Имунно отхвърлен трансплантат
10. Неинфекциозен улцеративен кератит/перфорация	15. Неимунно отхвърлен трансплантат
Keratoconjunctivitis sicca	Първично отхвърляне
Синдром на Съогрен	Витреоендотелиален контакт
Невротрофична/Невропаралитична кератопатия	Глаукома
Експозиционна кератопатия	(други)
Системни васкулити	16. Други причини за роговична увреда
Булозни окулодермални заболявания	Увеит
Язва на Муурен	Глаукома
Тиреоидна офталмопатия	Отлепване на Десцеметова мембрана
Ревматологично заболяване	Термично изгаряне
Ревматоиден артрит	Лазерна кератопатия
Кокаинова кератопатия	Силиконова кератопатия
11. Роговични дегенерации	Епително прорастване

Приложение 2. Преживяемост на трансплантат в проследена кохорта според влияние на предоперативни фактори. Статистически значимите фактори са обозначени със *.

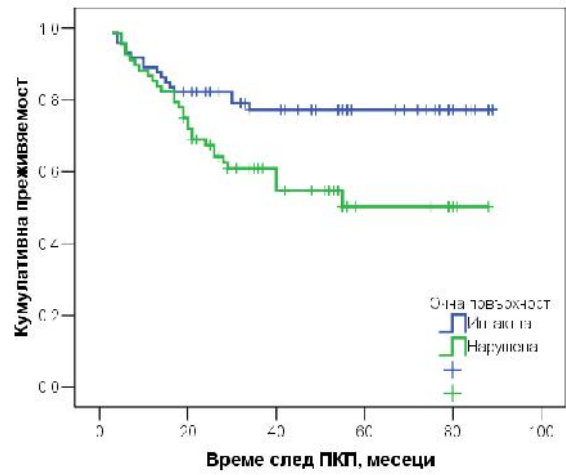
A. На реципиента



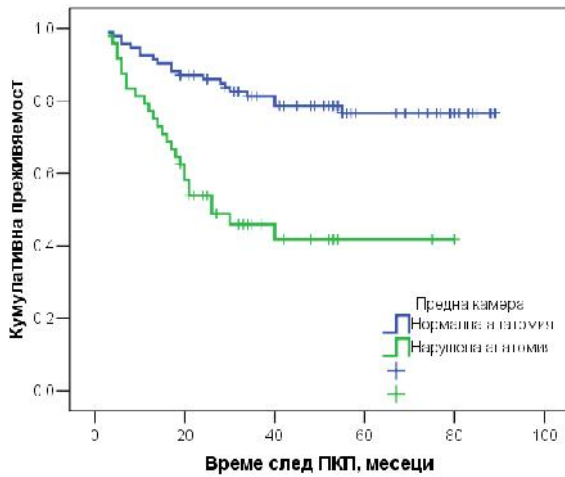
Ангажирани квадранти*



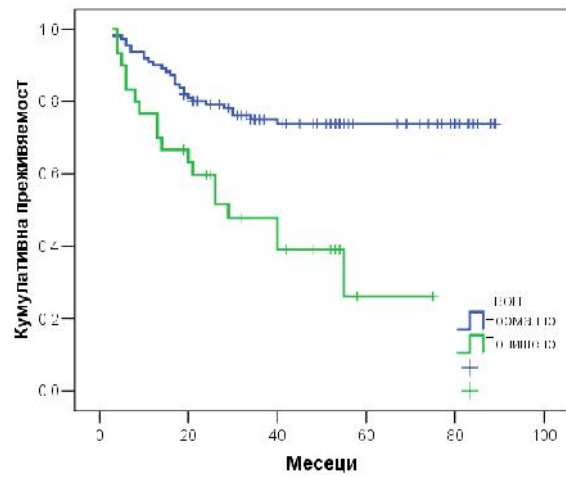
Очна повърхност



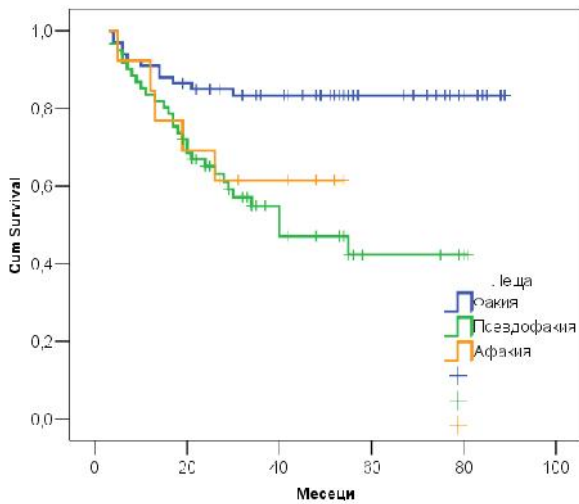
Предна камера*



Очно налягане*

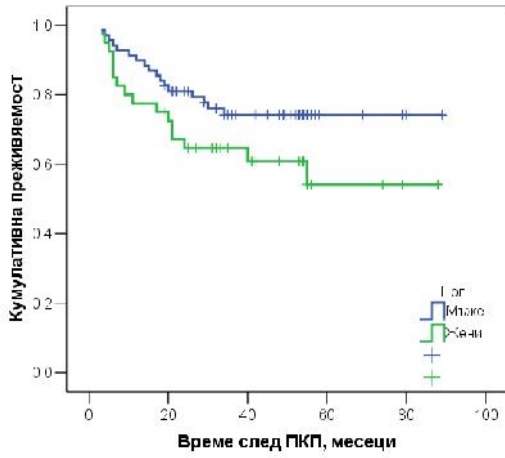


Вътреочна леща*

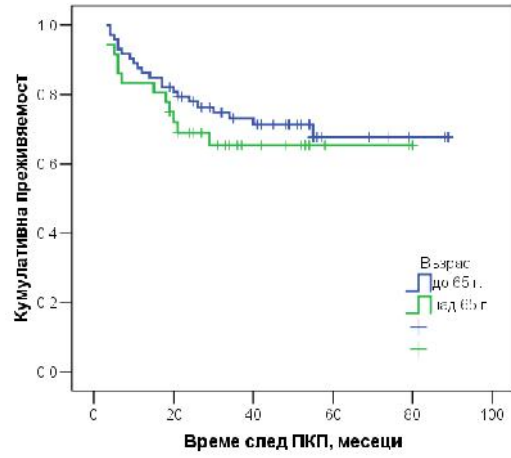


Б. На донора

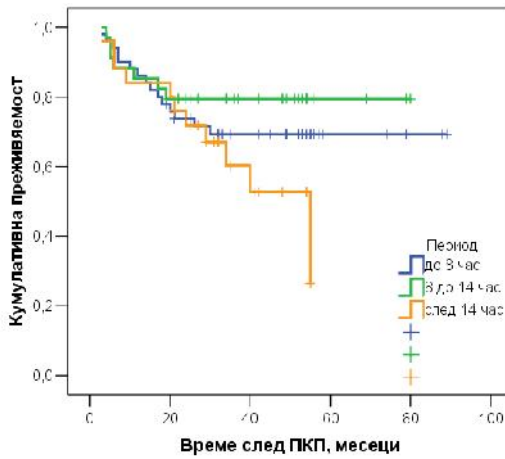
Пол



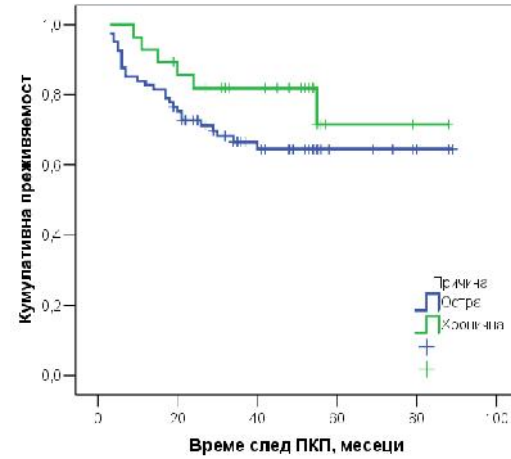
Възраст



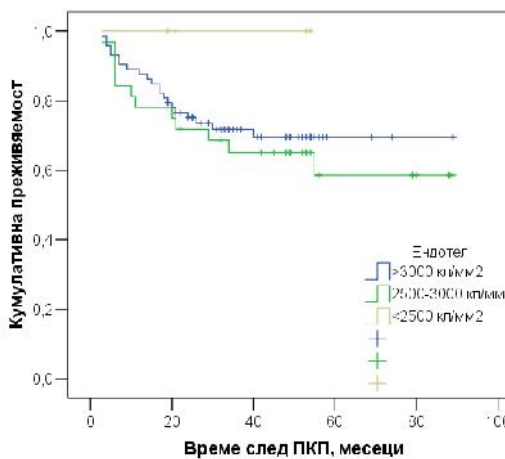
Време до експлантация



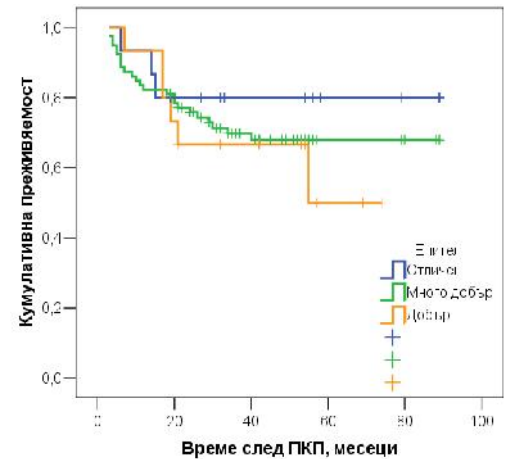
Причина за смърт



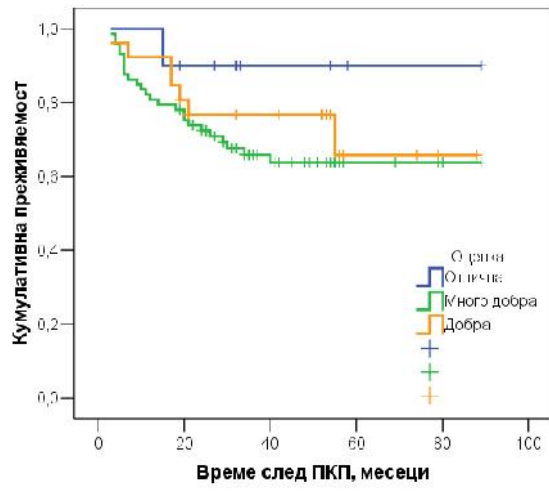
Ендотел



Епител



Обща оценка



Публикации и научни съобщения във връзка с дисертационния труд

Публикации

1. Сурчев Н, Хергелджијева Т, Василева П, Кирилова Й. Причини за помътняване на трансплантата при пенетрираща кератопластика. Реферативен бюлетин по офталмология 2011; 18(5):19-25.
2. Сурчев Н, Василева П, Хергелджијева Т. 2012. Индикации за перфоративна кератопластика през 2006-2010 година. Български офталмологичен преглед 2012; 56(4):12-17.
3. Сурчев Н. Предоперативни рискови фактори за преживяемостта на трансплантата при перфоративна кератопластика. Български офталмологичен преглед 2013; 57(1):35-44.
4. Surchev N, Vassileva P. Impact of recipient preoperative factors on corneal graft rejection after penetrating keratoplasty. Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences 2013 (in press)
Impact factor: 0,211

Участие в научни форуми

A. На международни научни форуми

1. Hergeldzhieva-Fileva T, Vassileva P, Surchev N, Kirilova Y. Donor corneal tissue characteristics and graft survival. World Ophthalmology Congress 2010, 5-9 June 2010, Berlin. Final Program, p. 96 and Program & Abstracts CD
2. Surchev N, Kirilova Y, Hergeldzhieva-Fileva T, Vassileva P. Recent tendencies in indications for penetrating keratoplasty in Bulgaria. World Ophthalmology Congress 2010, 5-9 June 2010, Berlin. Final Program, p. 268 and Program & Abstracts CD.
3. Surchev N, Hergeldzhieva-Fileva T, Vassileva P. Donor risk factors for corneal graft failure. Joint Congress of SOE and AAO 2011, 4-7 June 2011, Geneve. Abstract book, p. 73.

4. Surchev N, Hergeldzhieva-Fileva T, Vassileva P. Assessment of pre-existing corneal neovascularization as a risk factor for graft failure after penetrating keratoplasty. 2nd EuCornea congress. 16-17 September 2011, Vienna. Programme, p. 29.
5. Surchev N, Vassileva P, Moutafchieva M. Donor Risk Factors for Graft Survival After Penetrating Keratoplasty. XXV Annual Meeting of the European Eye Bank Association, 18-19 January 2013, Zagreb. Programme, p. 66.
6. Surchev N, Vassileva P. Preoperative risk factors for corneal graft rejection after penetrating keratoplasty. SOE 2013 Congress, 8-11 June 2013, Copenhagen. Abstract E-Book, p. 70.

Б. На български научни форуми:

7. Сурчев Н. Индикации за перфоративна кератопластика за периода 2006-2009 година. Национална конференция “Новости в офталмологията”, 27-28 Ноември 2009, София. Абстракти стр.42.
8. Сурчев Н. База данни с чакащи за кератопластика - оценка и настоящи тенденции. XIII^{та} Годишна среща на Съюза на очните лекари в България, 12-15 Май 2010, Пловдив. Програма с резюмета, стр. 24.
9. Сурчев Н, Мутафчиева М. Ендотел, очна хирургия и трансплантация. XIII^{та} Годишна среща на Съюза на очните лекари в България, 12-15 Май 2010, Пловдив. Програма с резюмета, стр. 33.
10. Сурчев Н, Хергелджиева Т, Василева П, Кирилова Й. Причини за помътняване на трансплантата при пенетрираща кератопластика. ORL'Imaging – Clinical and Surgical Applications, 17-19 Септември 2010, Стара Загора. Сателитен симпозиум по Офталмология.
11. Василева П, Сурчев Н. Перфоративна кератопластика - все още подходящ метод за лечение на пациенти с булозна кератопатия. XIV^{та} Годишна среща на Съюза на очните лекари в България, 23-26 Юни 2011, Боровец. Програма с резюмета, стр. 27.

12. Сурчев Н, Василева П. Роговичен ендотел след кератопластика. XIV^{та} Годишна среща на Съюза на очните лекари в България, 23-26 Юни 2011, Боровец. Програма с резюмета, стр. 28.
13. Сурчев Н, Хергелджијева Т, Василева П. Влияние на реципиента върху преживяемостта на роговичния трансплантат. XV^{та} Годишна среща на Съюза на очните лекари в България, 17-20 Май 2012, Пловдив. Програма с резюмета, стр. 50-51.
14. Сурчев Н. Предоперативни рискови фактори за преживяемост на трансплантата при перфоративна кератопластика. Новости в офталмологията, 23-24 Ноември 2012, София. Сборник Абстракти, стр. 59-60.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Балабанов Ч. Хирургично лечение на роговична перфорация с проникваща кератопластика. В: Юбилейна научна конференция 30 години ВМИ Плевен. 2004, Плевен. Резюмета, стр. 219.
2. Балабанов Ч, Облашка М. Проникваща кератопластика след имплантационна катарактна хирургия., Реферативен бюлетин по офталмология 1999;5:30-4.
3. Борова С. Клинико-генетично проучване на първичните роговични дистрофии във Варненска област (Толбухински регион). Дисертационен труд. Варна 1990.
4. Василев И. Диагностика и терапия на очните болести. София: Медицина и физкултура, 1974.
5. Василева П, Константинов Н. Проблеми при трансплантация на роговица. Български Български офталмологичен преглед 1996; 1:25-6.
6. Василева П. Проблеми на роговичната трансплантация у нас. Годишник на ЕАТА. 2006. стр. 70-4.
7. Василева П. Трансплантация на роговица; Знание и Наука, изд. БАН, 2000, 1:74-87.
8. Групчева Х, Цанева П. Корекция с контактни лещи. 2003. Варна: ИК Стено. 246 стр.
9. Константинов Н, Дъбов Ст. Офталмохирургия Том 2. Медицина и физкултура 1984:73-85.
10. Мазгалова Ж, Василева П, Попхристова Е. Светлинни и електро-микроскопско изследване на роговицата при кератопластика; Международна конференция "Новости в офталмологията "; София 1997, Октомври 3-7; стр. 50-3
11. Макгий Ч, Групчева Хр. Роговица. 2000. Варна: ИК СТЕНО. 480 стр.

12. Митов Т. Влияние подвора пар донора и реципиента на динамику и характер приживления роговичного трансплантата. Дисертационен труд. Одеса 1982.
13. Пейчева Е. Състояние на роговичната сетивност при клинично здрави лица и при болни в средна, напреднала и старческа възраст с някои очни заболявания и след някои операции на очите. Дисертационен труд. София 1980.
14. Ранчов Г. Биостатистика и биоматематика. Еко Принт 2008.
15. Танев В, Коев К, Танев И. Модифициран метод на кератопластика, екстракапсуларна екстракция и имплантация на вътреочна леща. Български офталмологичен преглед 1999; 3:16-9.
16. Хергелджиева Т, Василева П. Кератопластика при пациенти с комбинирана очна патология. Годишник на ЕАТА. 2008. стр. 46-53.
17. Шандурков И, Василева П, Хергелджиева Т, Ботев Ч, Танев И. Цианоакрилатно или автоложно тъканно лепило при роговични перфорации. Български офталмологичен преглед 2009; 1:14-7.
18. Янакиев Р, Лолова Р, Василева П. Пенетрираща кератопластика и вторична имплантация на заднокамерна интраокуларна леща със зашиване за ириса. Български Български офталмологичен преглед 1996; 2-3:16-8.
19. Akova YA, Onat M, Duman S. Efficacy of low-dose and long-term oral acyclovir therapy after penetrating keratoplasty for herpes simplex keratitis. Ocular Immunol Inflamm 1999; 7:51-60.
20. Al-Mezaine H, Wagoner MD. Repeat penetrating keratoplasty: indications, graft survival, and visual outcome. Br J Ophthalmol 2006;90:324-7.
21. Al-Towerki AE, Gonnah el-S, Al-Rajhi A, Wagoner MD. Changing indications for corneal transplantation at the King Khaled Eye Specialist Hospital (1983-2002). Cornea 2004;23:584-8.

22. Al-Yousuf N, Mavrikakis I, Mavrikakis E, Daya SM. Penetrating keratoplasty: indications over a 10 year period. *Br J Ophthalmol* 2004;88:998-1001.
23. American Academy of Ophthalmology. Basic and Clinical Science Course 2011-2012: Section 8 External Disease and Cornea. 2011. San Francisco: American Academy of Ophthalmology, 2011; 512 pp.
24. Andersen J, Ehlers N. Corneal transplantation using long-term cultured donor material. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1986; 64:93-6.
25. Andersen J, Ehlers N. The influence of donor age and post-mortem time on corneal graft survival and thickness when employing banked donor material. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1988; 66:313–317.
26. Ang M, Mehta JS, Arundhati A, Tan DT. Anterior lamellar keratoplasty over penetrating keratoplasty for optical, therapeutic, and tectonic indications: a case series. *Am J Ophthalmol* 2009; 147:697–702.
27. Ang M, Mehta JS, Sng CC, Htoon HM, Tan DT. Indications, outcomes, and risk factors for failure in tectonic keratoplasty. *Ophthalmology* 2012;119:1311-9.
28. Anshu A, Lim LS, Htoon HM, Tan DT. Postoperative risk factors influencing corneal graft survival in the Singapore Corneal Transplant Study. *Am J Ophthalmol* 2011;151:442-8.
29. Armitage WJ, Dick AD, Bourne WM. Predicting endothelial cell loss and long-term corneal graft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3326-31.
30. Armitage WJ, Easty DL. Factors influencing the suitability of organ-cultured corneas for transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:16-24.
31. Arundhati A, Jun BZ, Janardhan P, Tan DT. Iris reconstruction in penetrating keratoplasty - surgical techniques and a case-control study to evaluate effect on graft survival. *Am J Ophthalmol* 2008;145:203-9.

32. Ayyala RS. Penetrating keratoplasty and glaucoma. *Surv Ophthalmol.* 2000;45:91-105.
33. Bachmann B, Taylor RS, Cursiefen C. Corneal neovascularization as a risk factor for graft failure and rejection after keratoplasty: an evidence-based meta-analysis. *Ophthalmology* 2010;117:1300-5.
34. Bartels MC, Doxiadis II, Colen TP, et al: Long-term outcome in high-risk corneal transplantation and the influence of HLA-A and HLA-B matching. *Cornea* 2003;22:552-6.
35. Beck RW, Gal RL, Mannis MJ, et al. Is donor age an important determinant of graft survival? *Cornea* 1999;18:503-10.
36. Beckingsale P, Mavrikakis I, Al-Yousuf N, Mavrikakis E, Daya SM. Penetrating keratoplasty: outcomes from a corneal unit compared to national data. *Br J Ophthalmol* 2006;90:728-31.
37. Benetz B, Yee R, Bidros M, Lass J. Specular microscopy. In: Krachmer J, Mannis M, Holland E (eds). *Cornea*. 3rd ed. St Louis: Mosby, 2010, 177-204.
38. Benetz BA, Lass JH, Gal RL, et al. Endothelial Morphometric Measures to Predict Endothelial Graft Failure After Penetrating Keratoplasty. *JAMA Ophthalmol* 2013 Mar 14:1-8. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2013.1693. [Epub ahead of print].
39. Bersudsky V, Rehany U, Rumelt S. Risk factors for failure of simultaneous penetrating keratoplasty and cataract extraction. *J Cataract Refract Surg* 2004;30:1940-7.
40. Bertelmann E, Pleyer U, Rieck P. Risk factors for endothelial cell loss post-keratoplasty. *Acta Ophthalmol Scand* 2006;84:766-70.
41. Böhringer D, Böhringer S, Poxleitner K, et al. Long-term graft survival in penetrating keratoplasty: the biexponential model of chronic endothelial cell loss revisited. *Cornea* 2010;29:1113-7.
42. Boisjoly HM, Roy R, Bernard P-M, et al. Association between corneal allograft rejections and HLA compatibility. *Ophthalmology* 1990;12:1689-98.

43. Borderie VM, Boëlle PY, Touzeau O, et al. Predicted long-term outcome of corneal transplantation. *Ophthalmology* 2009;116:2354-60.
44. Bourne WM, Doughman DJ, Lindstrom RL. Decreased endothelial survival after transplantation of corneas preserved by three modifications of corneal organ culture technique. *Ophthalmology* 1985;92:1538-41.
45. Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO. Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:779-782.
46. Bourne WM. Cellular changes in transplanted human corneas. *Cornea* 2001;20:560-9.
47. Bradley JC, Scharf BH. Early Postoperative Complications. In: Krachmer J, Mannis M, Holland E (eds). *Cornea*. 3rd ed. St Louis: Mosby, 2010, 1385-96.
48. Brady SE, Rapuano CJ, Arentsen JJ, et al. Clinical indications for and procedures associated with penetrating keratoplasty, 1983-1988. *Am J Ophthalmol* 1989;108:118-22.
49. Brahma A, Ennis F, Harper R, et al. Visual function after penetrating keratoplasty for keratoconus: a prospective longitudinal evaluation. *Br J Ophthalmol* 2000;84:60-6.
50. Brass RE, Brightbill FS. Penetrating keratoplasty. In Brightbill FS (ed). *Corneal Surgery: Theory, Technique and Tissue*, 4th ed. St Louis: Mosby Elsevier; 2009, 285-91.
51. Brunette I, Le Francois M, Tremblay MC and Guertin MC. Corneal transplant tolerance of cryopreservation. *Cornea* 2001;20:590-6.
52. Camposampiero D, Tiso R, Zanetti E et al. Improvement of human corneal endothelium in culture after prolonged hypothermic storage. *Eur J Ophthalmol*. 2003;13:745-51.
53. Canals M, Costa J, Potau JM, Merindano MD, Pita D and Ruano D. Long-term cryopreservation of human donor corneas. *Eur J Ophthalmol* 1996;6:234-41.

54. Cao KY, Dorrepaal SJ, Seamone C, Slomovic AR. Demographics of corneal transplantation in Canada in 2004. *Can J Ophthalmol* 2006;41:688-92.
55. Chang SD, Pecego JG, Zadnik K, et al. Factors influencing graft clarity. *Cornea* 1996;15:577-81.
56. Chen WL, Hu FR, Wang IJ. Changing indications for penetrating keratoplasty in Taiwan from 1987 to 1999. *Cornea* 2001;20:141-4.
57. Chen WL, Wu CY, Hu FR, et al. Therapeutic penetrating keratoplasty for microbial keratitis in Taiwan from 1987 to 2001. *Am J Ophthalmol* 2004; 137:736-43.
58. Chien AM, Schmidt CM, Cohen EJ, et al. Glaucoma in the immediate postoperative period after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 1993;115:711-4.
59. Chipman ML, Slomovic AS, Rootman D, Dixon WS. Changing risk for early transplant failure: data from the Ontario Corneal Recipient Registry. *Can J Ophthalmol* 1993;28:254-8.
60. Chung SH, Kim HK, Kim MS. Corneal endothelial cell loss after penetrating keratoplasty in relation to preoperative recipient endothelial cell density. *Ophthalmologica* 2010;224:194-8.
61. Claerhout I, Beele H, Van den Abeele K, Kestelyn P. Therapeutic penetrating keratoplasty: clinical outcome and evolution of endothelial cell density. *Cornea* 2002;21:637-42.
62. Claesson M, Armitage WJ, Fagerholm P, Stenevi U. Visual outcome in corneal grafts: a preliminary analysis of the Swedish Corneal Transplant Register. *Br J Ophthalmol* 2002;86:174-80.
63. Claesson M, Armitage WJ. Ten-year follow-up of graft survival and visual outcome after penetrating keratoplasty in Sweden. *Cornea* 2009;28:1124-9.
64. Cornea Donor Study Investigator Group, et al. Donor age and corneal endothelial cell loss 5 years after successful corneal transplantation. Specular microscopy ancillary study results. *Ophthalmology* 2008;115:627-32.

65. Cornea Donor Study Investigator Group. The effect of donor age on corneal transplantation outcome results of the cornea donor study. *Ophthalmology* 2008;115:620-6.
66. Cosar CB, Sridhar MS, Cohen EJ, et al. Indications for penetrating keratoplasty and associated procedures, 1996-2000. *Cornea* 2002;21:148-51.
67. Coster DJ, Williams KA. Management of high-risk corneal grafts. *Eye (Lond)* 2003;17:996-1002.
68. Coster DJ, Williams KA. The impact of corneal allograft rejection on the long-term outcome of corneal transplantation. *Am J Ophthalmol* 2005;140:1112-22.
69. Cotsareils G, Cheng S-Z, Dong G, et al. Existence of slow-cycling limbal epithelial basal cells that can be preferentially stimulated to proliferate: implications on epithelial stem cells. *Cell* 1989;57:201-9.
70. Courtright P, Poon CI, Richards JS, et al. Creation of priority criteria for corneal transplantation and analysis of factors associated with surgery following implementation. *Can J Public Health* 1997;88:320-4.
71. Culbertson WM, Abbott RL, Forster RK: Endothelial cell loss in penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1982;89:600-4.
72. Cunningham WJ, Moffatt SL, Brookes NH et al. The New Zealand National Eye Bank study: trends in the acquisition and storage of corneal tissue over the decade 2000 to 2009. *Cornea* 2012;31:538-45.
73. Cursiefen C, Küchle M, Naumann GO. Changing indications for penetrating keratoplasty: histopathology of 1,250 corneal buttons. *Cornea* 1998;17:468-70.
74. Dandona L, Naduvilath TJ, Janarthanan M, et al. Survival analysis and visual outcome in a large series of corneal transplants in India. *Br J Ophthalmol* 1997;81:726-31.
75. Dandona L, Ragu K, Janarthanan M, et al. Indications for penetrating keratoplasty in India. *Indian J Ophthalmol* 1997;45:163-8.

76. Darlington JK, Adrean SD, Schwab IR. Trends of penetrating keratoplasty in the United States from 1980 to 2004. *Ophthalmology* 2006;113:2171-5.
77. Dawson DG, Watsky MA, Geroski DH, Edelhauser HF. Cornea and sclera. Duane's Ophthalmology on DVD-Rom. Duane's Foundations of Clinical Ophthalmology Volume 2. 2009 Edition: Lippincott Williams & Wilkins.
78. de Freitas AM, Melo BC, Mendonça CN, Machado RP, Rocha FJ. Causes and risk factors for graft failure in surgeries performed by physicians in fellowship training. *Cornea* 2006;25:251-6.
79. Delbosc B. Pénurie des greffons Les causes et les conséquences d'une exception française. *J Fr Ophtalmol* 2000;23:196-9.
80. Dobbins KR, Price FW Jr, Whitson WE. Trends in the indications for penetrating keratoplasty in the midwestern United States. *Cornea* 2000;19:813-6.
81. Donnenfeld ED, Solomon R, Perry A. Therapeutic Keratoplasty. In: Krachmer J, Mannis M, Holland E (eds). *Cornea*. 3rd ed. St Louis: Mosby, 2010, 1593-604.
82. Dorrepaal SJ, Cao KY, Slomovic AR. Indications for penetrating keratoplasty in a tertiary referral centre in Canada, 1996-2004. *Can J Ophthalmol* 2007;42:244-50.
83. Dua HS, Azuara-Blanco A. Limbal stem cells of the epithelium. *Surv Ophthalmol* 2000;44:415-425.
84. Edelhauser HF. Castroviejo Lecture: The resiliency of the corneal endothelium to refractive and intraocular surgery. *Cornea* 2000;19:263-273.
85. Edwards M, Clover GM, Brookes N, et al. Indications for corneal transplantation in New Zealand: 1991-1999. *Cornea* 2002;21:152-5.
86. Ehlers N, Hjortdal J, Nielsen K. Corneal Grafting and Banking. In Bredehorn-Mayr T, Duncker GIW, Armitage WJ (eds). *Eye Banking*. Dev Ophthalmol. Basel: Karger, 2009, vol 43, pp 1-14.

87. Ehlers N. Corneal banking and grafting. The background to the Danish Eye Bank System, where corneas await their patients. *Acta Ophthalmol Scand* 2002;80:572-8.
88. Erdmann L, Ehlers N. Long-term results with organ-cultured cryopreserved hu-man corneal grafts. *Acta Ophthalmol* 1993;71:703-6.
89. European Eye Bank Association. Directory. 21st Edition. 2013. 86p.
90. Eusol-C technical sheet. ALCHIMIA.
<http://www.alchimiasrl.com/en/alchimia-products/alchimia-eye-banking/cold-storage/item/38-eusol-c> Accessed: 2 May 2012
91. Eye Bank Association of America. Frequently asked questions.
<http://www.restoresight.org/about-us/frequently-asked-questions/> Accessed: 20 January 2013
92. Fasolo A, Capuzzo C, Fornea M et al. Health status and patient satisfaction after corneal graft: results from the corneal transplant epidemiological study. *J Ophthalmol* 2012; 2012:230641.
93. Fasolo A, Capuzzo C, Fornea M, et al. Risk factors for graft failure after penetrating keratoplasty: 5-year follow-up from the corneal transplant epidemiological study. *Cornea* 2011;30:1328-35.
94. Fasolo A, Frigo AC, Böhm E, et al. The CORTES study: corneal transplant indications and graft survival in an Italian cohort of patients. *Cornea* 2006;25:507-15.
95. Feiz V, Mannis MJ, Kandavel G, et al. Surface keratopathy after penetrating keratoplasty. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2001;99:159-68.
96. Flowers CW, Chanq KY, McLeod SD, et al. Changing indications for penetrating keratoplasty, 1989-1993. *Cornea* 1995;14:583-8.
97. Forester JV, Kuffova L. Corneal transplantation. An immunological guide to the clinical problem. London:Imperial College Press 2009, 194p.
98. Foster CS, Duncan J. Penetrating keratoplasty for herpes simplex keratitis. *Am J Ophthalmol* 1981;92:336-343.

99. Gavrilov JC, Borderie VM, Laroche L, Delbosc B. Influencing factors on the suitability of organ-cultured corneas. *Eye (Lond)* 2010;24:1227-33.
100. Ghosheh FR, Cremona F, Ayres BD, et al. Indications for penetrating keratoplasty and associated procedures, 2001-2005. *Eye Contact Lens* 2008;34:211-4.
101. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM, et al. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science* 1995;270:1189-1192.
102. Guilbert E, Bullet J, Sandali O, et al. Long-term rejection incidence and reversibility after penetrating and lamellar keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2013;155:560-9.
103. Halberstadt M, Machens M, Gahlenbek KA, Böhnke M, Garweg JG. The outcome of corneal grafting in patients with stromal keratitis of herpetic and non-herpetic origin. *Br J Ophthalmol* 2002;86:646-52.
104. Hanada K, Shimazaki J, Shimmura S, Tsubota K: Multilayered amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera. *Am J Ophthalmol* 2001;131:324-31.
105. Hannush SB. Preoperative Considerations and Decision-Making in Keratoplasty. In: Krachmer J, Mannis M, Holland E (eds). *Cornea*. 3rd ed. St Louis: Mosby, 2010, 1327-34.
106. Heidemann D, Dunn S, Chow C. Comparison of deep lamellar endothelial keratoplasty and penetrating keratoplasty in patients with Fuchs endothelial dystrophy. *Cornea* 2008;27:161–167.
107. Hergeldzhieva T, Vassileva P, Shandurkov I et al. Penetrating keratoplasty – indications and results. *South-East European Journal of Ophthalmology* 2008; 2:16-20.
108. Hogan MJ, Alvarado JA, Weddell JE. *Histology of the human eye: an atlas and textbook*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1971; 687p.
109. Hollander DA, Giaconi JA, Holland GN, et al. Graft failure after penetrating keratoplasty in eyes with Ahmed valves. *Am J Ophthalmol* 2010;150:169-78.

110. Ing JJ, Ing HH, Nelson LR, et al. Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1998;105:1855-65.
111. Inoue K, Amano S, Oshika T, et al. Risk factors for corneal graft failure and rejection in penetrating keratoplasty. *Acta Ophthalmol Scand* 2001; 79:251-5.
112. Jonas JB, Rank RM, Budde WM. Visual outcome after allogenic penetrating keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002; 240:302-7.
113. Kanavi MR, Javadi MA, Sanagoo M. Indications for penetrating keratoplasty in Iran. *Cornea* 2007;26:561-3.
114. Kanellopoulos AJ, Miller F, Wittpenn JR. Deposition of topical ciprofloxacin to prevent reepithelialization of a corneal defect. *Am J Ophthalmol* 1994;117:258-9.
115. Kang PC, Klintworth GK, Kim T, et al. Trends in the indications for penetrating keratoplasty, 1980-2001. *Cornea* 2005;24:801-3.
116. Kaplan HJ, Streilein JW. Immune response to immunization via the anterior chamber of the eye. II. An analysis of FI lymphocyte-induced immune deviation. *J Immunol* 1978; 120:689-93.
117. Katz MH. *Study Design and Statistical Analysis: A Practical Guide for Clinicians*. New York:Cambridge University Press 2006; 200p.
118. Kaufman HE, Beuerman RW, Steinemann TL, Thompson HW, Varnell ED. Optisol corneal storage medium. *Arch Ophthalmol* 1991;109:864-8.
119. Keenan TD, Jones MN, Rushton S, et al. Trends in the indications for corneal graft surgery in the United Kingdom: 1999 through 2009. *Arch Ophthalmol* 2012;130:621-8.
120. Kelly TL, Coster DJ, Williams KA. Repeat penetrating corneal transplantation in patients with keratoconus. *Ophthalmology* 2011;118:1538-42.
121. Khaireddin R, Wachtlin J, Hopfenmüller W, Hoffmann F. HLA-A, HLA-B and HLA-DR matching reduces the rate of corneal allograft rejection. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2003;241:1020-8.

122. Killingsworth DW, Stern GA, Driebe WT, Knapp A, Dragon DM. Results of therapeutic penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1993;100:534-41.
123. Kim T, Palay DA, Lynn M. Donor factors associated with epithelial defects after penetrating keratoplasty. *Cornea* 1996;15:451-6.
124. Kosker M, Duman F, Suri K, et al. Long-term Results of Keratoplasty in Patients With Herpes Zoster Ophthalmicus. *Cornea*. 2013 Mar 27. [Epub ahead of print]
125. Krohn J, Høvding G. The influence of donor age and cause of death on corneal endothelial cell density. *Acta Ophthalmol Scand* 2005;83:746-50.
126. Laibson PR. History of corneal transplantation. In Brightbill FS (ed). *Corneal Surgery: Theory, Technique and Tissue*, 4th ed. St Louis: Mosby Elsevier; 2009:1-7.
127. Lass JH, Sugar A, Benetz BA, et al. Endothelial cell density to predict endothelial graft failure after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 2010;128:63-9.
128. Leahey EB, Gottsch JD, Stark WJ. Clinical experience with N-butyl cyanoacrylate (Nexacryl) tissue adhesive. *Ophthalmology* 1993;100:173-80.
129. Lee HS, Kim MS. Influential factors on the survival of endothelial cells after penetrating keratoplasty. *Eur J Ophthalmol* 2009;19:930–935.
130. Legeais JM, Parc C, d'Hermies F, Pouliquen Y, Renard G. Nineteen years of penetrating keratoplasty in the Hotel-Dieu Hospital in Paris. *Cornea* 2001;20:603-6.
131. Levenson JE. Penetrating corneal transplantation: Early postoperative management. In Brightbill FS (ed). *Corneal Surgery: Theory, Technique and Tissue*, 4th ed. St Louis: Mosby Elsevier; 2009:459-70.
132. Li N, Wang X, Wan P et al. Tectonic lamellar keratoplasty with acellular corneal stroma in high-risk corneal transplantation. *Mol Vis*. 2011; 17:1909-17.

133. Lim LS, Arundhati A, Tan DT. Sequential therapeutic penetrating keratoplasty with cryopreserved and fresh corneal tissue for severe infectious keratitis: a case-control study. *Cornea* 2011;30:739-43.
134. Lindquist TD, McGlothlan JS, Rotkis WM, Chandler JW. Indications for penetrating keratoplasty: 1980-1988. *Cornea* 1991;10:210-6.
135. Lindquist TD, McNeill JI, Wilhelmus KR. Indications for keratoplasty. *Cornea* 1994;13:105-7.
136. Liu E, Slomovic AR. Indications for penetrating keratoplasty in Canada, 1986-1995. *Cornea* 1997;16:414-9.
137. Lois N, Kowal VO, Cohen EJ, et al. Indications for penetrating keratoplasty and associated procedures, 1989-1995. *Cornea* 1997;16:623-9.
138. Ma DHK, Wang SF, Su WY, Tsai RJF: Amniotic membrane graft for the management of scleral melting and corneal perforation in recalcitrant infectious scleral and corneoscleral ulcers. *Cornea* 2002;21:275-83.
139. Maeno A, Naor J, Lee HM, Hunter WS, Rootman DS. Three decades of corneal transplantation: indications and patient characteristics. *Cornea* 2000;19:7-11.
140. Maguire MG, Stark WJ, Gottsch JD et al. Risk factors for corneal graft failure and rejection in the collaborative corneal transplantation studies. Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. *Ophthalmology* 1994;101:1536-47.
141. Maier AK, Ozlügedik S, Rottler J, et al. Efficacy of postoperative immunosuppression after keratoplasty in herpetic keratitis. *Cornea* 2011;30:1398-405.
142. Mannis M, Krachmer J. Keratoplasty: A Historical Perspective. *Surv Ophthalmol.* 1981;25:333-8.
143. McCarey BE, Meyer RF, Kaufman HE. Improved corneal storage for penetrating keratoplasties in humans. *Ann Ophthalmol* 1976;8:1488-95.
144. Meek KM, Boote C. The organization of collagen in the corneal stroma. *Exp Eye Res* 2004;78:503-512.

145. Meisler DM, Fine M. Recurrence of the clinical signs of lattice corneal dystrophy (type I) in corneal transplants. *Am J Ophthalmol* 1984;97:210–214.
146. Melles GR, Eggink FA, Lander F, et al. A surgical technique for posterior lamellar keratoplasty. *Cornea* 1998;17:618-26.
147. Miedziak AI, Miller MR, Rapuano CJ, et al. Risk factors in microbial keratitis leading to penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 1999;106:1166-70.
148. Miller AR, Olson MD, Miller KM. Functional and cosmetic outcomes o combined penetrating keratoplasty and iris reconstruction lens implantation in eyes with a history of trauma. *J Cataract Refract Surg* 2007;33:808-14.
149. Miyata K, Yamagami S, Nejima R, et al. Corneal endothelial cell protection with Viscoat and Healon or Healon alone during penetrating keratoplasty. *Cornea* 2005;24:962-6.
150. Mkanganwi N, Nondo SI, Guramatunhu S. Indications for corneal grafting in Zimbabwe. *Cent Afr J Med* 2000;46:300-2.
151. Módis L Jr, Szalai E, Facskó A, et al. Corneal transplantation in Hungary (1946-2009). *Clin Experiment Ophthalmol* 2011;39:520-5.
152. Mondino BJ, Brady KJ. Distribution of hemolytic complement in the normal cornea. *Arch Ophthalmol* 1981;99:1430-1433.
153. Munkhbath B, Hagihara M, Sato T, et al. HLA Class II DNA typing using ocular tissue and its usefulness in corneal transplantation. *Transplant Proc* 1996;28:1257-8.
154. Muraine M, Toubeau D, Menguy E, Brasseur G. Analysing the various obstacles to cornea postmortem procurement. *Br J Ophthalmol* 2002;86:864-8.
155. Musch DC, Meyer RF, Sugar A. Predictive factors for endothelial cell loss after penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 1993;111:80-3.
156. Musch DC, Schwartz AE, Fitzgerald-Shelton K, et al. The effect of allograft rejection after penetrating keratoplasty on central endothelial cell density. *Am J Ophthalmol* 1991;111:739-42.

157. Naacke HG, Borderie VM, Bourcier T, et al: Outcome of corneal transplantation rejection. *Cornea* 2001;20:350-3.
158. Nishida T, Saika S. *Cornea and Sclera: Anatomy and Physiology*. In: Krachmer J, Mannis M, Holland E (eds). *Cornea*. 3rd ed. St Louis: Mosby, 2010, 3-24.
159. Nishimura JK, Hodge DO, Bourne WM. Initial endothelial cell density and chronic endothelial cell loss rate in corneal transplants with late endothelial failure. *Ophthalmology* 1999;106:1962-5.
160. Niziol LM, Musch DC, Gillespie BW, Marcotte LM, Sugar A. Long-term outcomes in patients who received a corneal graft for keratoconus between 1980 and 1986. *Am J Ophthalmol* 2013;155:213-219.
161. Nobe JR, Moura BT, Robin JB, Smith RE. Results of penetrating keratoplasty for the treatment of corneal perforations. *Arch Ophthalmol* 1990;108:939-41.
162. Ohguro N, Matsuda M, Shimomura Y, Inoue Y, Tano Y. Effects of penetrating keratoplasty rejection on the endothelium of the donor cornea and the recipient peripheral cornea. *Am J Ophthalmol* 2000;129:468-71.
163. Palay DA, Stulting RD, Waring GO III, Wilson LA. Penetrating keratoplasty in patients with rheumatoid arthritis. *Ophthalmology* 1992; 99:622-7.
164. Panda A, Kumar S, Thakur SK. Decline in eye donation in the UK. *Br J Ophthalmol* 2000;84:805.
165. Panda A, Vanathi M, Kumar A, Dash Y, Priya S. Corneal graft rejection. *Surv Ophthalmol* 2007;52:375-96.
166. Patel SV, Diehl NN, Hodge DO, Bourne WM. Donor risk factors for graft failure in a 20-year study of penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol*. 2010;128:418-25.
167. Patel SV, Hodge DO, Bourne WM. Corneal endothelium and postoperative outcomes 15 years after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2005;139:311-9.

168. Paul WE (ed). *Fundamental Immunology*, 5th Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003, 1502p.
169. Perera C, Jhanji V, Vajpayee RB. Factors influencing outcomes of the treatment of allograft corneal rejection. *Am J Ophthalmol* 2011;152:358-363.
170. Pfister RR. The normal surface of corneal epithelium: a scanning electron microscopic study. *Invest Ophthalmol* 1973; 12:654-668.
171. Poinard C, Tuppin P, Loty B, Delbosc B. Bilan de la liste nationale d'attente de greffe de cornée française créée en 1999: taux d'inscription, flux, indications et caractéristiques des malades. *J Fr Ophtalmol* 2003;26:911-9.
172. Polack FM, Demong T, Santaella H: Sodium hyaluronate (Healon) in keratoplasty and IOL implantation. *Ophthalmology* 1981; 88:425-431.
173. Pramanik S, Musch DC, Sutphin JE, Farjo AA. Extended long-term outcomes of penetrating keratoplasty for keratoconus. *Ophthalmology* 2006;113:1633-8.
174. Price FW Jr, Whitson WE, Collins KS, Marks RG. Five-year corneal graft survival. A large, single-center patient cohort. *Arch Ophthalmol* 1993;111:799-805.
175. Probst LE, Halfaker BA, Holland EJ. Quality of corneal donor tissue in the greater-than-75-year age group. *Cornea* 1997;16:507-11.
176. Price MO, Thompson RW Jr, Price FW Jr. Risk factors for various causes of failure in initial corneal grafts. *Arch Ophthalmol* 2003;121:1087-92.
177. Rahman I, Carley F, Hillarby C, Brahma A, Tullo AB. Penetrating keratoplasty: indications, outcomes, and complications. *Eye (Lond)* 2009;23:1288-94.
178. Redbrake C, Becker J, Salla S, Stollenwerk R, Reim M. The influence of the cause of death and age on human corneal metabolism. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3553-6.

179. Reinhard T, Kallmann C, Cepin A, Godehardt E, Sundmacher R. The influence of glaucoma history on graft survival after penetrating keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:553-7.
180. Remeijer L, Duan R, van Dun JM, et al. Prevalence and clinical consequences of herpes simplex virus type 1 DNA in human cornea tissues. *J Infect Dis* 2009;200:11-9.
181. Reynolds MG, Alfonso E. Treatment of infectious scleritis and keratoscleritis. *Am J Ophthalmol* 1991;112:543-7.
182. Rijneveld WJ, Beekhuis WH, van Rij G, Rinkel-van Driel B, Pels E. Clinical comparison of grafts stored in McCarey-Kaufman medium at 4 degrees C and in corneal organ culture at 31 degrees C. *Arch Ophthalmol*. 1992;110:203-5.
183. Rufer F, Schroder A, Erb C. White-to-white corneal diameter: normal values in healthy humans obtained with the Orbscan II topography system. *Cornea* 2005;24:259-261.
184. Sangwan VS, Ramamurthy B, Shah U, et al. Outcome of corneal transplant rejection: a 10-year study. *Clin Experiment Ophthalmol* 2005;33:623-7.
185. Seitz B, Das S, Sauer R, Mena D, Hofmann-Rummelt C. Amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defects in eyes after penetrating keratoplasty. *Eye (Lond)* 2009;23:840-8.
186. Sharma N, Sachdev R, Jhanji V, Titiyal JS, Vajpayee RB. Therapeutic keratoplasty for microbial keratitis. *Curr Opin Ophthalmol* 2010;21:293-300.
187. Siganos CS, Tsiklis NS, Miltsakakis DG, et al. Changing indications for penetrating keratoplasty in Greece, 1982-2006: a multicenter study. *Cornea* 2010;29:372-4.
188. Simon M, Fellner P, El-Shabrawi Y, Ardjomand N. Influence of donor storage time on corneal allograft survival. *Ophthalmology* 2004;111:1534-8.
189. Sit M, Weisbrod DJ, Naor J, Slomovic AR. Corneal graft outcome study. *Cornea* 2001;20:129-33.

190. Smolek M, Klyce S. Cornea. In: Tasman W, Jaeger E (eds). Duane's Ophthalmology on DVD-Rom. Duane's Foundations of Clinical Ophthalmology Volume Volume 1. 2009 Edition. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins.
191. Sony P, Sharma N, Sen S, Vajpayee RB. Indications of penetrating keratoplasty in northern India. *Cornea* 2005;24:989-91.
192. Stewart RM, Jones MN, Batterbury M, et al. Effect of glaucoma on corneal graft survival according to indication for penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2011;151:257-62.
193. Stulting RD, Sugar A, Beck R, et al. Effect of donor and recipient factors on corneal graft rejection. *Cornea*. 2012;31:1141-7.
194. Sugar A, Gal RL, Beck RW, et al. Baseline donor characteristics in the Cornea Donor Study. *Cornea* 2005;24:389-96.
195. Sugar A, Tanner JP, Dontchev M, et al. Recipient risk factors for graft failure in the cornea donor study. *Ophthalmology* 2009;116:1023-8.
196. Sugar J. The Collaborative Corneal Transplantation Studies. *Arch Ophthalmol* 1992;1110:1517– 8.
197. Sugar J, Montoya M, Dontchev M et al. Donor risk factors for graft failure in the cornea donor study. *Cornea* 2009;28:981-5.
198. Sugita J, Kondo J. Deep lamellar keratoplasty with complete removal of pathological stroma for vision improvement. *Br J Ophthalmol* 1997;81:184-8.
199. Szaflik J, Grabska-Liberek I, Brix-Warzecha M. The importance of various factors relating to the morphological quality of corneas used for PKP by the Warsaw Eye Bank from 1996 to 2002. *Ann Transplant* 2003;8:26-31.
200. Tabin GC, Gurung R, Paudyal G, et al. Penetrating keratoplasty in Nepal. *Cornea* 2004;22:589-96.
201. Tambasco FP, Cohen EJ, Nguyen LH, Rapuano CJ, Laibson PR. Oral acyclovir after penetrating keratoplasty for herpes simplex keratitis. *Arch Ophthalmol* 1999;117:445-9.

202. Tan DT, Janardhanan P, Zhou H, et al. Penetrating keratoplasty in Asian eyes: the Singapore Corneal Transplant Study. *Ophthalmology* 2008;115:975-82.
203. Taylor AW. Ocular immune privilege. *Eye (Lond)* 2009; 23:1885-9.
204. Terry MA. The evolution of lamellar grafting techniques over twenty-five years. *Cornea* 2000;19:611-6.
205. The Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. Effectiveness of histocompatibility matching in high-risk corneal transplantation. *Arch Ophthalmol* 1992;110:1392-403.
206. Thoft RA, Friend J. The X, Y, Z hypothesis of corneal epithelial maintenance. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1983;24:1442-1443.
207. Thompson RW Jr, Price MO, Bowers PJ, Price FW Jr. Long-term graft survival after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 2003;110:1396-402.
208. Thuret G, Chiquet C, Bernal F, et al. Prospective, randomized clinical and endothelial evaluation of 2 storage times for cornea donor tissue in organ culture at 31 degrees C. *Arch Ophthalmol* 2003;121:442-50.
209. Ti SE, Scott JA, Janardhanan P, Tan DT. Therapeutic keratoplasty for advanced suppurative keratitis. *Am J Ophthalmol* 2007;143:755-62.
210. Tilahun Y, Shimelash D. The outcome of corneal transplantation versus indications in a tertiary eye care center in Ethiopia. *Ethiop Med J* 2010;48:35-9.
211. Ting DS, Sau CY, Srinivasan S, et al. Changing trends in keratoplasty in the West of Scotland: a 10-year review. *Br J Ophthalmol* 2012;96:405-8.
212. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, et al. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:349-363.
213. Tuberville AW, Wood TO. Corneal ulcers in corneal transplants. *Curr Eye Res* 1981;1:479-485.

214. Tuppin P, Poinard C, Loty B, Delbosc B. Risk factors for corneal regrant in patients on the French waiting list. *Cornea* 2004;23:704-11.
215. Vail A, Gore SM, Bradley BA, et al. Conclusions of the Corneal Transplant Follow-up Study. *Br J Ophthalmol* 1997;81:631-6.
216. Van Horn DL, Schultz RO. Corneal preservation: recent advances. *Surv Ophthalmol* 1977;21:301-12.
217. Van Meter WS, Katz DG, White H, Gayheart R. Effect of death-to-preservation time on donor corneal epithelium. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2005;103:209-22.
218. Vassileva P. Graft failure after keratoplasty. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences* 2003; 56,4:111-6.
219. Vassileva P, Gieser SC, Vitale S, et al. Blindness and visual impairment in western Bulgaria. *Ophthalmic Epidemiol* 1996;3:143-9.
220. Vassileva P, Mazgalova J, Bratanov K. Corneal tissue characteristics in relation to donor and procurement parameters. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences* 2003; 56,5:105-12.
221. Vogt A. Die Sichtbarkeit des lebenden Hornhautendotheis. Ein Beitrag zur Methodik der Spaltlampenmikroskopie. *Graefe's Arch Ophthalmol* 1920;101:123-144.
222. Wagoner MD, Ba-Abbad R, Sutphin JE, Zimmerman MB. Corneal transplant survival after onset of severe endothelial rejection. *Ophthalmology* 2007;114:1630-6.
223. Wagoner MD, Gonnah el-S, Al-Towerki AE. Outcome of primary adult penetrating keratoplasty in a Saudi Arabian population. *Cornea* 2009;28:882-90.
224. Wagoner MD, Gonnah el-S. Corneal graft survival after prolonged storage in Optisol-GS. *Cornea* 2005;24:976-9.
225. Wang J, Hasenpus A, Schirra F, et al. Changing indications for penetrating keratoplasty in Homburg/Saar from 2001 to 2010-

- histopathology of 1,200 corneal buttons. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2013;251:797-802.
226. Wang JY, Xie LX, Song XS, Zhao J. Trends in the indications for penetrating keratoplasty in Shandong, 2005-2010. *Int J Ophthalmol* 2011;4:492-7.
227. Waring, III G, Bouchard CS. A Matrix of Pathologic Responses in the Cornea. In: Krachmer J, Mannis M, Holland E (eds). *Cornea*. 3rd ed. St Louis: Mosby, 2010, 47-81.
228. Weisbrod DJ, Sit M, Naor J, Slomovic AR. Outcomes of repeat penetrating keratoplasty and risk factors for graft failure. *Cornea* 2003;22:429-34.
229. Wilhelmus KR, Stulting RD, Sugar J, et al. Primary corneal graft failure. A national reporting system. *Arch Ophthalmol* 1995;113:1447-502.
230. Williams KA, Esterman AJ, Bartlett C, et al. How effective is penetrating corneal transplantation? Factors influencing long-term outcome in multivariate analysis. *Transplantation* 2006;81:896-901.
231. Williams KA, Lowe M, Bartlett C, et al. Risk factors for human corneal graft failure within the Australian corneal graft registry. *Transplantation* 2008;86:1720-4.
232. Williams KA, Lowe MT, Bartlett CM, Kelly L, Coster D. The Australian corneal graft registry. 2007 Report. Adelaide: Flinders University Press, 2007, 195p.
233. Williams KA, Muehlberg S, Lewis R, Coster D. Influence of advanced recipient and donor age on the outcome of corneal transplantation. Australian Corneal Graft Registry. *Br J Ophthalmol* 1997;81:835-9.
234. Williams KA, Roder D, Esterman A, Muehlberg SM, Coster DJ. Factors predictive of corneal graft survival. Report from the Australian Corneal Graft Registry. *Ophthalmology* 1992;99:403-14.
235. Wilson SE, Bourne WM. Corneal preservation. *Surv Ophthalmol* 1989;33:237-59.

236. Wilson SE, Kaufman HE. Graft failure after penetrating keratoplasty. *Surv Ophthalmol* 1990;34:325-56.
237. Wing C. The Past Twenty-five Years in Eye Banking. *Cornea* 2000; 19:754-65.
238. Xiao X, Xie L. The influencing factors and characteristics of corneal graft endothelial decompensation after penetrating keratoplasty. *Eur J Ophthalmol* 2010;20:21-8.
239. Xie L, Qi F, Gao H, Wang T, Shi W, Zhao J. Major shifts in corneal transplantation procedures in north China: 5316 eyes over 12 years. *Br J Ophthalmol* 2009;93:1291-5.
240. Xie L, Song Z, Zhao J, Shi W, Wang F. Indications for penetrating keratoplasty in north China. *Cornea* 2007;26:1070-3.
241. Yagci A, Egrilmez S, Kaskaloglu M, Egrilmez ED. Quality of vision following clinically successful penetrating keratoplasty. *J Cataract Refract Surg.* 2004;30:1287-94.
242. Yahalom C, Mechoulam H, Solomon A, et al. Forty years of changing indications in penetrating keratoplasty in Israel. *Cornea* 2005;24:256-8.
243. Yalniz-Akkaya Z, Burcu Nurozler A, et al. Repeat penetrating keratoplasty: indications and prognosis, 1995-2005. *Eur J Ophthalmol* 2009;19:362-8.
244. Yamagami S, Suzuki Y, Tsuru T. Risk factors for graft failure in penetrating keratoplasty. *Acta Ophthalmol Scand* 1996;74:584-8.
245. Yao YF, Zhang YM, Zhou P, et al. Therapeutic penetrating keratoplasty in severe fungal keratitis using cryopreserved donor corneas. *Br J Ophthalmol* 2003; 87:543-7.
246. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res* 1985;4:671-8.
247. Zare M, Javadi MA, Einollahi B, et al. Changing indications and surgical techniques for corneal transplantation between 2004 and 2009 at a tertiary referral center. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2012;19:323-9.